

## EFICACIA DEL DODECIL SULFATO DE SODIO PARA LA INACTIVACIÓN DE MICOPLASMAS EN CALOSTRO CAPRINO

Efficacy of sodium dodecyl sulfate for the inactivation of mycoplasmas in goat colostrum

**Paterna, A.; Amores, J.; Gómez-Martín, Á.; Corrales, J. C.; Prats-van der Ham, M.; Tatay-Dualde, J.; Contreras, A.; de la Fe, C.; Sánchez López, A.\***

Research Group of Ruminant Health, Animal Health Department, Veterinary School, Regional Campus of International Excellence 'Campus Mare Nostrum', Murcia University. Spain.

**\*Autor para correspondencia:** Antonio Sánchez López. Tlf. 868884811. Fax 868 88 4147. asanlope@um.es

Historial del artículo:

Recibido: 13 julio 2015

Aceptado: 12 noviembre 2015

### RESUMEN

En los rebaños de pequeños rumiantes crónicamente afectados de agalaxia contagiosa, los animales de reposición adquieren la infección a través de la ingestión de leche y calostro procedente de hembras infectadas que no muestran síntomas de la enfermedad. Como alternativa a los tradicionales métodos térmicos como la pasteurización, este estudio examina el efecto de diferentes concentraciones de dodecil sulfato de sodio (DSS) sobre la viabilidad de *Mycoplasma agalactiae* y *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* en calostro caprino. Posteriormente al tratamiento y antes de incubar las muestras de calostro contaminado, el DSS fue extraído o no de las muestras para evaluar el efecto de la prolongación del tratamiento durante el periodo de incubación. El tratamiento durante diez minutos con DSS al 0,1% fue inefectivo contra ambas especies de micoplasmas. Tratando el calostro con DSS al 1% no se observó crecimiento cuando el detergente estuvo presente durante el periodo de incubación, mientras que se mantuvo la viabilidad de los micoplasmas cuando el DSS fue extraído justo antes de este periodo. Nuestros hallazgos indican que la duración del tratamiento del calostro con DSS es crítico para su efecto de inactivación sobre estos micoplasmas.

**Palabras clave:** dodecil sulfato de sodio, cabra, calostro, *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*.

## ABSTRACT

In small ruminant herds chronically affected with contagious agalactia, replacement animals acquire the infection by suckling the milk and colostrum of infected dams that show no symptoms of the disease. As an alternative to traditional heat treatments such as pasteurisation, this study examines the effect of different concentrations of sodium dodecyl sulfate (SDS) on the viability of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* in goat colostrum. After the treatment and before incubating contaminated colostrum samples, SDS was removed or not from the samples to assess the effect of prolonged treatment during the incubation period. Ten minutes of treatment with 0.1% SDS were ineffective against both species of mycoplasma. When SDS was used at 1%, no growth was observed when the detergent was present during the incubation period yet viable colonies appeared when SDS was removed just before this period. Our findings indicate that the duration of colostrum SDS treatment is critical for its inactivation effect on these mycoplasmas.

**Keywords:** sodium dodecyl sulfate, goat, colostrum, *Mycoplasma agalactiae*, *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri*.

## INTRODUCCIÓN

La agalaxia contagiosa (AC) de los pequeños rumiantes, una de las patologías más importantes del rebaño caprino y ovino lechero (Corrales *et al.*, 2007), se considera endémica de los países de la cuenca mediterránea donde se encuentra ampliamente distribuida y ha sido bien descrita (Bergonier *et al.*, 1997). Está provocada por distintas especies del género *Mycoplasma* spp., siendo *Mycoplasma agalactiae* (*M. agalactiae*), y *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* (*Mmc*) las que se encuentran con mayor frecuencia en los rebaños de la península Ibérica.

