

EVALUACIÓN DE LOS CAMBIOS FISICOQUÍMICOS EN LECHE CRUDA DE CABRAS EXPUESTAS A BACTERIOCINAS DE *Bacillus thuringiensis*

Alvarez-Ibarra PB^{a*}; Abraham-Juárez MR^a; Barceló-Acosta A^b; Gutiérrez-Chávez AJ^b; Avilés-Ruiz R^a; Barboza-Corona E^a; De la Fuente-Salcido N^a; León-Galván F^a; Valencia-Posadas M^b

^aUniversidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, División de Ciencias de la Vida, Departamento de Alimentos. Ex Hacienda "El Copal" s/n, Km 9 carretera Irapuato-Silao, A.P. 311, C.P. 36500. Irapuato, Gto. México.

^bUniversidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca, División de Ciencias de la Vida, Departamento de Agronomía. P.E. Medicina Veterinaria y Zootecnia. Ex Hacienda "El Copal" s/n, Km 9 carretera Irapuato-Silao, A.P. 311, C.P. 36500. Irapuato, Gto. México. *Corresponding author: Dr. Mauricio Valencia Posadas (mauvp001@yahoo.com.mx).

RESUMEN

En los establos lecheros existen numerosos factores que pueden afectar la producción de leche, siendo los aspectos alimentarios, reproductivos, genéticos, inmunoproliféricos y de salud. La mastitis es el principal problema de impacto económico en las granjas lecheras. Las diversas sustancias antibióticas convencionales se han administrado de forma arbitraria para tratamiento y prevención, provocando un efecto negativo. El uso de bacteriocinas en la prevención y tratamiento de la mastitis se han propuesto como alternativas potenciales para el control de la mastitis, se ha demostrado que las cepas mexicanas de bacteriocinas de *B. thuringiensis* (bBt) tienen una efectividad en la inhibición del crecimiento *in vitro* de *S. aureus* aislados de muestras de leche de vacas con mastitis y una efectividad antimicrobiana *in vitro* en contra de diversos microorganismos aislados en ganado caprino. Para demostrar el efecto en la calidad de la leche caprina, se analizaron muestras de leche con infusiones intramamarias (5 mL) de bBt a una concentración del 33 % sólo en los medios del lado izquierdo de los animales, siendo el medio derecho de cada cabra la glándula testigo. Los análisis fisicoquímicos realizados fueron densidad, sólidos totales, pH, descenso crioscópico, determinación de acidez, grasa, proteína, lactosa y el CCS. Dando resultados favorables en la calidad en comparación con las NOM-155-SCFI-2003 y NOM-109-SSA1-1994.

ABSTRACT

In dairies there are numerous factors that can affect milk production, being food, reproductive, genetic, and health aspects immunoproliferative. Mastitis is the main issue of economic impact on dairy farms. The various conventional antibiotic substances have been administered arbitrarily for treatment and prevention, causing a negative effect. The use of bacteriocins in the prevention and treatment of mastitis have been proposed as potential alternatives to control mastitis has been demonstrated that the bacteriocin Mexican strains of *B. thuringiensis* (BBT) are effective in the inhibition of growth *in vitro* of *S. aureus* isolated from milk samples from cows with mastitis and antimicrobial effectiveness *in vitro* against various microorganisms isolated from goats. To demonstrate the effect on quality of goat milk, milk samples were analyzed with intramammary infusions (5 mL) BBT at a concentration of 33 % means only the left side of the animals, the average right of each goat the control gland. The physicochemical analysis were performed density, total solids, pH, cryoscopic depression, determination of acidity, fat, protein, lactose and the CCS, giving favorable results in quality in comparison with the NOM-155-SCFI-2003 and NOM-109-SSA1-1994.

pH, crioscopico descent determination acidity , fat, protein , lactose and CCS . Giving favorable results in quality compared to the NOM -155- SCFI- 2003 and NOM -109- SSA1-1994.

Palabras clave: Bacteriocinas, mastitis, cabras lecheras.

Área: Lácteos

INTRODUCCIÓN

En los establos lecheros existen numerosos factores que pueden afectar la producción de leche, destacando los aspectos alimentarios, reproductivos, genéticos, inmunoproliféricos y de salud. Con relación a este último, la mastitis es el principal problema de impacto económico en las granjas lecheras (Saran y Chaffer 2000).

