

Diagnóstico de mastitis subclínica y calidad microbiológica de la leche de cabra comercializada en el Centro Histórico de San Salvador

Mendoza-López Y.S.

Estudiante tesista, Facultad de Ciencias Agronómicas,
Universidad de El Salvador, E-mail: greengirl_31@hotmail.com

Alfaro-Cruz R.I.

Estudiante tesista, Facultad de Ciencias Agronómicas,
Universidad de El Salvador. E-mail: vetcenter.2011@hotmail.com

Ruano-Iraheta C.E.

Docente director, Departamento de Zootecnia, Facultad de Ciencias Agronómicas,
Universidad de El Salvador. E-mail: cruano33@yahoo.com

Castro- Menjivar J.A.

Docente director, Departamento de Medicina Veterinaria,
Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.
E-mail: Jorcel_vet@yahoo.com

Resumen

Con el fin de conocer la calidad de leche de cabra y determinar la presencia o ausencia de mastitis subclínica en los alrededores de los mercados y plazas ubicados en el centro histórico del municipio de San Salvador; lugares en donde se suele comercializar leche de cabra sin conocer su situación zoonosanitaria, se realizó este estudio durante los meses de diciembre de 2016 a julio de 2017. Las muestras de leche a estudiar fueron tomadas de cabras de diferentes edades, razas y números de partos; pero con niveles de producción similares entre cada punto de venta. Por lo cual, se decidió aplicar un muestreo aleatorio estratificado en 6 puntos de venta o estratos, representando el 60% del total de la producción del Centro Histórico. Cada semana se visitaron 3 puntos de venta recolectando de 2 a 4 muestras por lugar. Antes de la recolección se practicaron pruebas de CMT a cada muestra. Por semana se recolectaron entre 14 y 16 muestras, haciendo un total de 90. Las muestras se colocaron en botes estériles y se realizó un cultivo en laboratorio para identificar agentes causales; además a cada muestra se le realizó la prueba de reductasa para conocer la calidad bacteriológica de leche distribuida. Se obtuvieron los siguientes resultados: el 13.33% de animales en estudio tienen mastitis subclínica y el mayor agente etiológico causal de la enfermedad es *Staphylococcus* spp., seguido de *Escherichia coli*. Las conclusiones más relevantes fueron que unas de las causas de mastitis subclínica en la zona en estudio fueron la deficiencia de higiene del ordeño y la falta de ordeño completo. Si los niveles de carga bacteriana en leche son muy altos puede llegar a desencadenar enfermedades por ingesta a los consumidores y el 70% de leche que es comercializada en la zona es categoría "A" según la prueba de reductasa.

Palabras clave: Mastitis subclínica en cabras, Centro histórico de San Salvador, Prueba de CMT, Prueba de reductasa, *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*.

Abstract

In order to know the quality of goat's milk and determine the presence or absence of subclinical mastitis in the surroundings of the markets and plazas located in the historic center of the municipality of San Salvador; places where goat's milk is usually sold without knowing its zoonosanitary situation, this study was carried out during the months of December 2016 to July 2017.

The samples of milk to be studied were taken from goats of different ages, races and numbers of births; but with similar production levels between each point of sale. Therefore, it was decided to apply stratified random sampling in 6 points of sale or strata, representing 60% of the total production of the Historic Center. Each week 3 points of sale were visited, collecting 2 to 4 samples per place, before the collection, CMT tests were performed on each sample. Weekly, between 14 and 16 samples were collected, making a total of 90. The samples were collected in sterile containers and a culture was performed in the laboratory to identify causative agents; In addition, each sample was subjected to the reductase test to determine the bacteriological quality of the milk distributed. The following results were obtained: 13.33% of the animals under study have subclinical mastitis and the major causal etiologic agent of the disease is *Staphylococcus* spp., followed by *Escherichia coli*. The most relevant conclusions were that one of the causes of subclinical mastitis in the study area was the deficiency of milking hygiene and the lack of complete milking. If the levels of bacterial load in milk are very high, it can lead to illnesses due to intake to consumers and 70% of milk that is marketed in the area is category "A" according to the reductase test.

Key words: Subclinical mastitis in goats, Historic Center of San Salvador, CMT test, Reductase test, *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*.

Introducción

La caprinocultura en la actualidad es uno de los rubros zootécnicos menos desarrollados en El Salvador, debido a esto existe poco conocimiento y tecnología alrededor de su explotación. Los productores que trabajan en este rubro, en su mayoría son personas de escasos recursos del área rural (Cuellar *et al.* 2011).

En El Salvador se cuenta con 6.986 cabezas contabilizadas hasta el 2008 (DIGESTYC 2008) de las cuales se desconoce en totalidad su situación zoonosanitaria. Por ende, no se consigue asegurar la calidad microbiológica de leche que estas poseen y si se encuentran libres o no de enfermedades de importancia como la mastitis subclínica; generando así, una posible duda sobre lo que realmente consume la población. Además, a ello sumamos la falta de pasteurización de la leche lo cual trae consigo consecuencias lamentables para los que consumen el producto (FDA 2015).

Mantener una buena salud en un rebaño caprino es esencial para producir leche de alta calidad. Enfermedades como la mastitis subclínica tienen un impacto directo sobre la calidad de la leche producida y frecuentemente, la producción animal sufre pérdidas debido a la falta de un diagnóstico integral y oportuno (IICA 1996).

La mastitis subclínica es común en el ganado productor de leche, encuestas de rebaños lecheros caprinos indican que la enfermedad puede ocurrir en un 15 a 20% de animales lactantes (Pugh 2002).

