

UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS
POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS



TESIS

Presencia comparativa de *E.coli* asociada a mastitis ambiental con relación al Índice Temperatura Humedad (ITH) en las regiones de los Altos y Centro del Estado de Jalisco.

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS PECUARIAS

P R E S E N T A

M. en C. JUAN MANUEL MORENO MARTÍNEZ

COMITÉ TUTORAL

DR. HUGO CASTAÑEDA VÁZQUEZ (Director)
DR. ARTURO VALDIVIA FLORES
DR. AGUSTÍN RAMÍREZ ALVAREZ
DR. EFRAÍN PÉREZ TORRES
DR. CARLOS CRUZ VAZQUEZ

ASESORES

DR. JACINTO BAÑUELOS PINEDA
DR. LUIS ALFONSO GUERRERO QUIROZ
DR. WILFRIED WOLTER

INTEGRANTES DEL CONSEJO ACADÉMICO DEL
POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS

Por este medio informo a ustedes que he revisado la última versión del documento de la tesis intitulada "PRESENCIA COMPARATIVA DE E. COLI ASOCIADA A MASTITIS AMBIENTAL CON RELACIÓN AL ÍNDICE TEMPERATURA HUMEDAD (ITH) EN LAS REGIONES DE LOS ALTOS Y CENTRO DEL ESTADO DE JALISCO" presentada por el M.C. JUAN MANUEL MORENO MARTÍNEZ, misma que se deriva de los trabajos de investigación que desarrolló bajo el tutelaje del DR. HUGO CASTAÑEDA VÁZQUEZ.

Debido a que no he encontrado ningún elemento relevante que impida su presentación y defensa en el examen de grado correspondiente, extendiendo un VOTO APROBATORIO para que pueda continuar con el proceso reglamentario de titulación del nivel doctorado dentro del POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS.

Atentamente

"SE LUMEN PROFERRE"

Jesús María, Aguascalientes a 25 de julio de 2008



DR. EN C. ARTURO G. VALDIVIA FLORES

Dr. Elías Sandoval Islas.
Presidente de la Junta Académica Extraordinaria del PICP.
Presente.

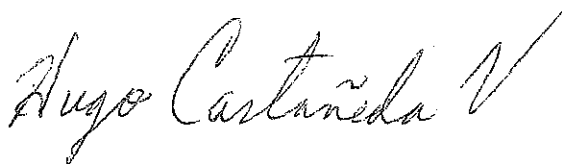
Con base en el reglamento del Posgrado Interinstitucional en Ciencias Pecuarias, le comunico que he revisado el trabajo de tesis del M en C. Juan Manuel Moreno Martínez, titulado:

“PRESENCIA COMPARATIVA DE *E. coli* ASOCIADA A MASTITIS AMBIENTAL CON RELACIÓN AL ÍNDICE TEMPERATURA HUMEDAD (ITH) EN LAS REGIONES DE LOS ALTOS Y CENTRO DEL ESTADO DE JALISCO”.
Que presenta el candidato en cuestión, como requisito parcial para obtener el grado de DOCTOR EN CIENCIAS PECUARIAS, motivo por el cual, considero que cumple con los requisitos para ser discutido en el examen de defensa de tesis correspondiente.

Por lo anterior expuesto, otorgo mi voto aprobatorio.

Se extiende la presente a los 24 días del mes de Julio de 2008, para los tramites administrativos necesarios que al interesado convengan.

Atentamente.
“Piensa y Trabaja”
Las Agujas, Zapopan. Jalisco



Dr. Hugo Castañeda Vázquez.
Profesor Investigador

DR. ELIAS SANDOVAL ISLAS

PRESIDENTE DE LA JUNTA ACADEMICA EXTRAORDINARIA DEL PICP

PRESENTE

En base al reglamento del Posgrado Interinstitucional de Ciencias Pecuarias, le comunico que he revisado el trabajo de tesis del MC Juan Manuel Moreno Martínez, titulado

PRESENCIA COMPARATIVA DE E. COLI ASOCIADA A MASTITIS AMBIENTAL CON RELACIÓN AL INDICE TEMPERATURA HUMEDAD (ITH) EN LAS REGIONES DE LOS ALTOS Y CENTRO DEL ESTADO DE JALISCO.

Que presenta el candidato en cuestión como requisito para obtener el grado de DOCTOR EN CIENCIAS, motivo por el cual considero que cumple con los requisitos para ser discutido en el exámen de defensa de tesis correspondiente.

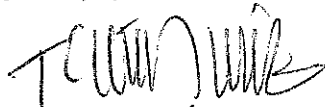
Por lo anterior expuesto. Otorgo MI VOTO APROBATORIO.

Se extiende la presente a los 23 días del mes de julio de 2008 para los trámites administrativos que sean necesarios.

ATENTAMENTE

PIENSA Y TRABAJA

Las Agujas, Zapopan, Jal. 23 de Julio de 2008



DR. EFRAIN PÉREZ TORRES

Profesor Investigador



UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y AGROPECUARIAS



DIVISIÓN DE CIENCIAS VETERINARIAS

DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA

DR. ELIAS SANDOVAL ISLAS
PRESIDENTE DE LA JUNTA
ACADÉMICA EXTRAORDINARIA
DEL PICP
P R E S E N T E .

Comunico a Ud. que en esta semana recibí copia de la tesis doctoral titulada: **"Presencia comparativa de *E. coli* asociada a mastitis ambiental con relación al índice temperatura humedad (ITH) en las regiones de los Altos y Centro del Estado de Jalisco"** que presenta el M. en C. Juan Manuel Moreno Martínez y aunque no tuve oportunidad de revisar la última versión, ya conozco el trabajo y por no obstaculizar el proceso otorgo mi voto aprobatorio.

A T E N T A M E N T E

"PIENSA Y TRABAJA"

Las Agujas, Zapopan, Jal., Julio 25 de 2008.

EL JEFE DEL DEPARTAMENTO DE SALUD PÚBLICA

DR. AGUSTIN RAMIREZ ALVA



C. U. C. B. A.
DEPARTAMENTO DE
SALUD PÚBLICA

ARA/alts.

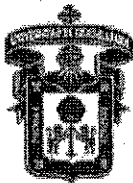
POSGRADO INTERINSTITUCIONAL EN CIENCIAS PECUARIAS

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE AGUASCALIENTES
CENTRO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**

**UNIVERSIDAD DE COLIMA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA
CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y
AGROPECUARIAS**

**UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO
INSTITUTO DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**



Dedicatorias

A Dios por darme todo lo que tengo y enseñarme a valorarlo

A mi Familia, porque han sabido apoyarme y con su paciencia y cariño, no han dejado que me deje vencer por el desánimo y las dificultades.

A la Universidad de Guadalajara, por darme la oportunidad de lograr una superación y el conocimiento de aquellas metas que para otros son sólo ilusiones.

A la División de Ciencias Veterinarias, ya que ha sido prácticamente mi segundo hogar a lo largo de estos 33 años de trayectoria en la Ex Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y ahora División del CUCBA.

Agradecimientos

A Dios por dejarme llegar a este momento en mi vida.

A la Universidad de Guadalajara porque ha sido el espacio donde he podido crecer y conocer mejores condiciones de vida al convivir con toda la comunidad universitaria.

A mis Papás, Juan Moreno Sánchez y María Martínez Cruz, que aunque ya no están con nosotros, nos dejaron un legado lleno de amor fraternal y un carácter que no se deja vencer, sino por el contrario, nos mantiene dispuestos a luchar por lo que queremos.

A mi familia, que ha permanecido siempre atenta al apoyo que he requerido en los momentos más difíciles y ha apoyado con su paciencia el tiempo que no le he dedicado en el afán de cumplir mis metas y con su amor incondicional y cariño me han dado la motivación para tratar de superarme cada día.

A mis hermanos, María Elena, José de Jesús, José Luis, Sahara, María Teresa, Rosa María, Francisco Javier y Martha Alicia porque con su invaluable apoyo y cariño siempre cerca y dispuestos a ayudar de forma discreta pero siempre efectiva.

A mis compañeros académicos de nuestra Universidad, los que están y los que se fueron, porque aún sin proponérselo han sido un gran apoyo con su amistad y se convirtieron en un gran referente para buscar siempre ser el mejor.

A mis amigos antiguos y actuales, porque con su amistad, a veces ligera y otras a toda prueba, me han enseñado a valorar lo importante que es contar siempre con personas a mi alrededor que me ayudaron a distinguir lo bueno, lo mejor y lo no tan bueno.

A mis evaluadores porque con su tiempo, capacidad y amplia experiencia, han ayudado para que yo como estudiante comprenda que nunca somos material terminado, que siempre hay algo más que desarrollar y aprender.

A mi Director de Tesis, Dr. Hugo Castañeda Vázquez y a mis asesores, Dr. Jacinto Bañuelos Pineda, Dr. Luis Alfonso Guerrero Quiroz y Dr. Wilfried Wolter que con tenacidad y paciencia me han guiado para encauzar este trabajo y nunca dejaron que me venciera por el desánimo.

A TODOS, MUCHAS GRACIAS POR SER PARTE DE MI VIDA Y MIS LOGROS.

ÍNDICE GENERAL

Contenido:	Página
Índice de Cuadros.....	i
Índice de Figuras.....	ii
Índice de Abreviaturas.....	iii
Resumen.....	iv
Abstract.....	v
I.- Introducción.....	1
II.- Antecedentes.....	4
III.- Planteamiento del problema.....	13
IV.- Justificación.....	15
V.- Hipótesis.....	16
VI.- Objetivos.....	17
6.1. Objetivo general.....	17

6.2. Objetivos particulares.....	17
VII.- Material y Métodos.....	18
7.1. Animales.....	18
7.2. Manejo.....	18
7.3. Muestras Biológicas.....	20
7.4. Técnicas Bacteriológicas.....	20
7.5. Preparación de cultivos.....	21
7.6. Parámetros ambientales.....	22
7.7. Análisis Estadístico.....	22
VIII.- Resultados.....	24
IX.- Discusión.....	42
X.- Conclusiones.....	45
XI.- Literatura consultada.....	47

ÍNDICE DE CUADROS

- 8.1.1** Resultados totales de Bovinos lecheros y ubres muestreadas así como el porcentaje de incidencia de Mastitis en las zonas Altos Norte, Altos Sur y Centro del Estado de Jalisco.
- 8.1.2** Muestras de leche positivas y porcentaje de incidencia a *E.coli* en cuartos de ubres de bovinos en la zona de los Altos y zona Centro del Estado de Jalisco de Septiembre de 2001 a Junio de 2003.
- 8.1.3** Comparación de los Porcentajes de Incidencia de *E coli* entre la zona de los Altos y la zona Centro del Estado de Jalisco por estaciones del año desde el Otoño del 2001 a la Primavera del 2003.
- 8.1.4** Valores de temperatura y humedad así como del Índice de Temperatura- Humedad (ITH) en la zona de los Altos y zona Centro del Estado de Jalisco de Septiembre de 2001 a Mayo de 2003
- 8.1.5** Comparación de los Indicadores de Temperatura, Humedad e ITH entre la zona de los Altos y la zona Centro del Estado de Jalisco por estaciones del año desde el Otoño del 2001 a la Primavera del 2003.
- 8.1.6** Efecto del Medio Ambiente sobre la incidencia de *E.coli* en mastitis en la zona de los Altos y Centro del Estado de Jalisco, de Septiembre de 2001 a Junio de 2003.
- 8.1.7** Efecto del Medio Ambiente sobre la incidencia de *E.coli* en mastitis en la zona de los Altos y Centro del Estado de Jalisco, por estaciones del año del otoño de 2001 a primavera de 2003.
- 8.2.1** Porcentaje de los resultados obtenidos en el análisis bacteriológico de las muestras de leche en bovinos en las zonas de los Altos Norte, Altos Sur y zona Centro del Estado de Jalisco.

ÍNDICE DE FIGURAS

- 8.2.2 Comparación de la incidencia de *E. coli* en la zona de los Altos Norte contra zona Centro.
- 8.2.3 Comparación de la incidencia de *E. coli* en la zona de los Altos Sur contra zona Centro.
- 8.2.4 Comparación de la incidencia de *Staphylococcus spp.* en la zona de los Altos Norte contra zona Centro.
- 8.2.5 Comparación de la incidencia de *Staphylococcus spp.* en la zona de los Altos Sur contra zona Centro.
- 8.2.6 Comparación de la incidencia de *Streptococcus spp.* en la zona de los Altos Norte contra zona Centro.
- 8.2.7 Comparación de la incidencia de *Streptococcus spp.* en la zona de los Altos Sur contra zona Centro.
- 8.2.8 Comparación de la incidencia de *patógenos secundarios* en la zona de los Altos Norte contra zona Altos Sur.
- 8.2.9 Comparación de la incidencia de *patógenos secundarios* en la zona de los Altos Norte contra zona Centro.
- 8.2.10 Comparación de la incidencia de *patógenos secundarios* en la zona de los Altos Sur contra zona Centro.
- 8.2.11 Comparación de la prevalencia de *E. coli* asociada con **una bacteria** en la zona de Altos Norte contra zona Centro.
- 8.2.12 Comparación de la incidencia de *E. coli* asociada con **una bacteria** en la zona de Altos Sur contra zona Centro.
- 8.2.13 Comparación de la incidencia de *E. coli* asociada con **dos bacterias** en la zona de Altos Norte contra zona Centro.
- 8.2.14 Comparación de la incidencia de *E. coli* asociada con **dos bacterias** en la zona de Altos Sur contra zona Centro.

INDICE DE ABREVIATURAS

Anova. (Análisis de varianza)

CNA. (Comisión Nacional del Agua)

COMT. (Catecol O' Metil Transferasa)

E.coli. (Escherichia coli)

INEGI. (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática)

ITH. (Índice temperatura humedad)

MAO. (Enzima monoaminooxidasa)

ml. (Mililitros)

mm. (Milímetros)

msnm. (Metros sobre el nivel del mar)

NOM. (Norma Oficial Mexicana)

°C. (Grados Centígrados)

PP. (Patógenos principales)

ppm. (Partes por millón)

PS. (Patógenos secundarios)

SEM. (Error estándar de la media)

Staphylococcus spp. (Stf. spp)

Streptococcus spp. (Stp. spp.)

SUH. (Síndrome Ureico Hemolítico)

UFCs. (Unidades Formadoras de Colonias)

ZTN. (Zona termoneutral)

Presencia comparativa de *E.coli* asociada a mastitis ambiental con relación al Índice Temperatura Humedad (ITH) en las regiones de los Altos y Centro del Estado de Jalisco.

Moreno Martínez, J. Castañeda Vázquez, H. Valdivia Flores, A. Ramírez Álvarez, A. Pérez Torres, E. Cruz Vázquez, C. Bañuelos Pineda, J. Guerrero Quiroz, L. Wolter, W.

RESUMEN

La temperatura y humedad relativa pueden afectar el estado de confort de los animales, causando estrés térmico que aumenta la susceptibilidad a diferentes bacterias, entre ellas *E. coli*. Para observar esto se realizó un muestreo aleatorio de 1119 bovinos lecheros, 144 en la zona Altos Norte, 275 en la zona Altos Sur y 700 en la zona Centro del Estado de Jalisco. Los resultados mostraron mayor incidencia de mastitis en la región Centro (7.05%) que en Los Altos (6.35%), aunque la diferencia no fue significativa. La temperatura no presentó diferencias. En la Humedad relativa, las diferencias fueron en el verano 2002 (77% Centro y 67% Altos) y otoño del 2002 (77% Centro y 58% Altos). En el ITH, la diferencia solo fue en invierno de 2003 (68.1 en Altos y 63.93 en Centro). En la relación ITH con *E. coli*, en cada región por meses hay correlación pero no significativa (0.30758256 en Altos y 0.26268107 en Centro). Por estaciones del año, la correlación en Altos es positiva altamente significativa en primavera, verano e invierno del 2002 y en primavera e invierno de 2003, negativa significativa en otoño de 2001 y negativa altamente significativa en otoño de 2002. Mientras en región Centro es positiva altamente significativa en primavera, verano e invierno de 2002, significativa en primavera de 2003, negativa altamente significativa en otoño de 2001 e invierno de 2003 y negativa significativa en otoño de 2002. En el análisis bacteriológico, en las tres zonas muestreadas predominaron los patógenos secundarios (PS) que incluye *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Shigella spp* y *Pseudomona spp*. En segundo lugar los patógenos principales (PP) *Staphylococcus spp*. y *Streptococcus spp*. y en tercero *E. coli* ya sea sola o asociada con uno o dos de los patógenos principales. Esto muestra que en ciertas épocas del año el ITH es un factor para la presencia de *E.coli* asociada a mastitis ambiental y su comportamiento es diferente en la región Altos y Centro del Estado de Jalisco.

Comparative presence of *E. coli* linked to environmental mastitis in relation to Temperature Humidity Index (THI) in Altos and Central regions of Jalisco.

Moreno Martínez, J. Castañeda Vázquez, H. Valdivia Flores, A. Ramírez Álvarez, A. Pérez Torres, E. Cruz Vázquez, C. Bañuelos Pineda, J. Guerrero Quiroz, L. Wolter, W.