La presentación clínica de la enfermedad cursa, de forma más llamativa, con mamitis acompañada de hipo o agalaxia, y casos de poliartrosis y neumonías sobre todo en animales jóvenes. La excreción del agente puede darse a través de diversas secreciones entre las que se encuentran la leche y el calostro, en los que se alcanzan niveles altos de excreción tanto en animales infectados de forma experimental como en infecciones naturales (DaMassa *et al.*, 1983, Kinde *et al.*, 1994). Esta teoría puede respaldarse además con la aparición de brotes de artritis y neumonías en cabritos asociados a casos de mamitis por *Mmc* (East *et al.*, 1983). De forma experimental, se ha establecido que la dosis infectiva por vía oral para *Mmc* se encuentra entre

$10^6$  y  $10^7$  UFC/ml (DaMassa *et al.*, 1983). Por tanto, se considera que la galactógena supone una de las principales vías de transmisión de la enfermedad a la descendencia (DaMassa *et al.*, 1987), si bien el mecanismo de infección a través de la ruta oral se desconoce. Se cree que la ingestión de *Mycoplasma bovis* (*M. bovis*) vehiculado en leche mamática puede causar otitis en terneros, llegando al oído medio por colonización de la orofaringe y trompa auditiva (Walz *et al.*, 1997). Otro dato a tener en cuenta y que puede influir en la epidemiología de la enfermedad, es que esta excreción no es constante sino que se produce de manera intermitente a lo largo de la lactación (Castro-Alonso *et al.*, 2009).

También se ha descrito la excreción de otros microorganismos patógenos en leche y calostro, como *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp., *Escherichia coli* (Steele *et al.*, 1997) o el virus de la artritis-encefalitis caprina (VAEC) (Guerrault, 1990), por lo que el encalostamiento natural o el uso de calostro fresco implica el riesgo de transmisión de diversas enfermedades a la descendencia, que puede evitarse si se emplea un método de higienización eficaz. Entre estos tratamientos, la pasteurización del calostro ha resultado eficaz a la hora de reducir la carga microbiana total, así como de inactivar el VAEC (Adams *et al.*, 1983) y distintas especies de micoplasmas patógenos para el ganado

bovino (Butler *et al.*, 2000; Godden *et al.*, 2006). De la misma manera, reduce significativamente la concentración en calostro de *M. agalactiae* y puede llegar a inactivar completamente a Mmc (Paterna *et al.* 2013). En este sentido, se conoce que la pasteurización es útil para controlar brotes de artritis y neumonías ocasionados por Mmc en cabritos (East *et al.*, 1983),

Sin embargo, el tratamiento térmico ejerce un efecto negativo sobre los componentes inmunitarios del calostro, encontrándose pérdidas en la concentración de inmunoglobulina G (IgG) de entre el 14% y el 37% tras 60 min a 56°C (Argüello *et al.*, 2003, Trujillo *et al.*, 2007, Morales-de la Nuez *et al.*, 2011).

Como alternativa a la pasteurización, a nivel experimental se ha utilizado el detergente aniónico dodecil sulfato de sodio (DSS) como higienizante de leche materna inoculada con el virus de la inmunodeficiencia humana-1 (VIH-1), demostrando su capacidad para inactivar dicho patógeno utilizando bajas concentraciones del mismo (Urdaneta *et al.*, 2005) sin alterar de manera significativa la composición de la leche (Hartmann *et al.*, 2006). Este compuesto es un alquil-sulfato microbicida, con capacidad surfactante y desnaturante de proteínas, usado comúnmente en productos cosméticos y como denaturante de proteínas para electroforesis. Otras propiedades interesantes de este compuesto son su inocuidad para el ser humano (United Nations Environment Programme, 1997, United States Environment Program, 2002), biodegradabilidad, efectividad a dosis bajas, ausencia de color o sabor y bajo coste (Hartmann *et al.*, 2006).

La eficacia microbicida de este producto se ha ensayado sobre calostro caprino con resultados satisfactorios en cuanto a reducción de la carga bacteriana y sin afectar de forma significativa a la transferencia de inmunidad pasiva a los cabritos (Morales-de la Nuez *et al.*, 2011).