En 1989 en la Universidad de El Salvador se realizó un estudio denominado: “Situación zoonosanitaria con especial referencia a mastitis clínica y subclínica de la población caprina en el municipio de Pasaquina, La Unión”. En el cual se tomaron 70 muestras de leche, dando como resultado que el 100% de muestras fueron positivas a mastitis subclínica de acuerdo a la prueba de CMT, identificando que los agentes causales de dicha enfermedad eran *Staphylococcus pyogenes* y *Streptococcus spp.* (Álvarez *et al.* 1989).

Por lo anterior, esta investigación determinó la presencia de mastitis subclínica en cabras ubicadas en el centro histórico de la ciudad de San Salvador a través de la prueba de CMT en leche y su calidad microbiológica a través de la prueba de reductasa. Esto servirá para concientizar a la población sobre la importancia de salud en rebaños caprinos que comercializan su leche para consumo humano, y que se puede volver un foco epidemiológico si no se toman medidas del caso; dejando así un precedente científico con datos que puedan ser utilizados en salud pública.

Materiales y métodos

Ubicación, duración y unidades experimentales

La investigación se realizó en diferentes puntos del centro histórico del municipio de San Salvador donde se comercializa leche de cabra todas las mañanas. El Centro Histórico se encuentra situado en el departamento de San Salvador, El Salvador, con un total de 316,090 hab. (DIGESTYC 2014). Limita al norte con avenida Independencia y Bulevar Venezuela, al sur con el Barrio La Vega y al poniente con Barrio La Vega y Parque Cuscatlán.

La investigación inició el día 12 de junio del 2017 con la primera toma de muestras y la realización de la prueba de California Mastitis Test (CMT), colocando cantidades iguales de reactivo y leche (2 ml) en las cavidades de una paleta de plástico (Ver metodología de campo); de cada cabra se obtuvieron 2 muestras, una por cada teta. Posteriormente se tomaron más muestras durante 6 semanas, hasta obtener un total de 90 muestras, luego las que resultaron sospechosas a CMT fueron llevadas al laboratorio del Ministerio de Agricultura y Ganadería y al laboratorio del Ministerio de Salud para realizar siembras en medios de cultivos en el primer laboratorio y realizar la prueba de Reductasa en el último para conocer la calidad bacteriológica de la leche en estudio. Finalizando el día 22 de julio del 2017 con una entrevista a cada productor.

Metodología de campo

La fase de campo se dividió en 6 muestreos, realizando uno cada lunes a tres puntos de venta y la siguiente semana a otros 3 lugares diferentes, es decir, que se llegó a cada punto cada 15 días; obteniendo 3 muestreos por cada punto de venta en la sexta semana.

Únicamente se realizaron 3 muestreos por día porque estas muestras debían ser procesadas en el laboratorio antes de las 9:00 a.m., según indicaciones del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG). Se recolectó de manera aleatoria por estrato cada muestra de leche de una sola teta de cada cabra y luego de la otra teta, en depósitos estériles de 90 ml (Fig. 1). Cada cabra fue identificada con un número correlativo para facilitar su identificación. El ordeño fue directo al depósito estéril sin intermedios para evitar la contaminación de la muestra. Luego cada bote fue debidamente identificado y colocado en una hielera con una temperatura aproximada de 3 a 4°C que ayudo a su conservación para el traslado.

Durante la recolección de la muestra se observaron aspectos importantes del ordeñador como limpieza personal, forma en la que ordeña y si provoca o no maltrato al hacerlo; además de aspectos básicos de limpieza en las tetas, si realiza descarte de las primeras extracciones, o si sella los pezones luego del ordeño.

Antes de la recolección de cada muestra, se practicó una prueba de CMT a cada cabra de la cual se tomaría muestra. Para realizar la prueba se utilizó una prueba comercial o Kit donde se colocan cantidades iguales de leche y reactivo (2 a 3 ml) en las cavidades de la paleta plástica y con la ayuda de movimientos circulares se mezclan la leche y el reactivo. La solución una vez lista se coagula adquiriendo una forma de gelatina con apariencia de moco visible; donde el detector de pH se vuelve de color púrpura oscuro en la leche alcalina y bronceado a amarillo en la leche ácida.

Metodología de laboratorio

Esta fase se llevó a cabo en el laboratorio del Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG) y en uno de los laboratorios del Ministerio de Salud (MINSAL); para la identificación de agentes microbiológicos se realizó lo siguiente: se esterilizó el medio a 15 PSI por treinta minutos. Luego se identificaron dos placas Petri estériles, con Agar Sangre para identificar *Staphylococcus* spp., dos con Agar Baird Parker para identificar la presencia de *Staphylococcus aureus*, y dos con Agar McConkey para determinar la presencia de *Escherichia coli*; cada una fue marcada con la fecha y el tipo de muestra.

Cada caja Petri, se inoculó con 1 ml de la muestra de leche indicada en la etiqueta previamente colocada en ella y se realizó la siembra por agotamiento en cada uno de los medios. Las placas Petri fueron incubadas a temperatura de 35 – 37 °C durante 24 horas, en el caso del Agar sangre y Agar McConkey y 48 horas para el Agar Baird Parker. Finalmente se observaron las colonias obtenidas. De no observarse un crecimiento definido las muestras se dejaron por 24 horas más para luego emitir su resultado.

Mientras que para la prueba de Reductasa, el procedimiento fue medir exactamente 10 cc de leche de cabra con jeringas estériles y descartables; una jeringa por cada muestra, luego se vertieron asépticamente en tubos de ensayo, 3 tubos por muestra.

Se utilizó la misma jeringa para las repeticiones (3 de cada una). Se agregó 1 cc de la solución de azul de metileno a cada muestra; se tuvo el cuidado de no introducir la pipeta en la leche ni mojar la pared interna del tubo.

