



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA
EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD MICHOACÁN**

**PREVALENCIA Y RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE
Staphylococcus aureus Y *Streptococcus agalactiae* ASILADAS EN CABRAS LECHERAS
DE VENUSTIANO CARRANZA, MICHOACÁN**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA SUSTENTABLE**

PRESENTA

IBQ. MARTHA ELENA ARROYO VALDÉS

DIRECTORES

DRA. REBECA FLORES MAGALLÓN

DR. VIRGILIO BOCANEGRA GARCÍA

JIQUILPAN DE JUÁREZ, MICHOACÁN

AGOSTO 2017

CARTA DE CESIÓN DERECHOS



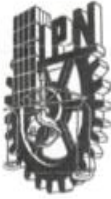
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA E INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

En la ciudad de Jiquilpan de Juárez, Michoacán el día 24 del mes Agosto del año 2017 el (la) que suscribe Ing. Martha Elena Arroyo Valdés alumno (a) del Programa de Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable con número de registro B151296, adscrito a C.I.I.D.I.R I.P.N Unidad Michoacán, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección de Dra. Rebeca Flores Magallón y Dr. Virgilio Bocanegra García y cede los derechos del trabajo intitulado "Prevalencia y resistencia a antimicrobianos de cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* asiladas en cabras lecheras de Venustiano Carranza, Michoacán", al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, graficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección ibqelena@gmail.com; rfloresma@ipn.mx; vbocanegg@hotmail.com. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


Ing. Martha Elena Arroyo Valdés

Nombre y firma



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Jiquilpan, Michoacán siendo las 12:00 horas del día 24 del mes de Agosto del 2017 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR Unidad Michoacán para examinar la tesis titulada:

"Prevalencia y resistencia a antimicrobianos de cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* aisladas en cabras lecheras de Venustiano Carranza, Mich".

Presentada por el alumno:

Arroyo	Valdés	Martha Elena							
Apellido paterno	Apellido materno	Nombre							
Con registro: <table border="1"><tr><td>B</td><td>1</td><td>5</td><td>1</td><td>2</td><td>9</td><td>6</td></tr></table>			B	1	5	1	2	9	6
B	1	5	1	2	9	6			

aspirante de:

Maestría en Ciencias en Producción Agrícola Sustentable

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

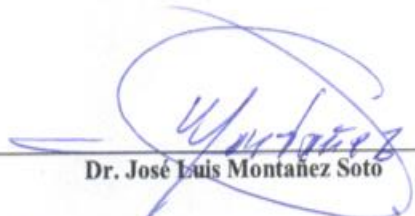
LA COMISIÓN REVISORA
Directores de tesis



Dra. Rebeca Flores Magallón




Dr. Virgilio Bocanegra García



Dr. José Luis Montañez Soto



Dra. Dioselina Alvarez Bernal



Dr. Luis Fernando Ceja Torres



Dra. Hortencia Gabriela Mena Violante.
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES.



El presente trabajo que lleva por título “Prevalencia y resistencia a antimicrobianos de cepas de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* asiladas en cabras lecheras de Venustiano Carranza, Michoacán”, se realizó en el Laboratorio de Microbiología de los Alimentos del CIIDIR-IPN Unidad Michoacán así como en el Laboratorio de Biomedicina de Conservación del Instituto Politécnico Nacional, bajo la dirección de la Dra. Rebeca Flores Magallón y el Dr. Virgilio Bocanegra García. Financiado por CONACyT (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología) y por los proyectos: “Estandarización en el proceso de elaboración de un queso artesanal a partir de la yuca” y “*Eisenia foetida* como alternativa de reciclaje de desechos agroindustriales y como fuente no convencional de proteína a bajo costo” (proyecto SIP 20160666 y 20170678, respectivamente).

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis la Dra. Rebeca Flores Magallón y el Dr. Virgilio Bocanegra García por la asesoría brindada para realizar esta tesis, la confianza brindada, los consejos y observaciones; al igual que a mis revisores el Dr. Luis Fernando Ceja Torres, Dr. José Luis Montañes Soto y de manera especial a la Dra. Dioselina Álvarez Bernal, gracias por su disponibilidad, paciencia y ejemplo de la responsabilidad; a todos ellos mis agradecimientos por todo lo que les aprendí y por la oportunidad de trabajar con ellos.

A los compañeros del Laboratorio de Biomedicina de Conservación del Instituto Politécnico Nacional, Centro de Biotecnología Genómica de Reynosa; quienes me brindaron su confianza y apoyo incondicional e hicieron más amena mi estancia en Reynosa, Tamaulipas. Al igual, a la Dra. Amanda Alejandra Olivia Hernández quien me brindo su hogar parte de mi estancia, agradezco sus sabios consejos y su amabilidad.

A todos los estudiantes de servicio social y residencias que me apoyaron durante el desarrollo de la investigación; a mis compañeros, a los que criticaron mi trabajo gracias porque sus observaciones me hicieron fortalecer esta investigación y a todos aquellos que me dieron aliento de motivación, recomendaciones para mi formación, a todos ustedes gracias por su apoyo.

A CONACyT por el apoyo otorgado en mi periodo de maestría, al CIIDIR-IPN por permitirme realizar mis estudios de posgrado y finalmente al departamento encargado de esta área por siempre apoyarme con todos los trámites durante mi formación. Muchas gracias.

DEDICATORIA

A Dios, porque me ha colmado de bendiciones, me ha permitido culminar una etapa más en mi formación académica.

A mi familia porque es lo más valioso en mi vida, gracias infinitas por todo el amor que me brindan; pero en especial a mi madre la Sra. Aurora Valdés Valdovinos quien es el pilar de la familia gracias por siempre confiar en mí, por ser mi apoyo incondicional en los momentos más difíciles por tus motivaciones en seguir adelante a pesar de las adversidades, eres un gran ejemplo.

A mis hermanos Aurora Lizbeth y José Alfredo gracias por su paciencia, por estar siempre conmigo a cada momento en mi vida; pero en especial a Janeth quien en esta etapa no solo fue mi hermana, amiga, cómplice sino también formó parte de mis compañeros durante el posgrado, gracias por tus consejos, apoyo incondicional, y por ser mi mejor amiga. LOS AMO.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO I	3
1.1 Introducción.....	3
1.2 Planteamiento de Problema	5
1.3 Justificación.....	6
1.4 Hipótesis	7
1.5 Objetivos.....	8
1.5.1 General.....	8
1.5.2 Particulares	8
CAPITULO II.....	9
2.1 Caprinocultura	9
2.1.1 Producción de leche caprina	9
2.1.2 Diagnóstico actual de la obtención de la leche en Venustiano Carranza, Michoacán..	13
CAPÍTULO III	16
ARTÍCULO I: Prevalencia de Mastitis en Cabras Lecheras en una Región Semiárida de Michoacán, México	16
Resumen	16
PREVALENCE OF MASTITIS IN MILK GOATS IN A SEMIARID REGION OF MICHOACAN, MEXICO	17
Abstract.....	17

Introducción	18
Material y Métodos	20
Localización y clima.	20
Animales y muestreo.....	20
Alimentación y manejo.	21
Observación y palpación de la ubre.	21
Prueba de califonia para Mastitis (CMT).....	21
Análisis microbiológicos.....	22
Análisis de datos.....	22
Resultados	22
Discusión	25
Conclusiones.....	27
CAPÍTULO IV	29
ARTÍCULO II: Multirresistencia de las bacterias causantes de Mastitis Caprina frente a antimicrobianos.....	29
CAPÍTULO V	45
Conclusiones Integradas.....	45
Referencias	47

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Diagnóstico actual de los hatos lecheros de Venustiano Carranza, Michoacán	14
Tabla 2. Distribución por localidad de la prevalencia de mastitis en 11 hatos lecheros de caprinos en Michoacán, México.	23
Tabla 3. Razas.....	24
Tabla 4. Incidencia de especies bacterianas en muestras de leche.	24
Tabla 5. Interpretación para halos de inhibición.....	36
Tabla 6. Patógenos identificados en muestras de leche con mastitis.....	38
Tabla 7. Perfiles de la resistencia antimicrobiana de aislamientos Gram positivos de leche con mastitis caprina	39

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Ubicación geográfica del Estado de Venustiano Carranza, Michoacán.	12
Figura 2. Productos de amplificación de la PCR para la detección del gen <i>MecA</i>	40

ABREVIATURAS

ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AMX	Amoxicilina
BORSA	Borderline Oxacillin Resistant S. aureus
CC	Cuarto Ciego
CCS	Conteo de células somáticas
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CLT	Clortetraciclina
CMI	Concentración mínima inhibitoria
CMT	Prueba de California para Mastitis
COFOCALEC	Consejo para el Fomento de la Calidad de la Leche y sus derivados
CONARGEN	Consejo Nacional de los Recursos Genético Pecuarios
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNTPs	Desoxirribonucleósidos trifosfato
ETA	Enfermedades transmitidas por los Alimentos
ETP	Estreptomina
FVM	Flavomicina
INEGI	Instituto Nacional de Estadística y Geografía
LC	Lincomicina
LIA	Agar de hierro y lisina
MgCl ₂ ,	Cloruro de Magnesio
MODSA	Modified S. aureus
MRSA	Methicillin resistant S. aureus
NCCLS	National Committee on Clinical Laboratory Standards
NMX	Norma Mexicana
NOM	Norma oficial Mexicana

OXI	Oxitetraciclina
PBP	Penicillin-binding protein
PCR	Peacción en Cadena de Polimerasa
PEN	Penicilina
Rpm	Revoluciones por minuto
S ₂ H	Ácido Sulfhídrico
SCN	<i>Staphylococcus</i> coagulasa negativa
SIAP	Servicio De Información Agroalimentaria y Pesquera
TLS	Tilosina
TRY	Trimetoprima
TSI	Agar de hierro y triple azúcar
VA	Vancomicina

SÍMBOLOS

L	Litros
mL	Mililitro
μ l	Micro Litro
K	Kilo
g	Gramo
Mg	Miligramo
μ g	Microgramo
%	Porcentaje
β	Beta
mm	Milímetro
$^{\circ}$ C	Centígrado
cm	Centímetro
pH	Potencial hidrogeno
pb	Pares de base
V	Volts

RESUMEN

La palabra “mastitis” es un término empleado para hacer referencia a los cambios físicos, químicos y microbiológicos que adopta la leche como resultado de la interacción de patógenos tales como; el *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN) y *Streptococcus agalactiae*, ocasionando inflamación en las glándulas mamarias del animal, convirtiéndola en una de las principales enfermedades que afecta al sector ganadero ocasionando pérdidas económicas significativas en la producción total de leche y carne, aunado a los problemas de salud pública como consecuencia de la presencia de toxinas, sumado al uso indiscriminado de antibióticos que a su vez contaminan la leche e inhibe en parte la fermentación láctica, sumado a la resistencia que éstos están presentando ante los antimicrobianos, por lo cual, el objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de mastitis en cabras lecheras del municipio de Venustiano Carranza, Michoacán, así como la identificación de los principales patógenos involucrados con esta enfermedad. El tamaño de muestra fue (n=2874 cabras), obteniendo 819 muestras positivas a mastitis mediante la prueba de California en campo en 18 hatos lecheros (tomando 11 de éstos para fines de investigación); obteniendo así un universo de (n=997 cabras lactantes), identificando 475 positivas a mastitis; bajo un sistema de producción semi-intensivo. Donde la prevalencia estimada de mastitis subclínica fue del 47.15% seguido del 28.21% de clínica y finalmente crónica con el 24.21%; atribuido a la presencia de *S. aureus*, SCN y *Streptococcus agalactiae* con un 4.82, 39.57 y 13.26% respectivamente; analizando su sensibilidad antimicrobiana ante 10 antibióticos mostró una resistencia de 91.15% frente a la amoxicilina y un 89.68% a flavomicina, de esta manera más del 81.68% de las cepas analizadas resultaron multirresistentes a más de uno de los antibióticos utilizados en este estudio; finalmente las cepas sometidas a la técnica de PCR mostraron que el 18.9% fueron positivas a la presencia del gen *mecA*.

Palabras clave:

Multirresistencia, enfermedad, antibióticos, hipersensibilidad, toxicidad, leche.

ABSTRACT

The word "mastitis" is a term used to refer to the physical, chemical and microbiological changes that the milk adopts like result of the interaction of pathogenic such like; the *Staphylococcus aureus*, negative *Staphylococcus coagulasa* (SCN) and *Streptococcus agalactiae*, causing inflammation in the mammary glands of the animal, turning it into one of the main illnesses that it affects to the cattle sector causing significant economic losses in the entire production of milk and meat in addition to the problems of public health as a result of the presence of toxins, added to the indiscriminate use of antibiotics that in turn contaminate the milk and it inhibits partly the lactic fermentation, added to the resistance that these are presenting before the antimicrobial ones, for which, the target of this investigation was to determine the mastitis predominance in dairy goats of the municipality of Venustiano Carranza, Michoacán, as well as the identification of the main pathogenic ones involved with this illness. The sample size was (n=2874 goats), obtaining 819 positive samples to mastitis by means of the test of California in field in 18 dairy herds (taking 11 of these for investigation ends); obtaining this way a universe of (n=997 nursing goats), identifying 475 prints to mastitis; under a semi-intensive production system. Where the estimated predominance of subclinical mastitis was 47.15% followed by 28.21% of clinic and finally chronicle with 24.21% attributed to the presence of *S. aureus*, SCN and *Streptococcus agalactiae* with 4.82, 39.57 and 13.26% respectively; analyzing its antimicrobial sensibility to 10 antibiotics it showed a resistance of 91.15% opposite to the amoxilina and 89.68% to flavomicina, this way more of 81.68% of the analyzed vines resulted multiresistentes to more of one from the antibiotics used in this study; finally the vines submitted to the skill of PCR showed that 18.9 % was positive to the coarse presence of the *mecA* gene.

Keywords:

Prevalence, multiresistance, disease, antibiotics, hypersensitivity, toxicity

CAPÍTULO I

1.1 Introducción

A través de la evolución, el ser humano ha ido modificando el tipo de alimentos de su dieta diaria, entre ellos la leche, el cual es uno de los alimentos más complejos que existe en la naturaleza, por su adecuado balance de proteínas, vitaminas, minerales, lípidos, azúcares y agua, haciéndola sumamente vulnerable a la colonización bacteriana indeseada (Morales, 2011).