Dado que no existen estudios similares que impliquen especies de micoplasmas, el objetivo de este trabajo fue determinar la viabilidad de

*M. agalactiae* y *Mmc* en calostro caprino sometido a tratamiento con DSS a distintas concentraciones durante 10 minutos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño experimental

Las muestras de calostro (n=7) se obtuvieron en condiciones asépticas de cabras primíparas de raza Murciano-Granadina durante las primeras 24 horas post-parto, sobre las que se realizó posteriormente un control microbiológico para confirmar la ausencia de patógenos. Este control incluyó la detección específica de micoplasmas mediante cultivo y PCR siguiendo procedimientos ya descritos (Tola *et al.*, 1996, Wuobit *et al.*, 2007), resultando negativos todos los análisis. Las muestras fueron congeladas a -20°C hasta la fecha del experimento.

Cada muestra se dividió en 4 alícuotas, para inocular dos de ellas con la cepa de referencia de *M. agalactiae* y las otras dos con Mmc.

El DSS se añadió a partir de una solución madre al 10% (100 mg/ml) de Dodecil Sulfato Sódico (Sigma-Aldrich® L4390) disuelto en agua estéril, según el procedimiento descrito por Morales-de la Nuez *et al.* (2011).

A las dos alícuotas (de 20 ml o 18 ml) de cada especie, se les añadió DSS (0,2 ml o 2 ml) para obtener así concentraciones finales de 0,1% ó 1%, respectivamente. El tratamiento se llevo a cabo incubando las alícuotas durante 10 minutos a 37°C al baño María, utilizando una muestra de calostro de la misma naturaleza como control de temperatura.

Pasados los 10 minutos de incubación se determinó la presencia de micoplasmas viables por métodos cuantitativos y cualitativos. El análisis cuantitativo ofrece datos acerca de la magnitud en que se afecta la concentración inicial de micoplasmas, mientras que la técnica cualitativa evidencia la presencia o ausencia de colonias viables en cada condición analítica. La razón de que se empleara esta última técnica fue

evitar los falsos negativos generados cuando la concentración bacteriana se encontrara por debajo de su umbral de detección de la técnica cuantitativa ( $10^3$  UFC/ml).

Por otro lado, para el análisis cualitativo se emplearon dos condiciones: la extracción o no del DSS como paso previo a la siembra de la alícuota en medio de cultivo sólido, con el objetivo de evitar prolongar el efecto del detergente sobre la muestra a lo largo de todo el periodo de incubación.

### Determinación cuantitativa

La cuantificación del efecto del tratamiento sobre la concentración (UFC/ml) del microorganismo, según especie y concentración de DSS utilizada, se determinó por duplicado, tomando una alícuota de calostro y empleando el método simple de cuantificación de micoplasmas viables (Albers y Fletcher, 1982) en medio PH sólido (Gómez-Martín *et al.*, 2012).

#### Determinación cualitativa

Al mismo tiempo, para evaluar la capacidad de inactivación del tratamiento, se tomaron otras dos alícuotas de 200  $\mu$ l de cada muestra para la determinar la presencia de micoplasmas viables mediante métodos estándar de cultivo utilizando medio líquido PH (Gómez-Martín *et al.*, 2012).

La extracción del DSS se realizó mediante centrifugación de las alícuotas durante 10 minutos a 14000 rpm y resuspensión en PBS del pellet resultante.

### Preparación del inóculo

Se utilizaron las cepas de referencia PG2 (NCTC 10123) de *M. agalactiae*, y PG3 (NCTC 10137) de *M. mme*. Ambas se cultivaron en medio PH hasta la fase de crecimiento exponencial. La concentración inicial en la muestra a tratar se estableció en  $10^9$  UFC/ml para ambas especies mediante el método simple de cuantificación de micoplasmas viables (Albers y Fletcher, 1982).