Posteriormente se tapó el tubo con un tapón de goma y se calentó en baño maría a $37 \pm 0,5$ °C durante un tiempo no mayor de 5 min. Después, se invirtió el tubo varias veces hasta homogeneizar su contenido e, inmediatamente, se colocó verticalmente en el baño de agua a $37 \pm 0,5$ °C, protegiéndolo de la luz solar o artificial, para la incubación. Se repitió la inversión cada media hora, y se tomó como tiempo de reducción el intervalo transcurrido desde la puesta en incubación hasta que la mezcla de leche con azul de metileno se decoloró totalmente. Una vez obtenidos todos los resultados, el tiempo de reducción se comparó con el reglamento de leche cruda de vaca.

Metodología estadística.

Se aplicó el muestreo aleatorio estratificado para determinar el número de muestras que se tomaron de cada estrato. Como el número de animales es diferente en cada estrato se decidió cumplir con la aplicación de la fórmula $n = NZ^2pq/D^2(N-1) + Z^2pq$; donde $n=1$ y $n_i = n \cdot (N_i/N)$; en el cual n_i para $L_1=4$, $L_2=2$, $L_3=2$, $L_4=2$, $L_5=2$ y $L_6=3$. Luego se aplicó un muestreo aleatorio simple para tomar las muestras de leche por estrato. El resultado de $n_i=n$ fue multiplicado por 2 para poder obtener una muestra por cada teta. Además, con el fin de obtener una mayor representatividad en el número muestral, se determinó realizar dos recolecciones más por punto de venta. Al unir el total de muestras se obtuvo un número final de 90 muestras que representa el 60% del número total de animales en la zona.

Las variables descriptivas dependientes del estudio fueron:

Diagnóstico de Mastitis Subclínica

Esta variable se determinó realizando la prueba de CMT a cada una de las 90 muestras de leche de cabra.

Porcentaje de cabras con Mastitis Subclínica

Al realizar la prueba de CMT se determinó el porcentaje de la enfermedad mediante la siguiente fórmula: (Total casos positivos/Total población muestreada) * 100.

Microorganismos aislados de las cabras con Mastitis Subclínica

Se inició con una siembra en 3 placas diferentes de cada una de las muestras que resultaron sospechosas a CMT, luego durante el cultivo se produjo un crecimiento y se identificaron el o los agentes causantes de la Mastitis subclínica.

Tiempo de reducción de azul de metileno

Se realizó una prueba de Reductasa, la cual indicó la carga bacteriológica de leche obtenida según el tiempo de reducción de azul de metileno.

Relación entre presencia de Mastitis Subclínica y Factores: manejo, higiene en el ordeño y medio de transporte.

Mediante un documento de evaluación simple (encuesta) y entrevista personal se entrelazaron el método de ordeño y las condiciones de transporte de cada punto de venta con los resultados positivos a mastitis subclínica.

Resultados y discusión

Prueba de CMT

La prueba de CMT realizada a cada una de las tetas de las cabras en producción de los diferentes puntos de venta mostró una tendencia a mastitis subclínica en 6 muestras; (cuadro 1). La prueba se realizó para ambas tetas en cada una de las cabras, en la mayoría de ocasiones una teta resultó sospecha mientras la otra no. Por tanto, si la leche de una ubre contiene puntuaciones marcadamente más altas en CMT en comparación con el resto de tetillas, un diagnóstico de mastitis subclínica es justificado y debe realizarse un cultivo para complementar el diagnóstico (Pugh 2002). Por lo cual las 6 muestras fueron llevadas al laboratorio para ser procesadas y poder afirmar el caso de mastitis subclínica. De un total de 90 muestras 84 resultaron negativas y 6 positivas a mastitis subclínica con la prueba de CMT. En el lugar L1 o parque Hula-Hula se observó una tendencia de negatividad a mastitis en las 24 muestras tomadas.

Lo cual es producto de sus prácticas higiénicas de ordeño como aseo personal, manos limpias, los animales no están en contacto con sus excretas y de un manejo adecuado del ordeñador a sus animales como se logró observar durante los muestreos; catalogándolo como el mejor punto de venta.

A diferencia del lugar L2 o mercado Ex cuartel donde se observó poca higiene durante el ordeño y falta de aseo personal, lo cual se tradujo a que 4 de sus 12 muestras mostraron mastitis subclínica clasificándolo como el peor lugar en estudio. El lugar L4 y L6 solo obtuvieron una muestra positiva a mastitis de un total de 12 y 18 muestras respectivamente; esto puede atribuirse al tipo de rutinas higiénicas que proporcionan a sus animales.

Cuadro 1. Aplicación de Prueba CMT según lugar y semana de muestreo

Lugar de Muestreo	Semana de muestreo	Nº animales muestreados	Nº muestras obtenidas	Nº muestras sospechosas a CMT	Nº muestras negativas a CMT
L1= Parque Hula-Hula	1º	4	8	0	8
	2º	4	8	0	8
	3º	4	8	0	8
L2= Mercado Ex Cuartel	1º	2	4	1	3
	2º	2	4	2	2
	3º	2	4	1	3
L3= Parque Infantil	1º	2	4	0	4
	2º	2	4	0	4
	3º	2	4	0	4
L4= Mercado Sagrado Corazón	1º	2	4	0	4
	2º	2	4	1	3
	3º	2	4	0	4
L5= Mercado Central (Escuela Santa Lucía)	1º	2	4	0	4
	2º	2	4	0	4
	3º	2	4	0	4
L6= Mercado Central (Cementerio General)	1º	3	6	0	6
	2º	3	6	1	5
	3º	3	6	0	6
Total		45	90	6	84

La prueba de CMT es de las pruebas más rápidas y seguras que existen para determinar una mastitis subclínica (Figuroa *et al.*1984). Lo cual quedó comprobado durante la fase de campo ya que era muy sencillo poder interpretar la viscosidad o la ausencia de la misma en las muestras.