Sin embargo, uno de los principales retos a los que se enfrenta el hombre hoy día es a la presencia de enfermedades infecciosas ocasionadas por microorganismos patógenos los cuales constituyen una causa significativa de morbilidad y mortalidad a nivel mundial, tal es el caso de la mastitis caprina, involucrada con la disminución de la producción de leche, así como cambios patológicos en la ubre de los animales (Ruíz *et al.* 2013). De acuerdo a estudios relacionados con esta afección indican que los microorganismos con mayor prevalencia son los *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN), *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Escherichia coli*.

El *S. aureus* y SCN son agentes patógenos oportunistas responsables de una gran cantidad de infecciones tanto en humanos como en animales (Sánchez *et al.* 2013; Bolaños, 2012). En la actualidad, estos microorganismos están presentando mecanismos de resistencia a los antimicrobianos que son difíciles de detectar usando los métodos convencionales lo que constituye una limitante en el control y tratamiento de las enfermedades infecciosas, tal es el caso de la mastitis.

Por lo que, actualmente se están empleando técnicas de PCR múltiple para la detección simultánea de genes resistentes a los antibióticos tales como el gen *MecA* y *VanA* ya que resultando una herramienta útil para la confirmación de la resistencia de *Staphylococcus* meticilino resistentes.

Los aislamientos que poseen este elemento genético presentan una disminución en la afinidad a meticilina, lo cual, genera la resistencia bacteriana, por lo que han sido utilizados en diversos estudios para caracterizar la resistencia a β -lactámicos.

Algunas cepas de *S. aureus* han disminuido su sensibilidad a meticilina por un alto grado de producción de β -lactamasas contra la meticilina, y probablemente posea otros mecanismos de resistencia que incluyan la modificación del PBP, o hiperproducción de PBP (14-16). A éste grupo se le ha catalogado como Estafilococo dorado con Resistencia limite a Oxacilina (BORSA, lo que en ingles se describe como “borderline oxacillin-resistant *S. aureus*”). Este grupo no responde al tratamiento con las Penicilinas semi-sintéticas, ni cefalosporinas, pero sí a Imipenem (Carbapenem). La resistencia a meticilina en cepas de *S. aureus* es un problema creciente en el ámbito mundial, ya que las cifras graduales que se reportan son preocupantes, y el estafilococo dorado es un agente que se disemina fácilmente y el comportamiento el proceso es agresivo, con la que este agente no solo lleva resistencia a la meticilina, sino a la totalidad de antibióticos β -lactámicos, incluyendo cefalosporinas y carbapenem (Echevarría & Iglesias, 2003).

1.2 Planteamiento de Problema

Existe un grave problema de estacionalidad en la producción de la leche de cabra ya que, en la actualidad no se cuenta con un sistema auditable de producción de leche caprina que ofrezca al consumidor la garantía de un alimento seguro y aunado a ello, los productores de esta zona lechera concuerdan que se han tenido escasas campañas zoosanitarias por lo que las infecciones mamarias llegan a ser un problema grave para la producción lechera en cabras, así como para la salud pública, ya que de acuerdo a reportes de la FDA (2003), los lácteos representan el 14% de las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETA) reportando enfermedades tales como la brucelosis, disnea vascular, cólera, difteria, fiebre tifoidea, salmonelosis, tuberculosis, Fiebre Q y hepatitis infecciosa por el consumo de leche contaminada; aunado al desarrollo de mecanismos de resistencia que están presentando los microorganismos ante los antimicrobianos de uso convencional; derivando pérdidas económicas que para los productores y empresas lácteas de la región.

Desafortunadamente en México, existe una escasa información del estado epidemiológico de la misma al igual que una adecuada legislación pecuaria para la caprinocultura debido a que la mayoría de las investigaciones existentes están dirigidas al sector bovino.

1.3 Justificación

La mastitis caprina es una enfermedad multifactorial de la cual existe una escasa literatura a nivel mundial, nacional y regional, ya que la mayoría de los informes al respecto están dirigidos al sector bovino. En esta perspectiva, Michoacán solo cuenta con sólo un reporte llevado a cabo en el municipio de Tanhuato por lo que, la finalidad de este estudio es generar información referente a los diferentes géneros bacterianos presentes en la leche de cabras con mastitis, dado que es un problema que produce pérdidas económicas de aproximadamente \$2, 500,000 pesos anuales. Por otra parte, pero no menos importante es la aplicación de antimicrobianos, la que conlleva a la reducción de pérdidas económicas y a su vez un bienestar animal; sin embargo, el uso indiscriminado ha llevado a un incremento en la aparición de resistencia bacteriana que no solo repercute a los animales sino también a la población humana por la presencia de residuos en la leche.

1.4 Hipótesis

La prevalencia de mastitis caprina aportará información respecto a los agentes etiológicos involucrados así como su susceptibilidad a diferentes antimicrobianos en los hatos lecheros del municipio de Venustiano Carranza del estado de Michoacán.

1.5 Objetivos

1.5.1 General

Determinar la prevalencia e identificación de agentes etiológicos causantes de la mastitis caprina así como su susceptibilidad antimicrobiana en hatos lecheros del municipio de Venustiano Carranza en el estado de Michoacán.

1.5.2 Particulares

1. Determinar la situación actual de los hatos lecheros de la región.
2. Determinar la prevalencia de mastitis en las cabras lecheras de Venustiano Carranza, Michoacán.
3. Identificar las bacterias de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* como principal agente patógeno involucrado en la mastitis caprina.
4. Determinar la susceptibilidad a antimicrobianos.

CAPITULO II

2.1 Caprinocultura

En la actualidad, la caprinocultura resulta de gran importancia para el desarrollo de la economía de las poblaciones donde las condiciones ecológicas son desfavorecidas, es decir, tierras pobres para llevar a cabo la agricultura aunado a la falta de conocimientos respecto a la aplicación de las buenas prácticas de manejo, bioseguridad y conservación del medio ambiente, demostrando así que las cabras tienen una resistencia y adaptabilidad a este tipo de regiones (Morales *et al.* 2012; Piezada *et al.* 2016); siendo una de las especies más útiles al hombre dado a que en los últimos años ha ido incrementando su interés, ya que es proveedora de al menos 3% de los suplementos lecheros del mundo y probablemente el número de personas que la consumen exceden a los consumidores de la leche de vaca (Ortega, Hernández & Gallegos, 2007); reflejándose en el censo caprino de la Unión Europea, Estados Unidos e Israel donde su producción láctea supera el 27% de la mundial. Ésta especie fue introducida al Caribe en el siglo XVI por los españoles y posteriormente al continente americano; durante el periodo de las grandes guerras, la crianza de caprinos fue en aumento ya que representaba una fuente de alimentación (Arechiga *et al.* 2008).

2.1.1 Producción de leche caprina

De acuerdo a CONARGEN (2010), se estima que la población mundial de cabras es de 620 millones de cabezas, distribuidas de la siguiente manera; Asia con 55.4%, África 29.8%, 10.3% en América, 4.4% en Europa y apenas 0.1% en Oceanía. Se calcula que las cabras aportan 6% de la carne mundial (28 millones de toneladas), 2% de la leche (7.2 millones de toneladas) y 4% de las pieles; lo que las convierte en un especie de mayor subsistencia en comparativa con la bovina y ovina (Arechiga *et al.* 2008).

Aunado a lo anterior, México registra aproximadamente entre 9 y 10 millones de cabezas de cabras, considerado como el rebaño más grande del continente; distribuidos fundamentalmente en cuatro zonas: Árida y Semiárida 39.7%, Centro-Bajío 21.4%, Región Mixteca 26.4% y Zona Tropical 12.4% (Jiménez *et al.* 2013). Hoy día, la demanda de productos lácteos provenientes de las cabras sigue en aumento, dado que existen 494,000 unidades de producción rural consagrada a la caprinocultura representado por aproximadamente 1.5 millones de mexicanos (Arechiga *et al.* 2008), tal es el caso de la Comarca Lagunera localizada al norte de México convirtiéndola en la zona más importante productora de leche caprina en el país, donde las grandes empresas han sabido explotar a las cabras lecheras, donde destacan las razas de Anglo-Nubian, Alpina, Saanen y Toggenburg, bajo una producción intensiva y con altos insumos tecnológicos (Escareño *et al.* 2011); se estima que el valor promedio en la producción primaria de leche y carne es de tres millones de pesos (López *et al.* 2011).

El tamaño promedio de los rebaños es relativamente variado sin embargo, las explotaciones menores a 30 cabras son las predominantes (López *et al.* 2011); 64% de las cabras se concentran en los sistemas de producción característicos de las zonas áridas y semiáridas y el 36% restante en la región templada del país (Escareño *et al.* 2011). Los sistemas de producción regionales son heterogéneos, con rezagos tecnológicos y de sanidad con poca o nula organización e integración. En ese contexto, la caprinocultura mexicana genera anualmente cerca de 43,000 toneladas de carne y más de 160 millones de litros de leche. De esta última cifra, más de 70% es producido en los sistemas extensivos de las zonas áridas y semiáridas, aproximadamente el 25% en los sistemas intensivos (CONARGEN, 2009). Los estados con mayor población caprina de acuerdo a la SIAP (2011) son: Durango (21.33%), Nuevo León (2.46%), Chihuahua (4.86%), Zacatecas (3.36%), San Luis Potosí (2.09%), Guanajuato (15.77%), Jalisco (4.54%) y Michoacán (2.39%) de los cuales se obtiene el 93% de la leche de cabra generada a nivel nacional.

Michoacán es el octavo productor a nivel nacional de leche caprina, ya que produce alrededor de 11 millones de litros anuales, dentro de los principales municipios se encuentran: Tanhuato, Puruándiro, Zacapú, Churintzio, Zináparo, Yurécuaro, Venustiano Carranza y Villamar. Sin embargo, gran parte de esta producción se encuentra concentrada en Tanhuato, (municipio que se encuentra entre Zamora y La Barca, Jalisco) (Iruegas, 1999).

Por su parte, la Ciénega de Chapala produce más de 5 millones de litros (casi el 50% de la producción estatal). Gran parte de esta producción la capta el centro de acopio de Coronado en Jamay, Jalisco, población que se encuentra en esta zona. La seguridad en la compra que se ha observado por el centro de acopio de Coronado en los últimos años, ha motivado a los productores a conservar, cuidar y aumentar en algunos casos sus rebaños. Otras empresas que compran leche de cabra en la región son Frexport, Real de Potosí y Productos Aldama. La producción de leche que no se vende a Coronado se mezcla con leche de vaca para la fabricación de quesos y dulces (Iruegas, 1999).

De acuerdo a SAGARPA (2015), se apoyará al acondicionamiento de un centro de acopio comunitario de leche de cabra y de ovino con capacidad para procesar hasta 10 mil litros diariamente, en beneficio de 300 ganaderías en la región de la Ciénega de Chapala, ubicada en el estado de Michoacán, cercano a los municipios de Zamora y Jiquilpan. Este centro de acopio comunitario será instalado en la ex hacienda del ejido de Emiliano Zapata, perteneciente al municipio de Villamar, para darle un valor agrado a la leche produciendo quesos, yogurt, cajetas, dulces, entre otros, los cuales se podrán comercializar a mejores precios. Es por ello, que el tema de la mastitis continúa siendo una de las causas más importantes de enfermedad y pérdidas económicas en la industria lechera.

Sin embargo, en la actualidad los hatos lecheros del municipio de Venustiano Carranza (**Figura 1**) presentan una evidente deficiencia en la salud e higiene de los animales, en consecuencia de las malas prácticas de manejo a raíz del rezago tecnológico, así como a la escasa información referente al estado epidemiológico en nuestro país; contribuyendo al desarrollo de la mastitis, representando pérdidas sanitarias y económicas significativas en la industria lechera, afectando considerablemente la salud tanto del animal como la calidad sanitaria de la leche, convirtiéndola en peligro potencial a la salud pública por el consumo de una posible leche contaminada por agentes biológicos como el *Staphylococcus aureus* de origen animal, *Escherichia coli*, *Salmonella sp* y *Listeria* (Manjarrez *et al.* 2012) relacionados con brotes de intoxicaciones e infecciones alimentarias (Patiño, 2012).



Figura 1. Ubicación geográfica del estado de Venustiano Carranza, Michoacán.

La enfermedad comienza a manifestarse una vez que el microorganismo ha penetrado en el canal del pezón e inicia su multiplicación en la glándula mamaria; la abertura del pezón funge como la primera línea de defensa contra cualquier infección; su interior está compuesto por un tejido musculoso que sirve como válvula cuya función es mantener el canal del pezón cerrado, previniendo el flujo de la leche hacia el exterior y la entrada de bacterias hacia el interior de la ubre donde las células que componen el interior del canal del pezón producen una sustancia llamada “queratina”, compuesta por un material fibroso proteico y ácidos grasos que en conjunto poseen un fuerte poder antibacteriano, por lo que es una barrera efectiva contra la introducción de bacterias en la ubre. Durante el ordeño, las bacterias pueden estar presentes cerca o en el esfínter del pezón debido a su presencia en el lodo, tierra y/o estiércol. De esta forma, la colonización bacteriana también puede ocurrir si la piel del pezón tiene alguna lesión, si la superficie de las pezoneras o mangueras de conducción de leche están sucias, y principalmente si el procedimiento de preparación pre-ordeño no es lo suficientemente sanitario e higiénico. Una segunda defensa son los leucocitos (células blancas de la leche) ya que se encargan de destruir o neutralizar a las bacterias invasoras para que así el tejido mamario en la ubre pueda reconstituirse y eventualmente retorne a su estado productivo normal (Harmon, 1994).

Ante esto se procedió un diagnóstico actual del estado sanitario en el que se encuentran 11 hatos lecheros del municipio mediante la lista de verificación con referencia a la Norma Mexicana NMX-F-730-COFOCALEC-2008 Sistema Producto Leche-Alimentos-Lácteos-Guía de

Prácticas de higiene recomendadas para la obtención de leche y validada por Fundación Produce Michoacán; posteriormente se realizó un análisis en campo mediante la prueba de California para determinar la incidencia de mastitis en estos hatos lecheros (Bedolla, 2007).

2.1.2 Diagnóstico actual de la obtención de la leche en Venustiano Carranza, Michoacán

El análisis estadístico para el diagnóstico actual de las condiciones generales fue una estadística no paramétrica obteniendo así los siguientes resultados; para el personal (**Cuadro 1**).