ABSTRACT

The temperature and relative humidity can affect the standing of comfort of the animals, causing heat stress that increases susceptibility to various bacteria, including *E. coli*. To see this a random sampling of 1119 dairy cattle, 144 in Northern Altos, 275 in Southern Altos and 700 in Central regions of the State of Jalisco was made. The results showed a higher incidence of mastitis in the Central region (7.05%) than in Los Altos (6.35%), although the difference was not significant. The temperature was not different. In the relative humidity, the differences were in the summer of 2002 (77% in Central and 67% Altos) and autumn of 2002 (77% in Central and 58% in Altos). In the ITH, the difference was only in the winter of 2003 (68.1 in Altos and 63.93 in Central). In connection ITH with *E. coli*, in each region for months, have correlation but there is no significant (0.30758256 in Altos and 0.26268107 in Central). For seasons, the correlation in Altos is positive highly significant in spring, summer and winter of 2002 and in spring and winter of 2003, significant negative in the fall of 2001 and negative highly significant in autumn 2002. While in the Central region is highly significant positive in spring, summer and winter of 2002, significantly in the spring of 2003, negatively highly significant in autumn 2001 and winter of 2003 and significantly negative in autumn 2002. In the bacteriological analysis, in the three areas sampled predominant secondary pathogens that include *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Shigella spp* and *Pseudomonas spp*. In second place were major pathogens *Staphylococcus spp* and *Streptococcus spp*. and the third place *E. coli* either alone or associated with one or two of the major pathogens. This shows that at certain times of year ITH is a factor for the presence of *E. coli* linked to environmental mastitis and their behavior is different in the Altos and Central regions of the State of Jalisco.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 ASPECTOS CLIMATOLÓGICOS.

Las condiciones climáticas en determinadas regiones del país presentan una diversidad tal, que en múltiples ocasiones pueden ser la causa de variaciones en el comportamiento productivo, económico o sanitario de los animales en explotaciones dedicadas a una actividad determinada. Así, podemos observar que de acuerdo a las precipitaciones pluviales, los cultivos de algunos alimentos son de temporal o de riego, mientras que en cuanto a la actividad pecuaria, la rusticidad de algunas especies o de algunas razas, facilitan y hacen viable económicamente su uso zootécnico con fines de desarrollo regional o de competitividad en los mercados de algunas regiones que han sabido aprovechar esos beneficios que les aporta el medio ambiente (INEGI, 2002).

Estas diferencias se evidencian en varias regiones del país, aún en lugares que se encuentran muy cercanos entre sí, pero que tienen áreas montañosas o selváticas cerca de la costa con climas que presentan una gran humedad y calor, cercanos a climas húmedos y frescos de áreas arboladas boscosas o a climas que son muy secos, casi desérticos, con muy poca humedad (POET, 98 e INEGI, 2002).

En el Estado de Jalisco tenemos que sus climas varían desde el semicálido subhúmedo con lluvias en verano abarcando el 45.65% de su superficie, pasando por el cálido subhúmedo también con lluvias en verano con el 24.49%, hasta el semiseco templado con el 4.11% de la superficie y aún el clima semiseco muy cálido con el 2.62% del área total del Estado (INEGI, 2002).

La altitud sobre el nivel del mar, factor que influye también sobre el clima y la disponibilidad de oxígeno atmosférico, presenta variaciones desde lugares costeros como Puerto Vallarta con 5 metros sobre el nivel del mar (msnm), hasta regiones como Los Altos con 1942 msnm o Tapalpa con 1950 msnm. (INEGI, 2002).

De acuerdo a los monitoreos realizados por las estaciones meteorológicas de la Comisión Nacional del Agua (CNA, 2002), se han registrado temperaturas medias anuales que marcan diferencias en regiones dedicadas a actividades pecuarias como la producción de leche, en las

que se observa que mientras en la región de Los Altos tenemos una media anual de 17.2°C, la región Centro presenta una media anual de 21° C (CNA, 2002).

Por lo que respecta a la precipitación pluvial, que determina en gran parte la humedad relativa de un sitio, los datos a lo largo de varias décadas muestran que mientras la región de Los Altos ha tenido precipitaciones que han alcanzado los 609.3 mm., la región Centro ha llegado a los 983.1 mm. Esto viene a representar los valores más bajo y alto en todo el Estado (CNA, 2002),

En la Región Centro del Estado, el clima es semicálido subhúmedo con lluvia en verano, que es el más común, ocupando un 45.65% de la superficie, con temperaturas medias mensuales que van de los 16.6°C a los 25.1°C y una media de 21°C, su precipitación pluvial está entre los 615.2 mm. hasta 1349.1 mm. con una media de 983.1 mm. Por su parte la región de Los Altos tiene clima templado subhúmedo con lluvia en verano, ocupando una superficie estatal del 16.29%, su temperatura media mensual varía entre 10.3°C a los 25.2°C con media de 17°C y su precipitación pluvial es entre 336.2 mm. y 979.2 mm. con una media anual promedio de 609.3 mm. (INEGI, 2002).

Por otro lado Jalisco es el Estado con mayor producción de leche en el País, en el año 2001 aportó el 16.7% del volumen nacional (1,691'143,090 litros) (SAGARPA, 2002). La región Altos comprende 19 municipios y su producción alcanzó 1,036'719,440 litros, mientras que la región Centro del Estado, donde se incluye la zona metropolitana, produjo 182'063,770 litros, el resto, 472'359,880 litros, lo producen las demás regiones del Estado. (INEGI, 2002. INEGI, 2003).

El Estado de Jalisco se caracteriza por ser uno de los más grandes productores de leche, junto con la región de La Laguna en el norte del país (POET, 1998 e INEGI, 2003).

Los sistemas de producción lechera en Jalisco están caracterizados por un nivel de tecnificación significativa en el 30% de los casos, los cuales pertenecen a los grandes productores, el 70% restante tiene un nivel de tecnificación mínimo o insignificante, con pequeños productores en establos de entre 5 y 25 animales en producción (Ferrer, 1993).

La mastitis, enfermedad que por mucho es la más común en el ganado lechero, tiene una importancia económica significativa en las regiones lecheras de Jalisco, aparece con una variabilidad notable a lo largo del año, lo cual sugiere que se debe implementar un método de

rastreo que se realice por regiones (POET, 1998), con el fin de observar la frecuencia (Organización Mundial de la Salud Animal, 2001), en mayor o menor medida de los agentes microbianos causantes de mastitis (Wolter et al., 1999), en diferentes épocas de año y por las características de manejo de los Sistemas de Producción.

De hecho, las necesidades de mayor tecnología y su uso en la producción lechera, ha requerido de la implementación de puntos de acopio de la leche producida en sitios determinados del Estado, o bien que se usen tanques enfriadores para reunir y mantener la leche en buenas condiciones, lo que supone un factor adicional de riesgo para la contaminación y diseminación de la mastitis (Llor et al., 1999).

Además, esta regionalización en cuanto al acopio y manejo de la leche también ha sido un factor que incide en la importancia económica, ya que hasta 4 o 5 diferentes empresas pasteurizadoras y distribuidoras de ese producto se han repartido las regiones, determinando con ello calidad y precio que no siempre son coincidentes ya que llevan a cabo monitoreos de parámetros de calidad como el conteo de células somáticas, cantidad de sólidos totales, porcentaje de grasa o cantidad de UFCs (Unidades Formadoras de Colonias) de bacterias que son potencialmente dañinas y evitan su consumo humano, por lo que esos criterios han llegado a convertirse en los factores para su buena comercialización. (Wolter et al., 2004).

II. ANTECEDENTES

El término mastitis se refiere a la inflamación de la glándula mamaria sea cual sea su causa, la enfermedad puede ocurrir en cualquier mamífero, de mayor frecuencia e importancia en la vaca lechera, ya que produce cambios importantes en la composición de la leche y disminuye la producción láctea (Bedolla, 2004).

La mastitis bovina a menudo es crónica, por lo que es importante que se identifiquen rápidamente los nuevos casos clínicos para que se controle la infección en el hato lechero (Field et al., 2003).

Los múltiples agentes bacterianos, con sus diferentes mecanismos de infección, epidemiología, grado y duración de la reacción inflamatoria y la colonización transitoria del canal del pezón son factores para considerar la mastitis de tipo subclínico y como una infección activa (Bedolla, 2004).

La transmisión de esta enfermedad es de un animal enfermo a uno sano por medio de las pezoneras sucias de las máquinas ordeñadoras, moscas, estiércol de los corrales y falta de higiene del ordeñador, entre otras (Rosas, 1992).

Las excretas animales al degradarse emiten olores que pueden provocar molestias, sobre todo a las personas que no viven en contacto con los animales productivos (Taiganides 1992). También se generan problemas ambientales de tipo global, generados por la emisión de bióxido de carbono y metano, provenientes del metabolismo y digestión de las vacas lecheras. El segundo además se forma cuando se apilan excretas; ambos gases cooperan al efecto de invernadero y el segundo también afecta a la capa de ozono (Sánchez y Gerón, 1992). Las excretas expuestas al ambiente emiten amonio. El amonio arrastrado por la lluvia o los líquidos hacia las capas más profundas del suelo puede ser desnitrificado o bien puede llegar a convertirse en nitritos y posteriormente en nitratos por la acción microbiana de esos estratos. Si este último producto no es captado por las plantas se convierte en contaminante de los mantos freáticos (Taiganides, 1992).

Actualmente las normas mexicanas regulan la emisión de aguas residuales que pudiesen ser usadas incluso como agua para riego en los terrenos agrícolas de la propia explotación. Es relevante la presencia de coliformes fecales, como contaminantes patógenos y de nitratos y fosfatos como contaminantes básicos.

Clásicamente los patógenos de la mastitis han sido divididos en organismos contagiosos y ambientales, con base a su asociación epidemiológica con la enfermedad y al hecho que puedan causar infección oportunista, persistente o transeúnte respectivamente (Bradley et al., 2001; Riffon et al., 2001). Estos patógenos que provocan mastitis se pueden definir con la siguiente tabla:

	Patógenos Mayores Principales asociados a la ubre (Contagiosos)	Patógenos Mayores Principales asociados al medio ambiente	Patógenos Menores Secundarios (Contagiosos)
Agente Patógeno	<i>S. agalactiae</i> <i>S. aureus</i> <i>S. disgalactiae</i> <i>G – Streptoc.</i> <i>L- Streptoc.</i>	Stp. esculina positivo Stf. coagulasa negativo Cepas coliformes	Stf. coagulasa positivo <i>Corynebacterium spp</i> <i>Proteus spp</i> <i>Klebsiella spp</i>
Reservorio	La ubre	Medio ambiente. Piel de la ubre	Piel de la ubre. Canal lineal (<i>C. Bovis</i>).
Transmisión	Al ordeño	En cualquier tiempo	En cualquier tiempo
Profilaxis	Higiene al ordeño	Aumentar las defensas. Disminuir número de bacterias	Aumentar las defensas

Wolter et al., 2004

2.1. PATOGENOS MAYORES PRINCIPALES ASOCIADOS A LA UBRE:

Los organismo gran positivos que son infecciosos a nivel individual y a nivel de población están representados por *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Streptococcus spp.* (Rossitto et al., 2002), son infecciosos a nivel individual y a nivel de población (Nash et al., 2002). Aunque han sido reportados bajo control en los hatos lecheros a través del uso de prácticas de manejo que utilizan la desinfección de las tetas después de la ordeña, terapia de la vaca seca, desecho, mantenimiento del equipo de ordeño y terapia antibiótica de las infecciones intramamarias (Wolter et al., 2004).

A pesar de que la mastitis por organismos contagiosos ha sido disminuida por mejoramiento en el manejo, la enfermedad pueden continuar porque los organismos causales

no pueden ser erradicados del medio ambiente de las vacas lecheras (Monnet et al., 2000; Field et al., 2003; Nash et al., 2002).

2.2. PATOGENOS MAYORES PRINCIPALES ASOCIADOS AL MEDIO AMBIENTE:

La mastitis ocasionada por patógenos ambientales es el principal problema que afecta a muchos hatos lecheros bien manejados, que aplican un programa de control de patógenos contagiosos de la mastitis (Phuektes et al., 2001). Los patógenos ambientales a diferencia de los contagiosos son transmitidos entre las ordeñas con el ambiente que sirve como la fuente primaria de estos organismos. Los patógenos principales en este grupo son los bacilos entéricos gram negativos (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, etc.),

Los agentes etiológicos de la mastitis pueden ser de tipo microbiano o problemas de manejo inadecuado a la hora del ordeño, todo ello facilitado por factores inherentes a los sistemas de producción lecheros como son la susceptibilidad de los animales a varios tipos de bacterias, la estabulación que permite una fácil diseminación de cualquier tipo de microorganismo (Schukken, 1998), la introducción de animales provenientes de otras explotaciones, el estrés que se induce en los animales por la exigencia metabólica que conlleva la síntesis y eyección de la leche y algunos factores ambientales como la temperatura, la humedad relativa y la exposición a cambios climáticos o a la lluvia que conducen al animal a una menor resistencia ante las enfermedades (Cortes, 1989). Las bacterias presentes con mayor frecuencia en los problemas de mastitis (Kaipainen, 2002) y cuya combinación puede agudizar su cuadro clínico son los patógenos principales *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *E. coli* y otras que producen afecciones graves, por lo que se debe establecer un buen manejo profiláctico para evitar su presentación (Wolter et al., 1999). Esta profilaxis se basa en el hecho de que el hábitat más común de la *E. coli* es el suelo, la cama y el agua, produciendo efectos y signos más severos en las vacas recién paridas y viejas debido a que se les presta menos atención, además que en el momento del secado y el periodo preparto son las etapas más frecuentes en que se adquiere la infección por *E. coli*. En el 70% de los casos se presentan signos clínicos, tales como cambios en el aspecto de la leche (Wenz et al., 2001), cambios detectables en la palpación de la ubre o signos claros de deterioro de la salud de la vaca, o bien cuando se hacen muestreos periódicos aleatorios y encontramos crecimiento de *E. coli* en medios de cultivo en el laboratorio (BAM, 2001). Cepas Coliformes: Existen cepas de

E. coli, que producen un tipo de toxinas llamada comúnmente verotoxinas, que además de producir lesiones en los animales, han llegado a convertirse en un problema para la salud de los consumidores ya que en los humanos una cepa bacteriana (O157:H7) produce la enfermedad denominada Síndrome Ureico Hemolítico (SUH) que produce un cuadro que incluye lesiones intestinales y sobre todo renales con destrucción de tejido en ambos órganos, diarrea severa y disfunción renal que pueden ocasionar hasta la muerte (Blanco et al., 1993). La importancia de *Escherichia coli* verocitotoxigénica (VTEC) como agente causal de toxiinfecciones alimentarias está aumentando en el mundo en general y en Europa en particular. Entre los VTEC, el serotipo más frecuentemente implicado es el O157 (Beutin, et al., 1995). Riley et al., en 1983, describieron por primera vez un brote de colitis hemorrágica causado por este serotipo. Posteriormente ha habido otros episodios importantes de características similares en otros países como Japón, Escocia, etc. El país que tiene mayor número de casos es Canadá. Por lo que respecta a España, la incidencia es muy inferior a la existente en otros países, siendo muy escasos los brotes descritos en este país (Margall et al., 1997; Blanco et al., 1995). *Escherichia coli* verocitotoxigénica causa diarrea que puede cursar con heces sanguinolentas, pudiendo ser considerados como la causa más importante de colitis hemorrágica en los humanos. Esta enfermedad, con síntomas característicos de diarrea sanguinolenta y calambres abdominales, puede agravarse hasta la aparición de un síndrome urémico hemolítico que puede comprometer la vida del paciente y que tiene una tasa de mortalidad entre el 5 y el 10%. En adultos se ha descrito como una causa de púrpura trombótica trombocitopénica (Blanco et al., 1993).

2.3 FACTORES AMBIENTALES:

La relación de los factores ambientales como la temperatura y la humedad relativa (Morais, 1983) son considerados en conjunto mediante el uso de un coeficiente llamado Índice Temperatura-Humedad (ITH) el cual se utiliza frecuentemente para determinar la zona de confort o termoneutral de los animales, que son las condiciones en que es más eficiente su funcionamiento, que incluye su aptitud zootécnica para producir leche.

Variaciones de éste coeficiente (Índice temperatura-humedad) puede producir ya sea gasto energético calórico del animal para combatir el frío o bien gasto para eliminar el exceso de calor o humedad que percibe el animal, lo que en ambos casos implica utilización de

nutrientes que debieran ser utilizados para la producción láctea (Collier, 1982; Oberto et al., 2006).

Otro efecto que se ha observado por el cambio climático asociado a la estación del año es que durante la época de mayor precipitación pluvial, se modifica naturalmente el porcentaje de humedad relativa en el aire atmosférico y esto provoca cambios en la condición respiratoria de los animales (Collier, 1982). Además las actividades propias de manejo sanitario en los establos cambian en cuanto a la periodicidad con que se limpian los corrales, haciéndose en intervalos de tiempo mayores, lo que trae consigo mayor acumulación de excretas que junto con la lluvia y la humedad facilitan la proliferación de microorganismos que se encuentran en ellas, aumentando los riesgos potenciales de contaminación para los animales de ese hato (Collier, 1982).

Estas diferencias de temperatura y humedad relativa, resaltando ésta última, son causa importante del confort de los animales que se destinan a actividades pecuarias ya que en ocasiones exigen un gasto metabólico adicional del organismo, lo cual desvía la energía que debería usarse para la producción hacia funciones encaminadas a mantener la homeostasis del organismo (Morais, 1983; Collier, 1982).