Porcentaje de cabras con mastitis subclínica

Del total de puntos de venta muestreados en el Centro Histórico de San Salvador se determinó que 6 muestras poseen carga bacteriana que desencadena una serie de casos de mastitis subclínica; determinadas a través de CMT y en cultivos de laboratorio, de un total de 45 cabras. De estas 6 muestras 4 fueron en el lugar L2 o mercado Ex cuartel y 1 en el lugar L4 o mercado Sagrado corazón y la última en el lugar L6 o Mercado central 2.

Con la ayuda de la fórmula para determinar el porcentaje de cabras con Mastitis subclínica se determinó que 13.33% ($6/45=0.1333*100$) de los animales en estudio posee mastitis subclínica. Un porcentaje que debe de ser alarmante para los caprinocultores tomando en cuenta que la presencia de mastitis subclínica es de 15 a 40 veces más prevalente que la forma clínica (Flores 2012). Lo que indica que la salud de sus rebaños se encontrara comprometida y afectara sus ganancias por perdidas económicas.

Identificación de microorganismos causantes de Mastitis subclínica

Al realizar el cultivo de las 6 muestras positivas en la prueba de CMT, se logró identificar al menos 2 agentes patógenos asociados a la presencia de mastitis subclínica (Cuadro 2) en 3 de los 6 lugares en estudio.

Los resultados determinan la presencia de mastitis subclínica, asimismo se confirmó a través de los crecimientos de microorganismos en placa que la enfermedad es provocada por *Staphylococcus* spp. y *Escherichia coli* dos de los agentes más comúnmente causantes de esta enfermedad según Merck (2000). Siendo *Staphylococcus* spp. el más importante patógeno causante de mastitis en la mayoría de los rebaños. (Shearer 2003).

Merck (2000), menciona que los estafilococos son prevalentes y parecen causar infecciones persistentes que dan lugar a recuentos celulares incrementados y mastitis subclínica de bajo grado con algunos episodios clínicos recurrentes. Por lo cual, se vuelve muy lógico que durante este estudio los dos patógenos antes mencionados sean los causantes de mastitis. Además, los resultados son parecidos a los reportados en otro estudio en leche de cabra, en el cual *Staphylococcus* spp. se encuentra en un porcentaje de 11% y *Escherichia coli* en 1.6% del total de muestras (Palma 2012).

Staphylococcus spp. también fue reportado por Álvarez (*et al.* 1989), en La Unión y sin duda seguirá afectando a la mayoría de caprinocultores y ganaderos del país. Desde el punto de vista sanitario es de gran importancia ya que los estafilococos pueden provocar enfermedades o intoxicaciones en los humanos. *S. aureus* por ejemplo, produce una exotoxina que causa fuertes trastornos intestinales en los humanos (Palma 2012).

Otros agentes que fueron aislados fueron *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactococcus cremoris*; pero estos no tienen relevancia en el estudio ya que ambos no son causantes de mastitis, sino que son bacterias encargadas de la fermentación de la leche o mejor conocidas como BAL. Estos organismos comprenden un caldo de bacterias Gram positivas y su característica común es la producción de ácido láctico (Palma 2012). Algunas especies

Cuadro 2. Resultados de cultivos en laboratorio para muestras sospechosas en CMT

Lugar de muestreo	Muestras sospechosas a CMT	Especies Identificadas por muestra		
		<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>E. coli</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> y <i>Lactococcus cremoris</i>
L2= Mercado Ex Cuartel	4	Muestra 1 Muestra 3	Muestra 3 Muestra 4	Muestra 4
L4= Mercado Sagrado Corazón	1	-----	Muestra 4	-----
L6= Mercado Central (Cementerio)	1	Muestra 4	-----	-----
Total	6			

producen polisacáridos, que aumentan la viscosidad de la leche cambiando su textura como *Lactococcus cremoris* (Heer 2007). Así que no es extraño el aislamiento de este tipo de microorganismos en muestras provenientes de productos lácteos.

Prueba de Reductasa

En el Cuadro 3 se muestran los resultados obtenidos en el primer punto de venta el Parque Hula- Hula (L1). Donde se observa que durante todas las pruebas sus resultados fueron negativos. Sin duda debido a sus buenas practicas higiénicas de ordeño observadas durante el estudio.

Cuadro 3. Resultados de Prueba de reductasa Parque Hula-Hula

Nº de muestreo (Fecha)	Parque Hula-Hula					
	Muestra Teta Derecha	Tiempo reducción	Resultado	Muestra Teta Izquierda	Tiempo reducción	Resultado
1º (12-06-17)	L1C1	+6h	Negativo	L1C1	+6h	Negativo
	L1C2			L1C2		
	L1C3			L1C3		
	L1C4			L1C4		
2º (26-06-17)	L1C5	+6h	Negativo	L1C5	+6h	Negativo
	L1C6			L1C6		
	L1C7			L1C7		
	L1C8			L1C8		
3º (10-07-17)	L1C9	+6h	Negativo	L1C9	+6h	Negativo
	L1C10			L1C10		
	L1C11			L1C11		
	L1C12			L1C12		

Nota: L= Lugar de venta; C=número de cabra muestreada

En el Cuadro 4 se muestran los resultados que se obtuvieron en el segundo punto de venta el mercado Ex cuartel (L2). Donde se observa que de 12 muestras 8 resultaron positivas a la reducción de azul de metileno. Clasificándolo como el lugar con mayor carga bacteriana en leche; resultado sin duda, debido a las deficiencias mostradas en técnicas de higiene que afectan la carga bacteriana de las muestras y por ende su calidad (Arauz 2011).