El número de personal involucrado en la obtención de leche en promedio es de 2 y en su mayoría son miembros de la misma familia; es importante señalar que en general el personal encargado no utiliza el uniforme sanitario correspondiente (overol y cofia); aunado a una falta de higiene ya que no tienen la precaución de desinfectarse las manos antes de la ordeña; cabe señalar que el 88.23% no conoce sobre las buenas prácticas de higiene. Aunado a lo anterior, el personal no cuenta con la aplicación de análisis clínicos cotidianos como lo estipula la NOM-120-SSA1-1994. Mientras tanto, el 64.70% de las instalaciones de ordeño cuentan con un corral de manejo de material rustico, 88.23% de éstas no cuenta con servicio eléctrico mientras que el 41.17% no cuenta con el servicio de agua potable, propiciando que su almacenamiento se lleve a cabo en tambos.

Con respecto a las razas caprinas: en los hatos lecheros muestreados predomino la Saanen representando el 81.7% seguida de la Alpina y Toggenburg ambas con el 7.4%, ya que cuando el ganado sufre de una cruce pierde sus características “rusticas”; mientras tanto el 100% de los productores tiene sus hatos controlados por medio de aretes, de esta manera el 82.35% cuenta con un programa de vacunación y desparasitación; por lo que en ocasiones llegan a presentar problemas respiratorios; al mismo tiempo el 82.45% participa en el programa de control de Brucella y Tuberculosis; mientras que el 5.88% no cuenta con esta certificación. Finalmente el 82.35% de los productores expresaron que su ganado ha presentado antecedentes de mastitis.

Tabla 1. Diagnóstico actual de los hatos lecheros de Venustiano Carranza, Michoacán

Pregunta	Porcentaje	
	Si	No
Persona		
Número de personas que participan en los procesos de obtención de leche	2-3 personas	
Cuantos son miembros de la familia	1(17.64), 2(58.82), 3(23.53)	
El personal conoce y aplica las buenas práctica de higiene	2(11.76)	15(88.23)
¿Cuáles?	2(11.76)	15(88.23)
Instalaciones		
¿En lugar de producción tiene áreas de forma independiente?		
Corral de manejo:	11(64.70)	6(35.29)
Área de ordeño:	10(58.82)	7(41.17)
¿Los lugares antes mencionados, con excepción del corral de manejo, se encuentran protegidos de la intemperie, y cuenta con piso estabilizado?	8(47.05)	9(52.94)
¿Cuenta con servicio de electricidad?	2(11.76)	15(88.23)
¿Cuenta con agua potable y en cantidad suficiente?	10(58.82)	7(41.17)
¿Cuál es la fuente?	8(47.05)	9(52.94)
¿Conoce su calidad?		100
¿Almacena agua potable?	7(41.17)	10(58.82)
¿En qué forma?	Tinaco(11.76); Cantara (5.88); Tambos (29.41)	9(52.949)
¿Las diferentes áreas de producción y el establo se encuentran limpias y ordenadas?	6(35.29)	11(64.70)
Ganado		
Número de cabezas del hato lechero:	(25-213)	
Raza del ganado:	Saanen, Alpina, Toggenburg, Nubia	
¿Están identificadas sus animales?	100	
¿De qué manera?	100	
¿Cuenta con asistencia de un médico veterinario?		
a) Público b) Privado	16(94.11)	1(5.88)
¿Cuenta con un programa de desparasitación o vacunación?	14(82.35)	3(17.64)

¿Participa en el programa de control de brúcela y tuberculosis?	14(82.35)	3(17.64)
¿Cuándo fue la última vez que se realizó el último estudio de control de brúcela y tuberculosis?		
a) Hace 5 años b) Hace 3 años c) Hace 2 años d) hace 1 año e) Nunca	a(29.41); b(5.88); c(5.88); d(58.82); e(5.88)	
¿El ganado tiene problema de mastitis?	14(82.35)	3(17.64)
¿Con que frecuencia?	Regular (64.70); Poca (17.64)	3(17.64)
¿Cómo la controla?	Medicamento (82.35)	3(17.64)
¿Separa la leche de los animales tratados con medicamentos respetando el tiempo indicado por el fabricante en la etiqueta del medicamento?	7(41.17)	10(58.82)
¿Quién le recomienda los medicamentos utiliza?	Médico (94.11); Por comentarios (5.88)	

CAPÍTULO III

ARTÍCULO I: Prevalencia de Mastitis en Cabras Lecheras en una Región Semiárida de Michoacán, México

Resumen

La palabra “mastitis” es un término empleado para hacer referencia a los cambios físicos, químicos y microbiológicos que adopta la leche como resultado de la interacción de patógenos ocasionando inflamación en las glándulas mamarias del animal, convirtiéndola en una de las principales enfermedades que afectan al sector ganadero ocasionando pérdidas económicas significativas en los hatos lecheros por la depreciación en la producción total de leche, por lo cual, el objetivo de esta investigación fue determinar la prevalencia de mastitis en cabras lecheras de Michoacán, México; a través de la identificación de los principales patógenos causales de esta enfermedad. Mediante el muestreo de 11 hatos lecheros de tres localidades del municipio de Venustiano Carranza, Michoacán; el tamaño de muestra fue (n=997 cabras lactantes), obteniendo 475 positivas a mastitis mediante la prueba de California; bajo un sistema de producción semi-intensivo. Donde la prevalencia estimada de mastitis subclínica fue del 47.15% seguido del 28.21% de clínica y finalmente crónica con el 24.21%; atribuido a la presencia de *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa negativa* y *Streptococcus agalactiae* con un 4.82, 39.57 y 13.26% respectivamente.

Palabras claves:

Enfermedades¹, glándula mamaria², patógenos³, pérdidas⁴, prueba California⁵.

PREVALENCE OF MASTITIS IN MILK GOATS IN A SEMIARID REGION OF MICHOACAN, MEXICO

Abstract

The word "mastitis" is a term used to refer to the physical, chemical and microbiological changes that milk takes as a result of the interaction of pathogens causing inflammation in the mammary glands of the animal, making it one of the main diseases affecting the The objective of this research was to determine the prevalence of mastitis in dairy goats from Michoacán, Mexico, and to determine the prevalence of mastitis in lactating dairy herds. Through the identification of the main causal pathogens of this disease. By means of the sampling of 11 dairy herds of three localities of the municipality of Venustiano Carranza, Michoacán. The sample size was (n = 997 lactating goats), obtaining 475 positive to mastitis by the California test; under a semi-intensive production system. Where the estimated prevalence of subclinical mastitis was 47.15% followed by 28.21% of clinical and finally chronic with 24.21%; attributed to the presence of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulase negative and *Streptococcus agalactiae* with 4.82, 39.57 and 13.26% respectively.

Keywords:

Diseases¹, mammary gland², pathogens³, lost⁴, test California⁵.

Introducción

La caprinocultura en la actualidad ha demostrado tener un gran impacto en el desarrollo económico y social en las poblaciones donde las condiciones ecológicas son desfavorecidas, es decir, tierras pobres para los cultivos agrícolas aunado a la falta de conocimientos sobre buenas prácticas de manejo, bioseguridad y conservación del medio ambiente, sin embargo, las cabras han demostrado tener una resistencia y adaptabilidad para sobrevivir en este tipo de regiones (Morales *et al.* 2012; Pirzada *et al.* 2016).

En el año 2007 se estimó una población mundial de 50 millones de cabezas de cabra, donde el 5% se localiza en América Latina (Ruíz *et al.* 2013); en este mismo sentido, México valuó una población cercana a los nueve millones lo que lo convierte en el décimo sexto lugar nivel mundial y segundo en Latinoamérica produciendo 168,000 toneladas de leche, representando así un importante medio de ingreso y fuente de alimentación para las familias campesinas (Morales *et al.* 2012); distribuidas fundamentalmente en cuatro zonas: árida y semiárida 39.7%, mixteca 26.4%, tropical 12.4% y centro-bajío 21.4% (SAGARPA, 2011); en esta región se localiza el estado de Michoacán, el cual, se posiciona en el octavo lugar como productor de leche caprina a nivel nacional con una producción de 11 millones de litros anuales representando el 2.8% a nivel estado; por su parte, los municipios que integran esta producción son: Tanhuato, Puruándiro, Zacapú, Churintzio, Zináparo, Venustiano Carranza, Villamar y Yurécuaro produciendo 4 millones de litros anuales con un valor de producción de 17 millones 713 mil pesos (OEIDRUS, 2016; INEGI, 2009).

Sin embargo, en la actualidad los hatos lecheros del municipio de Venustiano Carranza presentan una evidente deficiencia en la salud e higiene de los animales, en consecuencia de las malas prácticas de manejo a raíz del rezago tecnológico, así como a la escasa información referente al estado epidemiológico del país; contribuyendo al desarrollo de esta enfermedad, representando pérdidas sanitarias y económicas significativas en la industria lechera, afectando considerablemente la salud tanto del animal como la calidad sanitaria de la leche, convirtiéndola en peligro biológico a la salud pública por el consumo de una posible leche contaminada por agentes patógenos como el *Staphylococcus aureus* de origen animal, *Escherichia coli*,

Salmonella sp y *Listeria* (Manjarrez *et al.* 2012) relacionados con brotes de intoxicaciones e infecciones alimentarias (Patiño, 2012).

La mastitis, enfermedad característica por la inflamación de las glándulas mamarias teniendo como consecuencia una disminución en la cantidad y calidad de la leche convirtiéndola en la afección más costosa y común en gran parte del mundo en el sector ganadero; de acuerdo a los signos de la enfermedad, puede ser clasificada en subclínica, clínica y crónica (Zhao *et al.* 2015; Manjarrez *et al.* 2012). En su mayoría, las principales bacterias patógenas causantes se encuentran; *S. aureus*, *Staphylococcus* coagulasa negativa (SNC) y *Streptococcus agalactiae* entre otros patógenos medioambientales (Bourabah *et al.* 2013). A través del aislamiento de las muestras de leche en cultivo bacteriano es posible dar un diagnóstico definitivo de mastitis, lo cual suele resultar con un costo considerable y con el inconveniente de obtener resultados tardíos; por ello, con la finalidad de facilitar el diagnóstico de mastitis subclínica en campo se han desarrollado métodos indirectos como lo son: el conteo de células somáticas (CCS) y la prueba de California (CMT) (Suarez *et al.* 2014).

Las “células somáticas” hacen referencia al conteo de leucocitos muertos (95%) así como el (5%) de células epiteliales exfoliadas del epitelio mamario; el 98% de las células somáticas son una manifestación como respuesta a una incursión bacteriana (Chacón, Vargas & de la Paz, 2006); relacionadas con la baja en producción disminuyendo hasta el 18% de ésta, lo que la convierte en una medida de uso común de la calidad de leche en productos lácteos (McDougall, Malcolm & Prosser, 2014).

Mientras que la prueba CMT es la más utilizada ya que resulta económica a corto plazo; indicando si las células se encuentran en sus niveles normales, basada en la reacción entre el reactivo (lauril sulfato de sodio y púrpura de bromocresol) y la leche, los cuales al ser diluidos rompen las paredes celulares externas y las nucleares de los leucocitos constituidos principalmente por grasa, donde el ADN es liberado del núcleo; gelificándose formando una masa fibrosa en una forma lineal (Suarez *et al.* 2014; Bedoya, Alberto & Montes, 2016).

Aunado a lo anterior, en el 2011 se describe al examen microbiológico como una alternativa específica de control para la identificación de patógenos, descarte de animales enfermos crónicamente, así como la valoración de nuevos tratamientos para la identificación de susceptibilidad a los antibióticos (Ruíz *et al.* 2001).

México, actualmente no cuenta con leyes sanitarias las cuales garanticen la calidad de la leche caprina. Sin embargo, países como Estados Unidos y Europa recomiendan que está contenga menos de 1 ó 1,5 millones de células somáticas, por lo que el objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de mastitis en cabras lecheras de una región semiárida de Michoacán, México; a través de la identificación de los principales patógenos causales de la enfermedad de mastitis caprina.

Material y Métodos

Localización y clima.

El municipio de Venustiano Carranza se localiza en la parte noreste del estado de Michoacán situado entre los paralelos 20°04' y 20°13' de latitud norte; los meridianos 102° 33' y 102°48' de longitud oeste; altitud de 1527 metros, representando así el 0.39% de la superficie del estado (INEGI, 2009). El clima de la región es semicálido subhúmedo con lluvias en verano, de menor humedad (86.87%), con un rango de precipitación de 700-800 mm con temperaturas de 16-22°C. El sistema de producción de esta región es semi-intensivo o semi-estabulado el cual consiste en la crianza del ganado caprino combinando dos actividades principales: el pastoreo-ramoneo y en la tarde-noche los animales son estabulados proporcionándoles un suplemento alimenticio de forrajes, granos concentrado o algún tipo de agregado (Aréchiga *et al.* 2008).

Animales y muestreo.

De acuerdo a la Asociación de caprinocultura de Cumuatillo existen 30 rebaños con aproximadamente 25-200 animales en este municipio; en base a esto, el muestreo correspondiente a los 11 hatos lecheros fue de (n=997) del periodo de mayo-agosto del 2016. Los rebaños fueron elegidos en base a los productores que cumplían con las características del estudio, es decir, que el número de cabras fuese mayor a las 36 cabezas de cabras siendo las principales razas la Saanen, Toggenburg, Alpina y sus nuevas cruces.

Alimentación y manejo.

Los productores de las localidades de Cumuatillo, Pueblo viejo y San Pedro lugares dónde se realizaron los muestreos, alimentan a sus animales con pasto, maíz, sorgo y alfalfa. El ordeño de las cabras se realiza manualmente una vez al día donde se observó que en algunos de los hatos lecheros no se tienen los cuidados de higiene, al no lavar las ubres y en otros no utilizar el sellador.

Ante esto se aplicó un cuestionario diagnóstico con la finalidad de conocer el estado actual de las cabras respecto a la sanidad en el cual se incluyeron problemas respiratorios, abortos, etc.; la prueba, lectura y registro se realizó mediante la lista de verificación con referencia a la Norma Mexicana (NCCLS, 2015).

Observación y palpación de la ubre.

Los muestreos se iniciaron con una palpación de la ubre ya que, en la mastitis subclínica la ubre aparentemente se encuentra sana y a simple vista la leche producida por las cabras con esta afectación es normal, pero una infección incipiente puede estar afectando el tejido glandular y provocando una alteración en la leche producida. Dicha infección puede causar inflamación en una o ambas ubre así como de toda la glándula mamaria, presentando temperatura de la zona afectada, así como enrojecimiento y dolor.

Prueba de california para Mastitis (CMT).