El abuso y la aplicación incorrecta de las sustancias antibióticas de forma rutinaria en las unidades de producción lecheras, ha provocado un efecto negativo en corto plazo, dado por un lado, el surgimiento de microorganismos causantes de mastitis con una baja susceptibilidad e incluso con un patrón de resistencia a uno o varios principios activos de los antibióticos utilizados, y por el otro, la presencia de residuos de antibióticos en la leche por dichos tratamientos puede provocar una inhibición del crecimiento de bacterias lácticas, las cuales son esenciales en la tecnología y elaboración de derivados lácteos como el queso o el yogur; siendo estos residuos una amenaza potencial para la salud humana (Cao *et al.*, 2007; Carr *et al.*, 2002).

Las bacteriocinas son péptidos naturales sintetizados y secretados por las bacterias (Jack *et al.*, 1995) y especies no relacionados (De la Fuente-Salcido *et al.*, 2008). Varias bacteriocinas se han propuesto como alternativas potenciales para el control de la mastitis, como la nisina, la cual es sintetizada a partir de *Lactococcus lactis*, que ha demostrado actividad contra patógenos de mastitis, e incluso se han formulado algunos productos comercialmente disponibles (Ryan *et al.*, 1998; Wu *et al.*, 2007).

Bacillus thuringiensis es una bacteria que de forma natural se encuentra en el suelo, es utilizada en todo el mundo de forma rutinaria en el control biológico de insectos; sin embargo, diversas bacteriocinas de esta bacteria, han sido descritas en otros reportes (Kamoun *et al.*, 2005; Gray *et al.*, 2006). Recientemente, se informó de cinco nuevas cepas de bacteriocinas mexicanas de *B. thuringiensis* (morricin 269, kurstacin 287, kenyacin 404, entomocin 420, y tolworthcin 524) (Barboza-Corona *et al.*, 2007; De la Fuente-Salcido *et al.*, 2008). En estudios posteriores, se demostró que las cepas mexicanas de bacteriocinas de *B. thuringiensis* (bBt), tuvieron una efectividad en la inhibición del crecimiento in vitro de *S. aureus* aislados de muestras de leche de vacas con mastitis (Barboza-Corona *et al.*, 2009).

Uno de los principales retos que representa la aplicación de las bacteriocinas como una herramienta en el control de la mastitis, es su naturaleza proteica o derivado peptídico de bacterias, así como su estrecho pero específico rango de acción en contra de los diversos microorganismos causantes de mastitis, en comparación con una terapia tradicional mediante el uso de antibióticos. Además, es necesario evaluar la reacción local o sistémica que pudiera experimentar algún animal que tuviera contacto con estos derivados peptídicos, sobre todo a través de la infusión vía meato del pezón hacia la glándula mamaria, en particular, aquellas derivadas de *B. thuringiensis*. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue valorar los cambios fisicoquímicos de la leche cruda de cabras Saanen expuestas vía infusión intramamaria a bacteriocinas de *B. thuringiensis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Región de estudio

El estudio se llevó a cabo en las instalaciones de la Posta Zootécnica de la División de Ciencias de la Vida, CIS de la Universidad de Guanajuato. Los animales seleccionados pertenecen al grupo de ganaderos de la Asociación de Caprinocultores Unidos de Guanajuato, A.C.

Unidad de estudio y formulación de infusiones

Los animales utilizados en el estudio fueron 12 cabras Saanen adultas con un peso vivo aproximado de 50 Kg y alrededor de 30 días de lactación. Con base en los resultados previos de la susceptibilidad *in vitro* a las cepas mexicanas de bacteriocinas de *B. thuringiensis* (kenyacin 404 y tolworthcin 524) (Barboza-Corona *et al.*, 2007; De la Fuente-Salcido *et al.*, 2008), de diversos microorganismos aislados de casos de mastitis en ganado caprino, se prepararon infusiones intramamarias (5 mL) de bBt a una concentración del 33 %, utilizando como excipiente solución salina fisiológica estéril.

Recolección de muestras de leche y tratamiento

Durante la práctica de ordeño, se realizó la prueba de California para mastitis (CMT) a todas y cada una de las glándulas mamarias de los animales. Se realizó un examen físico general y especial de la ubre. Además, se procedió a la preparación aséptica de los pezones para la colección de muestras de leche para estudio bacteriológico. Posteriormente, se tomaron muestras de leche (250 a 300 mL) para la determinación de los parámetros fisicoquímicos descritos en la normativa oficial mexicana. Se administraron las infusiones intramamarias sólo en los medios del lado izquierdo de los animales, quedando como glándula testigo, el medio derecho de cada una de las cabras.