Cuadro 4. Resultados de Prueba de reductasa Mercado ex cuartel

Mercado Ex Cuartel						
N° de muestreo (Fecha)	Muestra Teta Derecha	Tiempo reducción	Resultado	Muestra Teta Izquierda	Tiempo reducción	Resultado
1° (12-06-17)	L2C1	1h50min	Positivo	L2C1	+6h	
	L2C2			L2C2	1h21min	
2° (26-06-17)	L2C3			L2C3	1h30min	Positivo
	L2C4	+6h	Negativo	L2C4	1h12min	
	L2C5			L2C5	1h	
3° (10-07-17)	L2C6	1h12min	Positivo	L2C6	1h12min	

Nota: L= Lugar de venta; C=número de cabra muestreada

En el Cuadro 5 se observan los resultados del tercer punto de venta el Parque Infantil (L3). Donde se aprecia que durante todas las pruebas sus resultados fueron negativos, esto es debido a la implementación de buenas prácticas de ordeño por parte del propietario del lugar.

Cuadro 5. Resultados de Prueba de reductasa Parque Infantil

Parque Infantil						
N° de muestreo (Fecha)	Muestra Teta Derecha	Tiempo reducción	Resultado	Muestra Teta Izquierda	Tiempo reducción	Resultado
1° (12-06-17)	L3C1			L3C1		
	L3C2			L3C2		
2° (26-06-17)	L3C3			L3C3		
	L3C4	+6h	Negativo	L3C4	+6h	Negativo
	L3C5			L3C5		
3° (10-07-17)	L3C6			L3C6		

Nota: L= Lugar de venta; C=número de cabra muestreada

En el Cuadro 6 y Cuadro 7 se observan los resultados del cuarto punto de venta el mercado Sagrado corazón (L4) y el mercado Central (L5). Donde se aprecia que durante todas las pruebas sus resultados fueron negativos, al igual que ocurre en el lugar L1 y L3.

Cuadro 6. Resultados de Prueba de reductasa Mercado Sagrado corazón

Mercado Sagrado Corazón						
N° de muestreo (Fecha)	Muestra Teta Derecha	Tiempo reducción	Resultado	Muestra Teta Izquierda	Tiempo reducción	Resultado
1° (19-06-17)	L4C1			L4C1		
	L4C2			L4C2		
2° (3-07-17)	L4C3			L4C3		
	L4C4	+6h	Negativo	L4C4	+6h	Negativo
	L4C5			L4C5		
3° (17-07-17)	L4C6			L4C6		

Cuadro 7. Resultados de Prueba de reductasa Mercado Central 1

Mercado Central (Frente Escuela Santa Lucia)						
N° de muestreo (Fecha)	Muestra Teta Derecha	Tiempo reducción	Resultado	Muestra Teta Izquierda	Tiempo reducción	Resultado
1° (19-06-17)	L5C1			L5C1		
	L5C2			L5C2		
2° (3-07-17)	L5C3			L5C3		
	L5C4	+6h	Negativo	L5C4	+6h	Negativo
	L5C5			L5C5		
3° (17-07-17)	L5C6			L5C6		

En el Cuadro 8 se muestran los resultados que se obtuvieron en el sexto y último punto de venta el mercado Central 2 (L6). Se observa que del total de sus 18 muestras 3 de ellas resultaron positivas a la reducción de azul de metileno; es decir, que cambiaron de color debido a la multiplicación de enzimas que reducen el azul de metileno (García *et al.* SF) dado por una gran cantidad de presencia bacteriana (Arauz 2011). De las 90 muestras en estudio, en 79 muestras de leche no se observó ningún cambio luego de al menos 6 horas en Baño María, lo que indica que la población bacteriana no es alta ya que la rapidez con que cambia de color está en función de la población bacteriana y, por ello, puede ser un índice del grado de contaminación de la leche (García *et al.* SF). Sin embargo, en 2 puntos de ventas (mercado Ex cuartel y mercado Central 2) hubo virajes de color de 11 muestras entre sí.

Cuadro 8. Resultados de Prueba de reductasa Mercado Central 2

N° de muestreo (Fecha)	Mercado Central (Cementerio General)					
	Muestra Teta Derecha	Tiempo reducción	Resultado	Muestra Teta Izquierda	Tiempo reducción	Resultado
1° (19-06-17)	L6C1	+6h	Negativo	L6C1	+6h	Negativo
	L6C2			L6C2		
	L6C3			L6C3		
2° (3-07-17)	L6C4	1h40min	Positivo	L6C4	1h36min	Positivo
	L6C5			L6C5		
	L6C6			L6C6		
3° (17-07-17)	L6C7	+6h	Negativo	L6C7	+6h	Negativo
	L6C8			L6C8		
	L6C9			L6C9		

Nota: L= Lugar de venta; C=número de cabra muestreada

Comparación de la Prueba de Reductasa

Los datos obtenidos en la prueba de reductasa para leche de cabra cruda muestran que en 4 de los 6 puntos de venta hay tiempos de viraje que clasifican las muestras de leche como calidad A. Pero también es importante resaltar que el que se catalogó como el peor lugar de venta (mercado Ex cuartel) en las pruebas de CMT, también resultó con el peor grado de calidad de leche.

Esto es debido a que la prueba evalúa la calidad higiénico- microbiológica de la leche y todas las observaciones realizadas a este punto de venta muestran que tiene una deficiencia en la higiene tanto del lugar como del ordeñador; además mastitis subclínica conduce a una alteración significativa de los componentes químicos; como la grasa, proteína, lactosa y contenido de los minerales. De acuerdo con algunos estudios y el Consejo Nacional de Mastitis de los Estados Unidos; la composición de la leche se altera drásticamente; afectando y reduciendo su calidad (Arauz 2011) (Flores 2012).

Esto no sucede en otros estudios como por ejemplo una investigación realizada en seis ganaderías lecheras en Sonsonate, donde se evaluó la relación entre el resultado de la prueba de california para mastitis y las características físico- químicas y microbiológicas de la leche; obteniendo que los valores finales en la prueba Reductasa para leche muestran tiempos de viraje que en general las clasifican como calidad A en la mayoría de casos, independientemente del grado de mastitis de las vacas.