Los muestreos se realizaron mediante la prueba de california clasificados como 0 (negativos y trazas), 1(+), 2 (++) y 3(+++) para las posibles infecciones. A partir de ello, se obtuvieron muestras de leche de cada ubre afectada de 5-10 mL de leche aproximadamente en frascos estériles; para ser refrigeradas y transportadas en una hielera a 4°C al laboratorio del CIIDIR Unidad Michoacán (Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional) para su aislamiento e identificación bacteriana.

Análisis microbiológicos.

Se sembró una asada de las muestras de leche en gelosa sangre 5%. A partir de las muestras presuntivas se llevaron a cabo frotis fijos, teñidos con Gram para realizar la identificación morfológica de los distintos tipos de bacterias. Para los cocos Gram positivos se llevó a cabo la prueba de catalasa y posteriormente las pruebas bioquímicas correspondientes así como: sal y manitol para la identificación de *S. aureus* de esta manera también se realizaron pruebas de coagulasa, mientras que para cocos positivos a catalasa se realizó la prueba de CAMP, para los bacilos Gram positivos y negativos a catalasa negativa se llevaron a cabo las pruebas bioquímicas agar de hierro y triple azúcar (TSI), agar de hierro y lisina (LIA) y Citrato de Simmons (Ruíz *et al.* 2013).

Análisis de datos.

Los resultados se analizaron usando Microsoft Office Excel 2013, y se presentó en porcentajes calculado por la división del número de muestras positivas de mastitis con el número total de cada una de las muestras analizadas por 100.

Resultados

Los rebaños en el municipio de Venustiano Carranza variaron de 25-200 cabras (lactantes y secas) con una medida de total del 87.5% de las cabras muestreadas.

Los hatos analizados mostraron al menos de 4 a 80 cabras con mastitis. Del 91% de las cabras lecheras muestreadas se observó una prevalencia de mastitis general de cabras afectadas (475/997) 47.64%, resultando así 224 (47.15%) ubres positivas a mastitis subclínica, 134 (28.21%) para clínica y finalmente 115 (24.21%) crónica representados en la **Tabla 2**. En este mismo sentido, la raza con mayor prevalencia fue la Saanen representando el 81.7% seguida de la Alpina y Toggenburg ambas con el 7.4% (**Tabla 3**).

Tabla 2. Distribución por localidad de la prevalencia de mastitis en 11 hatos lecheros de caprinos en Michoacán, México.

Localidad	N. Cabras	N. Ordeño	N. Muestreados	No. 1/2 Muestreados	Mastitis	Subclínica	Clínica	Crónica	Cc*	Mc **
Cumuatillo	102	102	102	204	30	18	9	1	1	1
	180	150	145	290	25	21	4	0	0	0
	230	102	85	170	20	16	4	0	0	0
	200	200	158	316	40	17	17	3	1	2
	135	102	102	204	34	14	18	1	1	0
	200	111	103	206	78	39	29	10	0	0
Pueblo Viejo	120	70	69	138	61	18	11	32	0	0
	185	120	68	136	68	39	16	13	0	0
	86	52	52	104	32	12	6	14	0	0
	134	105	105	210	83	30	18	34	1	0
San Pedro	36	9	8	16	4	1	2	1	0	0
Total	1608	1123	997	1994	475	224	134	115	4	3

CC* Cuartos ciegos; MC** Mastitis crónica con antecedentes

Tabla 3. Razas

Razas	Promedio (%)
Saanen	81.7
Alpina	7.4
Toggenburg	7.4
Cruzas	3.5

Aunado a lo anterior, dentro del universo de 997 cabras muestreadas se obtuvieron 4 ubres ciegas y/o no productivas (tres en la ubre izquierda y una en la derecha), las cuales son ubres que padecieron mastitis crónica y a raíz de ello dejaron de producir leche; a su vez se identificaron 3 casos con antecedentes previos de haber padecido mastitis crónica.

Al realizar la comparativa correspondiente de los resultados obtenidos del CMT con los exámenes microbiológicos se obtuvo un total de 475 ubres afectadas con mastitis de la cual la subclínica fue la de mayor prevalencia representado el 47.15 de ubres afectadas (\geq a la clínica y crónica) donde los agentes de mayor prevalencia fueron SCN (39.57%), *Streptococcus sp* (13.26%), *S. aureus* (4.82%) y otros (40.84%) como se observa en la **tabla 4**.

Tabla 4. Incidencia de especies bacterianas en muestras de leche.

Familia	Especie	Total Incidencia (%)
Enterobacteriaceae	<i>E. coli</i>	1(0.21)
	<i>Klebsiella sp</i>	6(1.47)
Micrococcaceae	SCN	188 (39.57)
	<i>S. aureus</i>	23(4.82)
Peptostreptococcus	<i>Peptococcus sp</i>	26(5.47)
Clostridiaceae	<i>Clostridium sp</i>	27(5.68)
Corynebacteriaceae	<i>Corynebacterium sp</i>	10(2.53)
Streptococcaceae	<i>Streptococcus agalactiae</i>	63(13.26)
	N/D*	5 (1.05)
	N/M**	1(0.21)
	Otros***	125(25.47)

* No desarrollado, ** No muestreado;***Incluye no identificados: Bacilos positivos y negativos, cocos positiv

Discusión

La calidad que puede adquirir la leche está estrechamente relacionada con la ausencia de mastitis en los hatos lecheros, ya que representa un impacto de importancia económico, de higiene y legal considerable (Bazan *et al.* 2009). En este sentido, en el presente estudio la prevalencia general de animales con mastitis encontrada fue de (47.64%) dichos resultados no distan de acuerdo con los obtenidos por otros autores (Pirzada *et al.* 2016; Bourabah *et al.* 2013) quienes reportaron un 52,63% y 33.9% respectivamente de prevalencia de mastitis subclínica. Conviene subrayar que de acuerdo a la literatura, la mastitis subclínica no es detectable a simple vista o mediante métodos clínicos como la inspección, la palpación y el examen organoléptico, por lo cual, su diagnóstico está basado en el CCS y CMT así como el examen bacteriológico.

Aunado a lo anterior, los principales microorganismos involucrados en el estudio fueron los SCN con 36.42% convirtiéndolo en el principal patógeno identificado en mastitis subclínica confirmando los resultados obtenidos por (Zhao *et al.* 2015; McDougall, Malcolm & Prosser, 2014; Bourabah *et al.* 2013; Ruíz *et al.* 2013) quienes reportaron que los SCN son el principal género bacteriano con mayor prevalencia (59.52, 13.4, 15.54 y 63.91%) respectivamente. En esta misma perspectiva, en el 2015 se realizó un estudio por (Cortimiglia *et al.* 2015) donde se analizaron hatos lecheros de cabra al norte de Italia, reportando 85/197 muestras positivas (43.1%) correspondientes al género de *S. aureus* obteniendo una similitud con otros estudios llevados a cabo en Suiza y Taiwán donde refieren que hubo una prevalencia de 31.7 y 96.2% correspondientemente; es posible que esto se deba al medio ambiente donde se encuentran los rebaños, así mismo algunos estudios lo atribuyen a la utilización de equipo de ordeño para la producción.

Por otra parte, cabe resaltar que en este estudio de las 475 muestras positivas se logró identificar 10 tipos de especies donde al ser los SCN las bacterias de mayor prevalencia seguido de *Strep. agalactiae* (13.26%) y finalmente *S. aureus* representaron un 4.82% se corrobora lo descrito por (Ruíz *et al.* 2013), donde analizaron 484 aislados siendo los SCN las bacterias con mayor frecuencia con el (63.9%), *Strep. uberis* (1.6%), *S. caprae* (1.6%) y *S. epidermidis* (1.6%) coincidiendo con los hallazgos reportados en el 2015 (Zhao *et al.* 2015) en el cual se reportó una mayor prevalencia de mastitis subclínica involucrada por el SCN (59.52%), *S. aureus*

(15.24%). *E. coli* (11.43%) y *Streptococcus spp* (10.95%); mientras que en el 2016 (Pirzada *et al.* 2016) registraron una alta incidencia de *S. aureus* (36.84%) en mastitis subclínica, seguida de *Bacillus subtilis* (18.42%), *Bacillus cereus* (10,52%), *Proteus vulgaris* (9.21%), *Strep. agalactiae* (2.63%) entre otras especies. Por su parte, en el 2013 (Bourabah *et al.* 2013) reportaron a las *Enterobacteriaceae* como la principal bacterias predominante sus aislados.

Cabe mencionar, que se pueden identificar otro tipo de géneros involucrados con esta enfermedad como lo refieren en el 2014 (Paterna *et al.* 2014) los brotes de mastitis subclínica y clínica pueden estar relacionados principalmente por *S. aureus*, así como por *Mycoplasma spp* y *Pseudomonas spp*, dado que en su estudio reportaron un análisis de 820 muestras de leche con mastitis clínica donde fue asociado a *Mycroplasma*s con una presencia del 16.5%, donde (*M. agalactiae* fue el más destacado en este estudio con el 91.4% en comparativa con el *M. mycoides subsp capri* con el 5.7% y aún más sobre el *M. putrefaciens* con 3%); dentro de las bacterias más sobresalientes fueron los estafilococos con el 75.5%, (19% fueron *S. aureus* seguido de los bacilos Gram-negativos 11.7%, mientras que los *Streptococcus* el 7.7%).

Se debe agregar que hasta el momento no se han encontrado evidencias de cambios significativos en muestras de leche infectada crónicamente por *Mycoplama spp* y en aquellos que presentan brotes clínicos, por lo que si el hato tiene antecedentes de agalaxia contagiosa (CA) causada por *Mycoplasmas* se recomienda que en el diagnóstico de rutina se realice mediante el aislamiento en el medio de cultivo o identificación molecular.

Así mismo, es probable que exista una diferencia en el porcentaje de aislamientos en comparativa con otros estudios realizados debido a que no llevan a cabo la identificación bacteriana como es el caso del estudio reportado en el 2009 (Bazan *et al.* 2009) donde obtuvieron un 30.5% en cabras lecheras de 25 hatos caprinos en cuatro localidades del municipio de Tanhuato, Michoacán; de los cuales en dos de ellos el sistema de producción empleado fue semi-intensivo (pastoreo durante el día y estabulación por la noche) el resto pertenecían a un sistema intensivo; siendo las Saanen, Toggenburg y la Alpina las principales razas de cabras identificadas, es así como los autores no mencionan cuales fueron la bacterias involucradas con esta afección, cabe resaltar que es el único estudio con el que se cuenta en el estado.

Por lo que se refiere a la mastitis por *S. aureus* ocupa el primer lugar en bovinos, mientras que las cabras representan el segundo lugar, donde los principales patógenos involucrados con la mastitis clínica y subclínica son los SCN, lo cual puede hacer referencia a las malas prácticas de higiene empleadas en los hatos lechero donde se llevaron a cabo los muestreos, debido a que estos agentes pueden transmitirse de un animal a otro cuando las medidas de bioseguridad durante el ordeño son escasas, fungiendo el animal enfermo como el principal reservorio de este agente.

De esta manera, se estima que a nivel mundial la prevalencia de mastitis subclínica asciende del 5-30% en pequeños rumiantes, mientras que la clínica se encuentra generalmente por debajo del 5% anual (Micheloud *et al.* 2014). Es posible que la alta prevalencia de mastitis subclínica en cabras lecheras detectada mediante CMT y análisis microbiológicos, se encuentre asociada al mal uso de las prácticas de manejo e higiene del ganado caprino, al no tener los cuidados adecuados con las cabras infectadas ya que en algunas ocasiones no son separadas del resto del ganado sano, aunado al contacto directo con el ambiente contaminado siendo la causa de nuevas infecciones.

Conclusiones

Mediante este estudio se demostró la relevancia que tiene la aplicación de las buenas prácticas de uso y manejo del ganado caprino en la región, ya que se determinó una prevalencia de 475 pruebas positivas a mastitis, siendo la subclínica la de mayor presencia representando el 47.15% atribuido principalmente a la presencia de *S. aureus*, SCN y *Strep. agalactiae*; demostrando que esta enfermedad no puede ser eliminada en su totalidad pero su incidencia puede verse disminuida a través de la implementación de las buenas prácticas de higiene. Debido a que la presencia de microorganismos patógenos en la leche, refleja las deficiencias sanitarias durante el proceso de producción, desencadenando las enfermedades transmitidas al hombre por el consumo de leche contaminada.

Por lo que, aunado a lo anterior resulta de gran importancia su identificación para el control de esta enfermedad a través de los antibióticos correspondientes para reducir el total de la carga

bacteriana de las ubres y a su vez reducir de manera considerable las pérdidas del producto y con ello las pérdidas económicas que esta enfermedad trae consigo para la industria láctea como para los productores así como a la salud pública.

CAPÍTULO IV

ARTÍCULO II: Multirresistencia de las bacterias causantes de Mastitis Caprina frente a antimicrobianos

Resumen

Actualmente, se describe a la mastitis como uno de los principales problemas de salud que afecta la calidad de leche así como su competitividad en la industria láctea. Donde los principales agentes patógenos relacionados son el *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN), la presencia de estos microorganismos y sus toxinas derivan problemas de salud pública, sumado al uso indiscriminado de antimicrobianos que a su vez contaminan la leche e inhiben la fermentación láctica, aunado a la resistencia que éstos están presentando. Por lo que el objetivo de esta investigación fue determinar la susceptibilidad de *S. aureus* frente a antimicrobianos convencionales para el tratamiento de mastitis en los hatos lecheros de una región semiárida de Michoacán, México. Los resultados obtenidos en esta investigación llevada a cabo en 11 explotaciones lecheras mostraron que los principales agentes patógenos involucrados con la mastitis fueron SCN representando el (39.57%) seguido de *S. aureus* (4.82%); analizando su sensibilidad ante 10 antimicrobianos (trimetoprima, vancomicina, oxitetraciclina, tilosina, flavomicina, penicilina, amoxicilina, clortetraciclina, lincomicina y estreptomycinina) mostrando así una resistencia del 91.15% frente a la amoxilina y un 89.68% a flavomicina, de esta manera más del 81.68% de las cepas analizadas resultaron multirresistentes a más de uno de los antibiótico utilizados en este estudio; finalmente las cepas sometidas a la técnica de PCR mostraron que el 18.9% fueron positivas a la presencia del gen *mecA*.

Palabras clave:

Staphylococcus aureus, antimicrobianos, agentes patógenos, fermentación láctica, industria láctea, salud pública.

