

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA



Universidad de El Salvador
Hacia la libertad por la cultura

Evaluación *in vitro* de la multirresistencia antimicrobiana de bacterias causantes de mastitis subclínica y mastitis clínica identificadas en vacas en ordeño manual en tres ganaderías del Municipio de Agua Caliente, Chalatenango.

POR:

BR. MARIELOS ELIZABETH CANALES HERRERA.

BR. ALEJANDRA XIOMARA PERLA RAMÍREZ.

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

LICENCIADA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CIUDAD UNIVERSITARIA, 19 OCTUBRE DE 2017.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL:

MAESTRO CRISTÓBAL HERNÁN RÍOS BENÍTEZ.

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO

ING. AGR. MSc. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA

SECRETARIO

ING. AGR. MSc. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFA DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA VETERINARIA

F. _____

M.V.Z. Rosy Francis Alvarenga Artiga

DOCENTES DIRECTORES:

F. _____

MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez

F. _____

M.V.Z. M.R.A. Carlos David López Salazar

F. _____

M.V. Ricardo Ernesto Gamero Guandique

COORDINADORA GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACION:

F. _____

M.V.Z. MSp. María José Vargas Artiga

RESUMEN:

La investigación se llevó a cabo en tres ganaderías ubicadas en el Municipio de Agua Caliente del Departamento de Chalatenango, la cual tuvo una duración total de 6 meses en todas sus etapas. Se realizó un único muestreo por hacienda en donde se procedió a hacer la prueba de California para mastitis (CMT) a 154 vacas que se encontraban en ordeño manual. A partir de los resultados de CMT se identificaron 46 animales (29.87%) positivos a algún grado de mastitis, de los cuales 28 (60.9%) se clasificaron como mastitis subclínica y 18 (39.1%) como mastitis clínica. De las 46 muestras obtenidas de vacas positivas a CMT se aislaron e identificaron 19 microorganismos, siendo los más frecuentes *S. aureus* (22.61%), *E. coli* (17.85%) y *E. durans* (9.52%); y los menos frecuentes *B. subtilis*, *Bordetella spp* y *A. baumannii* (1.19% respectivamente), lo que confirma la variedad de agentes involucrados en la patogénesis de la mastitis bovina. Al total de bacterias identificadas se les practicaron pruebas de sensibilidad utilizando el método de Kirby Bauer de difusión en disco para evaluar diez antimicrobianos comúnmente empleados para el tratamiento de la mastitis bovina. Las bacterias presentaron mayor resistencia a Penicilina (57.14%), Ampicilina (53.24%), Oxitetraciclina (48.0%) y Eritromicina (45.4%); y mostraron mayor sensibilidad a Enrofloxacina (98.61%), Trimetoprim-sulfametoxazol (97.41%), Ciprofloxacina (94.81%), Gentamicina (88.32%), Amoxicilina más ácido clavulánico (84.5%) y Neomicina (84.5%). Los perfiles de multirresistencia más frecuentes fueron Penicilina y Macrólidos (37.83%), Penicilina y Tetraciclina (16.20%); Tetraciclinas y Aminoglucósidos (10.80%); Penicilina, Tetraciclinas y Macrólidos (8.10%).

PALABRAS CLAVE: Mastitis subclínica, mastitis clínica, bacterias, multirresistencia antimicrobiana.

SUMMARY:

The research was conducted on three dairy farms located in Agua Caliente, Chalatenango, which had a total duration of 6 months in all its stages. A single sampling by dairy farm was carried out where the California Mastitis Test (CMT) was performed to 154 cows submitted to hand milking. From positive samples to CMT results, 46 animals (29.87%) were positive to some degree of mastitis, of which 28 (60.9%) were classified as subclinical mastitis and 18 (39.1%) as clinical mastitis. Of the 46 samples obtained from positive cows to CMT, 19 microorganisms were isolated, being the most frequent *S. aureus* (22.61%), *E. coli* (17.85%) y *E. durans* (9.52%); and less frequent *B. subtilis*, *Bordetella spp* y *A. baumannii* (1.19% respectively), confirming the variety of agents involved in the pathogenesis of bovine mastitis. Antimicrobial susceptibility tests were performed to the identified bacteria by the Kirby Bauer *in vitro* diffusion technique in which ten of the most commonly used antibiotics for the treatment of bovine mastitis were tested. The bacteria showed greater resistance to Penicillin (57.14%), Ampicillin (53.24%), Oxytetracycline (48.0%) and Erythromycin (45.4%); and showed greater sensitivity to Enrofloxacin (98.6%), Trimethoprim-sulfamethoxazole (97.41%), Ciprofloxacin (94.81%), Gentamicin (88.32%), Amoxicillin plus clavulanic acid (84.5%) and Neomycin (84.5%). The most frequent multidrugresistant patterns were Penicillin and Macrolides (37.83%), Penicillin and Tetracycline (16.20%); Tetracyclines and Aminoglycosides (10.80%); Penicillin, Tetracyclines and Macrolides (8.10%).