### Análisis estadístico

El análisis cuantitativo produjo un total de 224 observaciones para cada especie expresadas en número de UFC, que se transformaron a su logaritmo para normalizar la distribución de los datos. El análisis estadístico se llevo a cabo mediante un procedimiento lineal general a través del programa SAS (Statistical Analysis System Institute, 1996), siguiendo el siguiente modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + M_i + P_j + T_k + PT_{jk} + e_{ijk}$$

donde  $Y_{ijk}$  = log UFC/ml (variable dependiente);  $\mu$  = Media;  $M_i$  = Efecto de la muestra de calostro ( $n=7$ );  $P_j$  = Efecto de la concentración (dos niveles: 0,1% y 1%);  $T_k$  = Efecto del tiempo (0 y 10 minutos);  $PT_{jk}$  = Efecto de la interacción concentración-tiempo;  $e_{ijk}$  = Efecto residual.

### RESULTADOS

El análisis de varianza reveló que todos los factores estudiados (muestra, concentración de DSS, tiempo, e interacción entre concentración y tiempo) contribuyeron significativamente a la variación en el logaritmo de las unidades formadoras de colonias por  $ml^{-1}$  (log UFC  $\cdot$   $ml^{-1}$ )

Los resultados cuantitativos y cualitativos obtenidos se muestran en las tablas 1 y 2.

Con DSS al 0,1%, los resultados fueron similares tanto para *M. agalactiae* como *M. mme*: no hubo diferencias significativas entre la viabilidad en el tiempo 0 o tras 10 minutos de tratamiento. Ello fue confirmado por el análisis cualitativo, con independencia de la extracción del DSS.

Al 1%, no se observó crecimiento de *M. agalactiae* o *M. mme* en las placas del análisis cuantitativo del tiempo 10 min. En el análisis cualitativo, no se observó crecimiento de ninguna de las especies cuando el DSS no fue extraído. Sin embargo, cinco de las siete muestras presentaron colonias viables cuando el DSS fue extraído antes de la siembra en placas de medio PH sólido.

Tabla 1. **Resultados cuantitativos para *Mycoplasma agalactiae* y *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* (Mmc) en muestras de calostro caprino tratadas con dodecil sulfato de sodio (DSS).**

% DSS	Tiempo (min)	<i>M. agalactiae</i>		Mmc	
		log UFC · mL <sup>-1</sup>	MG <sup>†</sup>	log UFC · mL <sup>-1</sup>	MG <sup>†</sup>
0.1	0	7,934 ± 0,045 <sup>a</sup>	85.901	10,014 ± 0,119 <sup>a</sup>	10.327.614
	10	8,032 ± 0,045 <sup>a</sup>	107.646	9,759 ± 0,106 <sup>a</sup>	5.741.164
1.0	0	7,819 ± 0,045 <sup>a</sup>	65.917	10,021 ± 0,121 <sup>a</sup>	10.495.424
	10	Sin crecimiento	-	Sin crecimiento	-

<sup>†</sup> MG: media geométrica · 10<sup>3</sup> UFC · mL<sup>-1</sup>

<sup>a</sup> Medias con diferente superíndice en una misma columna difieren significativamente (p < 0.05).

Tabla 2. **Resultados cualitativos para *Mycoplasma agalactiae* y *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* (Mmc) en muestras de calostro caprino tras 10 minutos de tratamiento con dodecil sulfato de sodio (DSS), y posterior extracción o no del mismo.**

% DSS	Extracción del DSS	<i>M. agalactiae</i>		Mmc	
		Muestras positivas	Extracción del DSS	Muestras positivas	Extracción del DSS
0.1	No	6 <sup>†</sup> /7	No	7/7	No
	Si	7/7	Si	7/7	Si
1	No	0/7	No	0/7	No
	Si	5/7	Si	5/7	Si

<sup>†</sup> Debido a contaminación bacteriana, no se detectó crecimiento en una de las muestras.