Incluso en las muestras positivas a CMT hubo una reacción de seis horas o más en la gran mayoría de los casos. Por tanto, los grados de calidad de la leche son independientes a los resultados obtenidos en CMT (Fuentes *et al.*, 2016).

Pero la sola presentación de estos datos no basta para relacionarlos con que tan alta o baja puede ser su carga bacteriana. Por lo tanto, es necesario basar la interpretación de los datos en la clasificación de la Norma Salvadoreña para la Leche Cruda de Vaca, donde existen categorías A, B y C para la leche. Fue necesario aplicarla porque en el país no existe una norma para leche cruda de cabra. El Grado A es igual a 6 horas o más en el cambio de color por la reacción del azul de metileno y en cuanto a la cantidad de bacterias presentes es menor o igual a 300,000 bacterias/ml; Grado B equivale a 4 horas y menos de 6 horas en el viraje de color y mayor a 300,000 y menor o igual a 600,000 bacterias/ml y Grado C es igual a menos de 4 horas en el viraje de color por la reacción del azul de metileno y mayor de 600,000 y menor de 900,000 bacterias/ml (CONACYT 2017). Tomando en cuenta lo anterior la leche obtenida se puede clasificar de la siguiente manera (Fig. 1).

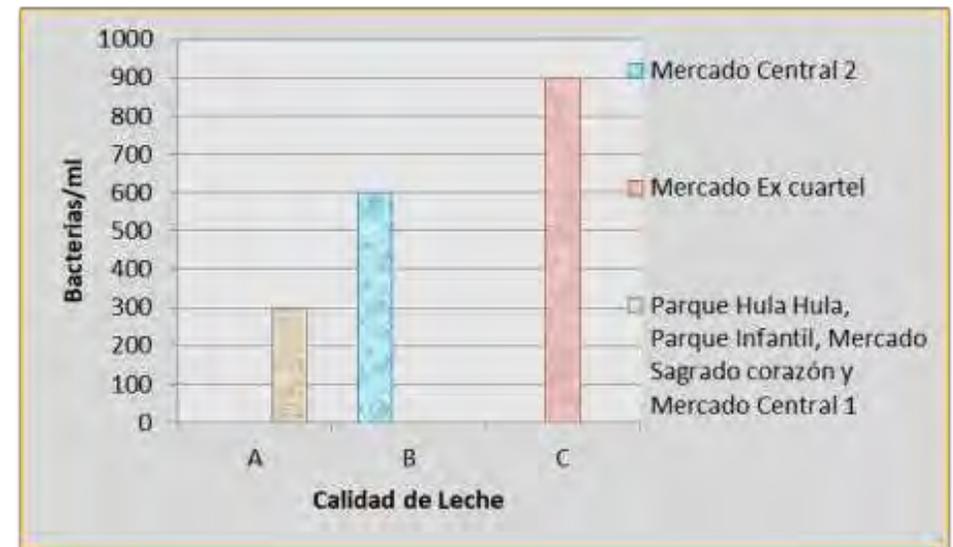


Figura 1. Clasificación de la Leche según la Norma Salvadoreña para leche cruda

Prácticas de higiene antes, durante el ordeño, transporte y su relación con Mastitis Subclínica.

Se observó la rutina de limpieza que realiza el ordeñador en cada punto de venta antes y durante el ordeño; así como también la limpieza que realizan en el medio de transporte y el método usado para que las cabras no se encuentren en contacto con sus excretas (cuadro 9) y como todo este conjunto de acciones favorece o no la presencia de mastitis subclínica en sus cabras.

Cuadro 9. Presencia de mastitis subclínica según el lugar y sus practicas de limpieza antes y durante el ordeño

Lugar	Prácticas de higiene durante ordeño y traslado												Presencia de Mastitis Subclínica	
	Limpieza de ubre		Ordeñador limpio		Descarte 1° extracción		Técnica de ordeño		Transporte limpio		Presencia de cama		Si	No
	No	Solo agua	Si	No	Si	No	Fuerte y Traumática	Suave y Adecuada	Si	No	Si	No		
L1	X		X			X				X		X		X
L2	X			X		X	Si				X		X	X
L3		X	X			X		Si		X		X		X
L4		X	X			X		Si	X		X		X	X
L5		X	X			X		Si	X		X		X	X
L6	X			X		X		Si	X		X		X	X
Total	3	3	4	2		6	1	5	4	2	3	3		
Total lugares con mastitis subclínica													3	

En 2 de los puntos de venta no realizaron el lavado de la ubre antes de cada ordeño, además se observó el ordeñador sucio; dos condiciones que facilitan la presencia de microorganismos patógenos, ya que las manos del ordeñador pueden convertirse en vectores mecánicos de patógenos causantes de mastitis clínica y subclínica (Gonzales Cháves 2015). Independientemente del tipo de ordeño, la atención más estricta debe estar puesta en la sanitización de la ubre, que tiene como objetivo, asegurar la calidad de la leche y proteger a la cabra lechera contra infecciones durante el ordeño (Figuroa Valenzuela 2005). Al comparar estas dos deficiencias de prácticas higiénicas con los resultados de presencia de mastitis, se encuentran relacionadas; ya que en ambos lugares se identificó la presencia de mastitis subclínica en prueba de CMT y se confirmó en laboratorio con el crecimiento en placa.

Otros de los factores que se observó durante la investigación fue la falta de buenas prácticas de ordeño, resaltando la falta de descarte de la 1° extracción y la forma en la que realizan el ordeño. Se deben eliminar los 2 ó 3 primeros chorros de leche ordeñados ya que tienen muchos microbios y además se deben de examinar 1 ó 2 chorros siguientes sobre un tarro de fondo oscuro para ver si hay alteraciones en la leche (grumos, coágulos, etc.) que indiquen el comienzo de mastitis (PESA SF).