KEYWORDS: Subclinical mastitis, clinical mastitis, bacteria, antimicrobial multidrug resistance.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros más sinceros agradecimientos por este logro alcanzado principalmente a Dios, ya que sin su ayuda y protección no hubiera sido posible desarrollar y culminar esta investigación.

A nuestros asesores de tesis: M.V.Z. M.RA. Carlos D. López Salazar, MSc. Amy E. Moran Rodríguez y M.V. Ricardo E. Gamero Guandique por el interés, dedicación y apoyo proporcionado a fin de orientarnos en el trabajo de investigación.

A las autoridades del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD), por habernos permitido utilizar las instalaciones, equipo, materiales y reactivos del Laboratorio de microbiología en alimentos para poder realizar esta investigación.

A la Srta. Zoila Girón Hidalgo, técnico del área de microbiología del edificio de CENSALUD, por su disposición y apoyo incondicional durante el análisis microbiológico de nuestra investigación.

A Don Carlitos, por recibirnos cada día con su carisma y alegría a la entrada de CENSALUD.

A la Sra. Dina de Alvarado, Secretaria del Departamento de Veterinaria, quien siempre estuvo dispuesta ayudarnos y darnos ánimo en este proceso.

A los compañeros tesisistas y de Servicio social de CENSALUD: Karen, Flor, Elliot, Ademir y Fernanda, quienes compartieron sus conocimientos y amistad en los momentos que más lo necesitábamos.

A los médicos veterinarios: David Aguilar, Daniel Aguilar y Humberto Hidalgo, por habernos permitido realizar esta investigación en sus ganaderías, muchas gracias por su apoyo y hospitalidad.

A nuestro compañero y amigo de aventuras Rodrigo Alberto, quien tuvo siempre la bondad y disposición de acompañarnos en nuestros viajes a Agua Caliente; mil gracias por tu tiempo.

A nuestros padres y familiares por brindarnos su apoyo incondicional en todo momento y estar pendientes de nuestro progreso en la carrera y en la etapa de investigación.

A todos y cada uno de ustedes, muchas gracias.

DEDICATORIA

En primer lugar, dedico este trabajo a Dios y a nuestra madre María Auxiliadora, ya que ellos me guiaron desde pequeña por el camino del bien y me han dado las fuerzas necesarias para poder culminar con éxito mi carrera profesional.

A mi mamá, porque gracias a su amor, su apoyo, sus sacrificios, sus consejos y sus regaños he podido llegar con éxito hasta el final de esta etapa tan importante en mi vida. ¡Todo valió la pena mami, este logro es tuyo y quiero que lo disfrutes, te amo!

A mi familia: mis abuelos, mis primas y mis tíos ya que ellos siempre estuvieron pendientes de mis decisiones y muchas veces me brindaron consejos que me ayudaron a seguir adelante y nunca desistir; y a Enrique, porque su compañía y apoyo en esta última etapa de mis estudios fueron de gran consuelo en muchos momentos difíciles, espero que en el futuro sigamos compartiendo alegrías y éxitos tan importantes como éste.

A mis docentes asesores, M.V.Z. M.R.A. Carlos David López Salazar, MSc. Amy Elieth Morán Rodríguez y M.V. Ricardo Gamero porque nos brindaron el tiempo y la paciencia necesaria para poder desarrollar y terminar la investigación, gracias porque de sus consejos aprendimos a realizar nuestro trabajo de la mejor forma posible y a ser mejores cada día.

A mi futura colega, compañera de tesis, compañera de risas y de enojos: Alejandra, todo este camino ha sido difícil, pero con esfuerzo, dedicación y una que otra locura logramos llegar al final, por fin conseguimos lo que tanto habíamos soñado; y espero que de aquí en adelante todo el conocimiento y experiencias que hemos adquirido nos sirvan para ser profesionales de bien, al servicio de los animales y de las personas.

A todos los docentes que pusieron su granito de conocimiento en mí a lo largo de estos años, sus enseñanzas y consejos me serán muy útiles para tratar de tomar buenas decisiones a lo largo de mi vida profesional.

A todos los compañeros que he conocido en el transcurso de la carrera, que de una u otra forma me proporcionaron su amistad, gracias por enseñarme a ser fuerte, a no rendirme y a nunca caer por más difícil que se ponga todo.