Multiresistence of the Bacteria Causing Mastitis Caprine Antimicrobial Front

Abstract

Currently, mastitis is described as one of the main health problems affecting milk quality as well as its competitiveness in the dairy industry. Where the main pathogenic agents are *Staphylococcus aureus* and Coagulase-negative *Staphylococcus* (SCN), the presence of these microorganisms and their toxins are caused by public health problems, combined with the indiscriminate use of antimicrobials which in turn contaminate milk and inhibit lactic fermentation, coupled with the resistance they are presenting. Therefore the objective of this research was to determine the susceptibility of *S. aureus* to conventional antimicrobials for the treatment of mastitis in dairy herds of a semi-arid region of Michoacán, Mexico. The results obtained in this investigation carried out in 11 dairy farms showed that the main pathogens involved with mastitis were SCN (39.57%) followed by *S. aureus* (4.82%); (Trimethoprim, vancomycin, oxytetracycline, tylosin, flavomycin, penicillin, amoxicillin, chlortetracycline, lincomycin and streptomycin) showed a resistance of 91.15% against amoxiline and 89.68% to flavomycin, thus 81.68% of the strains analyzed were multiresistant to more than one of the antibiotics used in this study; finally strains subjected to the PCR technique showed that 18.9% were positive for the presence of the *mecA* gene.

Keywords

Staphylococcus aureus, antimicrobials, pathogens, lactic fermentation, dairy industry, public health.

Introducción

La mastitis es una enfermedad multifactorial, al presentar inflamación en los tejidos mamarios del animal como consecuencia de una infección microbiana ocasionada por agentes patógenos que penetran la glándula a través del conducto del pezón; ocasionando cambios físicos, químicos y microbiológicos en la leche aunado a las considerable pérdidas económicas (Rabello *et al.* 2005; Pirzada *et al.* 2016). Los riesgos para el consumidor no solo ocurren debido a la presencia de patógenos en la leche, que deberían eliminarse mediante un tratamiento térmico adecuado, sino que también se encuentran involucrada la presencia de toxinas, como es el caso de las enterotoxinas estafilocócicas que pueden resultar sensibles y lograr permanecer en los productos lácteos elaborados con esta leche contaminada, a pesar de la pasteurización o esterilización (Contreras, Luengo y Corrales, 2001).

Estudios realizados en China, Colombia, Italia y Suiza indican que los principales microorganismos relacionados con la mastitis son *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulasa negativa* (SCN); siendo este último el de mayor prevalencia, mientras que el *S. aureus* es un microorganismo que ha mostrado tener una resistencia significativa a los antimicrobianos identificándose cepas multirresistentes (González y Mena, 2015).

En este sentido, el descubrimiento de antimicrobianos, sus mecanismos de acción y resistencia han sido temas de investigación productiva en el mundo de la ciencia; dicho lo anterior, a través de estos estudios se ha proporcionado información bioquímica sobre ligandos y dianas a lo largo de la historia; sin embargo, se tiene una escasa comprensión del funcionamiento de estos, así como de sus funciones biológicas naturales y los aspectos evolutivos de sus reacciones químicas. A través de las generaciones, los microorganismos han ido adquiriendo resistencia frente a los antimicrobianos como resultado a su uso indiscriminado siendo esto un proceso no natural, sino una situación forjada por el hombre (Davies y Davies, 2010).

La resistencia está referida a la fuerza opositora de susceptibilidad ejercida por una cepa bacteriana ante un tratamiento antibacteriano, medida a través de la concentración mínima inhibitoria (CMI); ocasionada por mutaciones en el genoma bacteriano lo cual pueden ser preciso, de transposición o inclusión o bien, por la admisión horizontal de resistencia de genes también llamada “transferencia genética horizontal” (Martínez *et al.* 2013). La resistencia se encuentra catalogada en; propiedad natural (intrínseca) o por mutación del ADN (adquirida);

siendo la primera donde los microorganismos carecen de sensibilidad a los antimicrobianos; en la cual las bacterias pertenecientes a la misma especie manifiestan resistencia a alguna familia de antimicrobianos teniendo ventajas competitivas frente a otras cepas pudiendo sobrevivir. Mientras que la adquirida es cuando la bacteria ha modificado su ADN disipando su sensibilidad frente al antimicrobiano trayendo consigo fracasos terapéuticos (Martínez, Cruz y Moreno, 2014; Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2013).

Se debe señalar que en la actualidad la literatura refiere que el *S. aureus* ha ido adquiriendo múltiple resistencia frente a los antimicrobianos con marcadores genéticos agrupados como; integrones, secuencia de inserción, transposones o plásmidos (Salazar *et al.* 2011); como consecuencia de los mecanismos: a) inactivación hidrolítica del antibiótico: donde intervienen las enzimas β -lactamasas capaces de crear cambios en la estructura de los antimicrobianos provocando que estos pierdan su funcionalidad, ya que son las encargadas de hidrolizar el anillo β -lactámico que tienen los antibióticos de esta familia; al igual que las enzimas modificadoras de los aminoglucosidos pero estas últimas a través de reacciones de acetilación, adenilación y fosforilación; b) modificación del blanco de acción: descrito por Tomasz y colaboradores la cual corresponde a una manifestación mínima (modified *S. aureus* MODSA), de las PBPs 1,2 y 4 ya que son de baja afinidad ante los antibióticos β lactámicos; c) tolerancia a los β -lactámicos: donde las cepas se muestran indiferentes ante éstos (Aranaga *et al.* 2010, Gil *et al.* 2000, Tafur *et al.* 2011; Becerra *et al.* 2009; Pérez y Robles, 2013).

Algunas bacterias desarrollan más de un mecanismo de resistencia reconocido como: “Modificación enzimática o destrucción del antibiótico” en donde la bacterias adquieren resistencia frente a los medicamentos β -lactámicos (penicilina, cefalosporinas, carbapenemes y monobactámicos) un ejemplo de ello son las β -lactamasas las cuales probablemente son las más internacionales en la distribución de mutaciones aleatorias de genes que codifican las enzimas dando lugar a catalizadores modificados con aspectos cada vez más resistentes (Davies y Davies, 2010); en las cuales la enzima inactiva al antimicrobiano una vez que ha hidrolizado el anillo β -lactámico de la molécula; recientemente algunas cepas de *S. aureus* está presentando resistencia ante la metilina, teniendo como consecuencia un sin número de infecciones hospitalarias en diversas partes del mundo (Rojas *et al.* 2001). Actualmente se reconocen cuatro clases de β -lactamasas:

Clase A: penicilinasas

Clase B: betalactamasas

Clase C: cefalosporinasas

Clase D: oxacilinasas (Martínez, Cruz y Moreno, 2014; Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2013).

Este fenómeno comenzó a presentarse antes del hallazgo de los antimicrobianos y de su uso; el primer registro de resistencia en cepas de *S. aureus* data del siglo XX, cuando se introduce a la penicilina como antimicrobiano para tratar las infecciones ocasionadas por agentes patógenos, emergiendo así cepas resistencias productoras de penicilinasas, descrito por Castellano y Perozo (2010); para 1946 Inglaterra registro un aproximado de 60% de aislados de estafilococos resistentes a penicilina, niveles que en 1959 mostró una elevación considerable de resistencia; en la actualidad se tienen registros que van desde el 80-93% o más en cepas de *S. aureus* resistentes. Para los años 50 se identificaron los primeros antibióticos β -lactámicos (penicilina, cefalosporinas, carbapenems, monobactámicos y meticilina semisintética) clasificados como de primera generación; frente a esto han ido surgiendo cepas de *S. aureus* resistentes a meticilina, fenómeno mejor conocido como MRSA (Methicillyn resistant *S. aureus*) (Davies y Davies, 2010).

Algunos estudios han demostrado que ciertos microorganismos adquieren resistencia a los β -lactámicos al modificarse la estructura de las PBP (Penicillin Binding Protein) lugar donde los antimicrobianos llevan a cabo su efecto, la cual es codificada por el gen *mecA*; proteína característica por su disminuida afinidad por los antibacterianos β -lactámicos y por ser poseedores de un solo dominio transpeptidasa y carboxipeptidasa indispensables para la síntesis del peptidoglucano constituyente de la estructura de la pared bacteriana (Cifuentes *et al.* 2014; Quinceno y Ochoa, 2009; González y Mena, 2010).

El gen *mecA* es localizado en el material genético móvil reconocido como; “casete cromosómico” (*Staphylococcal chromosome cassette mec, SCCmec*); el cual se encuentra incrustado en el cromosoma bacteriano (*attBsc*) cercano al umbral de replicación del *S. aureus*, siendo una característica que le permite a los genes de resistencia replicarse y transcribirse de manera espontánea (Quinceno y Ochoa, 2009).

Dado a la complejidad que presenta este mecanismo se mantiene la incertidumbre que haya surgido por la denominada “presión selectiva” en bacterias, significativa para la aparición y dispersión de resistencia antimicrobiana de los β -lactámicos; cabe la pena resaltar, que en la actualidad aun no es clara la procedencia del gen *mecA*, sin embargo, se cree que puede tratarse de una evolución de los estafilococos libres de penicilinasas. El gen *mecA* homólogo fue identificado en un *S. sciuri* alojado frecuentemente en animales domésticos; teniendo una gran similitud con el *S. aureus* los cuales en su mayoría presentaron sensibilidad a antibióticos β -lactámicos incluyendo la meticilina (Quiceno y Ochoa, 2009; González y Mena, 2010).

En este contexto, el objetivo de esta investigación fue determinar la susceptibilidad de *S. aureus* frente a antimicrobianos convencionales en el tratamiento de mastitis en hatos lecheros de una región semiárida de Michoacán, México.

Metodología

Área de estudio y muestreos

Las cepas de *Staphylococcus sp.* examinadas fueron aisladas de muestras de leche caprina de las razas Alpina, Saanen, Toggenburg y sus nuevas cruizas pertenecientes a 11 hatos lecheros ubicados una región semiárida de Michoacán, México localizada entre los paralelos 20°04' y 20°13' de latitud norte; los meridianos 102° 33' y 102°48' de longitud oeste; altitud de 1527 metros, representando así el 0.39% de la superficie del estado (INEGI, 2009), durante el periodo de mayo- agosto del 2016. Los establecimientos se seleccionaron de acuerdo a los productores que cumplieran con los requerimientos de la investigación como el número total de cabras y antecedentes médicos.

Se muestrearon 997 cabras con un total de 1994 ubres analizadas, el estudio actual de los hatos lecheros se realizó de acuerdo a la Norma Mexicana NMX-F-730-COFOCALEC-2008 Sistema Producto Leche-Alimentos-Lácteos-Guía de Prácticas de higiene recomendadas para la obtención de leche, para registrar datos sobre la condición de los establecimientos así como es

estado general de los animales, la cual, tiene semejanza con el Código Internacional Recomendado de Prácticas- Principios Generales de Higiene de los Alimentos, CAC/RCP 1-1969 como “La garantía de que los alimentos sean aceptables para el consumo humano, de acuerdo con el uso a que se destinan”. El diagnóstico en campo se realizó a través de la prueba de california (CMT) para identificar la incidencia, obteniendo muestras de leche de las ubres sospechosas de tener mastitis, almacenadas en frascos; estériles, refrigeradas y transportadas en una hielera a 4 °C hasta su procesamiento durante un tiempo inferior a 18 horas de la toma de muestra.

Análisis microbiológicos

Las muestras una vez homogeneizadas fueron aisladas en placas de agar gelosa sangre al 5% e incubadas durante un período de 48 horas a 37°C. Se seleccionó a los aislados por su morfología (tamaño, forma y pigmentos de la colonia) las presuntivas del género *Staphylococcus sp.* fueron identificados con base a su morfología y características microscópicas a través de una tinción Gram, coagulasa y producción de catalasa así como pruebas bioquímicas: sal y manitol como lo refiere Ruiz *et al.* (2013).

Sensibilidad antimicrobiana

Las cepas seleccionadas como *Staphylococcus sp* fueron sometidas a una evaluación de sensibilidad a antimicrobianos bajo el método modificado de Kirby-Bauer en agar Müller-Hinton como lo refiere el manual DBTM para identificar su sensibilidad ante 10 antibióticos de uso convencional; trimetoprima, vancomicina, oxitetraciclina, tilosina, flavomicina, penicilina, amoxicilina, clortetraciclina, lincomicina y estreptomina; cumpliendo con las recomendaciones del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI); las cepas fueron clasificadas de acuerdo al tamaño de los halos de inhibición como sensibles (S), intermedios (I) y resistentes (R) de acuerdo a lo establecido por NCCLS (NCCL, 2015) (**Tabla 5**). Los

antibióticos fueron seleccionados con base a los empleados normalmente por los productores de la región para el control de mastitis.

Tabla 5. Interpretación para halos de inhibición

Table 5. Interpretation for inhibition halos

Antibiótico	Concentración (µg/ml)	Diámetro de zona (mm)		
		Resistente (≤)	Intermedio	Susceptible (≥)
Trimetoprima	25	10	11-15	17
Vancomicina	8	14	15-16	17
Oxitetraciclina	10	12	13-15	16
Tilosina	100	12	15 a 19	21
Flavomicina	8	14	15 a 21	23
Penicilina	10	14	-	21
Amoxicilina	50	21	15 a 20	20
Clortetraciclina	30	12	13-17	18
Estreptomina	30	14	-	20
Lincomicina	50	14	15 a 21	22

Fuente: (Normas CLSI, 2015; NCCLS, 2002)

Pruebas genotípicas

Las cepas identificadas como *S. aureus* y SCN fueron inoculadas en placas de sal y manitol a 37°C por 24 horas. La detección del gen *mecA* se llevó a cabo por PCR; como cepa control se utilizó *S. aureus* positiva al gen *mecA* (43309). La mezcla de reacción de la PCR se realizó como lo describe Restrepo *et al.* (2012) con algunas modificaciones en las concentraciones empleadas tal como se muestra a continuación; 6.33µl de Agua MiliQ, 3 µl de Buffer de reacción 5X (Promega), 1.8 µl de MgCl₂ 25 mM (Promega), 0.2 µl de dNTP's 10 Mm (Bioline), 0.3 de cada iniciadores (16S Forward y 16 S Reverse) 10 mM, 0.07µl de la enzima Taq DNA (Promega) y posteriormente 3 µl de lisado de ADN templado obtenidos de cada una de las muestras. La amplificación se llevó a cabo mediante una electroforesis en gel agarosa al 1.5% (Promega), las corridas correspondientes a los productos de amplificación fueron llevadas a cabo durante 45

minutos a 100 V y el peso molecular (162 pb); finalmente, los geles fueron visualizados en un fotodocumentador (Kodak Gel Logic 112).

Aspectos estadísticos

Los resultados obtenidos se sometieron a un análisis descriptivo con el programa Excel (Microsoft ®) para determinar los porcentajes del total de casos correspondiendo a las especies identificadas así como el porcentaje de susceptibilidad frente a los antibióticos de uso convencional.