2.4 FISIOLOGÍA DEL ESTRÉS:

Cuando el animal cae en este estado de estrés, produce una mayor cantidad de glucocorticoides, principalmente el cortisol, la cortisona y la corticosterona, que se producen en la zona fascicular de la corteza adrenal, los cuales dan continuidad a la respuesta inicial del Sistema Nervioso (Fase de emergencia o Reacción de Urgencia de Cannon), que es inmediata, rápida y que dura solamente unos segundos, mientras se mantiene la actividad de los neurotransmisores adrenalina y noradrenalina (Swenson y Reece, 1999) los cuales son removidos de forma también casi inmediata por las enzimas monoaminooxidasa (MAO) y la Catecol O' Metil Transferasa (COMT), por lo que en seguida aparece la respuesta endócrina (hormonal), donde estos glucocorticoides son responsables de introducirlo en la fase de resistencia (Síndrome General de Adaptación), mediante una serie de respuestas fisiológicas entre las que tenemos una reducción en la actividad del sistema inmunológico (inmunosupresión) que ocasiona que el animal sea más susceptible a enfermedades tales como la mastitis y otras (Dantzer y Mormede, 1985).

Algunos otros efectos son cambios en la distribución de la sangre total ya que ocasiona vasoconstricción periférica y vasodilatación central (Morais, 1983) con un efecto directo sobre la glándula mamaria que al recibir una menor irrigación, reduce su tasa metabólica con baja en la capacidad de las células para obtener los elementos necesarios para sintetizar la leche, como una menor afluencia de células de defensa de la sangre (leucocitos, neutrófilos, eosinófilos, linfocitos y monocitos) que son parte del sistema de defensa de la glándula mamaria y de la población celular que se considera en el conteo de células somáticas, factor importante para determinar la calidad de la leche, ya que tienen una relación directa con la cantidad de bacterias que pueden sobrevivir y proliferar en la cisterna y el canal del pezón en la ubre, la habilidad de estas bacterias para producir endotoxinas y la consecuente aparición de prostaglandinas por el daño celular, lo cual va dañando progresivamente el epitelio glandular, causa inflamación y posterior formación de tejido fibroso que inutiliza poco a poco la glándula hasta dejarla sin función (cuarto ciego), causa definitiva de pérdida económica al productor (Dantzer y Mormede, 1985).

Las bacterias presentes con mayor frecuencia en los problemas de mastitis (Kaipainen, 2002) y cuya combinación puede agudizar su cuadro clínico son los patógenos principales *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *E. coli* y otras que producen afecciones graves, por lo que se debe establecer un buen manejo profiláctico para evitar su presentación (Wolter et al., 1999).

Esta profilaxis se basa en el hecho de que el hábitat más común de la *E. coli* es el suelo, la cama y el agua, produciendo efectos y signos más severos en las vacas recién paridas y viejas debido a que se les presta menos atención, además que en el momento del secado y el periodo parto son las etapas más frecuentes en que se adquiere la infección por *E. coli*. En el 70% de los casos se presentan signos clínicos, tales como cambios en el aspecto de la leche (Wenz et al., 2001), cambios detectables en la palpación de la ubre o signos claros de deterioro de la salud de la vaca, o bien cuando se hacen muestreos periódicos aleatorios y encontramos crecimiento de *E. coli* en medios de cultivo en el laboratorio (BAM, 2001).

2.4. CEPAS DE *E. coli*:

Existen cepas de *E. coli*, que producen un tipo de toxinas llamada comúnmente verotoxinas, que además de producir lesiones en los animales, han llegado a convertirse en un problema para la salud de los consumidores ya que en los humanos esta cepa bacteriana

(O157:H7) produce la enfermedad denominada Síndrome Ureico Hemolítico (SUH) ya que produce un cuadro que incluye lesiones intestinales y sobre todo renales con destrucción de tejido en ambos órganos, diarrea severa y disfunción renal que pueden ocasionar hasta la muerte (Blanco et al., 1993). La importancia de *Escherichia coli* verocitotoxigénicos (VTEC) como agente causal de toxiinfecciones alimentarias está aumentando en el mundo en general y en Europa en particular. Entre los VTEC, el serotipo más frecuentemente implicado es el O157:H7 (Beutin et al., 1995). Riley et al., en 1983, describieron por primera vez un brote de colitis hemorrágica causado por este serotipo. Posteriormente ha habido otros episodios importantes de características similares en otros países como Japón, Escocia, etc. El país que tiene mayor número de casos es Canadá. Por lo que respecta a España, la incidencia es muy inferior a la existente en otros países, siendo muy escasos los brotes descritos en este país (Margall et al., 1997; Blanco et al., 1995).

Escherichia coli verocitotoxigénico causa diarrea que puede cursar con heces sanguinolentas, pudiendo ser considerados como la causa más importante de colitis hemorrágica en los humanos. Esta enfermedad, con síntomas característicos de diarrea sanguinolenta y calambres abdominales, puede agravarse hasta la aparición de un síndrome urémico hemolítico que puede comprometer la vida de paciente y que tiene una tasa de mortalidad entre el 5 y el 10%. En adultos se ha descrito como una causa de púrpura trombótica trombocitopénica (Blanco et al., 1993).

Epidemiológicamente hablando, hasta ahora el serotipo O157:H7 ha causado más de 60 brotes de toxiinfecciones alimentarias en los Estados Unidos. El consumo de hamburguesas y derivados cárnicos poco cocinados y contaminados explica la mayoría de éstos, aunque también se han descrito brotes producidos por el consumo de leche no higienizada en este país y en Canadá. La higiene deficiente, junto con la diseminación secundaria por contacto interpersonal, constituye otra vía de transmisión. En los últimos años, sin embargo, ha habido varios brotes producidos por el serotipo O157:H7 en los que se ha implicado a ciertos vehículos de infección poco frecuentes, entre los que se incluyen los alimentos ácidos, frutas, vegetales, yogur y agua (Blanco et al., 1995).

En el otoño de 1991, se logró realizar el seguimiento de un brote del serotipo O157:H7 que afectó a 23 personas, hasta llegar a implicar en el brote el consumo de sidra. Esta sidra, hecha con manzanas caídas sin lavar, tenía un pH de 3,7-3,9; no fue pasteurizada, ni se le

añadieron conservantes. Varios estudios de laboratorio demostraron con posterioridad que los aislamientos del serotipo O157:H7 pueden tolerar condiciones ácidas y que algunas cepas persisten en medios que tienen un pH incluso de 2, o en sidra enfriada (8 °C) durante 10-31 días. El origen último del brote no pudo ser inequívocamente establecido, aunque se sospechó que las manzanas caídas estaban contaminadas por estiércol (Blanco et al., 1995).

Algunos incidentes recientes demuestran que tanto el agua de consumo como la de uso recreativo pueden servir como vehículo para la transmisión de las infecciones por el *E. coli* O157:H7. En Missouri, en 1989, ocurrió el primer y más importante brote hídrico asociado con este microorganismo. Aunque de nuevo no se identificó la fuente, se sospechó que el reflujo derivado de la rotura de una tubería podría haber contaminado el suministro de agua potable. Como la mayoría de *E. coli*, los aislamientos de este serotipo son sensibles a los efectos del cloro. Los ajustes de la cloración en el suministro de agua son decisivos en la prevención de brotes de origen hídrico (Blanco et al., 1995).

2.5 CALIDAD DE LA LECHE:

Por otro lado la determinación de la calidad de la leche mediante normas específicas que pueden variar en cada país (NOM-091-SSA 1.1994 en México), la valoración de los sólidos totales, cantidad de proteína y grasa, lactosa, caseína y otros elementos, además del conteo de células somáticas que no debe exceder las 200,000 para dedicarla al consumo humano (Cortes y Blanco, 1989), estas pueden servir como indicador para realizar un muestreo más profundo de las bacterias que han provocado ese aumento, ya que lo mismo pueden ser bacterias que se pueden controlar o eliminar con relativa facilidad, o bien puede tratarse de cepas bacterianas que causarían un problema de salud pública, todas estas son además el factor principal para ubicar los precios que tienen los productores para las empresas comercializadoras y el uso que ésta hace de la leche para expenderla al público, ya sea pasteurizada o como base para la elaboración de algunos subproductos lácteos, quesos, yogurt, crema, etc. (Cortes y Blanco, 1989).

Unido a esto se presenta el problema clínico que representa la mastitis en sí mismo una tarea difícil de enfrentar para los profesionistas que cuidan la salud de los animales, ya que además de imposibilitar la comercialización del producto, se produce una baja sensible de la producción en el animal enfermo. Luego se agrega el problema de la terapéutica farmacológica que es costosa y generalmente de larga duración, además de los signos de

enfermedad que conlleva a los animales a las alteraciones de la conducta como depresión, postración, anorexia, fiebre y dolor a la palpación, problemas que retardan el periodo de recuperación del animal y en muchas ocasiones conducen a la eliminación definitiva del animal de la cadena de producción, lo que redundaría en grandes pérdidas económicas que desalientan al productor a continuar con el negocio (Cortes y Blanco, 1989).

Se deben implementar entonces mecanismos de evaluación rápidos y superficiales que faciliten su manejo, pero además debemos contar con estrategias y equipo que nos permitan realizar un análisis más detallado de esas bacterias, para establecer la forma más efectiva de controlarlos y/o eliminarlas. Algunos de esos métodos son de hecho novedosos y ayudan a hacer un diagnóstico más rápido y eficaz del problema de la mastitis lo cual ocasiona grandes pérdidas económicas a los productores, estimados en varios millones de pesos en el Estado de Jalisco.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Estado de Jalisco tiene diferencias en su climatología debido a que sus regiones se encuentran a diferentes altitudes sobre el nivel del mar, son más secas o húmedas y su precipitación pluvial difiere en sus regiones, lo que se observa en las rutinas de limpieza de corrales, disponibilidad de agua de bebida para el ganado y el cuidado en la higiene del equipo o las manos del ordeñador.

Durante mucho tiempo se han utilizado diversos tipos de medicamentos para prevenir o curar la mastitis, que en la mayor parte de los casos es causada por patógenos principales, que ya han sido controlados en buena medida por fármacos existentes en el mercado, sin embargo las bacterias desarrollan cierta resistencia a dichos medicamentos, ocasionando mayor gasto económico para su control (Wolter et al., 2004).

La recurrencia del ganado lechero para presentar mastitis es un factor económico que ocasiona pérdidas considerables que desalientan al productor, causando severos daños al animal y disminuye la calidad de la leche.

Una de las principales razones de esa recurrencia son la participación de bacterias ambientales, principalmente coliformes como la *E. coli* que puede llegar por varias vías, casi todas relacionadas con deficiencias en la sanidad e higiene en el corral, las manos del ordeñador sucias, maquinas ordeñadoras contaminadas, carencia de uso de selladores, etc. Aunado al hecho de que esas bacterias son habitantes comunes del intestino y se encuentran en las heces en los pisos de los corrales o en el equipo de ordeño.

Por ser una bacteria ambiental, la *E.coli* puede ser afectada por factores como la temperatura y la humedad relativa, pues ambas condiciones influyen en su capacidad para reproducirse y aún para cambiar su serotipo, lo que se refleja en su potencial patológico (Bradley y Green, 2001).

Las bacterias coliformes, sobre todo la *E.coli* tienen varios serotipos que causan diferentes grados de alteración que puede ir desde simple irritación intestinal, pasando por casos graves de diarrea y aún llegar al torrente circulatorio para terminar en otros órganos o tejidos como el riñon donde causa el Síndrome Ureico Hemolítico (SUH) que ocasiona grandes trastornos en la salud humana (Blanco et al., 1993).

También en la glándula mamaria llega a ocasionar daños significativos desde irritación hasta destrucción del tejido glandular por la producción de toxinas que causan lisis celular y se producen prostaglandinas que afectan la función glandular y terminan por cegar y aún inutilizar por completo uno o todos los cuartos de la ubre (Blanco et al., 1993).

Por consiguiente es necesario identificar con la mayor precisión posible la relación existente entre los factores medio ambientales y la patogenicidad de bacterias que causan el problema de la mastitis para desarrollar métodos de control y manejo que disminuyan el impacto económico negativo en los sistemas de producción lecheros en el Estado de Jalisco.

IV. JUSTIFICACIÓN

La región de los Altos de Jalisco ha sido tradicionalmente una de las mayores fuentes de producción lechera del país y tiene características geográficas, hidrológicas y climáticas que son diferentes a otras regiones del Estado y también contribuyen a esta actividad pecuaria. De acuerdo a los datos obtenidos por instancias gubernamentales su temperatura y humedad relativa ha tenido un comportamiento definido dentro de ciertos rangos al igual que en la región Centro del Estado.

A lo largo de muchos años se han invertido muchos esfuerzos y recursos económicos para tratar de eliminar o por lo menos de controlar la mastitis, que es la causa principal de enfermedad en el ganado lechero con resultados poco alentadores ya que este trastorno ha sido recurrente con una resistencia notable a los diferentes medicamentos utilizados, por lo que se ha vuelto una necesidad el hecho de identificar con la mayor precisión posible el tipo de agente involucrado para decidir sobre las estrategias adecuadas a seguir, para su eliminación y control.

Por estas razones sería útil el conocer la correlación que existe entre los casos de mastitis clínica o subclínica en donde se ven involucradas los patógenos principales así como algunos otros patógenos que se asocian o son oportunistas. En los casos de mastitis ambiental el principal agente causal es la *E.coli*, por lo que resultaría adecuado relacionarla con las variaciones de temperatura y humedad relativa en ambas regiones para proponer medidas sanitarias específicas o aún llegar a desarrollar y utilizar alguna vacuna que ayude a resolver este problema de alto impacto económico.

V. HIPÓTESIS

El cambio del Medio Ambiente (ITH) durante las estaciones del año o la asociación de patógenos ambientales como la *E.coli* podrían incidir en la prevalencia de mastitis clínica o subclínica que afecta el ganado lechero en las zonas de los Altos y Centro del Estado de Jalisco.

VI. OBJETIVOS

6.1 GENERAL

Identificar la relación entre el Índice Temperatura Humedad (ITH) con la incidencia de mastitis ambiental causada por bacterias como *E. coli*, patógenos principales y patógenos secundarios en los hatos lecheros de las regiones Altos Norte, Altos Sur y zona Centro del Estado de Jalisco en diferentes estaciones del año.

6.2. PARTICULARES

6.2.1. Obtener los coeficientes de Temperatura y Humedad Relativa (ITH), de diferentes estaciones del año en las regiones de los Altos y zona Centro del Estado de Jalisco, para correlacionar este factor con la incidencia de mastitis ambiental.

6.2.2. Determinar y comparar la incidencia de *E. coli* en casos de mastitis ambiental en el ganado lechero de las regiones de los Altos Norte, Altos Sur y zona Centro del Estado de Jalisco.

6.2.3. Identificar la incidencia de patógenos principales como *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, y otros agentes asociados a mastitis en el ganado lechero comparándola en las regiones de los Altos Norte, Altos Sur y Centro del Estado de Jalisco.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se desarrolló en tres regiones del Estado de Jalisco, la región Altos Norte que se encuentra ubicada en las coordenadas geográficas 21° 12' 00" al 21° 55' 00" de latitud Norte y de los 101° 32' 30" a los 102° 10' 30" ' de longitud oeste con alturas entre 1900 a 2500 msnm. En la región Altos Sur que se encuentra ubicada en las coordenadas geográficas 20° 50' 00" de latitud Norte y de los 102° 46' 00" de longitud oeste con alturas entre 1600 a 1800 msnm, y zona Centro, que se encuentra ubicada en las coordenadas geográficas 20° 36' 40" a los 20° 45' 00" de latitud Norte y de los 103° 16' 00" a los 103° 24' 00" de longitud oeste con alturas entre 1500 a 1700 msnm. Se muestrearon al azar los establos de los ranchos que se encuentran en los alrededores de las poblaciones de Encarnación de Díaz, Lagos de Moreno, San Juan de los Lagos y San Miguel el Alto en la Región Norte. En la Región Sur las poblaciones de Valle de Guadalupe, Pegueros y Tepatitlán. En la Región Centro Guadalajara, Zapopan, Tonalá, Acatlán de Juárez y Zapotlanejo con base al Proyecto de Ordenamiento Ecológico Territorial del Estado (POET, 1998), para ver la distribución de los sistemas de producción en cada región, en el período de tiempo entre Septiembre del 2001 a Junio del 2003. El procesamiento de las muestras se realizó en el Laboratorio de Mastitis y Diagnóstico Molecular perteneciente al Departamento de Medicina Veterinaria del Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad de Guadalajara.

7.1. ANIMALES:

Se realizó un muestreo al azar de 1135 bovinos lecheros de las razas predominantes en estas regiones que son Holstein Freisian, Pardo Suizo y Jersey sospechosos a Mastitis de una población total de 589,332 animales con 292,876 en la zona Altos Norte, 200,713 en la zona Altos Sur y 95,743 en la zona Centro, con una relación representativa cercana al 0.2% de la población de ganado lechero en esta región del Estado de Jalisco (INEGI, 2002).

Se obtuvieron muestras de 426 animales en la región de los Altos, con 148 en la zona Altos Norte y 278 en la zona Altos Sur encontrándose 28 cuartos ciegos. En la zona Centro las muestras se obtuvieron de 709 animales, encontrándose 36 cuartos ciegos.