Marielos Herrera.

DEDICATORIA:

Esta investigación se la dedico a mi Dios, por brindarme la salud y fortaleza para seguir siempre seguir adelante y porque en los momentos de incertidumbre, me recuerda que está presente hasta en la más pequeña de sus creaciones.

A mis dos mamás, este triunfo les pertenece a ambas, gracias por sus sacrificios, apoyo y amor incondicional que me han ayudado a salir adelante siempre. Las amo con todo mi corazón.

A mis dos papás, por enseñarme que mi motor debe funcionar a base de perseverancia y voluntad para hacer las cosas de la mejor forma posible, gracias por sus consejos y regaños que me han enseñado a ser una mujer fuerte.

A mi familia: a mi hermano, primas que son más bien mis hermanas , tíos y Don Héctor, sin su apoyo y consejos a lo largo de las distintas etapas de mi vida no hubiese podido concluir esta fase de mi formación profesional.

A mis asesores de tesis: M.V.Z. M.R.A. Carlos D. López, gracias por ser un guía y un amigo durante mi formación académica y durante este proceso; A la MSc. Amy E. Moran por su infinita paciencia y apoyo para culminar esta investigación; y al M.V. Ricardo E. Gamero por su apoyo y disposición.

A mis docentes: quienes me formaron a lo largo de la carrera y cuyos consejos y enseñanzas me mantuvieron firme para alcanzar mis metas, especialmente al M.V.Z Armando Castro, M.V.Z. Carlos Amaya, M.V.Z. Ivette Pichinte y Dr. Hooyeol Park.

A mi compañera de tesis, futura colega y compañera de aventuras: Marielos, fue un largo recorrido el que emprendimos juntas, pero te prometo que todo habrá valido la pena cuando nos convirtamos en las mejores profesionales que podemos ser.

A mis compañeros a lo largo de la carrera: Manuel, Benny, Candy, César y Oséas, y especialmente a mis paisanas y hermanas Armida y Claudia, su apoyo y amistad me mantuvieron a flote.

A mis amigos Javier, Rodrigo y Ruby, gracias por hacer más liviana la carga con su compañía y siempre acertados consejos. De igual a todas esas personas que se cruzaron en mi camino a lo largo de mi carrera, quienes representaron una forma más de aprendizaje.

Alejandra Perla.

Índice General

1. INTRODUCCION	1
2. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	3
2.1. Definición de mastitis	3
2.2. Clasificación de la mastitis	3
2.2.1. Mastitis subclínica	3
2.2.2. Mastitis clínica.....	3
2.3 Etiología.....	3
2.4. Factores de riesgo asociados a la mastitis.....	4
2.5. Métodos de detección de la mastitis bovina.....	5
2.5.1. Observación y palpación de la ubre	5
2.5.2. Pruebas físicas.	5
2.5.3 Pruebas Químicas.....	5
2.5.4 Pruebas Complementarias.....	6
2.6. Tratamiento farmacológico de la mastitis.	7
2.6.1 Consideraciones farmacocinéticas y farmacodinámicas.....	8
2.7 Tipos de resistencia de los microorganismos a los antimicrobianos.....	9
2.7.1 Mecanismos de transferencia genética.....	10
2.8 Mecanismos de resistencia bacteriana.	10
2.9 Definición de Multirresistencia Antimicrobiana (MRAM).....	12
2.10 Métodos estandarizados para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de animales.	12
2.10.1 Test de difusión por discos	12
2.10.2 Test de dilución.....	12
2.10.3 Categorías de interpretación	13
3. MATERIALES Y METODOS	13
3.1 Ubicación geográfica.....	13
3.2 Metodología de campo	15
3.2.1 Determinación de mastitis.....	15
3.2.2 Selección de unidades experimentales.	15

3.2.3 Toma de muestras.....	15
3.3 Metodología de Laboratorio	16
3.3.1 Procedimiento microbiológico.....	16
3.4 Metodología Estadística.....	21
4. RESULTADOS Y DISCUSION	21
4.1 Resultados de Prueba de California para mastitis.	21
4.2 Resultado de aislamiento microbiológico.....	22
4.3 Resultados de antibiograma.	26
4.3.1 Género <i>Staphylococcus</i>	27
4.3.2 Género <i>Enterococcus</i>	29
4.3.3 Géneros <i>Escherichia</i> , <i>Enterobacter</i> y <i>Klebsiella</i>	31
4.3.4 Género <i>Streptococcus</i>	33
4.3.5 Género <i>Acinetobacter</i>	35
4.4 Resultados de multirresistencia antimicrobiana.....	36
5. CONCLUSIONES	40
6. RECOMENDACIONES	42
7. BIBLIOGRAFIA	43
8. ANEXOS.....	55