## DISCUSIÓN

La acción microbicida de un detergente como el DSS sobre los micoplasmas, radica en su capacidad para combinarse con las lipoproteínas de membrana, alterando los mecanismos de transporte activo, o su acción como barrera osmótica entre el microorganismo y el medio. Los estudios llevados a cabo en medicina humana determinaron que el tratamiento de la leche infectada con el VIH-1 con dosis de DSS por debajo de 0,1%, consigue reducir la carga viral hasta niveles indetectables al emplear ≥0,1% de DSS (10 minutos de incubación a 37°C) (Urdaneta *et al.*, 2005), por lo que se ha sugerido el posible uso de dicho tratamiento para la inactivación del VAEC. Sin embargo,

con las concentraciones mencionadas, el DSS no parece ejercer efecto sobre la viabilidad bacteriana, como se vio al emplear este método en la higienización del calostro caprino (Morales-de la Nuez *et al.*, 2011), resultados que concuerdan cualitativa y cuantitativamente con los obtenidos en nuestro estudio, en cuanto a viabilidad de micoplasmas caprinos.

El tratamiento con DSS al 1% si que produjo una potente reducción en la carga bacteriana presente de forma natural en el calostro caprino (Morales-de la Nuez *et al.*, 2011), tratamiento que, aparentemente, logró la inactivación tanto de *M. agalactiae* como de Mmc. No obstante, al cruzar los resultados del análisis cuantitativo con los del análisis cualitativo, se observó que la eficacia del tratamiento se vio condicionada

por la extracción o no del DSS. Aquellas muestras en las que las placas correspondientes al análisis cualitativo se incubaron sin extracción previa del DSS, mostraron resultados similares a los obtenidos en el análisis cuantitativo, por lo que esta pérdida de viabilidad puede atribuirse a una prolongación del tiempo de actuación del DSS a lo largo del periodo de incubación, dado que el tratamiento resultaría en una duración total de 10 minutos + 48 horas. Con este mismo planteamiento, se puede afirmar que el tratamiento durante 10 minutos, aplicado en aquellas otras muestras a las que se extrajo el SDS, habría resultado insuficiente en nuestro estudio para la inactivación de *M. agalactiae* y Mmc con las dosis de inoculación empleadas. En este punto debe considerarse que el método de extracción empleado en el presente trabajo sólo consigue la eliminar el DSS de forma parcial, permaneciendo un porcentaje residual del mismo en la muestra, por lo que en futuros ensayos se plantea el uso de un protocolo de extracción más completo. Urdaneta *et al.* (2005). consideran la extracción del DSS mediante resinas comerciales o sales de potasio, con una efectividad de más del 90% y sin recuperar la capacidad infectiva, en este caso del VIH-1.

Respecto a la dosis de inoculación empleada ( $10^9$  UFC/ml de cada especie), el objetivo fue aproximarse o exceder las dosis de excreción que se producen de manera natural. Los datos disponibles sitúan los niveles de excreción de Mmc en calostro caprino entre  $10^6$  y  $10^{10}$  UFC/ml (DaMassa *et al.*, 1983) y de  $10^8$  UFC/ml de *M. agalactiae* en leche (Kinde *et al.*, 1994).

Aparte de la capacidad microbicida, otro factor importante a la hora de estudiar un método de tratamiento de calostro, es la influencia que ejerce sobre sus propiedades físico-químicas, en especial sobre componentes inmunológicos. Otros procesos como la pasteurización del calostro caprino, generan pérdidas de IgG que pueden oscilar entre el 14 % y el 37% (Argüello *et al.*, 2003, Trujillo *et al.*, 2007, Morales-de la Nuez *et al.*, 2011). En este sentido, Hartmann

*et al.* (2006), comprobaron que el tratamiento de la leche humana con DSS a concentraciones de entre 0,1% y 1%, no produjo cambios en el perfil proteico ni lipídico, ni en la concentración de IgA, aunque el tratamiento al 1% eliminó la práctica totalidad de las células (epiteliales, hematopoyéticas, linfocitos T y macrófagos) presentes. En el caso del calostro caprino, el tratamiento con DSS al 1% no afecta a la concentración de IgG, y al 0,1% resulta inocuo, incluso sin extraerse previamente, para alimentar a los cabritos durante las primeras horas de vida, sin que se vea afectada la transferencia de inmunidad pasiva o se produzcan efectos tóxicos (Morales-de la Nuez *et al.*, 2011).