7.2. MANEJO:

Se anotaron los datos de las rutinas de manejo tanto de los corrales como de los animales para conocer con qué frecuencia se limpian los corrales a lo largo del año, orden de las vacas para ordeñar, sistema utilizado, limpieza y desinfección de la ubre, uso de preselladores y selladores, número de lactancia y enfermedades anteriores. Posteriormente se seleccionaron algunos de estos establos para registrar sus valores de temperatura y humedad relativa mediante el uso de un higrómetro para determinar su ITH. La temperatura se mide en °C y la humedad relativa en valor decimal. Los medidores de temperatura y humedad relativa se colocaron a una altura de 1,20 metros, en la nave del ganado, a la altura donde se encuentran las vacas, con objeto de medir los parámetros en los lugares y condiciones donde se aloja el ganado, la alimentación de estos animales en general estuvo suministrada a base de silo de maíz, forraje, minerales y suplementos lecheros de tipo comercial (Mujika, A.I. 2005).

De acuerdo a los datos citados en la tabla siguiente, el coeficiente de ITH se estableció de la forma siguiente:

■ Índice ITH según Temperatura y Humedad relativa.

T°C	HR	ITH
20°C	0,5	65,40
20°C	0,6	65,96
20°C	0,7	66,52
20°C	0,8	67,08
20°C	0,9	67,64
25°C	0,5	71,95
25°C	0,6	73,01
25°C	0,7	74,07
25°C	0,8	75,13
25°C	0,9	76,19
30°C	0,5	78,50
30°C	0,6	80,06

30°C	0,7	81,62
30°C	0,8	83,18
30°C	0,9	84,74
35°C	0,5	85,05
35°C	0,6	87,11
35°C	0,7	89,17
35°C	0,8	91,23
35°C	0,9	93,29
40°C	0,5	91,60
40°C	0,6	94,16
40°C	0,7	96,72
40°C	0,8	99,28
40°C	0,9	101,84

Mujika, A.I. 2005

Se obtuvieron muestras de leche para procesarlas en el momento, colocándolas en las paletas usadas para la prueba de California para la detección de mastitis, utilizando el método propuesto por (Saran y Chaffer, 2000; Medina y Montaldo 2003; Gutiérrez y De la Vara, 2003) anotando el resultado preliminar para ser usado en la identificación de grados de mastitis, en base a la presentación de grumos, moco y/o sangre en la leche al entrar en contacto con el reactivo especial de la prueba CMT (Wolter et al., 2004).

7.3. MUESTRAS BIOLÓGICAS:

Se tomaron muestras de 1676 cuartos funcionales en la zona de los Altos con 576 en la región Altos Norte y 1100 en la región Altos Sur mientras que en la zona Centro se muestrearon 2800 cuartos funcionales, siendo un total de 4476 cuartos de las ubres analizadas con muestras de leche. De los bovinos de estos establos se obtuvieron muestras de leche en un tubo de ensayo de 5 ml. para procesarlas, la toma de muestra se realizó en forma aséptica,

especialmente con lavado y desinfección de las tetas de las vacas con etanol al 70%, posteriormente se realizó el lavado de los pezones para retirar la suciedad, únicamente si los pezones presentaban visible suciedad se lavaron usando una solución desinfectante con 12% de yodo disponible, se eliminó el exceso de alcohol y se secó el pezón sin tocar el orificio, al coleccionar la muestra de la leche se presionó ligeramente el pezón y de preferencia con un solo apretón, el final del pezón no tocó el borde del tubo, el cual no se llenó a más de dos tercios de su capacidad, se evitó el escurrimiento de agua que pudiera contaminar el conducto del pezón o el tubo de ensayo, además se desinfectaron también las manos del técnico por inmersión en el desinfectante con 12% de yodo disponible, antes de manipular la ubre, se abrió el tubo de muestreo, manteniendo el tapón boca abajo en la misma mano que el tubo, el cual se mantuvo tan cerrado como fuera posible para minimizar la entrada de polvo, se procedió posteriormente al secado de la ubre y se taparon los tubos para su transporte.

Los tubos de las muestras se transportaron hacia el laboratorio de diagnóstico molecular de mastitis en el Depto. de Medicina Veterinaria del Cueba en un tiempo no mayor de seis horas, en una hielera con gradilla en su interior con termómetro para mantenerlas a 4°C aproximadamente, agregando hielo o un refrigerante para evitar el exceso de calor y que se alterara la muestra. El procesado de las muestras y análisis se realizó inmediatamente después de la llegada de las mismas al laboratorio, evitando un almacenamiento no mayor de 24 hrs. y manteniéndolas a una temperatura entre 4-5°C

7.4. TÉCNICAS BACTERIOLÓGICAS:

7.4.1 Siembra de muestras: se procedió al sembrado de muestras en medio de cultivo a base de agar sangre previamente preparado en cajas de Petri esterilizadas y colocadas en refrigeración, las muestras fueron adecuadamente homogeneizadas en un vórtex, debido a que las bacterias se concentran en la capa de grasa de la leche, en caso de que algunas de las muestras mostraran demasiado enfriamiento y separación de su fase física, antes de mezclarlas se sometieron a baño maría a una temperatura de 17°C (\pm 1°C).

7.4.2 Preparación de medios de cultivo: Se realizó la preparación de agar sangre 24 horas previas a la toma de las muestras utilizando 5% de sangre de ovino. Se colocaron las cajas conteniendo el medio de cultivo en paquetes de 5 cajas c/u, envueltas en papel estraza y

sujetas con cinta masking tape y se colocaron en el autoclave para su esterilización. Posteriormente se dividió la superficie del medio de cultivo en cuatro partes correspondiendo una para cada cuarto de la ubre, correspondiendo el número uno al cuarto delantero derecho, el dos el cuarto delantero izquierdo, el tres al cuarto trasero izquierdo y el cuatro al cuarto trasero derecho, después de esto se colocaron en refrigeración a 4°C hasta su utilización en la siembra.

Una vez que las muestras fueron colectadas se colocaron en gradillas en orden de acuerdo al número de vaca o por nombres en orden alfabético. Para la siembra de la muestra de leche en la caja de petri, se colocaron dos mecheros encendidos, y en la parte media de ambos, se abrió el tubo que contenía la muestra y se introdujo en ella una pipeta volumétrica de 1 ml, para tomar sólo 0.05 ml de leche por extensión de superficie dispersándola después con una varilla de vidrio en forma de L en toda la placa de agar sangre para distinguir fácilmente entre los espacios las colonias de microorganismos, cerrando bien la caja de petri al terminar y se colocó en una estufa bacteriológica de cultivo dejándolas ahí durante 24 horas (Wolter et al., 2004).

Después se sacaron las cajas y nuevamente en la cercanía de un mechero encendido se abrieron para la identificación de las bacterias presentes, examinándolas morfológicamente, por su color, diámetro y producción de hemólisis (BAM, 2001) se identificaron las colonias de coliformes y de *E. coli* por su apariencia (colonias pequeñas, mas o menos de 1mm de diámetro, grises, redondas), separándolas de las demás cajas que tuvieron crecimiento de otras bacterias, se hicieron las anotaciones correspondientes de la tapa de las cajas, con el número de vaca, número de cuarto y resultado de colonias bacterianas identificadas, para proceder a realizar la resiembra de las que mostraron crecimiento de *E. coli* en otras cajas de Petri con agar sangre para colocarlas en la estufa bacteriológica para su incubación durante otras 24 a 36 horas.

Después de este proceso, al observar de manera selectiva el crecimiento de bacterias posiblemente coliformes, se hicieron las siembras específicas en las placas para Petrifilm® de acuerdo a la metodología propuesta por la empresa fabricante (3M de México, 2005) que ha sido usada en diversos trabajos anteriores (Broquet et al., 2007; Molina et al., 2007; Morillo et al., 2007; Casillas et al., 2007) y que nos ayuda a identificar de forma rápida y efectiva tanto coliformes como *E. coli*. Las placas Petrifilm® recuento de aerobios, constituyen un sistema listo para usar que contiene los elementos nutritivos del agar para recuento (PCA), un agente

gelificante soluble en agua, y un indicador de tetrazolio que facilita la enumeración de las colonias. Este método es reconocido por la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) para el recuento bacteriano y de coliformes en leche y el recuento de aerobios en alimentos (Amer et al., 2000). Después de su cultivo específico y su incubación, se hizo la identificación de las colonias redondas, pequeñas de color azul, característico de la *E. coli* en este medio del Petrifilm y se anotaron los resultados para utilizarlos en los datos estadísticos, también se cuantificaron los patógenos principales, ambientales y los secundarios por zonas tanto Altos Norte, Altos Sur y Zona centro del Estado de Jalisco.

7.5 PARÁMETROS AMBIENTALES:

El registro de los parámetros ambientales de temperatura y humedad relativa se realizó mediante la colocación de un higrómetro Radio Shack®, el cual permaneció una semana en el establo para anotar las variables diarias en tres periodos de tiempo a las 8:00 a.m., a las 2:00 p.m., y 7:00 p.m. Posteriormente se contrastaron con los datos obtenidos del INEGI en base al registro de las estaciones meteorológicas de la zona metropolitana y de la Unión de San Antonio en la región de Los Altos del Estado de Jalisco.

Se anotaron los resultados finales y posteriormente se estableció la relación del ITH (Índice Temperatura-Humedad) que predomina en cada lugar en las diferentes épocas del año, con la frecuencia de *E. coli* en casos de mastitis del ganado lechero de la zona de los Altos Norte, Altos Sur y la región Centro del Estado de Jalisco.

7.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

El método estadístico que se utilizó fue un camino del análisis de varianza (Anova), para comparar la prevalencia de bacterias presentes en mastitis de las diferentes regiones y la correlación para la determinación de ITH con la prevalencia de *E. coli* en la región de los Altos y Centro del Estado de Jalisco con el programa Excel (Microsoft®), las diferencias con $p < 0.05$ fueron consideradas estadísticamente significativas con un 95% de nivel de confianza. Los resultados se graficaron conforme a la media y error estándar de la media (\pm SEM). En la prevalencia de bacterias se utilizó el programa de computación Slide Write Plus (Untitled®) y Word 2007 (Microsoft®).

VIII. RESULTADOS

En la prueba de California resultaron positivos a Mastitis 2659 cuartos totales de la población muestreada, de ellos en la zona Altos Norte fueron 345 cuartos con un porcentaje de 59.90%, en la zona Altos Sur 631 cuartos con 57.36% y en la zona Centro 1683 cuartos con 60.11%. (Ver Cuadro 8.1.1).

Los resultados obtenidos con esta prueba muestran mayor incidencia de mastitis en la zona Centro que en las zonas Altos Norte y Altos Sur, sin embargo en el análisis de varianza (Anova), no se encontraron diferencias significativas entre las zonas por lo que podemos decir que su comportamiento fue muy similar (Ver Cuadro 8.1.1).

Cuadro 8.1.1. Resultados totales de Bovinos lecheros y ubres muestreadas así como el porcentaje de incidencia de Mastitis con la prueba de mastitis de California en las zonas Altos Norte, Altos Sur y Centro del Estado de Jalisco.

Zonas de Jalisco	Ubres muestreadas	Cuartos de la ubre	Cuarto s +	Cuarto s -	% +	% -
Altos Norte	144	576	345	231	59.90	40.10
Altos Sur	275	1100	631	469	57.36	42.64
Centro	700	2800	1683	1117	60.11	39.89
n=	1119	4476	2659	1817	59.41	40.59

En la región de los Altos se tomaron 1676 muestras de leche de ubres con problemas de mastitis y 2800 muestras en la zona Centro del Estado de Jalisco, con lo que resultaron positivas a *E. coli* 105 muestras en la zona de los Altos y 198 muestras en la zona Centro (Cuadro 8.1.2). En el porcentaje total de incidencia de *E. coli* en el lapso de Septiembre del 2001 a Junio de 2003 no se encontraron diferencias significativas, ya que la zona de los altos obtuvo un porcentaje de incidencia total de $6.35\% \pm 0.97$ mientras que la zona centro obtuvo $7.05\% \pm 1.53$ con un valor en el análisis de varianza de $p= 0.702$ (Cuadro 8.1.2).

Cuadro 8.1.2. Muestras de leche positivas y porcentaje de incidencia a *E. coli* en cuartos de ubres de bovinos de la zona de los Altos y zona Centro del Estado de Jalisco de Septiembre de 2001 a Junio de 2003

Meses	Muestras		Positivos <i>E. coli</i>		% <i>E. coli</i>	
	Altos	Centro	Altos	Centro	Altos	Centro
Septiembre 2001	54	41	4	5	7.41	12.20
Octubre 2001	62	127	2	6	3.23	4.72
Noviembre 2001	24	84	1	1	4.17	1.19
Diciembre 2001	47	110	2	2	4.26	1.82
Enero 2002	67	120	3	14	4.48	1.67
Marzo 2002	46	96	5	14	10.87	14.58
Abril 2002	41	105	2	12	4.88	11.43
Mayo 2002	139	148	13	31	9.35	20.95
Junio 2002	69	140	2	13	2.90	9.29
Julio 2002	46	56	9	14	19.57	25.0
Septiembre 2002	76	26	3	0	3.95	0
Octubre 2002	126	201	2	3	1.59	1.49
Noviembre 2002	81	223	5	13	6.17	5.83
Diciembre 2002	94	127	3	3	3.19	2.36
Enero 2003	97	257	7	18	7.22	7.0
Febrero 2003	140	153	20	9	14.29	5.88
Marzo 2003	97	301	6	19	6.19	6.31
Abril 2003	176	207	7	14	3.98	6.76
Mayo 2003	97	278	6	7	6.19	2.52
Junio 2003	97	0	3	0	3.09	0
Totales	1676	2800	105	198	6.35	7.05

Se agruparon los meses por estaciones dependiendo de la cantidad mayor de días de cada mes que involucra cada Estación del Año. La primera estación fue la de Otoño del 2001 (Meses de Octubre, Noviembre y Diciembre), seguido por el Invierno del 2002 (Enero, Febrero y Marzo), Primavera del 2002 (Abril, Mayo y Junio), Verano del 2002 (Julio, Agosto y Septiembre), Otoño del 2002 (Octubre, Noviembre y Diciembre), Invierno del 2003 (Enero, Febrero y Marzo) y Primavera del 2003 (Abril, Mayo y Junio).

En la comparación de la incidencia de *E. coli* por estaciones del año tampoco encontramos diferencias significativas en el análisis de varianza entre la zona de los Altos y la zona Centro del Estado de Jalisco (**Cuadro 8.1.3**).

Cuadro 8.1.3. Comparación de los Porcentajes de Incidencia de *E. coli* entre la zona de los Altos y la zona Centro del Estado de Jalisco por estaciones del año desde el Otoño del 2001 a la Primavera del 2003.

Estaciones	% de Incidencia de <i>E. coli</i> .			Dif. Sig
	Zona Altos	Zona Centro	Anova p=	
Otoño 2001	3.89 ± 0.33	2.58 ± 1.09	0.313	Anova No Significativo
Invierno 2002	7.68 ± 3.20	8.13 ± 6.45	0.956	
Primavera 2002	5.71 ± 1.91	13.89 ± 3.58	0.114	
Verano 2002	11.76 ± 7.81	12.50 ± 12.50	0.965	
Otoño 2002	3.65 ± 1.34	3.23 ± 1.33	0.833	
Invierno 2003	9.23 ± 2.55	6.40 ± 0.33	0.331	
Primavera 2003	4.42 ± 0.92	3.09 ± 1.97	0.575	

Por otro lado se tomaron los indicadores de temperatura y humedad relativa así como el Índice de Temperatura Humedad (ITH) por zonas de septiembre de 2001 a Mayo de 2003 (**Cuadro 8.1.4**).

En la comparación de la temperatura media en el lapso de Septiembre del 2001 a Junio de 2003 no se encontraron diferencias significativas entre las zonas de los Altos con la Zona centro del Estado de Jalisco, ya que la zona de los altos obtuvo una temperatura media total de 20.67 ± 0.82 mientras que la zona centro obtuvo 20.97 ± 0.64 con un valor en el análisis de varianza de $p= 0.774$ (**Cuadro 8.1.4**).

En la comparación de la humedad relativa en el lapso de Septiembre del 2001 a Junio de 2003 tampoco se encontraron diferencias significativas entre las zonas de los Altos con la Zona centro del Estado de Jalisco, ya que la zona de los altos obtuvo una humedad relativa total de 60.25 ± 1.53 mientras que la zona centro obtuvo 60.95 ± 2.79 con un valor en el análisis de varianza de $p= 0.827$ (**Cuadro 8.1.4**).

Con relación a la comparación del ITH total en el lapso de Septiembre del 2001 a Junio de 2003 no se encontraron diferencias significativas entre las zonas de los Altos con la Zona centro del Estado de Jalisco, ya que la zona de los altos obtuvo un ITH de 66.46 ± 0.41 mientras que la zona centro obtuvo 66.38 ± 0.91 con un valor en el análisis de varianza de $p= 0.95$ (**Cuadro 8.1.4**).

Cuadro 8.1.4. Valores de temperatura y humedad así como del Índice de Temperatura- Humedad (ITH) en la zona de los Altos y zona Centro del Estado de Jalisco de Septiembre de 2001 a Mayo de 2003.