El mercado Ex cuartel es el único lugar de venta que realiza una forma de ordeño fuerte y traumática sobre sus cabras, lo cual favorece a la presencia de mastitis subclínica por el maltrato que se brinda a la ubre; así mismo, otra deficiencia por parte de todos los productores es la falta de descarte de la primera extracción.

El último factor ligado a la presencia de la mastitis subclínica en las cabras en estudio, es la limpieza en el medio de transporte y la presencia o ausencia de un método de recolección de excretas y orines, como lo es una cama de colcho, colocada en la parte posterior del camión o pick-up; lugar donde pasan la mayor parte del tiempo las cabras tanto en la movilización hacia sus puntos de venta como estando ya en los mismos; un factor que puede ser determinante para el contagio de microorganismos patógenos por parte del ambiente o contacto permanente de sus desechos. Esto coincide con lo descrito por Shearer (*et al.* 2003).

Se encontraron 3 condiciones, la primera es la falta de limpieza del transporte junto a la ausencia de cama, la segunda es la práctica de limpieza del vehículo y presencia de cama y la última es la limpieza del vehículo sin presencia de cama (Fig. 2). Donde en la primera condición se encuentran el Mercado Ex cuartel y el Parque Infantil; mientras que el Parque Hula Hula, el mercado Sagrado Corazón y el mercado Central 1 si presentaban limpieza del vehículo y presencia de cama y el mercado Central 2 si se manifestaba que realizaba una limpieza del

vehículo, pero no contaba con una cama para facilitar la recolecta de las excretas. Por tanto, el mercado Ex cuartel fue el peor punto de venta con las deficiencias de buenas prácticas de higiene y manejo lo cual se manifestó en la presencia de mastitis subclínica en 4 de sus 12 muestras de leche.

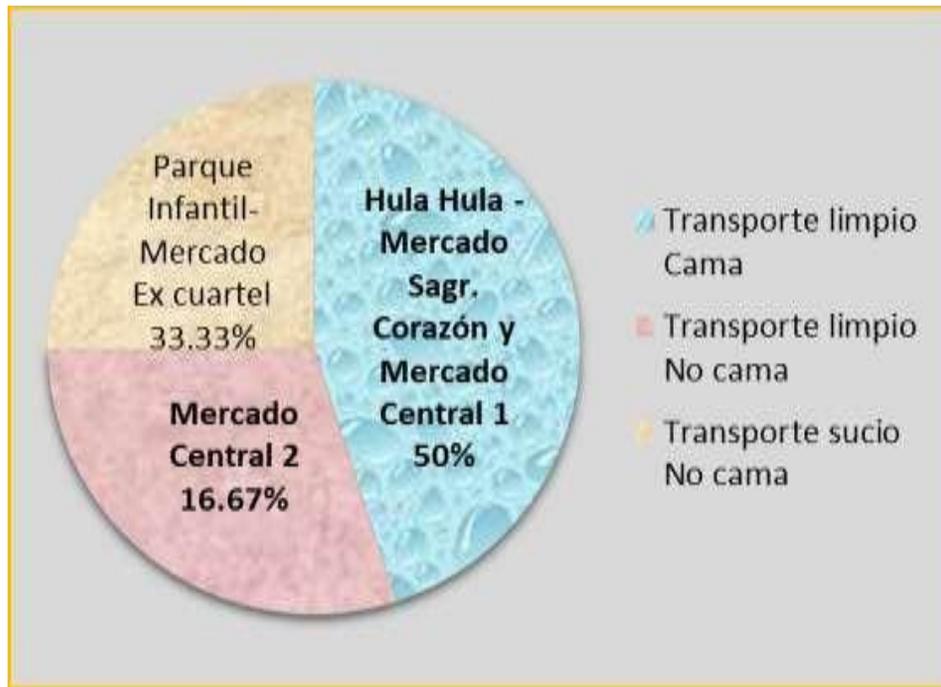


Figura 2. Porcentajes de puntos de venta con medidas de limpieza en el transporte y presencia de cama para excretas.

Conclusiones

El 13.33% de la leche que se comercializa en el centro histórico de San Salvador posee mastitis subclínica, diagnosticada por medio de la prueba de CMT. Este porcentaje proviene del Mercado Ex cuartel, Mercado Sagrado corazón y Mercado Central 2. Si los niveles de carga bacteriana son muy altos puede llegar a desencadenar enfermedades por ingesta a los consumidores.

En este estudio la presencia de mastitis subclínica se debe a la presencia de microorganismos considerados patógenos y relacionados a la enfermedad; como lo son *Staphylococcus* spp. y *Escherichia coli*.

Algunas de las causas de mastitis subclínica en la zona en estudio fueron la deficiencia de higiene del ordeño y la falta de ordeño completo.

El 70% de la leche que es comercializada en la zona del centro histórico es de clasificación A; según la prueba de reductasa realizada en la investigación.

Recomendaciones

Mejorar las condiciones de transporte, adecuando el número de cabras a transportar; e incorporar una cama de colcho o papel periódico picado para la recolección de heces y orina; proporcionando higiene y mayor confort durante el traslado a los puntos de venta.

Realizar prácticas de limpieza de los pezones antes de cada ordeño y efectuar un ordeño completo y colocar la leche en un contenedor de acero inoxidable que pueda llevarse a una temperatura de conservación de 3 a 4 °C para su posterior comercialización.

Emplear nuevas medidas de comercialización donde no se incluya el transporte de las cabras a los puntos de venta; sino únicamente la leche con medidas de conservación y utilizar puntos de ventas autorizados por el Ministerio de Salud.

Crear un reglamento que regule la comercialización de leche de cabra en el país, donde se tomen puntos críticos como carga bacteriológica, higiene, manejo, selección de punto de venta, entre otros.