La conclusión de este estudio es que el tratamiento del calostro caprino con DSS al 0,1% o al 1% durante 10 minutos es insuficiente para conseguir la inactivación de *M. agalactiae* o Mmc, por lo que se requieren más estudios para evaluar el efecto de mayores periodos de actuación, dado que este tratamiento supone una alternativa sencilla, económica, y aparentemente inofensiva para los animales.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se ha desarrollado en el proyecto AGL2009-09128 financiado por la Dirección General de Investigación y Gestión Del Plan Nacional De I+D+i del Ministerio de ciencia e Innovación.

## BIBLIOGRAFÍA

- ADAMS D.S., KLEVJER-ANDERSON P., CARLSON J.L., MCGUIRE T.C., GORHAM J.R. 1983. Transmission and control of caprine arthritis-encephalitis virus. *Am. J. Vet. Res.*, 44 (9), 1670-1675
- ALBERS C.A., FLETCHER R.D. 1982. Simple method for quantification for viable mycoplasma. *Appl. Environ. Microb.* 43, 958-960.
- ARGÜELLO A., CASTRO N., CAPOTE J., GINÉS R., ACOSTA F., LÓPEZ J.L. 2003.

- Effects of refrigeration, freezing-thawing and pasteurization on IgG goat colostrum preservation. *Small Rumin. Res.* 48, 135-139.
- BERGONIER D., BERTHELOT X., POUMARAT F. 1997. Contagious agalactia of small ruminants: current knowledge concerning epidemiology, diagnosis and control. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 16, 848-873.
- BUTLER J.A., SICKLES S.A., JOHANNIS C.J., ROSENBUSCH R.F. 2000. Pasteurization of discard *Mycoplasma mastitic* milk used to feed calves: thermal effects on various *Mycoplasma*. *J. Dairy Sci.* 83, 2285-2288.
- CASTRO-ALONSO A., RODRÍGUEZ F., DE LA FE C., ESPINOSA DE LOS MONTE-ROS A., POVEDA J.B., ANDRADA M., HERRÁEZ P. 2009. Correlating the immune response with the clinical-pathological course of persistent mastitis experimentally induced by *Mycoplasma agalactiae* in dairy goats. *Research in Veterinary Science*, 86, 274-280.
- CORRALES J.C., ESNAL A., DE LA FE C., SÁNCHEZ A., ASSUNÇÃO P., POVEDA J.B., CONTRERAS A. 2007. Contagious agalactia in small ruminants. *Small Rum. Res.* 68: 154-166.
- DAMASSA A. J., BROOKS D. L., ADLER H. E. 1983. Caprine mycoplasmosis: Widespread infection in goats with *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (large- colony type). *Am. J. Vet. Res.* 44: 322-325.
- DAMASSA A.J., BROOKS D.L., HOLMBERG C.A., MOE A. I. 1987. Caprine mycoplasmosis: an outbreak of mastitis and arthritis requiring the destruction of 700 goats. *Vet. Rec.* 120: 409-413.
- EAST N.E., DAMASSA A.J., LOGAN L.L., BROOKS D.L., MCGOWAN B. 1983. Milkborne outbreak of *Mycoplasma mycoides* subspecies *mycoides* infection in a commercial goat dairy. *JAVMA* 12: 1338-1341.
- GODDEN S., MCMARTIN S., FEIRTAG J., STABEL J., BEY R., GOYAL S., METZGER L., FETROW J., WELLS S., CHESTER-JONES H. 2006. Heat treatment of bovine colostrum. II: Effects of heating duration on pathogen viability and immunoglobulin G. *J. Dairy Sci.* 89: 3476-3483.
- GÓMEZ-MARTÍN A., DE LA FE C., AMORES J., SÁNCHEZ A., CONTRERAS A., PATERNA A., BUENDÍA A., CORRALES J.C. 2012. Anatomic location of *Mycoplasma mycoides* subsp. *capri* and *Mycoplasma agalactiae* in naturally infected goat male auricular carriers. *Vet. Microbiol.* 157 : 355-362.
- GUERRAULT P. 1990. Apport de colostrum: Plusieurs methodes. *La Chevre* 180, 30-31.
- HARTMANN S.U., WIGDAHL B., NEELY E.B., BERLIN C.M., SCHENGRUND C-L., LIN H-M., HOWETT M.K. 2006. Biochemical analysis of human milk treated with sodium dodecyl sulphate, an alkyl sulphate microbicide that inactivates human immunodeficiency virus type 1. *J. Hum. Lact.* 22: 61-74.
- KINDE H., DAMASSA A. J., WAKENELL P.S., PETTY R. 1994. *Mycoplasma* infection in a commercial goat dairy caused by *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* (caprine biotype). *J. Vet. Diagn. Invest.* 6: 423-427.
- MORALES-DE LA NUEZ A., MORENO-INDIAS I., SÁNCHEZ-MACÍAS D., CAPOTE J., JUSTE M.C., CASTRO N., HERNÁNDEZ-CASTELLANO L.E., ARGÜELLO A. 2011. Sodium dodecyl sulfate reduces bacterial contamination in goat colostrum without negative effects on immune passive transfer or the health of goat kids. *J. Dairy Sci.* 94: 410-415.
- PATERNA A., SÁNCHEZ A., AMORES J., GÓMEZ-MARTÍN A., CORRALES J.C., CONTRERAS A., DE LA FE C. 2013. Survival of *Mycoplasma agalactiae* and *Mycoplasma mycoides* subspecies *capri* in heat treated goat colostrum. *Vet. J.* 196: 263-265.
- STEELE L.M., MCNAB W.B., POPPE C., GRIFFITHS M.W., CHEN S., DEGRAN-