Meses	Temperatura °C		Humedad %		ITH		Estaciones del año
	Altos	Centro	Altos	Centro	Altos	Centro	
Septiembre 2001	20.9	21.7	64	61	67.2	68.7	Otoño 2001
Octubre 2001	20.1	20.8	69	72	66.2	68.0	
Noviembre 2001	17.5	18.8	74	66	63.3	64.8	
Diciembre 2001	19.8	16.8	62	62	65.6	64.5	Invierno 2002
Enero 2002	11.9	17.8	57	51	54.7	61.9	
Marzo 2002	24.2	20.1	54	38	70.2	63.4	
Abril 2002	25.1	24.5	61	41	72.3	69.3	Primavera 2002
Mayo 2002	25.2	25.1	60	57	72.5	72.2	
Junio 2002	24.1	23.1	69	63	71.8	69.6	Verano 2002
Julio 2002	21.6	21.5	66	75	68.1	68.8	
Septiembre 2002	20.9	22.3	68	79	64.9	68.0	
Octubre 2002	20.1	21.3	62	76	67.0	66.8	Otoño 2002
Noviembre 2002	17.5	18.5	57	79	62.5	61.2	
Diciembre 2002	19.8	18.5	55	76	63.8	58.8	
Enero 2003	14.1	17.6	61	57	68.2	62.0	Invierno 2003
Febrero 2003	17.8	19.8	48	48	68.5	64.4	
Marzo 2003	21.5	20.6	60	52	67.6	65.4	
Abril 2003	24.5	24.5	56	48	65.8	70.9	Primavera 2003
Mayo 2003	25.3	27.4	50	56	66.1	75.1	
Junio 2003	21.5	18.7	52	62	62.8	63.8	
Promedio Total	20.67	20.97	60.25	60.95	66.46	66.38	

Se tomaron también los indicadores de temperatura y humedad relativa así como el Índice de Temperatura Humedad (ITH) por zonas y por estaciones del año de septiembre de 2001 a Mayo de 2003 (**Cuadro 8.1.5**).

En la comparación de la temperatura media por estaciones no se encontraron diferencias significativas entre las zonas de los Altos con la Zona centro del Estado de Jalisco, en ninguna de las estaciones desde el Otoño del 2001 a la Primavera del 2003 ya que la temperatura más baja en la zona de los altos fue de 17.80 ± 2.14 mientras que en la zona de centro en el Invierno de 2003 fue de 19.33 ± 0.90 con un valor en el análisis de varianza de $p= 0.544$, mientras que la temperatura más alta para la zona de los altos fue de 24.80 ± 0.35 y para la

zona centro de 24.23 ± 0.59 ambos en la Primavera del 2002 con un valor en el análisis de varianza de $p= 0.457$. (**Cuadro 8.1.5**).

En la comparación de la humedad relativa por estaciones se encontraron diferencias significativas en la estación de Verano del 2002 ya que la humedad relativa en la zona de los altos fue de 67.00 ± 1.00 mientras que en la zona de centro fue de 77.00 ± 2.00 con diferencias significativas de $p<0.05$, también se encontraron diferencias en el Otoño del mismo año ya que la humedad relativa en la zona de los altos fue de 58.00 ± 2.08 mientras que en la zona centro fue de 77.00 ± 1.00 con diferencias significativas de $p<0.001$ teniendo una mayor humedad la zona Centro en el Estado de Jalisco en ambos casos (**Cuadro 8.1.5**).

En la comparación del ITH por estaciones se encontraron diferencias significativas sólo en el Invierno del 2003 ya que el ITH en la zona de los altos fue de 68.10 ± 0.26 mientras que en la zona de centro fue de 63.93 ± 1.01 con diferencias significativas de $p<0.05$ teniendo un ITH mayor la zona de los Altos que la zona centro (**Cuadro 8.1.5**).

Cuadro 8.1.5. Comparación de los Indicadores de Temperatura, Humedad e ITH entre la zona de los Altos y la zona Centro del Estado de Jalisco por estaciones del año desde el Otoño del 2001 a la Primavera del 2003.

Estaciones	Indicadores	Zona Altos	Zona Centro	Anova p=	Dif. Sig.	
Otoño 2001	Temperatura	19.13 ± 0.82	18.80 ± 1.15	0.826		
	Humedad	68.33 ± 3.48	66.67 ± 2.91	0.732		
	ITH	65.03 ± 0.88	65.77 ± 1.12	0.634		
Invierno 2002	Temperatura	18.05 ± 6.15	18.95 ± 1.15	0.899		
	Humedad	55.50 ± 1.50	44.50 ± 6.50	0.241		
	ITH	62.45 ± 7.75	62.65 ± 0.75	0.982		
Primavera 2002	Temperatura	24.80 ± 0.35	24.23 ± 0.59	0.457		
	Humedad	63.33 ± 2.85	53.67 ± 6.57	0.248		
	ITH	72.20 ± 0.21	70.37 ± 0.92	0.124		
Verano 2002	Temperatura	21.25 ± 0.35	21.90 ± 0.40	0.346		
	Humedad	67.00 ± 1.00	77.00 ± 2.00	0.047		p<0.05
	ITH	66.50 ± 1.60	68.40 ± 0.40	0.368		
Otoño 2002	Temperatura	19.13 ± 0.82	19.43 ± 0.93	0.821		
	Humedad	58.00 ± 2.08	77.00 ± 1.00	0.001	p<0.001	
	ITH	64.43 ± 1.34	62.27 ± 2.37	0.471		
Invierno 2003	Temperatura	17.80 ± 2.14	19.33 ± 0.90	0.544		
	Humedad	56.33 ± 4.18	52.33 ± 2.60	0.462		
	ITH	68.10 ± 0.26	63.93 ± 1.01	0.016	p<0.05	

Primavera 2003	Temperatura	23.77 ± 1.16	23.53 ± 2.56	0.938
	Humedad	52.67 ± 1.76	52.00 ± 2.31	0.830
	ITH	64.90 ± 1.05	69.93 ± 3.30	0.220

Por otro lado se realizó un análisis de correlación para determinar el efecto del medio ambiente (ITH) sobre la incidencia de *E. coli* en las ubres con mastitis en la zona de los altos y centro del estado de Jalisco por meses de Septiembre de 2001 a Junio de 2003, donde se encontró una correlación positiva en ambas zonas existiendo una correlación mayor en la zona de los altos aunque debido a sus valores se consideran no significativas, donde se demuestra que entre mayor sea el ITH mayor será el porcentaje de incidencia de *E.coli*. (Cuadro 8.1.6).

Cuadro 8.1.6. Efecto del Medio Ambiente sobre la incidencia de *E.coli* en mastitis en la zona de los Altos y Centro del Estado de Jalisco, de Septiembre de 2001 a Junio de 2003.

Meses	% <i>E.coli</i> Zona Altos	ITH	% <i>E.coli</i> Zona Centro	ITH
Septiembre 2001	7.41	67.2	12.20	68.7
Octubre 2001	3.23	66.2	4.72	68.0
Noviembre 2001	4.17	63.3	1.19	64.8
Diciembre 2001	4.26	65.6	1.82	64.5
Enero 2002	4.48	54.7	1.67	61.9
Marzo 2002	10.87	70.2	14.58	63.4
Abril 2002	4.88	72.3	11.43	69.3
Mayo 2002	9.35	72.5	20.95	72.2
Junio 2002	2.90	71.8	9.29	69.6
Julio 2002	19.57	68.1	25.0	68.8
Septiembre 2002	3.95	64.9	0	68.0
Octubre 2002	1.59	67.0	1.49	66.8
Noviembre 2002	6.17	62.5	5.83	61.2
Diciembre 2002	3.19	63.8	2.36	58.8
Enero 2003	7.22	68.2	7.0	62.0
Febrero 2003	14.29	68.5	5.88	64.4
Marzo 2003	6.19	67.6	6.31	65.4
Abril 2003	3.98	65.8	6.76	70.9
Mayo 2003	6.19	66.1	2.52	75.1
Junio 2003	3.09	62.8	0	63.8
Coef. de correl.	0.30758256		0.26268107	

Los meses de Febrero y Agosto del 2002 no se tomaron muestras por lo tanto no se contabilizaron en este trabajo.

También se realizó un análisis de correlación para determinar el efecto del medio ambiente (ITH) sobre la incidencia de *E. coli* en las ubres con mastitis en la zona de los altos y centro del estado de Jalisco por estaciones del año, donde se encontró una correlación positiva altamente significativa en la zona de los altos en las estaciones de Invierno del 2002, Primavera del 2002, Verano del 2002, Invierno del 2003 y Primavera del 2003 donde se demuestra que preferentemente en Invierno y Primavera al aumentar una variable aumenta la otra, mientras que por otro lado existió una correlación negativa significativa en el otoño del 2001 y una correlación negativa altamente significativa en el otoño del 2002 donde se demuestra que preferentemente en otoño al aumentar una variable la otra disminuye. En la zona Centro el comportamiento fue muy similar ya que en el invierno del 2002, la primavera del 2002, verano del 2002 se encontró una correlación positiva altamente significativa y fue significativa en la primavera del 2003, mientras que en el otoño del 2001 y el invierno del 2003 la correlación fue negativa altamente significativa y fue negativa significativa en el Otoño del 2002, demostrando con esto que en ambas zonas el comportamiento es similar. (Cuadro 8.1.7).

Cuadro 8.1.7. Efecto del Medio Ambiente sobre la incidencia de *E.coli* en mastitis en la zona de los Altos y Centro del Estado de Jalisco, por estaciones del año del otoño de 2001 a primavera de 2003.

Estaciones del año	ZONA DE LOS ALTOS			ZONA CENTRO		
	% <i>E.coli</i>	ITH	Coef. de correl.	% <i>E.coli</i>	ITH	Coef. de correl.
Otoño 2001	3.23	66.2	-0.59870821	4.72	68.0	-0.96085565
	4.17	63.3		1.19	64.8	
	4.26	65.6		1.82	64.5	
Invierno 2002	4.48	54.7	1.0	1.67	61.9	1.0
	10.87	70.2		14.58	63.4	
Primavera 2002	4.88	72.3	0.89522358	11.43	69.3	0.96444908
	9.35	72.5		20.95	72.2	
	2.90	71.8		9.29	69.6	
Verano 2002	19.57	68.1	1.0	25.0	68.8	1.0
	3.95	64.9		0	68.0	
Otoño 2002	1.59	67.0	-0.91658407	1.49	66.8	-0.40553301
	6.17	62.5		5.83	61.2	
	3.19	63.8		2.36	58.8	

Invierno 2003	7.22	68.2	0.8272165	7.0	62.0	-077721798
	14.29	68.5		5.88	64.4	
	6.19	67.6		6.31	65.4	
Primavera 2003	3.98	65.8	0.77608314	6.76	70.9	0.50107584
	6.19	66.1		2.52	75.1	
	3.09	62.8		0	63.8	

Según datos registrados por algunos autores mencionan que el confort en el ganado lechero se mantiene con un ITH de 61-67, por lo que los animales son susceptibles a estresarse con los cambios de ITH mayores, trayendo como consecuencia un aumento significativo de susceptibilidad de adquirir microorganismos patógenos que trae como consecuencia problemas en la glándula mamaria desarrollando mastitis por estrés calórico o estrés al frío.

Por otro lado se realizaron análisis bacteriológicos para determinar la incidencia de patógenos principales en las ubres con mastitis como *Escherichia coli*, *Streptococcus spp.*, y *Staphylococcus spp.*, así como patógenos secundarios como (*Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Shigella spp.*, y *Pseudomona spp.* entre otras) y la asociación de *E. coli* con una o dos bacterias específicamente con *Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.*, cabe señalar que la mayor incidencia de bacterias patógenas encontradas en las ubres con mastitis en los bovinos de la región Centro del Estado fueron por patógenos secundarios (PS) que incluye *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Shigella spp.* y *Pseudomona spp.* las cuales contabilizaron hasta un total del 58.23%. En segundo lugar se encontró la presencia de patógenos principales infecciosos (PP) donde quedaron incluidos por una parte con 9.58% de *Staphylococcus spp.* y 9.80% de *Streptococcus spp.* Dando un total de 19.38% y en tercero se encontró la presencia de *E. coli* con 11.76%. Por otra parte, en la región Altos Norte, resultados similares se encontraron ya que en primer lugar se hallaron los patógenos secundarios (PS) que representaron el 66.66%, en segundo término se encontró a los patógenos principales (PP) con un total de 13.06% incluidos con un 8.41% a los *Staphylococcus spp.* y con un 4.65% a los *Streptococcus spp.*) y en tercer lugar se encontró a la *E. coli* que representó el 9.28%. En cuanto a la región Altos Sur, de forma similar el primer lugar fue ocupado por los patógenos secundarios (PS) con un 44.37%, seguido en segundo lugar por los patógenos principales (PP) con un 30.75% donde quedaron incluidos los *Staphylococcus spp.* con 21.24% y los *Streptococcus spp.* con 9.51% y en tercer lugar se encontró la *E. coli.* en el 11.57% de los casos. (Cuadro 8.2.1).

Con respecto a la comparación de la incidencia de *E.coli*, los promedios obtenidos fueron de 1.55% para la zona Altos Norte y de 1.13% para la zona Altos Sur, no encontrándose diferencias significativas entre ellos en el análisis de varianza.

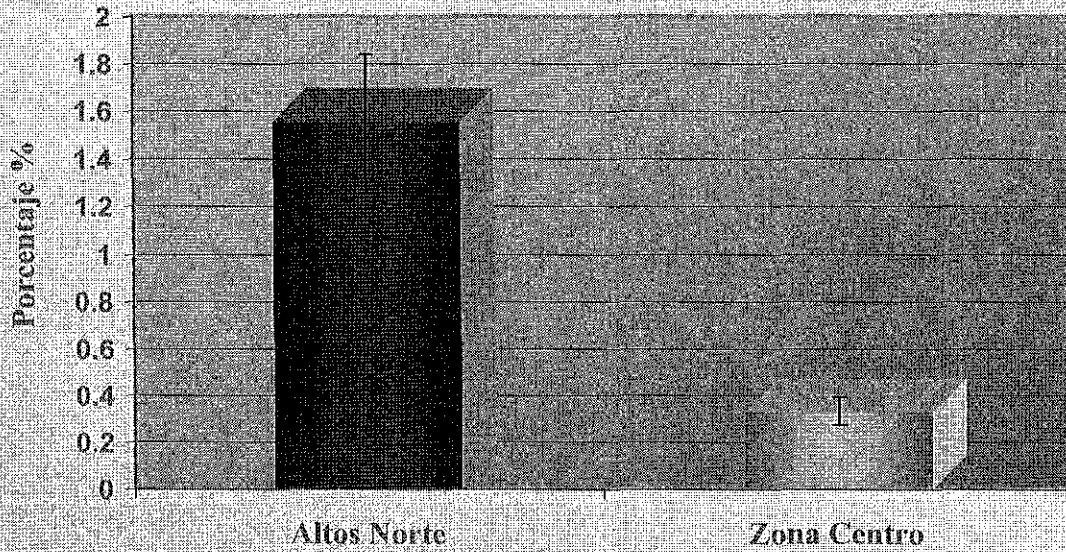
En las figuras que aparecen abajo se muestran las comparaciones de incidencia de bacterias entre las zonas, aunque cabe señalar que solo se graficaron aquellas que tuvieron diferencias significativas.

Cuadro 8.2.1. Porcentaje de los resultados obtenidos en el análisis bacteriológico de las muestras de leche en bovinos en las zonas de los Altos Norte, Altos Sur y zona Centro del Estado de Jalisco.

Zonas	Patógeno principal asociado al ambiente	Patógenos principales asociados a la ubre		Patógenos secundarios	<i>E. coli</i> + Una Bacteria	<i>E. coli</i> + Dos Bacterias	%
	<i>E.coli</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>				
Altos Norte	9.28	8.41	4.65	66.66	6.37	4.63	100
Altos Sur	11.57	21.24	9.51	44.37	11.09	2.22	100
Zona Centro	11.76	9.58	9.80	58.23	8.08	2.55	100

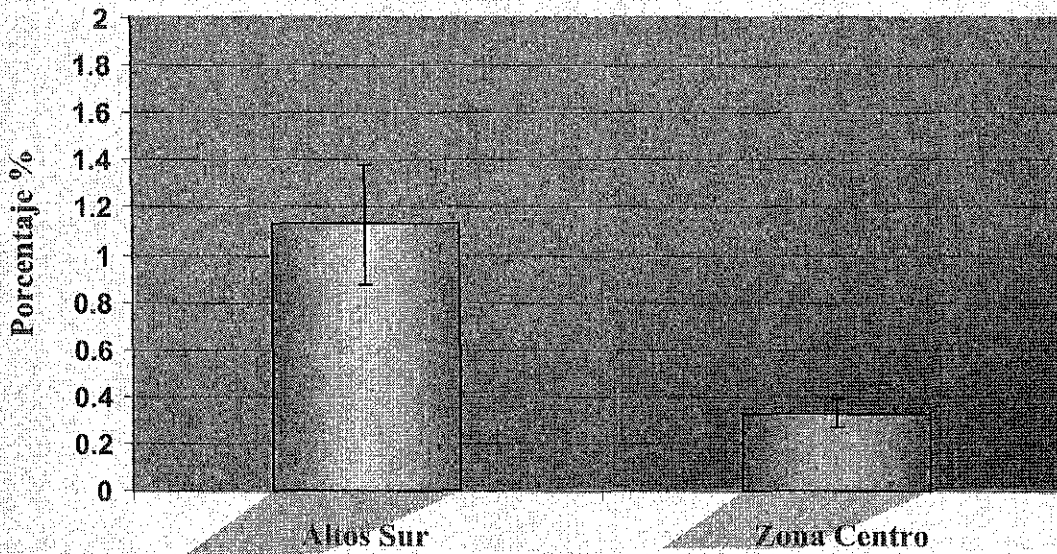
En la comparación de la incidencia de *E.coli*, entre los Altos Norte contra la zona Centro (**Figura 8.2.2**), se encontraron diferencias significativas ya que los bovinos de la zona Altos Norte obtuvieron promedios de 1.55% contra 0.33% de la zona Centro siendo mayormente alta la incidencia de *E. coli* en la zona de los Altos Norte con $p < 0.001$ en el análisis de varianza. De igual manera cuando comparamos la zona Altos Sur contra la zona Centro se encontraron diferencias significativas con $p < 0.001$ ya que los promedios de la zona Altos Sur fueron mayores con 1.13% contra 0.33% de la zona Centro (**Figura 8.2.3**).