Emplear por parte de los consumidores técnicas como la ebullición de leche (hervir) y refrigeración para evitar la transmisión de bacterias que causan enfermedades por ingesta de alimentos crudos.

Bibliografía

- Álvarez Rodríguez, EO.; Ávila Marroquín, LF.; Bermúdez, C. 1989. Situación zoonositaria con especial referencia a Brucelosis, Parasitosis y Mastitis de la población caprina en el municipio de Pasaquina, La Unión, El Salvador. Tesis Ingeniería Agronómica. San Salvador. Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas. Departamento de Zootecnia. 140p.
- Arauz, E.E. 2011. La mastitis subclínica y su influencia en la producción, calidad y economía lechera y medidas de manejo estratégico para su prevención y control apropiado (en línea). Laboratorio de fisiología animal aplicada y producción lechera. Departamento de Zootecnia. CEIA. Consultado el 12-08-2018. Disponible en www.engormix.com/ganaderia/leche/articulos/mastitissubclinica-t28995.htm
- CONACYT. 2017. Norma Salvadoreña Obligatoria de Productos Lácteos: Leche cruda de vaca. NSO 67.01.01:06 Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACYT. San Salvador. El Salvador. P 3-4, 50.
- Cuellar Rodríguez, EE; Morán Ruiz, EE; Rivera Acosta, GA. 2011. Evaluación del baja leche (*EuphorbiaIancifolia*) sobre la producción láctea de cabras encastadas SAANEN. Tesis Medicina Veterinaria y Zootecnia. San Salvador. Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas. Departamento de Zootecnia. 134p.
- DIGESTYC. 2014. Dirección General de Estadísticas y Censos. Censo de población y vivienda (en línea). Volumen I: Municipios, características generales: Tomo IV. Consultado el 15-04-2016. Disponible en <http://www.digestyc.gob.sv/>
- DIGESTYC. 2008. Dirección General de Estadísticas y Censos. Censo Agropecuario (en línea): Tomo IV. Consultado el 15-04-2016. Disponible en <http://www.digestyc.gob.sv/>
- FDA. 2015. Food & Drug Administration U.S. Los peligros de la leche cruda: La leche sin pasteurizar puede representar un riesgo grave para la salud (en línea). Department of Health and Human Services. U.S. Consultado el 15-02-2017. Disponible en <http://www.fda.gov/food>.
- Figueroa, M.; Vargas, L.; Mendoza, L.; Acevedo, O.; Chavarría, M.; Fonseca, E.; Maya, E. 1984. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos en Centroamérica. San José, Costa Rica. EUNED. P 195-211.
- Figueroa Valenzuela, C.; Meda Gutiérrez, FJ.; Janacua Vidales. H. 2005. Manual de Buenas Prácticas en producción de leche caprina. Capítulo 3: Consideraciones de buenas prácticas de producción de leche caprina relacionadas con la inocuidad durante el manejo de la leche. SAGARPA. México. P 22-32.
- Flores Guadarrama, A. 2012. Identificación de *Staphylococcus aureus* en leche de cabras con mastitis clínica en La Laguna de Coahuila. Tesis Medicina Veterinaria. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". Unidad Laguna. División regional de Ciencia Animal. Torreón, Coahuila. México. Pág. 10-16.
- Fuentes Cabrera, F.Z.; Mancia Aguilar, B.E.; Portillo Henríquez, B.C. 2016. Relación entre el resultado de la Prueba de California para mastitis y las características fisicoquímicas y microbiológicas de la leche en seis ganaderías lecheras en Sonsonate, El Salvador. Tesis Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad de El Salvador. Facultad de Ciencias Agronómicas. Departamento de Zootecnia. San Salvador, El Salvador. Pág. 46.
- García Martínez, E.; Fuentes López, A.; Fernández Segovia, I. SF. Determinación de la calidad higiénica de la leche mediante la medición indirecta del tiempo de reducción del azul de metileno o prueba de la reductasa microbiana (en línea). Universidad Politécnica de Valencia. Departamento de Tecnología de alimentos. Consultado el 13-02-2018. Disponible en <https://riunet.upv.es>.
- Gonzales Chaves, P. 2015. Manual Buenas Practicas de ordeño. CARITAS-PRA Buenaventura. Arequipa. Perú. P 14.
- Heer, G.E. 2007. Microbiología de la leche. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNL. Tecnología de la leche. Pág. 19.
- IICA. 1996. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. Componente de fortalecimiento de los programas de sanidad animal (en línea). Proyecto de Sanidad Agropecuaria. Volumen III. Anexo III.6. P 65. Consultado 13-07-2016. Disponible en <http://www.IICA.com>.

- Merck. 2000. Manual Merck de Medicina Veterinaria. Trad. Translation Company of América. 5a. Ed. Edit. Océano. Madrid, España. P 1132-1040.
- Palma Cancino, P.J. 2012. Identificación molecular de bacterias presentes en leche de cabra producida en Tlalchuy, Ixhuacán de los reyes, Veracruz. Tesis Experiencia Recepcional. Universidad Veracruzana. Facultad de Biología. Xalapa de Enríquez, Veracruz, México. Pág. 84
- PESA. SF. Programa Especial para la Seguridad Alimentaria. Guía para el manejo sanitario y reproductivo de las cabras: Principales Requisitos para el manejo sanitario en cabras con propósito lechero. Nicaragua. P 11-19.
- Pugh, DG. 2002. Sheep and Goat Medicine. Chapter 13: DÍseases of the Mamary gland. First Ed. Philadelphia. EE.UU. Saunders Edition. P 340-357.
- Shearer, J.K.; Harris, B.Jr. 2003. Mastitis in Dairy goats (en línea). University of Florida. Institute of Food and Agricultural Sciences. Consultado el 03-08-2018. Disponible en <http://edis.ifas.ufl.edu/>