Análisis Físicos y químicos de la leche

Para el análisis y la evaluación de las características físicas (densidad, pH y descenso crioscópico) y químicas (acidez) de la leche cruda de cabras, se realizaron

los procedimientos descritos en las NOM-155-SCFI-2003, NOM-109-SSA1-1994 y en la NMX-F-728-COFOCALEC-2007. En el caso de la grasa, proteína, lactosa y sólidos totales, las pruebas y mediciones se realizaron por rayo infrarrojo siguiendo la metodología descrita por el fabricante del equipo automatizado Bentley 150. En lo que respecta al conteo de las células somáticas (CCS), se utilizó el equipo Somacount, que utiliza láser basado en citometría de flujo, y se calibró con la leche de vaca.

RESULTADOS

Se presentan los resultados en la Tabla 1, los cuales como se puede observar, fueron comparados con las especificaciones fisicoquímicas de las NOM-155-SCFI-2003 y NOM-109-SSA1-1994.

El incremento en la concentración de: densidad, sólidos totales, grasa y proteína de la leche de las glándulas izquierdas (bacteriocinas) con relación a los valores de las muestras de las glándulas testigos, se pueden explicar por la reacción del tejido mamario, mediante el incremento del número de células somáticas en la leche (mastitis subclínica), por la disminución del porcentaje de la lactosa y por la consecuente reducción de la producción de leche, en particular en las glándulas expuestas al péptido antimicrobiano (Barrón-Bravo et al., 2013; Koop et al., 2010).



Tabla 1. Representación gráfica de los análisis fisicoquímicos comparada entre ambas ubres.

DISCUSIÓN

La composición de la leche sufre alteraciones por la mastitis, provocando disminución del valor nutritivo de los productos lácteos, especialmente en relación a la concentración de calcio. Teniendo una importancia en la disminución de lactosa, menor porcentaje de proteína, acompañada del aumento de los niveles de proteínas séricas, como seroalbúminas e inmunoglobulinas. Situación que en parte se pudo comprobar en el presente estudio. Las consecuencias más importantes de estas alteraciones se manifiestan sobre el rendimiento industrial, por el uso de antibióticos.

Es por ello que someter a la glándula mamaria de cabras en producción como una alternativa en el combate de la mastitis, a través de la infusión de una bacteriocina es de gran interés, ya que no fueron afectadas las propiedades fisicoquímicas de la leche de cabra, sin embargo presenta una mejora en estas propiedades de análisis comparando con las especificaciones de las NOMs.

BIBLIOGRAFÍA

Barboza-Corona. J.E., Da la Fuente-Salcido. N., Alva- Murillo. N., Ochoa-Zarzosa. A., López-Meza. J.E. 2009. Activity of bacteriocins synthesized by *Bacillus thuringiensis* against *Staphylococcus aureus* isolates associated to bovine mastitis. *Veterinary microbiology*. 138: 178-183.

Barboza-Corona, J.E., Vázquez-Acosta, H., Bideshi, D.K., Salcedo-Hernández, R., 2007. Bacteriocin-like inhibitor substances produced by Mexican strains of *Bacillus thuringiensis*. *Arch. Microbiol.* 187, 117–126.

Bizani. D., Motta. A.S., Morrissy. J.A., Terra. R.M., Souto. A.A., Brandelli. A. 2005. Antibacterial activity of cerein 8A, a bacteriocin-like peptide produced by *Bacillus cereus*. *Int Microbiol.* 8(2):125-31. **ABSTRACT.**

Cao, L.T, Wu, J.Q, Hu, S.H. and Mot. Y. 2007. Efficacy of Nisin in Treatment of Clinical Mastitis in Lactating Dairy Cows. *American Dairy Science Association.*

Koop, G., van Werven, T., Schuiling, H.J., Nielen, M. 2010. The effect of subclinical mastitis on milk yield in dairy goats. *J Dairy Sci.* 93:5809-5817.

Barron-Bravo, O.G., Gutierrez-Chavez, A.J., Angel-Sahagun, C.A., Montaldo, H.H., Shepard, L., Valencia-Posadas, M. 2013. Losses in milk yield, fat and protein contents according to different levels of somatic cell count in dairy goats. *Small Rumin Res.* 113:421-431.