Figura 8.2.2. Comparación de la incidencia de *E. coli* en la zona Altos Norte contra la zona Centro.



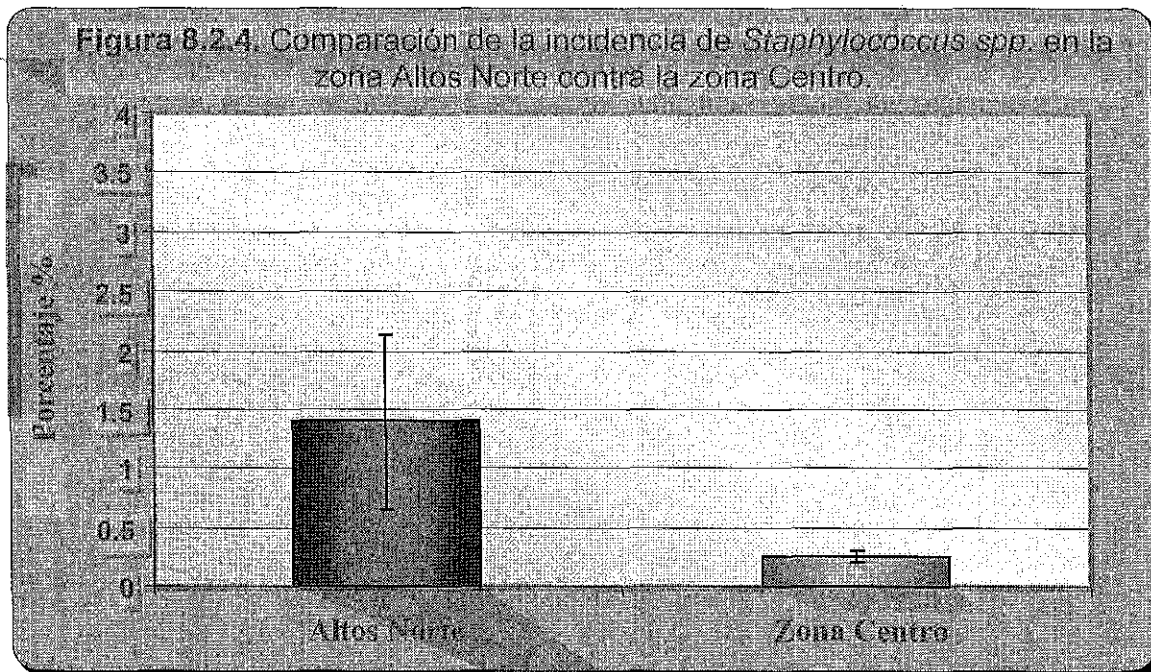
$p < 0.001$ Significativo en el Anova

Figura 8.2.3. Comparación de la incidencia de *E. coli* en la zona Altos Sur contra la Zona Centro.



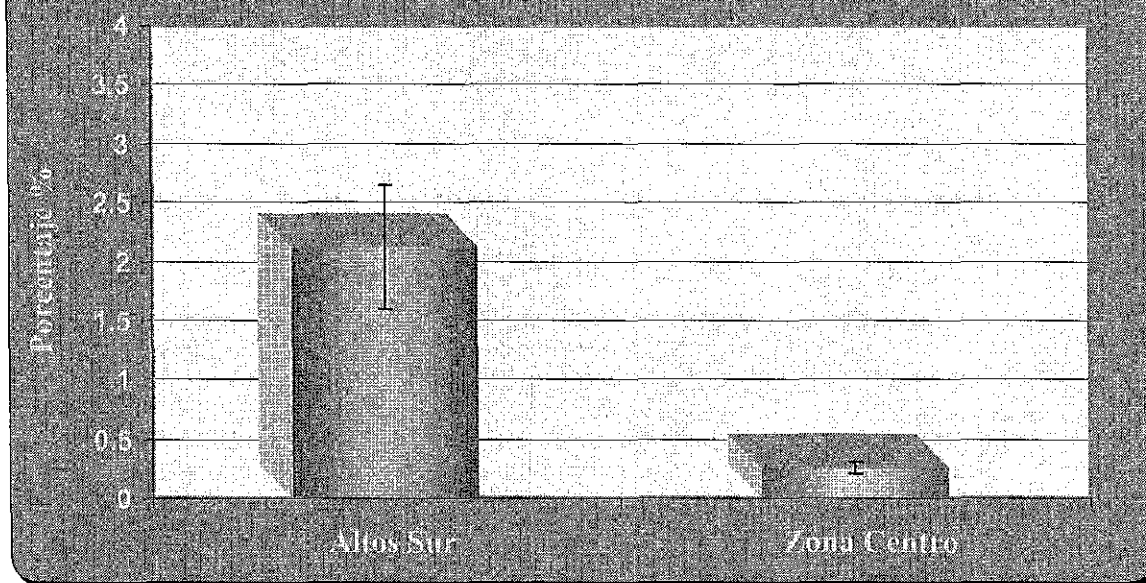
$p < 0.001$ Significativo en el Anova

Con respecto a la comparación de la incidencia de *Staphylococcus spp.* en las muestras tomadas y en el análisis bacteriológico realizado, encontramos que la zona Altos Norte obtuvo menor incidencia que la zona Altos Sur ya que los promedios obtenidos fueron de 1.40% contra 2.12% respectivamente, no encontrándose diferencias significativas entre ambos, sin embargo, en la comparación de la zona Altos Norte con la zona Centro sí se encontraron diferencias significativas con $p < 0.001$ ya que la zona Altos Norte mostró un promedio mayor con 1.40% contra 0.26% de la zona Centro (Figura 8.2.4), de igual manera la zona Altos Sur mostró mayor incidencia de *Staphylococcus spp.* que la zona Centro ya que los promedios obtenidos en el análisis bacteriológico fueron de 2.12% contra 0.26% respectivamente con una diferencia significativa de $p < 0.001$ (Figura 8.2.5).



$p < 0.001$ Significativo en el Anova

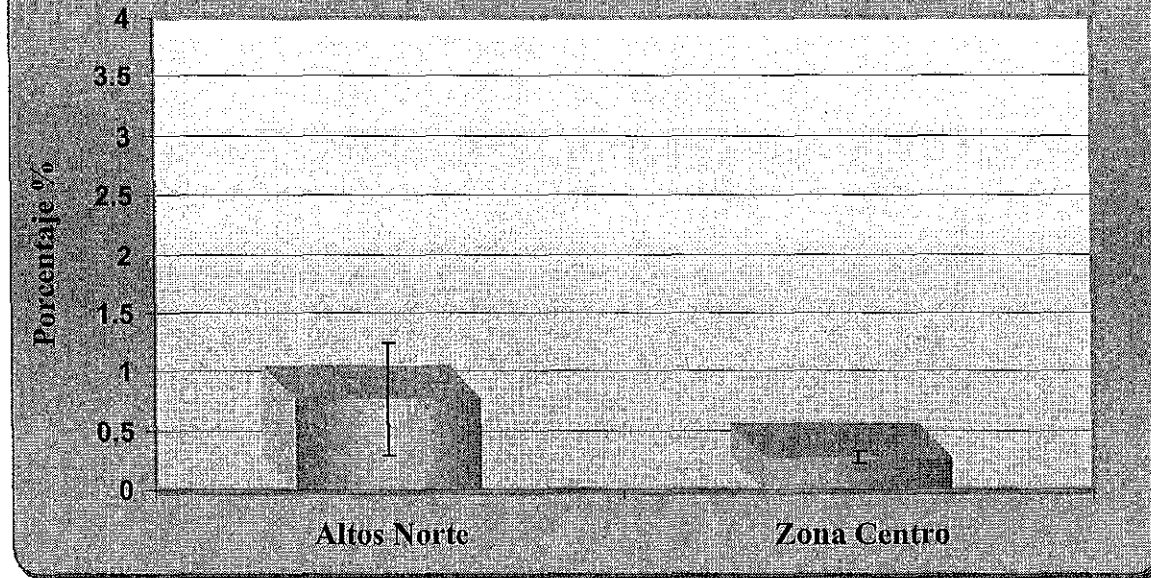
Figura 8.2.5. Comparación de la incidencia de *Staphylococcus spp.* en la zona Altos Sur contra la zona Centro.



$p < 0.001$ Significativo en el Anova

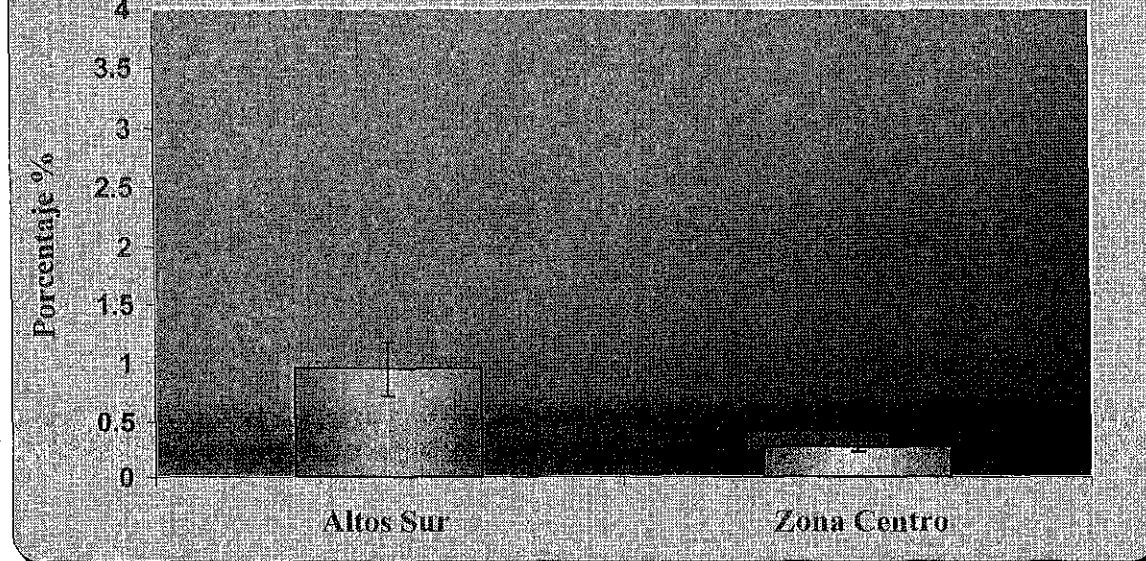
En la comparación realizada para la incidencia de *Streptococcus spp.* entre las zonas Altos Norte y en la zona Altos Sur se encontró que la zona Altos Sur obtuvo mayores promedios con 2.12% contra 1.40% de la zona Altos Norte sin embargo en el análisis estadístico no se encontraron diferencias significativas, en la comparación de la zona Altos Norte contra la zona Centro sí encontramos diferencias significativas ya que los promedios fueron mayores para la zona Altos Norte que para la zona Centro con un promedio de 1.40% contra 0.26% respectivamente con $p < 0.001$ (Figura 8.2.6), de igual manera cuando comparamos la zona Altos Sur contra la zona Centro también encontramos diferencias significativas con promedios de 2.12% para la zona Altos Sur contra 0.26% para la zona Centro con una $p < 0.001$ siendo mayor la incidencia de *Streptococcus spp.* en la zona de Altos Sur (Figura 8.2.7)

Figura 8.2.6. Comparación de la incidencia de *Streptococcus spp.* en la zona Altos Norte contra la zona Centro.



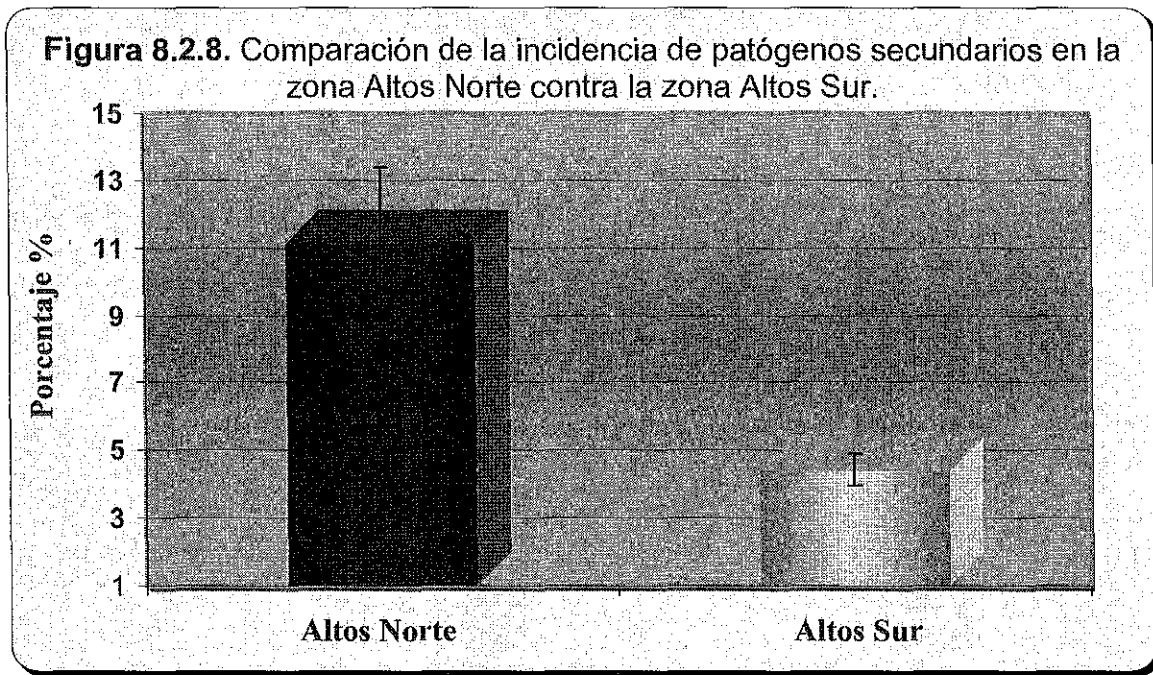
$p < 0.001$ Significativo en el Anova

Figura 8.2.7. Comparación de la incidencia de *Streptococcus spp.* en la zona Altos Sur contra la zona Centro.



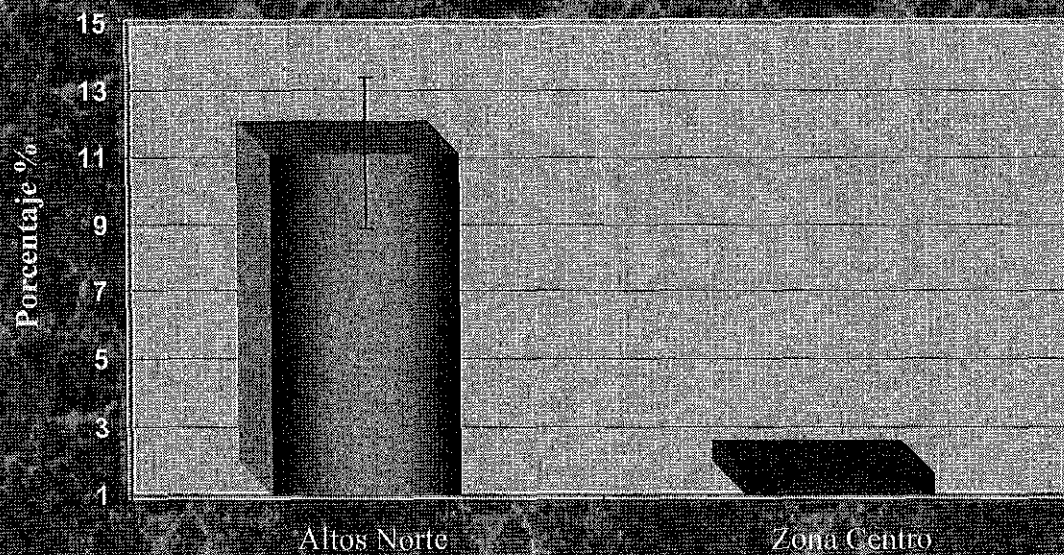
$p < 0.001$ Significativo en el Anova

Por otro lado la mayor incidencia en los problemas de mastitis en el ganado lechero en las zonas Altos Norte, Altos Sur y zona Centro del Estado de Jalisco lo obtuvieron los patógenos secundarios que regularmente se encuentran en la ubre lesionada como son las bacterias: *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Shigella spp.* y *Pseudomona spp.*, obteniendo diferencias significativas en el análisis de varianza en todas las comparaciones ya que en la cuantificación del análisis bacteriológico se obtuvieron los promedios para la zona Altos Sur de 4.44%, zona Altos Norte de 11.11% y para la zona Centro de 1.62% teniendo ésta última una menor incidencia de patógenos secundarios mientras que la zona Altos Norte obtuvo mayores promedios con más contaminación por estas bacterias, las diferencias significativas fueron de $p<0.005$ entre la zona Altos Norte y Altos Sur, de $p<0.001$ entre la zona Altos Norte y Centro y de $p<0.001$ entre la zona Altos Sur y la zona Centro (Figuras 8.2.8, 8.2.9 y 8.2.10).