- DIS S.A., FRUHNER L.C., LARKIN C.A., LYNCH J.A., ODUMERU J.A. 1997. Survey of Ontario bulk tank raw milk for food-borne pathogens. *J. Food Protect.* 60: 1341-1346.
- TOLA S., IDINI G., MANUNTA D., GALLE-RI G., ANGIOI P.P., ROCCHIGIANI, A.M., LEORI G. 1996. Rapid and specific detec-tion of *Mycoplasma agalactiae* by polimerase chain reaction. *Vet. Microbiol.* 51: 77-84.
- TRUJILLO A.J., CASTRO N., QUEVEDO J.M., ARGÜELLO A., CAPOTE J., GUA-MIS B. 2007. Effect of heat and high-pres-sure treatments on microbiological quality and immunoglobulin G stability of caprine colostrum. *J. Dairy Sci.* 90: 833-839.
- UNITED NATIONS ENVIRONMEN PRO-GRAMME (UNEP). 1997. SIDS initial as-sesmente report. Sodium dodecyl sulphate (CAS No. 151-21-3). *In* Screening infor-mation data sheet (SIDS) for high volume chemicals volume 4, part 2 volume 4. Edi-ted by: UNEP/OECD/UN/IRPTC. Geneva, United Nations; 1997,1-39.
- URDANETA S., WIGDAHL B., NEELY E.B., BERLIN C.M., SCHENGRUND C.L., LIN H.M., HOWETT M.K. 2005. Inactivation of HIV-1 in breast milk by treatment with the alkyl sulfate microbicide sodium dodecyl sulfate (SDS). *Retrovirology.* 2:28.
- WALZ P. H., MULLANEY T. P., RENDER J. A., WALKER R.D., MOSSER T., BAKER J. C. 1997. Otitis media in preweaned Hols-tein dairy calves in Michigan due to *Myco-plasma bovis*. *J. Vet. Diagn. Invest.* 9: 250-254.
- WUOBIT S., MANSÓ-SILVÁN L., LOREN-ZON S., GAURIVAUD P., POUMARAT F., PELLET M-P., SINGH V.P., THIAU-COURT F. 2007. A PCR for the detection of mycoplasmas belonging to the *Mycoplasma mycoides* cluster: Application to the diagno-sis of contagious agalactia. *Mol. Cell. Probe* 21: 391-399.