Resultados

Dentro del universo de 997 cabras muestreadas con un total de 1994 ubres muestreadas el número de hallazgos con presencia de mastitis fue de 47.64% (475 casos) aisladas en su totalidad, de las cuales 211 (44.42%) fueron del género *Staphylococcus*, el (39.57%) correspondieron a SCN mientras que el (4.82%) fueron *S. aureus*. El resto de los microorganismos corresponden a los géneros de *Streptococcus agalactiae*, *E. coli*, *Peptococcus sp.*, *Klebsiella sp.*, *Clostridium sp.*, y *Corynebacterium sp* (**Tabla 6**). Estos hallazgos pueden estar asociados a un uso ineficiente de las prácticas de higiene y manufactura en el ordeño, aunado a que en 11 de las explotaciones lecheras no implementaron la desinfección post-ordeño y el sellado de ubres.

Tabla 6. *Patógenos identificados en muestras de leche con mastitis*

Table 6. *Pathogens identified in milk simple with mastitis*

Especie	Numero de aislamientos	Total (%)
<i>E. coli</i>	1	0.21
<i>Klebsiella sp</i>	6	1.47
SCN	188	39.57
<i>S. aureus</i>	23	4.82
<i>Peptococcus sp</i>	26	5.47
<i>Clostridium sp</i>	27	5.68
<i>Corynebacterium sp</i>	10	2.53
<i>Streptococcus agalactiae</i>	63	13.26
N/D*	5	1.05
N/M**	1	0.21
Otros***	125	25.47

* No desarrollado, ** No muestreado;***Incluye no identificados: Bacilos positivos y negativos, cocos positivos

Para evaluar la sensibilidad de las cepas de *Staphylococcus sp* se realizaron ensayos frente a 10 antimicrobianos de uso frecuente por los productores de las 11 explotaciones lecheras; en la **tabla 3** se muestra la susceptibilidad de las cepas ante los antimicrobianos. De las 475 cepas, 433 fueron resistentes a la amoxicilina representando el 91.15% seguido de la flavomicina con el 89.68%, de esta manera más del 81.68% resultaron resistentes a más de uno de los antimicrobianos analizados mostrando así una multirresisten

Tabla 7. Perfiles de la resistencia antimicrobiana de aislamientos Gram positivos de leche con mastitis caprina

Table 7. Profile of antimicrobial resistance of Gram positive isolates of milk with caprine mastitis

Cepas	TRY	ETP	OXI	TLS	VA	FVM	AMX	PEN	CLT	LC
	%R/S	%R/S	%R/S	%R/S	%R/S	%R/S	%R/S	%R/S	%R/S	%R/S
<i>S. aureus</i> (n=23)	21/2	21/2	19/1	19/1	18/4	22/0	21/1	22/1	22/1	19/2
SCN (n=188)	169/9	170/12	155/14	150/19	150/20	182/3	182/3	178/5	176/7	161/16
<i>Strept. agalactiae</i> (n=63)	47/13	35/20	31/24	44/17	56/5	56/6	52/8	50/10	56/4	35/25
<i>Corynebacterium sp</i> (n=10)	7/3	7/3	7/3	6/3	6/3	7/3	8/2	8/0	9/0	7/2
<i>Klebsiella sp</i> (n=6)	6/0	6/0	5/1	6/0	5/1	5/0	6/0	6/0	6/0	5/0
<i>Peptococcus sp</i> (n=26)	17/6	16/8	18/7	17/6	14/12	22/2	20/6	18/7	21/4	19/6
<i>Clostridium sp</i> (n=27)	24/1	25/1	24/2	18/7	23/3	27/0	27/0	25/1	24/2	16/8
<i>E. coli</i> (n=1)	1/0	0/1	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0	1/0
Otros (n=131)	106/10	92/29	88/19	95/17	101/15	104/12	116/5	104/12	92/21	91/24

TRY) Trimetoprima, (ETP) Estreptomicina, (OXI) Oxitetraciclina, (TLS) Tilosina, (VA) Vancomicina, (FVM) Flavomicina, (AMX) Amoxicilina, (PEN) Penicilina, (CLT) Clortetraciclina, (LC) Lincomicina, n=número de cepas.

En esta misma perspectiva, mediante la técnica de PCR se logró identificar 9/27 muestras de *S. aureus* positivas ante el gen *mecA* y 31/185 pertenecientes a SCN resultado así un 18.9% positivos ante este gen (**Figura 2**).

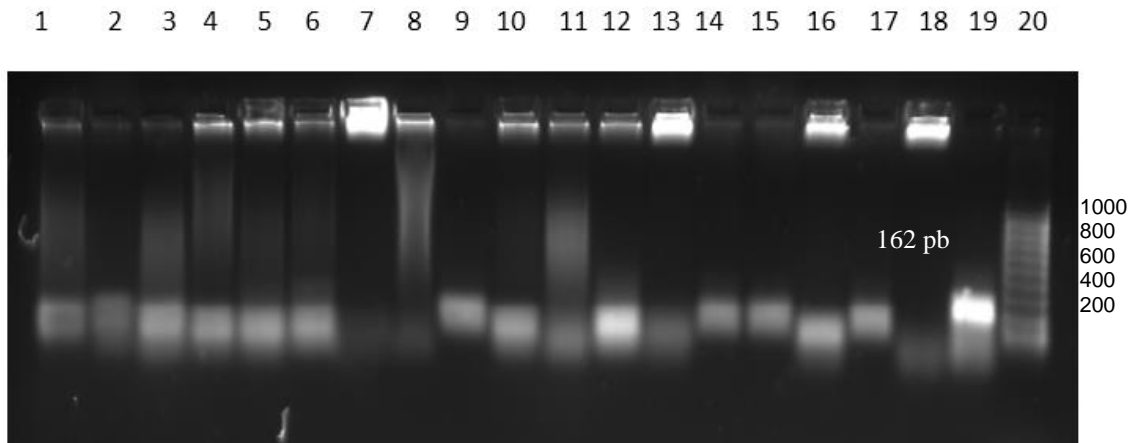


Figura 2. Productos de amplificación de PCR para el gen *mecA*. Agarosa al 1.5%: Carriles: (Muestra) 3, 4, 5, 6, 9, 10, 12, 14, 15 y 17 positivos, 19: Cepa control positiva para *mecA* (43309), 20. Marcador de 162 pb.

Discusión

Al evaluar la susceptibilidad de los antibióticos de uso convencional ante la problemática de mastitis caprina que enfrentan los hatos lecheros de una región semiárida de Michoacán, México por los agentes patógenos (*S. aureus* y SCN principalmente) se logró identificar una similitud con el estudio de Pellegrino *et al.* (2011) en el cual analizaron 300 cepas bacterianas aisladas de leche bovina con mastitis, identificando al 21% de las cepas recuperadas como *S. aureus*, donde el 58.7% de estas resultaron resistentes a uno o más antimicrobianos, mostrando mayor resistencia a eritrosina con (36.5%), (22.2%) penicilina y (20.6%) estreptomicina respectivamente mientras que el 19% presentó una multiresistencia. Por otro lado, Denamiel *et al.* (2013) señaló en su investigación un 67.6% de resistencia ante la penicilina seguido de la

lincomicina con el 64.8%; ambos mostraron similitud con los obtenidos con la presente investigación donde se analizaron 11 explotaciones lecheras obteniendo un (44.42%) de *Staphylococcus sp* mostrando un porcentaje de resistencia de amoxicilina (91.15%) elevado en comparación con los reportados por San Marín *et al.* (2002) quienes informaron una resistencia mayor del 25% ante la amoxicilina, ampicilina, penicilina, estreptomina y lincomicina. Mientras que Giannechini *et al.* (2014) reportaron un 36% de resistencia de *S. aureus* ante la penicilina mientras que los SCN mostraron un 33.3%; lo cual, no dista de lo reportado por Bonilla *et al.* (2015) donde el 61% de los SCN resultaron resistentes a la penicilina mientras que el 58% a tetraciclina; el 97% fue sensible a cefoperazona; estos resultados se muestran relativamente bajos en comparativa con los obtenidos en la presente investigación dado que los SCN fueron los que mostraron mayor multirresistencia ante los antibióticos analizados.

En este mismo sentido Ruiz *et al.* (2016) en su estudio aislaron 37 cepas correspondientes a *S. agalactiae*, *S. aureus* y SCN de los cuales los *Streptococcus* mostraron 100% sensibilidad a los antibióticos β -lactámicos (ampicilina, cefazolina, penicilina G), mientras que ante la tetraciclina se observó que el 87% fue resistente; por su parte, los *S. aureus* y SNC también mostraron 100% sensibilidad ante el grupo de β -lactamasas, finalmente el 33.3% de las bacterias mostraron sensibilidad a la penicilina G y ampicilina, el 66.7% fueron resistentes; confirmando lo descrito por Pellegrino *et al.* (2011) donde refiere que en investigaciones llevadas a países como Argentina, Colombia y otros países revelan un eminente porcentaje de resistencia a la penicilina productora de β -lactamasas haciendo referencia al problema creciente a nivel mundial por el uso indiscriminado de antibióticos, una alarmante de esta investigación es la multirresistencia que están mostrando las cepas analizadas ya que, el 81.68% mostró resistencia a más de uno de los antibióticos empleados.

Aunado a lo anterior, se tienen registros en el sector salud que reafirman estos antecedentes donde de acuerdo a la literatura en primer hallazgo registrado de MRSA fue identificado en animales con mastitis bovina en 1972 (Divriese, Damme y Fameree, 1972). En la actualidad, la comunidad científica se está enfrentado a la problemática de la multirresistencia que están adquiriendo las cepas de *S. aureus*, lo cual puede ser atribuido al uso indiscriminado de los antimicrobianos con fines terapéuticos no solo en el sector ganadero sino también en el sector salud ocasionando riesgos emergentes tanto a los animales como al hombre, al aumentar los

riesgos de presencia de antimicrobianos en leche y carne, así como altos costos de medicamento y producción de éstos.

En este mismo sentido, Martín (s.f) hace referencia al medio ambiente en el que se encuentran los animales como un detonante para una eliminación completa del agente infeccioso, ya que se tiene comprobado que el antimicrobiano ayuda a debilitar y frenar la proliferación bacteriana ayudando así al sistema inmunitario, sin embargo, los medicamentos no pueden eliminar la infección por si solos, por lo que el alojamiento limpio, seco y bien ventilado son bases esenciales para la eliminación completa y así conseguir un estado de salud de los animales estable; sin dejar de lado el inadecuado uso de la dosis del antibiótico, el cual tiene que ser suministrado de acuerdo al peso corporal para conseguir una distribución optima en el organismo del animal, así como el uso indiscriminado de éste y/o incurrir a la combinación de medicamentos ocasionando que se inactiven o causen una reacción secundaria en el animal. Otro de los problemas más frecuentes es el uso incorrecto de antimicrobianos para el microorganismo por ejemplo; la penicilina puede resultar efectiva para bacterias como *Streptococcus* y *Staphylococcus*, sin embargo, esto no pasa frente a las bacterias Gram-negativas como *E. coli*; esto puede estar relacionado a la diferencia en su pared bacteriana, desarrollando así una resistencia frente a algunos antimicrobianos.

En esta misma perspectiva, se logró identificar un 18.9% de cepas de *S. aureus* y SCN con presencia del gen *mecA* confirmado fenotípicamente por la técnica de PCR en 211 muestras analizadas por este método, la literatura en torno al estudio de este gen en animales es limitada, sin embargo, en el estudio realizado por Zschöck *et al.* (2011) donde llevaron a cabo estudios de resistencia a cepas de *S. aureus* procedentes de aislados de mastitis bovina ante penicilina G y oxacilina lograron identificar únicamente una cepa positiva al gen *mecA*, sin embargo, fenotípicamente fue negativa, donde el origen de este aislamiento de MRSA no fue claro concluyendo que los aislados eran de procedencia humana que estaban en contacto cercano con animales, en este mismo sentido López *et al.* (2015) realizaron una investigación dirigida a la identificación de los genes *mecA*, *mecRI* y *mecI* en cepas de *S. aureus* en el cual los resultados obtenidos mostraron una mayor resistencia frente a antimicrobianos β -lactámicos mientras que la eritromicina, únicamente mostró 38 (44.7%) positivos al gen *blaZ*; sin embargo, cuatro fueron positivos ante el gen *mecA* clasificados como SARM; los cuales fueron agrupados en tres

grupos: donde uno resulto positivo a los genes *mecI* y *mecR1* (grupo A), dos de ellos no presentaron el gen *mecI* ni el dominio PB de gen *mecR1* clasificados como (grupo C) y por último uno no mostró ninguno de los genes reguladores (grupo D).

De acuerdo a Caruso *et al.* (2015) el *S. aureus* es una cepa resistente a la meticilina MRSA, causante de infecciones graves tanto en humanos como en animales por lo que en su estudio analizaron granjas de ovinos, caprinos así como sus trabajadores al sur de Italia donde obtuvieron 2 cepas de 162 (1.23%) con MRSA de cada una de las granja analizadas, en torno a las muestras del personal en la granja de las ovejas no se detectó MRSA en su comparativa en la granja de la cabras donde se identificaron 3 MRSA mostrando un perfil genético tipot1255, ST398, SCCmec V, arrojando una resistencia a múltiples antimicrobianos.

Hoy día, esta línea genética está registrando gran actividad científica en torno a cepas de *S. aureus* (Armand-Lefevre, 2005; Gómez *et al.* 2010; García *et al.* 2011), convirtiendo a la tipificación molecular como una herramienta relevante para investigar la evolución y epidemiología de los aislamientos SARM; y así realizar una rápida identificación de resistencia a meticilina (Sánchez *et al.* 2013).