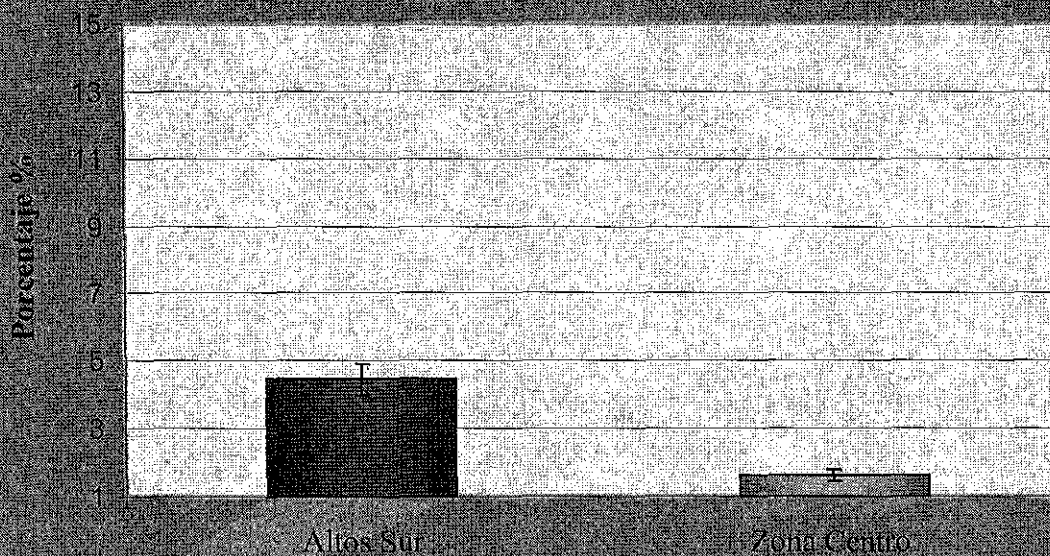
$p<0.005$ Significativo en el Anova

Figura 8.2.9. Comparación de la incidencia de patógenos secundarios en la zona Altos Norte contra la zona Centro.



$p < 0.001$ Significativo en el Anova

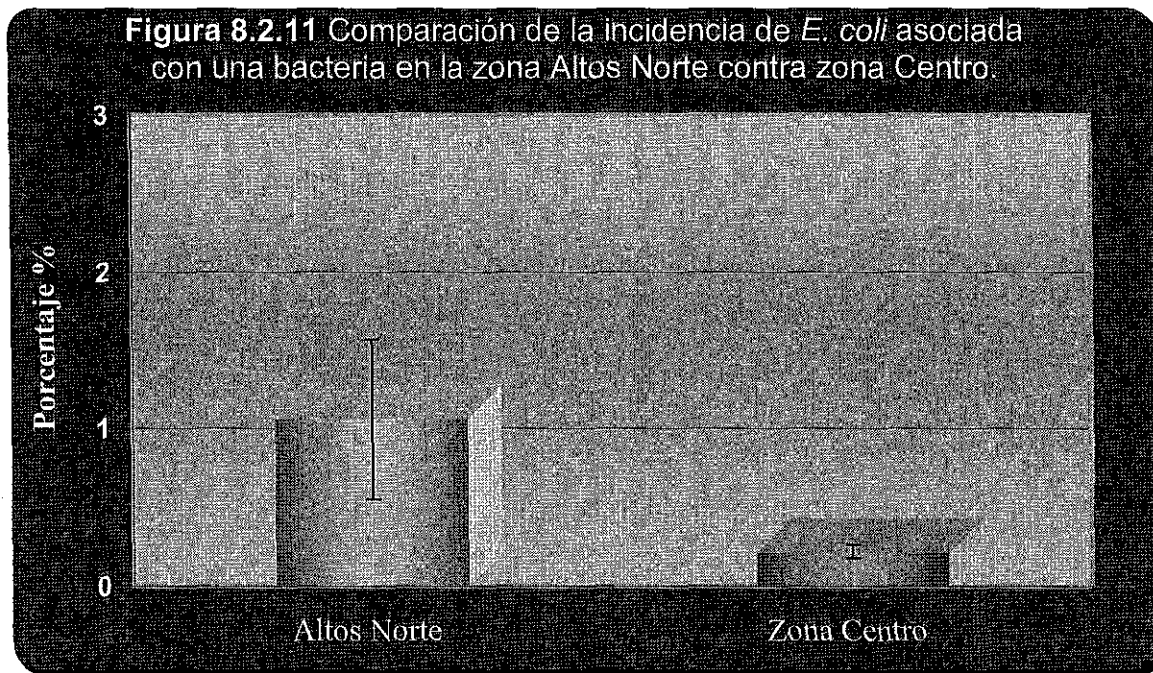
Figura 8.2.10. Comparación de la incidencia de patógenos secundarios en la zona Altos Sur contra la zona Centro.



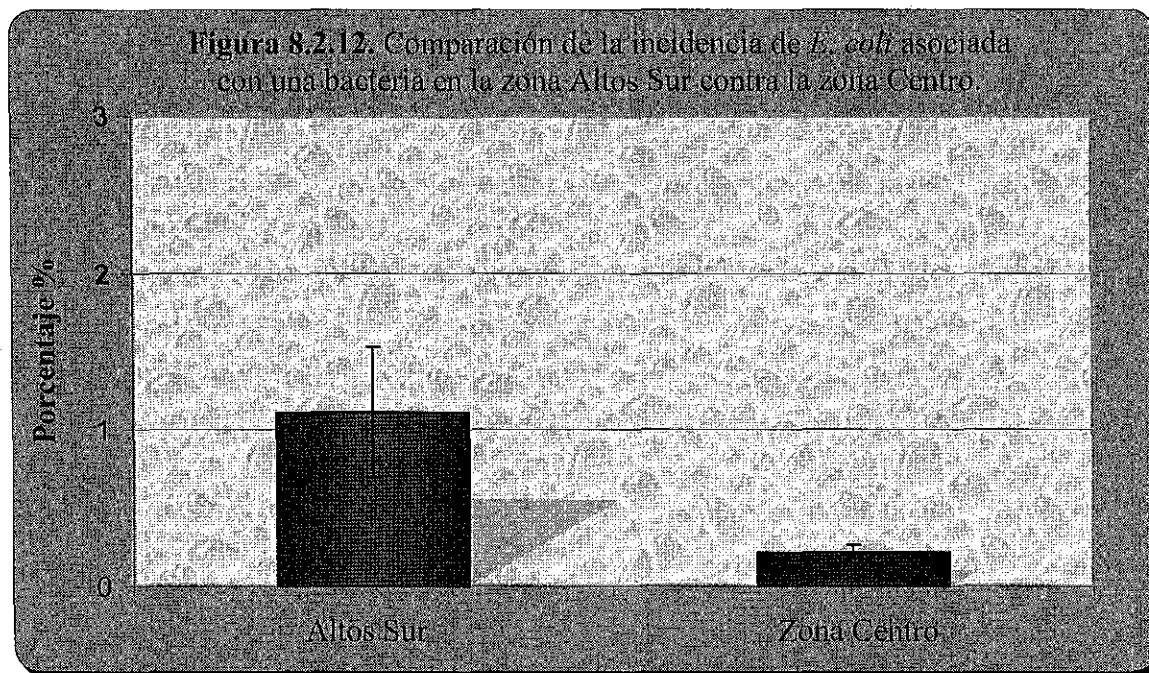
$p < 0.001$ Significativo en el Anova

Asimismo se comparó la incidencia por zonas de la asociación de la bacteria *E. coli* con otra bacteria como los *Staphylococcus spp.*, entre la zona Altos Norte y la zona Altos Sur no

se encontraron diferencias significativas ya que los promedios en la zona Altos Sur fueron mayores con 1.11% contra la zona Altos Norte con 1.06%, sin embargo, en la comparación entre la zona Altos Sur y la zona Centro sí se encontraron diferencias significativas ya que la zona Altos Norte obtuvo en promedio 0.73% mientras que en la zona Centro fue más baja con 0.22% con $p < 0.001$ en el análisis de varianza (Figura 8.2.11), de igual manera en la comparación entre Altos Sur y la zona Centro encontramos diferencias significativas de $p < 0.001$ ya que la incidencia de la zona Altos Sur fue mayor con promedios de 1.21% contra 0.22% de la zona Centro (Figura 8.2.12).



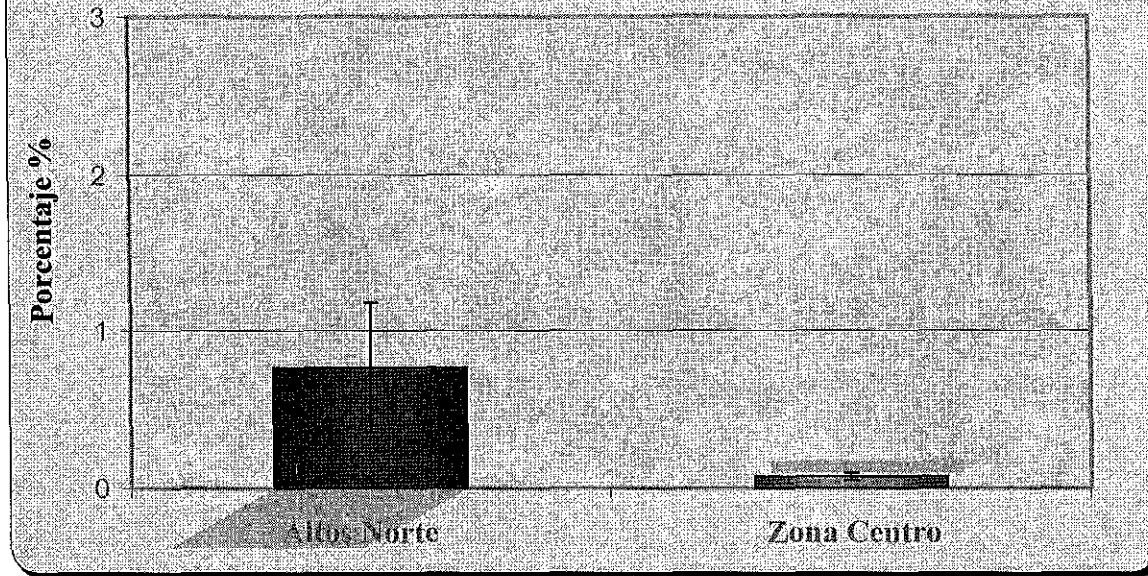
$p < 0.001$ Significativo en el Anova



p<0.001 Significativo en el Anova

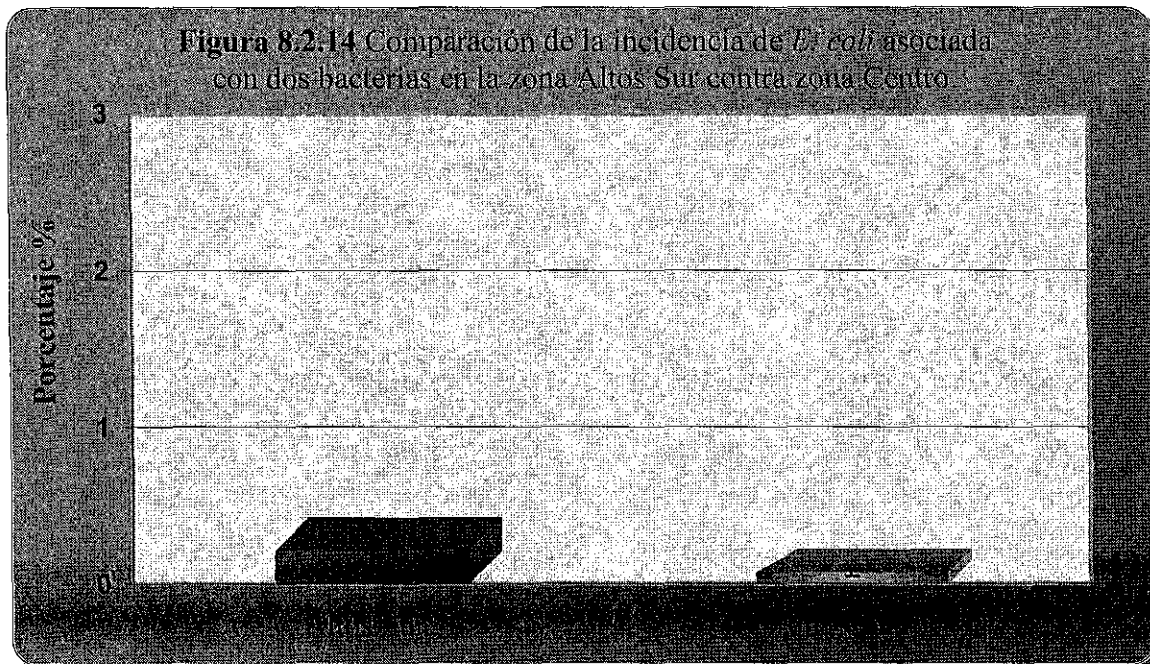
Por último comparamos la incidencia de *E. coli* con la asociación de dos bacterias como *Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.*, en las diferentes zonas, los promedios obtenidos en el análisis bacteriológico fueron de 0.77% contra 0.22% para la zona Altos Norte y Altos Sur respectivamente no siendo significativa esta diferencia en el análisis de varianza, mientras que la comparación entre la zona Altos Norte contra la zona Centro fue de 0.77% contra 0.07% encontrándose diferencias significativas de **p<0.001 (Figura 8.2.13)**, la comparación de la zona Altos Sur contra la zona Centro también mostró diferencias significativas ya que los promedios de incidencia fueron mayores para la zona Altos Sur de 0.22% y en la zona Centro de 0.07% con **p<0.005 (Figura 8.2.14)**.

Figura 8.2.13. Comparación de la incidencia de *E. coli* asociada con dos bacterias en la zona Altos Norte contra la zona Centro.



$p < 0.001$ Significativo en el Anova

Figura 8.2.14 Comparación de la incidencia de *B. coli* asociada con dos bacterias en la zona Altos Sur contra zona Centro.



$p < 0.001$ Significativo en el Anova

IX. DISCUSIÓN

Tomando en cuenta que el Estado de Jalisco tiene su temporada de lluvias dependiendo de la temporada de ciclones, que comienza a mediados o fines de mayo y termina en noviembre, conduce a que en tiempo de estiaje la limpieza de corrales se realice 1 o 2 veces por semana ya que en épocas de lluvias no se realiza sino esporádicamente, sólo en casos de demasiada acumulación de agua y estiércol en corrales, como lo pudimos observar en este estudio (INEGI, 2002). Las heces fecales en exceso y la humedad hace que se forme un medio de crecimiento excelente para algunos microorganismos como *E. coli* que puede diseminarse más fácilmente causando mayor número de casos de mastitis (Wolter et al., 2004).

Según Wolter et al., 2004, el 26.5% de las vacas lecheras sacrificadas en el Continente Americano se debe a trastornos ocasionados por la mastitis. En el caso de Hesse, Alemania los problemas de mastitis son la segunda causa más común de eliminación de las vacas lecheras (19.4%). Comparando los porcentajes obtenidos en el presente estudio (57.61%) éstos resultaron ser mayores a los citados anteriormente lo cual determina una alerta sobre los riesgos potenciales en la salud pública veterinaria.

A pesar de que la mastitis por organismos contagiosos ha sido controlada por el mejoramiento en el manejo, la enfermedad puede permanecer porque los organismos causales no pueden ser erradicados totalmente del medio ambiente de las vacas lecheras. (Field et al., 2003; Nash et al., 2002). En este caso, se observó mayor presencia de otros microorganismos oportunistas así como la prevalencia de la *E. coli*, ya sea sola o asociada con alguno de los patógenos principales.

Los factores medio ambientales se representan principalmente por la medición de la temperatura y la humedad relativa. Existe un índice compuesto que relaciona la temperatura ambiental y la humedad relativa del aire, denominado ITH (Hahn, 1999), que nos indica cuándo se produce el estrés calórico en función de los parámetros ya mencionados, a partir de los 25 °C se pueden apreciar los efectos del calor en la producción lechera de las vacas. No obstante hay que tener en cuenta también la humedad relativa del aire. Conforme se combinan la temperatura con la humedad relativa más alta se incrementa el estrés calórico en el ganado; altas humedades relativas dificultan la evaporación del sudor de los animales y por lo tanto su enfriamiento.

En la comparación de los ITH por zonas dentro del período registrado no se encontraron diferencias significativas por lo que podemos señalar que los Índices de Temperatura-Humedad son muy similares entre ellos (INEGI, 2002).

En la medición del coeficiente de correlación entre ITH y prevalencia de *E. coli* en las zonas altos y centro se encontró una alta correlación que determina el efecto de cambio de temperatura y humedad sobre la incidencia directa de mastitis provocada por *E. coli*. En estudios realizados se ha demostrado que los cambios de temperatura y humedad provocan un estado de estrés del organismo que trae como consecuencia una inmunosupresión provocando que bacterias oportunistas como *E. coli* se presenten con mayor frecuencia (Wolter et al., 2004).

Como se observa, este índice relaciona la temperatura con la humedad relativa y tiene un efecto sobre la forma de eliminar calor de las vacas. La temperatura confort para las vacas está entre 7 y 28 grados centígrados, si la humedad no supera el 60 %, este límite parece ser muy bajo, pero por encima de esta temperatura ambiente, sumado al calor producido por la propia combustión corporal hace que la habilidad de la vaca para eliminar el calor sea cada vez menor. Las condiciones de temperatura en que las vacas lecheras Holstein muestran mejor comportamiento son cuando se encuentran entre 6.6° a 10.5°C que es la Zona Termoneutral (ZTN) óptima para productividad y salud alcanzando límites de adaptación aún entre 10.6° y 20°C. Por debajo de los 2° que es el límite de temperatura crítica más baja se induce estrés por el frío, mientras que por encima de los 25°C que es el límite de la temperatura crítica más alta se inicia el estrés calórico. En referencia a los rangos de humedad relativa los valores de 30% hasta 80% no afectan los mecanismos de intercambio calórico y no producen desgaste energético, excepto si las temperaturas se acercan al límite crítico alto o bajo (Morais, 1983). Los periodos críticos encontrados en este estudio coinciden con lo mencionado anteriormente ya que fue la estación de primavera la más problemática mostrando un ITH mayor.

La mastitis ocasionada por patógenos ambientales es el principal problema que afecta a muchos hatos lecheros bien manejados que aplican un programa de control de patógenos contagiosos de la mastitis (Calvinho et al., 1998; Phuektes et al., 2001). Lo cual coincide con lo encontrado en este trabajo, donde los patógenos secundarios y la *E. coli* representaron los valores más altos de incidencia, sobre los valores de los patógenos principales.

Los patógenos ambientales a diferencia de los contagiosos son transmitidos por mal manejo antes, durante y después del proceso de la ordeña, la mayoría de patógenos que conforman este grupo son los bacilos entéricos gram negativos: *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, etc., aunque también se pueden combinar con gram positivos como: *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Streptococcus spp*. (Rossitto et al., 2002; Wolter et al., 2004), datos que coinciden en su mayoría con los encontrados en nuestro estudio.

Los *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* son infecciosos a nivel individual y a nivel de población (Nash, et al. 2002), han sido reportados bajo control en los hatos lecheros a través del uso de prácticas de manejo que utilizan la desinfección de las tetas después de la ordeña, terapia de la vaca seca, desecho, mantenimiento del equipo de ordeño y terapia antibiótica de las infecciones intramamarias (Wolter et al., 2004). Mientras que en nuestro estudio se encontraron con mayor frecuencia el grupo de patógenos secundarios, seguido por *E.coli*, *Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.*

Con base a ésto, puede considerarse una muy buena alternativa el uso de placas Petrifilm para el recuento de mesófilos aerobios totales. La sencillez de la técnica Petrifilm, la eliminación de la preparación de los medios de cultivo, la mejor visualización de las colonias y el insumo de menor tiempo y economía, ofrecen ventajas que justifican su utilización para identificar con mayor rapidez las unidades formadoras de colonias (UFC) de *E.coli* (Casillas et al., 2007).

Con referencia a la incidencia de mastitis, podemos señalar que la zona Centro mostró mayor incidencia de *E. coli* que la zona de los Altos debido quizá a que los patógenos ambientales se transmiten en el intervalo entre ordeñas y provienen del ambiente lo cual coincide con los trabajos previos de Calvinho et al., en 1998 y el de Phuektes et al., en 2001, siendo la zona Centro la más contaminada por la falta de higiene.

X. CONCLUSIONES

- 1.- La mayor incidencia de mastitis con la prueba de California se localizó en la zona Centro del Estado de Jalisco con relación a la zona de los Altos, aunque esta diferencia no fue significativa.
- 2.- En los valores totales del estudio no se evidenciaron diferencias significativas en cuanto a temperatura, humedad relativa y el ITH en ambas zonas.
- 3.- En la comparación por estaciones existió mayor humedad relativa en la zona centro que la zona de los Altos en el verano 2002 y otoño 2002, mientras que el ITH fue mayor en la zona de los Altos que en la zona Centro en Invierno del 2003.
- 4.- La correlación entre ITH e incidencia de mastitis por *E.coli* si se mostró, pero no de manera significativa en los datos totales del estudio.
- 5.- Al revisar de manera detallada por regiones y contrastarla, en la región de los Altos esta relación entre ITH y la presencia de *E. coli*, demostró una correlación positiva altamente significativa en las estaciones de primavera 2002, verano 2002 e invierno 2002, primavera 2003 e invierno 2003, una correlación negativa altamente significativa en el otoño 2002 y finalmente una correlación negativa significativa en el otoño 2001.
- 6.- En la zona Centro, esta relación entre ITH y la presencia de *E. coli* evidenció una correlación positiva altamente significativa en las estaciones de primavera 2002, verano 2002 invierno 2002, una correlación positiva significativa en la primavera 2003 y una correlación negativa altamente significativa en el otoño 2001 e invierno 2003, para finalmente mostrar una correlación negativa significativa en otoño 2002.
- 7.- En el análisis bacteriológico, tanto en la zona Centro como en la zona de los Altos, se encontró en primer lugar presencia de patógenos secundarios tales como: *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Shigella spp.* y *Pseudomona spp.*
- 8.- No existe diferencia al considerar el segundo lugar, ya que en esta región Centro se encontró la presencia de patógenos principales infecciosos (PP) donde quedaron incluidos *Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.* Con un total de 19.38% y en tercero la *E. coli* con 11.76%. Igualmente en Altos Norte, el segundo lugar lo ocuparon los patógenos principales (PP) con un total de 13.06% y en tercer lugar la *E. coli* con el 9.28%. En cuanto a la región

Altos Sur, en segundo lugar fueron los patógenos principales (PP) con un 30.75% y en tercer lugar la *E. coli*. con 11.57% de muestras positivas.

9.- Al comparar la asociación de *E. coli* con los patógenos principales entre las regiones, la zona Altos Norte tuvo mayor incidencia de la asociación de *E. coli* con 2 bacterias (*Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.*) que la zona Altos Sur y la zona Centro, mientras la zona Altos Sur mostró mayor incidencia de *E. coli* con una bacteria, ya sea *Staphylococcus spp.* o *Streptococcus spp.* siendo ambos valores más altos que en la región Centro.

XII. LITERATURA CONSULTADA

1. **Amer, L., De Battista, G., Medvedeff, M., Bargardi, S. (2000).** Evaluación del método petrifilm para la determinación del recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales, en drogas vegetales *Ars. Pharmaceutica*, **41:4**; 383-386.
2. **BAM. Bacteriological Analytical Manual. (2001).** Online. January. Chapter 2. pag. 12.03-12.05.
3. **Bedolla, C. C. (2004).** Mastitis Bovina. Cuatro Vientos. No. 41. Febrero Marzo. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Pp 24-28.
4. **Beutin, L., Geier, D., Zimmerman, S and Karch, H. (1995).** Virulence markers of Shiga- like toxin of *Escherichia coli* strains originating from healthy domestic animals of different species. *Journal of Clinical Microbiology*. No. 33. pp 631-635.
5. **Blanco, J., Blanco, M., Blanco, J.E., Alonso, M.P., Escribano, A. (1993).** Patogénesis, epidemiología y diagnóstico microbiológico de las infecciones producidas por *Escherichia coli* enterohemorrágicas productoras de verotoxinas. *Enferm. Infec. Microbiol. Clin.* ; **11**:325-334.
6. **Blanco, J., Blanco, M., Escribano, A., Blanco, J.E., Alonso, M.P., Marín, J., Hernández, R. (1995).** *Escherichia coli* verotoxigénicos y el síndrome urémico hemolítico. Aspectos clínicos y microbiológicos. *Anal Esp Pediatr*. 42:95-106.
7. **Bradley, A. J. Green, M. J. (2001).** Adaptation of *Escherichia coli* to the bovine mammary gland. *Journal of Clinical Microbiology*. No. 39 (5). pp 1845-1849.
8. **Broquet, I., Isunza, R.G., Gallegos, S.F. (2007).** Evaluación del sistema Tempo® vs. Norma Oficial Mexicana y Petrifilm™ *E.coli*-coliformes para la enumeración de bacterias aerobias, coliformes y *E.coli* en muestras de carne y productos cárnicos. Métodos analíticos y

de detección. Congreso Internacional de Inocuidad alimentaria 2007. Facultad de Ciencias Químicas. Chihuahua, Chih. pp. 89.

9. **Casillas, B.R., Heredia, R.N., García, A.J., Martínez, R. (2007).** Desarrollo y validación de un método alternativo rápido para la detección de *Bacillus Sporothermodurans* y *G.estearothermophilus* en leche grado UHT. Laboratorio de bioquímica y genética de microorganismos. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León y 3M de México. Chihuahua, Chih. pp.94.

10. **CNA. (2002).** Boletín informativo. Comisión Nacional del Agua. México

11. **Collier, R. J., Beede, D.C., Thatcher, W.W., Israel, L. R., Wilcox, C. J. (1982).** Influence of environmental and its modification on dairy animal health and production. *J. Dairy Sci.* No. 65. pp. 213.

12. **Cortes, J. F., Blanco, O. M. A. (1989).** Prevalencia de mastitis subclínica bovina e identificación de microorganismos presentes en la leche positiva, en 3 hatos de la región de Puente de Ixtla, Morelos. *Memorias de la Reunión Nacional de Investigación Pecuaria de 1989.* UNAM. SARH.

13. **Dantzer, R., Mormede, P. (1985).** El stress en la cría intensiva del ganado. 1ª. Edición. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

14. **Djabri, B., Barriale, N., Beaudeau, F., Seegers, H. (2002).** Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows, a meta analysis. *Vet. Res.* (33). pp 335-357

15. **Ferrer, A. (1993).** Nuevos paradigmas tecnológicos y desarrollo sostenible: Perspectiva latinoamericana. *Comercio Exterior*, Vol. 43, No. 9, pp 807-813.

16. **Field, T.R., Ward, P.N., Pedersen, L. H. (2003).** The Hyaluronic Acid capsule of streptococcus uberis is not required for the development of infection and clinical mastitis. *Infection and Immunity*. No. 71 (1). pp132-139.
17. **Gutiérrez, P. H., De la Vara, Z. R. (2003).** Análisis y diseño de experimentos. Mc Graw Hill. Cap 5-6. pp 246-276.
18. **INEGI. (2002).** Anuario estadístico del Estado de Jalisco. Gobierno del Estado de Jalisco. Edición 2002.
19. **INEGI. (2003).** Anuario estadístico. Producción de Leche por región y municipio. Gobierno del Estado de Jalisco. Tomo II. Edición 2003.
20. **Kaipanen, T. (2002).** Abstracts. *Veterinary Microbiology*. **85** (1): pp37-46.
21. **Loor, J.J., Jones, G.M., Sumner, S. (1999).** Testing Bulk Tank Milk samples. Virginia Cooperative Extension. Guías del ordeño 404-405 W. Review. Virginia, USA.
22. **Margall, N., Domínguez, A., Prats, G., Salleras, L. (1997).** *Escherichia coli* enterohemorrágica. *Rev Esp Salud Pública* 71:437-443.
23. **Medina, M. C., Montaldo, V. H. (2003).** El uso de la prueba de la conductividad eléctrica y su relación con la prueba de California para mastitis CNM. V Congreso Nacional de Control de Mastitis. Aguascalientes, Ags. México. 29-31 de Mayo.
24. **Molina, N., Ballester, L., Rodríguez, C., Araque, J., Andueza, F. (2007).** Evaluación del método Petrifilm™ para la detección de bacterias coliformes en agua mineral emvasada. Congreso Internacional de Inocuidad alimentaria 2007. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes. Venezuela. pp.91.

25. **Monnet, D.L., Emborg, H.D., Andersen, S.R., Scholler, C., Sorensen, T.L., Bager, F. (2000).** Vigilancia de las resistencias bacterianas a los agentes antimicrobianos en Dinamarca. *Eurosurveillance* Vol 5. No. 12; 129-32.
26. **Morais, M. (1983).** Efecto de la temperatura ambiental y humedad relativa sobre la temperatura rectal y frecuencia respiratoria en vacas F1 (Holstein X cebú cubano). *Rev. Salud Animal*. No. 5. pp. 615-662. Cuba.
27. **Morillo, A., Rodríguez, R., Ballester, L., Araque, J., Andueza, F. (2007).** Evaluación del método Petrifilm™ de bacterias aerobias mesófilas en agua mineral emvasada. Congreso Internacional de Inocuidad alimentaria 2007. Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de los Andes. Venezuela. pp.92.
28. **Mujika, A.I. (2005).** El estrés calórico, efecto en las vacas lecheras. Área de asistencia técnica en vacuno de leche. ITGG. <http://www.navarraagraria.com>. n.150 pp.39-40.
29. **Nash, D. L., Rogers, G.W., Cooper, J. B., Hargrove, G. L., Keown, J. F. (2003).** Relationship among severity and duration of clinical mastitis and sire transmitting abilities for somatic cell score, udder type traits productive life and clinical mastitis and sire transmitting abilities for somatic cell score, udder type traits, productive life and protein yield. *J. Dairy Science*. No. 85. pp 1273-1284
30. **Norma Oficial Mexicana NOM-091- SSA. 1- (1994).** Leche de vaca y leche pasteurizada con sabor. Incluye métodos de muestreo, métodos de prueba, etiquetado, envase y embalaje.
31. **Oberto, M.F., Reítú, M.A., Pirra, M.A. 2006.** Estrés calórico: ¿qué podemos hacer? ¿Dietas frías, manejo del ambiente? *Producir XXI*, Bs. As., 15(182):36-39.

32. **Organización Mundial de Salud Animal. (2001).** Oficina Internacional de Epizootias (OIE). Código Zoosanitario Internacional. Cap. 1.1.1. Definiciones Generales. OMSA 2001.
33. **POET. Proyecto de ordenamiento ecológico territorial del Estado de Jalisco. (1998).** Subsistema productivo. Grupo Pecuario. Descripción y diagnóstico de la actividad pecuaria en Jalisco. U de G. UAG, SEDER, INIFAP.
34. **Phuektes, P., Mansell, P. D., Dyson, R. S., Hooper, N. D., Dick, J. S., Browning, G. F. (2001).** Molecular Epidemiology of streptococcus uberis isolates from dairy cows with mastitis. *Journal of Clinical Microbiology*. No. 39 (4). pp 1460-1466.
35. **Riffon, R., Khampoune, S., Pascal, D. J. (2001).** Development of a rapid and sensitive test for identification of major pathogens in bovine mastitis by PCR. Department of microbiology and immunology. Faculty of Medicine. University of Montreal. Canadá. *Journal of Clinical Microbiology*. American Society of Microbiology. Vol. 39. No. 7. pp 2584-2589.
36. **Rosas, R. B. (1992).** Boletín informativo. Síntesis de investigación clínica. Mastitis y heridas del pezón. Vol. 37. No. 8. pp 15-23
37. **Rossitto, P. V., Ruiz, L. Kikuchi, Y., Luis, K., Watts, J. L., Cullor, J. S. (2002).** Antibiotic susceptibility patterns for environmental streptococci isolated from bovine mastitis in Central California dairies. *J. Dairy Sci.* No. 85. pp 132.138
38. **SAGARPA. (2002).** Delegación Jalisco. Subdelegación de Planeación. Boletín informativo.
39. **Sánchez, V. A., Gerón, D. X. (1992).** Los gases de efecto invernadero. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco, México

40. **Saran, A., Chaffer, M. (2000).** Mastitis y calidad de la leche. Intermédica, Buenos Aires. Argentina. No.194. pp 18-21
41. **Schukken, Y. H., Barkema, H.W., Lam, T. J. G. M. (1998).** Udder health programs: Present state and future perspectives. *Mastitis/Udder Health Review*. AACV. Sydney, Australia.
42. **Swenson, M. J., Reece, W. O. (1999).** Fisiología de los animales domésticos de Dukes. 5ª. Edición en Inglés. 2ª. Edición en español. Editorial UTEHA. Tomo 1. pp 233,886-893
43. **Taiganides, E. P. (1992).** Pig waste management and recycling. IDRC. Ontario, Canada.
44. **Wenz, J. R., Barrington, G. M., Garry, F.B., Mc Sweeney, K. D., Dinsmore, R. P., Goodell, G., Callan, R. J. (2001).** Bacteremia associated with natural occurring acute coliform mastitis in dairy cows. *J. Am Vet. Med. Assoc.* **219** (7): 976-81.
45. **Wolter, W., Kloppert, B., Zchöeck, M., Castañeda, H. (1999).** La Mastitis de los bovinos. Memorias del curso México-Alemania de Mastitis en Bovinos. Centro de estudios en zoonosis y epidemiología. Dpto. Salud Pública. CUCBA. Univ. de Guadalajara.
46. **Wolter, W., Castañeda, H., Kloppert, B., Zschöck, M. (2004).** Mastitis bovina, Prevención, diagnóstico y tratamiento. 1ª. Edición. Editorial Universitaria. Universidad de Guadalajara. México. pp 146-153