Uno de los problemas más alarmantes en la actualidad es la resistencia que están presentando las cepas de *S. aureus* y SCN ante antimicrobianos de uso convencional para contrarrestar la mastitis caprina y bovina, esto puede estar relacionado al uso indiscriminado de estos mismos; así como también existe la posibilidad de que la enfermedad que se está tratando no sea ocasionada por bacterias y por ello no respondan a los antibióticos, pudiendo estar relacionadas con hongos y virus causantes primarios de infecciones respiratoria e intestinales; por lo que el antibiótico al no estar dirigido correctamente al diagnóstico este no puede eliminar por el sistema inmune al agente primario de la enfermedad; ejemplo de ello, es el uso incorrecto de la penicilina la cual puede ser efectiva para contrarrestar enfermedades ocasionadas por bacterias como los *Streptococcus* y *Staphylococcus*, sin embargo, son débiles ante las bacterias Gram- negativas como *E. coli*, atribuido a la diferencia que existe en sus paredes bacterianas, cabe hacer mención que la mayoría de las bacterias genéticamente tienden a desarrollar resistencia a muchos antimicrobianos, por lo que el uso de CMI es esencial para que un medicamento resulte eficiente contra una infección al determinar su susceptibilidad antimicrobiana y así poder hacer frente a la enfermedad con las recomendaciones por un veterinario. Es por ello, que la información

obtenida en esta investigación aportara datos relevantes ya que en la actualidad la literatura con la que se cuenta está dirigida en su mayoría al sector salud pública y poco frecuente en veterinaria.

En conclusión, la mayor parte de los establecimientos lecheros muestreados registraron un elevado número de casos de mastitis esto puede estar relacionado a la deficiencia en la aplicación de las buenas prácticas de higiene durante el ordeño y manipulación de los animales así como también; al medio ambiente, alimentación, número de partos y edad del animal etc. Aunado a lo anterior, otros de los problemas que enfrentan los productores de la región es la resistencia que están mostrando las bacterias frente a los antimicrobianos convencionales, lo que puede estar atribuido al uso irracional de éstos y a la falta de conocimientos respecto a los mecanismos de resistencia ya que resulta de gran importancia para desarrollar nuevos antimicrobianos capaces de contrarrestar las infecciones que aquejan al ganado y a la salud pública.

CAPÍTULO V

Conclusiones Integradas

Este estudio demuestra la relevancia que tiene la aplicación de buenas prácticas de uso y manejo del ganado caprino en la región dado que la mastitis no puede ser eliminada en su totalidad pero su incidencia puede verse disminuida a través de la implementación de éstas. Debido a que la presencia de microorganismos patógenos en leche, refleja las deficiencias sanitarias durante el proceso de producción, siendo los *L. monocytogenes*, *S. aureus*, *E. coli* y *Salmonella spp* los principales microorganismos involucrados con las enfermedades transmitidas al hombre por consumir leche contaminada.

Por lo que, resulta de gran importancia en la identificación de la presencia de patógenos para el control de la enfermedad a través de los antibióticos correspondientes para reducir el total de la carga bacteriana de las ubres y a su vez reducir de manera considerable las pérdidas del producto y con ello las pérdidas económicas que esta enfermedad trae consigo para las industria láctea como para los productores así como a la salud pública, ya que los animales no presentan ninguna anomalía a simple vista en las ubres, sin embargo, la leche comienza a presentar un conteo de células somáticas superior a lo normal a través de la prueba California; la cual, resulta una excelente opción al ser simple, de costo accesible, buena especificidad, respecto a otros métodos de diagnóstico como el molecular de alto costo.

En conclusión, la mastitis puede estar relacionada a las malas prácticas de higiene durante el ordeño y manipulación de los animales así como también a otros factores, como el medio ambiente, alimentación, número de partos y edad del animal entre otros; aunado a ello uno de los problemas más alarmantes es la resistencia que están presentando las cepas de *S. aureus* y SCN frente a los antimicrobianos de uso frecuente para contrarrestar la mastitis caprina y bovina, pudiendo estar relacionado al inadecuado uso de la dosis del antibiótico, el cual tiene que ser suministrado de acuerdo al peso corporal para conseguir una distribución óptima en el organismo del animal, así como el uso indiscriminado de éste y/o incurrir a la combinación de medicamentos ocasionando que se inactiven o causen una reacción secundaria en el animal;

atribuido a la falta de conocimientos respecto a los mecanismos de resistencia ya que resulta de gran importancia para desarrollar nuevos antimicrobianos capaces de contrarrestar las infecciones que aquejan al ganado y a la salud pública

Por lo que, la información obtenida en esta investigación aportara datos relevantes ya que en la actualidad la literatura con la que se cuenta está dirigida en su mayoría al sector salud pública y poco frecuente en veterinaria.

Referencias

- Acha, N., & Szyfres, B. (1977). *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre ya los animales*. Washington, DC: Organización Panamericana de la Salud.
- Alimentarius, C. O. D. E. X. (1997). Código Internacional Recomendado de Prácticas. *Principios Generales de Higiene de los Alimentos (CAC/RCP DE HIGIENE 1-1969)*, Rev. 3.
- Aranaga, V., Rivera, J., Mujica, I., Navarro, C., Zavala, I., & Bracho, L. (2010). Producción de β -lactamasas y plásmidos presentes en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de portadores nasales sanos: Estudio preliminar. *Boletín del Centro de Investigaciones Biológicas*, 44(4).
- Aréchiga, F., Aguilera, I., Rincón, M., De Lara, M., Bañuelos, R., & Meza-Herrera, A. (2008). Situación actual y perspectivas de la producción caprina ante el reto de la globalización. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 9(1), 1-14.
- Armand-Lefevre, L. (2005). Clonal Comparison of *Staphylococcus aureus* Isolates from Healthy Pig Farmers, Human Controls, and Pigs-Volume 11, Number 5—May 2005-Emerging Infectious Disease journal-CDC.
- Ayala, V., Gallo, L., Quesada, C., Chaves, C., & Arias, M. (2008). Evaluación bacteriológica de la leche y queso de cabra distribuida en la Área Metropolitana de San José, Costa Rica. *Órgano Oficial de la Sociedad Latinoamericana de Nutrición* 58 (2). 182-186.
- Barrios, H. (2013). *Mannheimia haemolytica*. Universidad Autónoma de Tamaulipas. Recuperado de: http://siproduce.sifupro.org.mx/seguimiento/archivero/19/2013/demostrativos/documentos/doc_1349-4-2014-05-8
- Bazan, R., Cervantes, E., Salas, G., & Segura, J. (2009). Prevalencia de mastitis subclínica en cabras lecheras en Michoacán, México. *Revista Científica*, 19(4), 334-338.
- Becerra, G., Plascencia, A., Luévanos, A., Domínguez, M., & Hernández, I. (2009). Mecanismo de resistencia a antimicrobianos en bacterias. *Enf Inf Microbiol*, 29(2), 70-76.

- Bedolla, C. (2008). Perdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *REDVET*. Revista electrónica de veterinaria. 4(4): 1-26. Recuperado el 30 de octubre del 2016, <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040408/040805.pdf>
- Bedolla, C. (2015). Etiología de la mastitis caprina. *Revista Albéitar*, 187, 187-189.
- Bedolla, C., Bedolla, E., Catañeda, H., Wolter, W., Castañeda, M., & Kloppert, B. (2012). Mastitis Caprina. Recuperado el 03 de mayo del 2016, http://geb.unigiessen.de/geb/volltexte/2012/9014/pdf/BedollaCedenoMastitis_Caprina2012.pdf
- Bedolla, C., Castañeda, V. H., & Wolter, W. (2007). Métodos de detección de la mastitis bovina (Methods of detection of the bovine mastitis). *REDVET*. Revista electrónica de veterinaria. 9(9): 1-17. Recuperado el 28 de septiembre del 2016, <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf>
- Bedoya, A., Alberto, H., & Montes Montoya, M. C. (2016). Comparación del diagnóstico de mastitis bovina mediante california mastitis test (CMT) y el detector de concentración iónica en la hacienda Santa Inés del municipio de Pereira (Bachelor's thesis, Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira).
- Bonilla, M., & Murillo, N. (2015). Frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana del estafilococo coagulasa negativo aislado de mastitis bovina en fincas lecheras del Tolima, Colombia. *Revista Medicina Veterinaria*, (30), 83-93.
- Bourabah, A., Ayad, A., Boukraa, L., Hammoudi, S. M., & Benbarek, H. (2013). Prevalence and etiology of subclinical mastitis in goats of the Tiaret Region, Algeria. *Global Vet*, 11(5), 604-608.
- Boza, J., & Sanz, M. (1997). Aspectos nutricionales de la leche de cabra. Insacan, Granada.
- Cabrera, E., Gómez, F., & Zúñiga, E. (2013). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación.

- Calvinho, L. (2015). Estrategias de control de infecciones mamarias en el periodo de vaca seca. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Recuperado el 12 de abril del 2017 de: http://www.produccion.animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/110-Estrategias_de_Control_1.pdf
- Carpinelli, A., Guillen, R., Fariña, N., Basualdo, W. y Arquino, R. (2012). PCR múltiple para la detección simultánea de los genes *mecA* y *pvl* en *Staphylococcus spp.* *Memorias Instituto de Investigación en Ciencia de la Salud*, 10(1): 5-13.
- Caruso, M., Latorre, L., Santagada, G., Fraccalvieri, R., Miccolupo, A., Sottili, R. & Parisi, A. (2016). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in sheep and goat bulk tank milk from Southern Italy. *Small Ruminant Research*, 135, 26-31.
- Celestino, C. (2014) Mastitis bovina causada por *Staphylococcus coagulasa* negativos. (Tesis doctoral) Universidad Nacional de la Plata Facultad de Ciencias Veterinarias, Argentina.
- Chacón, A., Vargas, F., & de la Paz, M. (2006). Incidencia en el conteo de células somáticas de un sellador de barrera (yodo-povidona 0, 26%) y un sellador convencional (yoduro 0, 44%). *Agronomía Mesoamericana*, 17(2), 207-212.
- Cifuentes, M., Silva, F., García, P., Bello, H., Briceno, I., Calvo, M., & Labarca, J. (2014). Susceptibilidad antimicrobiana en Chile 2012. *Revista chilena de infectología*, 31(2), 123-130.
- CONARGEN (Consejo Nacional de los Recursos Genético Pecuarios). (s.f). Caprinos. Recuperado el 04 de mayo del 2016, <http://www.conargen.mx/index.php/asociaciones/caprinos>
- Contreras, A., Luengo, C., & Corrales, J. (2001). Significado epidemiológico del diagnóstico etiológico de las mamitis caprinas. *Pequeños Rumiantes*, 2(1), 18-21.
- Cortimiglia, C., Bianchini, V., Franco, A., Caprioli, A., Battisti, A., Colombo, L., & Luini, M. (2015). Short communication: Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *S. aureus* in bulk tank milk from dairy goat farms in Northern Italy. *Journal of dairy science*, 98(4), 2307-2311.

- Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, 74(3), 417-433.
- De Castro, A. (2011). Reacción en cadena de la polimerasa (Polymerase Chain Reaction, PCR).
- Denamiel, G., Puigdevall, T., Testorelli, F., Albarellós, G., & Gentilini, E. (2013). Resistencia de *Streptococcus bovis* aislados de mastitis bovina frente a penicilina y macrólidos-lincosamidas. *InVet*, 15(2), 137-141.
- Devriese, A., Damme, R., & Fameree, L. (1972). Methicillin (Cloxacillin)-Resistant *Staphylococcus aureus* strains Isolated from Bovine Mastitis Cases. *Zoonoses and Public Health*, 19(7), 598-605.
- Difco™ y BB™ Manual. Müeller Hinton Agars. 2nd Edition. Recuperado el 5 de junio 2017 de: http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/Difco_BBL/225250.pdf
- Echevarría, J., & Iglesias Quilca, D. (2003). Estafilococo Meticilino resistente, un problema actual en la emergencia de resistencia entre los Gram positivos. *Revista Médica Herediana*, 14(4), 195-203.
- Erskine, R., Cullor, J., Schaellibaum, M., Yancey, B., & Zeconi, A. (2004). National Mastitis Council Research Committee report. Bovine mastitis pathogens and trends in resistance to antibacterial drugs. National Mastitis Council.
- Escareño, L., Wurzinger, M., Pastor, F., Salinas, H., Sölkner, J. & Iñiguez, L. (2011). La cabra y los sistemas de producción caprina de los pequeños productores de la comarca lagunera, en el norte de México. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente*. 17. 235-246.
- Escobar, A., & Ponce, P. (2001). Obtención y evaluación de un diagnóstico químico para la determinación de la Mastitis. *Revista de Salud Animal*, 23(2), 97-102.
- Fariña, N., Carpinelli, L., Samudio, M., Guillen, R., Laspina, F., Sanabria, R., Abente, S., Rodas, L., González, P., & Kasper, H. (2013). *Staphylococcus* coagulasa-negativa clínicamente significativos. Especies más frecuentes y factores de virulencia. *Revista Chilena, infectol.*, 30 (5): 480-488.

- Fernández, F., Trujillo, E., Peña, J., Cerquera, J., & Granja, T. (2012). Mastitis bovina: Generalidades y métodos de diagnóstico. *Revista electrónica de Veterinaria (REDVET)*, 3(11), 2.
- Fernández E., Las Heras del Río, A., López, I., Porrero, L., Fernández, A., & Moreno, A. (2016). Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis ovinas. *ResearchGate*, 11 381-384
- Ferrer, R. (2011). Aportaciones al diagnóstico de las mastitis subclínicas en la agrupación caprina canaria.
- Figuroa, C., Meda, F., & Janacua, H. (2010). Manual de buenas prácticas en producción de leche caprina.
- Flores, M., Pérez, R., Basurto, M., & Jurado, M. (2009). La leche de cabra y su importancia en la nutrición. *Creatividad y desarrollo Tecnológico*, 3(2), 107-113. Recuperado de: http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/18/cys_18_Streptococcus_uberis.pdf
- Frank, J. (1989). Pseudomonas Aeruginosa in bovine mastitis. Associate market-milk specialist. Division of Market-Milk Investigationsy Bureau of Dairy Industry United States Department of Agriculture. Recuperado de: <http://naldc.nal.usda.gov/download/IND43969292/PDF>
- García, J., Berlanga, V. González, J., Gutiérrez, R., Pérez, A., Rivera, J. & González, H. (2011). Técnicas para la transformación de leche de cabra en zonas marginales. *SAGARPA*, 1-9.
- García-Álvarez, L., Holden, T., Lindsay, H., Webb, R., Brown, F., Curran, D. & Parkhill, J. (2011). Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *The Lancet infectious diseases*, 11(8), 595-603.
- Giannechini, R., Concha, C., Delucci, I., Gil, J., Salvarrey, L., & Rivero, R. (2014). Mastitis bovina, reconocimiento de los patógenos y su resistencia antimicrobiana en la Cuenca Lechera del Sur de Uruguay. *Veterinaria*, 50(193), 111-132.

- GIL, M. (2000). *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. *Revista chilena de infectología*, 17, 145-152.
- Gómez-Sanz, E., Torres, C., Lozano, C., Fernandez-Perez, R., Aspiroz, C., Ruiz-Larrea, F., & Zarazaga, M. (2010). Detection, molecular characterization, and clonal diversity of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC398 and CC97 in Spanish slaughter pigs of different age groups. *Foodborne pathogens and disease*, 7(10), 1269-1277
- González, M y Mena, A. (2010). Mecanismos de resistencia a antibióticos β -lactámicos en *Staphylococcus aureus*. *Kasmera*, 38(1).
- González, M. y Mena, A. (2015). Resistencia a la clindamicina inducida por eritromicina en cepas de *Staphylococcus aureus* de origen clínico. *Revista Kasmera*, 43(1).
- Harmon, J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of dairy science*, 77(7), 2103-2112.
- Hernández, M., & Bedolla, C. (2008). Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. *REDVET*.
- INEGI. (2009). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Venustiano Carranza, Michoacán de Ocampo.
- Iruegas, L., Castro, C., & Ávalos, L. (1999). Oportunidad de desarrollo de la industria de la leche y carne en México. Banco de México. IICA.
- Jimenez, A. (s.f) *Streptococcus uberis*. *Revista CYSB*, 18, 18-24.
- Jiménez, M., Braña, D., Partida, J. Alfaro, R., Soto, S. & Torres, M. (2013). Evaluación de la calidad en la canal caprina. Centro Nacional de Investigación Disciplinaria en Fisiología y Mejoramiento Animal. INIFAP. Libro técnico No.4. Recuperado 20 de octubre de: <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Documents/MANUALES%20INIFAP/Evaluaci%C3%B3n%20de%20la%20Calidad%20en%20la%20Canal%20Caprina.pdf>
- Kloss, W., & Schleifer, K. (1975). Isolation and Characterization of *Staphylococci* from Human Skin II. Descriptions of Four New Species: *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus hominis*, and *Staphylococcus simulans*. *Int. J Syst Evol Microbiology*, 25:62-79.

- Kruze, J. (1998). La rutina de ordeño y su rol en los programas de control de mastitis bovina. *Archivos de medicina veterinaria*, 30(2), 07-16.
- Lara, C., & Mera, O. (2012). Propuesta de la factibilidad para la industrialización de la leche de cabra en el cantón mira, provincia del carchi, estudio del caso asomiemprolecamira (asociación micro empresarial de productores de leche de cabra). Tesis de licenciatura, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
- López, M., Martínez, J., Talavera, M., Valdez, J & Velázquez, V. (2015). Detection of *mecA*, *mecI* and *mecRI* genes in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains of bovine origin isolated from Family Dairy Farms, Mexico. *Arch Med Vet*, 4: 245-249.
- López-Vázquez, M., Martínez-Castañeda, J. S., Talavera-Rojas, M., Valdez-Alarcón, J. J., & Velázquez-Ordóñez, V. (2015). Detección de los genes *mecA*, *mecRI* y *mecI* en cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina de origen bovino aisladas en unidades de producción lechera familiar, México. *Archivos de medicina veterinaria*, 47(2), 245-249.
- Manjarrez, A., Díaz, S., Salazar, F., Valladares, B., Gutiérrez, A., Barbabosa, A., Talavera, M., Alonso, M., & Velázquez, V. (2012). Identificación de biotipos de *Staphylococcus aureus* en vacas lecheras de producción familiar con mastitis subclínica en la región centro-este del Estado de México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 3(2), 265-274.
- Martín, M. (S.f) *¿Por qué fallan los antibióticos?*. Publicado por Exopol, Madrid. Recuperado el 9 de junio 2017 de: [http:// www.lacabra.org](http://www.lacabra.org).
- Martínez, D., Cruz, A., & Moreno, G. (2014). Resistencia de las bacterias causantes de mastitis bovina frente a los antimicrobianos más frecuentes. *Conexión Agropecuaria JDC*, 3(1), 53-73.
- Martínez, D., Cruz, A., & Moreno, G. (2014). Resistencia de las bacterias causantes de mastitis bovina frente a los antimicrobianos más frecuentes. *Conexión Agropecuaria JDC*, 3(1), 53-73.
- Martinez, G., Harel, J., Higgins, R., Lacouture, S., Daignault, D. & Gottschalk, M. (2000). Characterization of *Streptococcus agalactiae* Isolates of Bovine and Human Origin by Randomly Amplified Polymorphic DNA Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*, 38

- (1). 71-78. Consultado el 28 de septiembre del 2016 desde <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC86023>
- Máttar, S., Visbal, J., & Arrieta, G. (2001). E. coli 0157: H7 Enterohemorrágico: un agente etiológico de diarrea en Colombia subestimado. Parte I. *Revista MVZ Córdoba*, 6(1), 15-23.
- McDougall, S., Malcolm, D., & Prosser, G. (2014). Prevalence and incidence of intramammary infections in lactating dairy goats. *New Zealand veterinary journal*, 62(3), 136-145.
- Mellenberger, R. (2000). Hoja de información de la Prueba de Mastitis California (CMT). Depto. de Ciencia Animal, Universidad del Estado de Michigan y Carol J. Roth, Depto. de Ciencia Lechera, Universidad de Wisconsin-Mádison.
- Micheloud, F., Neder, V., Nuovo, F., Suarez, H., & Calvino, L. (2014). Brote de mastitis clínica por *Corynebacterium spp.* y *Streptococcus dysgalactiae* en cabras en Salta, Argentina. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 40(1), 34-37.
- Morales, H. (2011). Mastitis bovina: Enfoque biotecnológico. *Revista ReCiTeIA*. 212-224.
- Morales, P., Avalos de la Cruz, A., Leyva, G., & Ybarra, C. (2012). Calidad bacteriológica de leche cruda de cabra producida en Miravalles, Puebla. *Revista mexicana de ingeniería química*, 11(1), 45-54.
- Najeeb, F., Anjum, A., Ahmad, D., Khan, M., Ali, A., & Sattar, K. (2013). Bacterial etiology of subclinical mastitis in dairy goats and multiple drug resistance of the isolates. *J. Anim. Plant. Sci*, 23(6), 1541-1544.
- Navarro, C. (2011). Mastitis bovina causada por ECN, artículos rumiantes archivo. *Edita: Grupo Asís Biomedica, SL Andador del Palacio de Larrinaga*, 2, 50013.
- NCCLS (2015). Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, Approved standard M11-A6.
- NMX-F-730-COFOCALEC-2008. Sistema producto-leche-alimentos-lácteos-prácticas de higiene recomendadas para la obtención de leche.

- NOM-120-SSA 1-1994. Bienes y Servicios. Prácticas de Higiene y Sanidad para el proceso de alimentos, bebidas no alcohólicas y alcohólicas. 1-45.
- OEIDRUS. Entrevista con Donacio Machuca, Representante en la Oficina Estatal de Información para el desarrollo rural sustentable de la región de Venustiano Carranza, Michoacán, 31 de mayo de 2016.
- Papp, R., & Muckle, A. (1991). Antimicrobial susceptibility testing of veterinary clinical isolates with the Sceptor System. *Journal of clinical microbiology*, 29(6), 1249-1251.
- Paterna, A., Contreras, A., Gómez-Martín, A., Amores, J., Tatay-Dualde, J., Prats-van der Ham, M. & De la Fe, C. (2014). The diagnosis of mastitis and contagious *agalactia* in dairy goats. *Small Ruminant Research*, 121(1), 36-41.
- Patiño, E. (2012). Detección de *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* O157: H7 y *Listeria monocytogenes*, en muestras de leche bovina del sistema de producción doble propósito colombiano.
- Pellegrino, S., Frola, D., Odierno, M., & Bogni, I. (2011). Mastitis Bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche (Bovine Mastitis: Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk). *REDVET*, 12(7).
- Pérez, J. (2011). Prevalencia de mastitis, brucelosis y tuberculosis en cabras de proyecto maya de seguridad alimentaria (promasa II) del área de uspantan, departamento del quiche. Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Tesis de licenciatura. Guatemala.
- Pérez-Cano, H., & Robles-Contreras, A. (2013). Aspectos básicos de los mecanismos de resistencia bacteriana. *Revista Médica MD*, 4(3), 186-191.
- Pirzada, M., Malhi, K., Kamboh, A., Rind, R., Abro, H., Lakho, A. & Huda, N. (2016). Prevalence of subclinical mastitis in dairy goats caused by bacterial species. *J. Anim. Health Prod*, 4(2), 55-59.
- Quadratin (2015). Impulsan a productores lecheros de la ciénaga de Chapala. Recuperado el 07 de mayo del 2016, <https://www.quadratin.com.mx/>

- Quiceno, N., & Ochoa, M. (2009). *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina: bases moleculares de la resistencia, epidemiología y tipificación. *Iatreia*, 22(2), 147-158.
- Rabello, F., Souza, R., Duarte, S., López, M., Teixeira, M., & Castro, C. (2005). Characterization of *Staphylococcus aureus* isolates recovered from bovine mastitis in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of dairy science*, 88(9), 3211-3219.
- Restrepo, J., Ortiz, L., Cardona, X., & Olivera, M. (2012). Evaluación de la sensibilidad y especificidad del diagnóstico molecular del *Staphylococcus aureus* en leche de vacas afectadas por mastitis. *Biosalud*, 11(2), 40-51.
- Rojas, N., Fernández, N., Espino, M., & Fernández, M. (2001). Patrones de drogorresistencia de cepas de *Staphylococcus aureus* de origen clínico humano. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 53(1), 53-58.
- Ruiz, A., Ponce, P., Gomes, G., Mota, A., Elizabeth, S., Lucena, R., & Benone, S. (2011). Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. *Revista de Salud Animal*, 33(1), 57-64.
- Ruiz, D., Ramírez, N., & Arroyave, O. (2016). Determinación de concentraciones inhibitorias mínimas a algunos antibióticos de las bacterias aisladas de glándula mamaria bovina en San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 14(2), 143-154.
- Ruiz, D., Ramírez, N., & Arroyave, O. (2016). Determinación de concentraciones inhibitorias mínimas a algunos antibióticos de las bacterias aisladas de glándula mamaria bovina en San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 14(2), 143-154.
- Ruiz, R., Cervantes, R., Ducoing, A., Hernández, L., & Martínez, D. (2013). Principales géneros bacterianos aislados de leche de cabra en dos granjas del municipio de Tequisquiapan, Querétaro, México. *Revista mexicana de ciencias pecuarias*, 4(1), 93-106.

- Ruiz, R., Cervantes, R., Martínez, D., Ducoing, A., & Hernández, L. (2013). Desarrollo de una PCR múltiple para la identificación de *Staphylococcus spp.* como causa de mastitis caprina. *Sceilo. Archivos de medicina veterinaria*, 45(3), 327-331.
- SAGARPA. (2010). Sistema de Información Agrícola y Pesquera SIAP. www.sagarpa.gov.mx
- Salazar, R., De Fernández, M., Natera, A., Ocando, N., Díaz, Z., & Bracho, A. (2011). *Staphylococcus aureus* procedentes de quesos: susceptibilidad a antibióticos y su relación con plásmidos. *Revista Científica*, 21(3).
- San Martín, B., Kruze, J., Morales, M. A., Agüero, H., León, B., Espinoza, S., & Borie, C. (2002). Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y Xª Región, Chile. *Archivos de medicina veterinaria*, 34(2), 221-234.
- Sánchez, J., Salgado, J., & Ramos, V. (2007). Niveles de células somáticas y prevalencia de mastitis en hatos caprinos del municipio de mapimi, Durango, México somatic cell counts and prevalence of mastitis in goat herds of the mapimi county, Durango, México. *Revista Chapingo Serie Zonas Aridas*, 6, 235-238.
- Sánchez, M., Hernández, O., Velásquez, L. A., Rivas, D., Marín, A., González, L. A., & Duque, C. (2013). Caracterización del gen *mecA* de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aislados de tres grupos poblacionales de la ciudad de Medellín. *Infectio*, 17(2), 66-72.
- Sánchez, M., Orville, H., Astrid, L., Rivas, D., Marín, A., Andrés, L., & Duque, C. (2013). Caracterización del gen *mecA* de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aislados de tres grupos poblacionales de la ciudad de Medellín. *Infectio*. 17(2):66-72.
- Sánchez, M., Rojas, D., & Lugo, J. (2014). PCR y PCR-Múltiple: parámetros críticos y protocolo de estandarización. *Avances en Biomedicina*, 3(1), 25-33.
- Schalm, W., Carroll, J., & Jain, C. (1971). Bovine mastitis. *Bovine mastitis*.
- SIAP (Servicio De Información Agroalimentaria y Pesquera). (2011). Caprinos. Recuperado el 28 de abril del 2016, <http://www.siap.gob.mx/poblacion-ganado>

- Suárez, H., Martínez, M., Gianre, V., Calvino, L., Rachoski, A., Chávez, M. & Bertoni, E. (2014). Relaciones entre el recuento de células somáticas, test de mastitis California, conductividad eléctrica y el diagnóstico de mastitis subclínicas en cabras lecheras. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 40(2), 145-153.
- Tafur, J., Torres, J., & Villegas, M. (2011). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*, 12(3).
- Trujillo. M., Cervantes, R., Rodríguez, C., Ruiz, A., Ángeles, S., Martínez, I., López, G., Ortiz, A. & Arzate, L. (s.f) Proyecto de detección de mastitis en los CEIE. Recuperado el 03 de Junio del 2016, <http://www.fmvz.unam.mx/fmvz/secretarias/medicina/medicina/MASTITIS.pdf>.
- Villar, V., Barreras, A., Pujol, L., Tinoco L., Melgarejo, T. & Tamayo, A. (2016). Expresión de las b-defensinas LAP (péptido antimicrobiano lingual) y TAP (péptido antimicrobiano traqueal), así como psoriasina (S100A7), en la glándula mamaria bovina con mastitis crónica por *Staphylococcus aureus*. *Dialnet*, 26 (4), 29-35.
- Zadoks, R. (2014). Nuevos conceptos en la mastitis causada por *Klebsiella*. Universidad de Cornell en Ithaca, New York. Recuperado de: http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/19/cys_19_nuevos_conseptos_mastitis.pdf
- Zhao, Y., Liu, H., Zhao, X., Gao, Y., Zhang, M., & Chen, D. (2015). Prevalence and pathogens of subclinical mastitis in dairy goats in China. *Tropical animal health and production*, 47(2), 429-435.
- Zschöck, M., El-Sayed, A., Eissa, N., Lämmler, C., & Castañeda-Vázquez, H. (2011). Resistencia a penicilina G y oxacilina, de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis bovina subclínica. *Veterinaria México*, 42(3), 207-217.