Índice de cuadros

Cuadro 1. Antibióticos utilizados para el tratamiento de mastitis disponibles en El Salvador.....	7
Cuadro 2. Clasificación de los antimicrobianos y mecanismos de acción	8
Cuadro 3. Resultados de prueba de California para mastitis en bovinos en ordeño por unidad productiva.	21
Cuadro 4. Prevalencia de mastitis subclínica y clínica en bovinos positivos a CMT por unidad productiva.	22
Cuadro 5. Microorganismos aislados causantes de mastitis.	23
Cuadro 6. Distribución de los patógenos contagiosos y ambientales en las ganaderías estudiadas.	25
Cuadro 7. Microorganismos aislados según el tipo de mastitis.	26

Índice de Figuras

Figura 1: Ubicación geográfica del Municipio de Agua Caliente.	14
Figura 2: Salas de espera y salas de ordeño de las ganaderías estudiadas.	14
Figura 3: Realización de la prueba de California para mastitis.....	15
Figura 4: Recolección de muestra	16
Figura 5: Inoculación en medios selectivos.....	17
Figura 6: Crecimiento bacteriano en medio de cultivo Baird Parker (derecha), crecimiento bacteriano en agar Cetrimide en comparación con crecimiento de <i>Pseudomona spp</i> (izquierda).....	17
Figura 7: Macroscopía y microscopía de <i>Streptococcus agalactiae</i> (derecha), macroscopía y microscopía de <i>Acinetobacter baumannii</i> (izquierda).....	18
Figura 8: <i>Staphylococcus coagulasa</i> negativo en medio Baird Parker y Manitol Salado color rojo y <i>Staphylococcus aureus</i> en Baird Parker y manitol salado color amarillo (izquierda), <i>Escherichia coli</i> (colonias positivas son fluorescentes a luz ultravioleta en cámara de oscuridad y negativas cuando carecen de fluorescencia) en medio Rapid Hicoliform (derecha).....	18
Figura 9: Pruebas bioquímicas IMViC positiva a <i>Escherichia coli</i> , prueba bioquímica comercial API E20 positivo a <i>Acinetobacter baumannii</i>	19
Figura 10: Lectura de resultados antibiograma para <i>Staphylococcus aureus</i>	21

Figura 11: Perfil de resistencia de <i>Staphylococcus aureus</i>	27
Figura 12: Perfil de resistencia de <i>Staphylococcus epidermidis</i>	28
Figura 13: Perfil de resistencia de <i>Staphylococcus coagulasa negativo</i>	28
Figura 14: Perfil de resistencia de <i>Enterococcus durans</i>	29
Figura 15: Perfil de resistencia de <i>Enterococcus faecium</i>	29
Figura 16: Perfil de resistencia <i>Enterococcus faecalis</i>	30
Figura 17: Perfil de resistencia de <i>Enterococcus spp.</i>	30
Figura 18: Perfil de resistencia de <i>Streptococcus bovis</i>	31
Figura 19: Perfil de resistencia de <i>Escherichia coli</i>	32
Figura 20: Perfil de resistencia de <i>Enterobacter aerogenes</i>	33
Figura 21: Perfil de resistencia de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	33
Figura 22: Perfil de resistencia de <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	34
Figura 23: Perfil de resistencia de <i>Streptococcus agalactiae</i>	34
Figura 24: Perfil de resistencia de <i>Streptococcus uberis</i>	35
Figura 25: Perfil de resistencia de <i>Acinetobacter baumannii</i>	36
Figura 26. Perfil de multirresistencia del género <i>Staphylococcus</i>	36
Figura 27. Perfil de multirresistencia del género <i>Enterococcus</i>	37
Figura 28. Perfil de multirresistencia de Enterobacterias.	38
Figura 29. Perfil de multirresistencia del género <i>Streptococcus</i>	39

Índice de anexos

Anexo- 1. Procedimiento y lectura de prueba de california para mastitis (CMT)	55
Anexo- 2. Hoja de registro de datos generales de las ganaderías en estudio y hoja de registro de toma de muestras.....	58
Anexo- 3. Procedimiento para el aislamiento de bacterias grampositivas y gramnegativas.	60
Anexo- 4.Tablas de interpretación del resultado de antibiograma de acuerdo a los estándares de NCCLS.....	66
Anexo- 5. Número de aislados de microorganismos por muestra.....	68
Anexo- 6. Resultado de antibiograma <i>Staphylococcus aureus</i>	70
Anexo- 7. Resultado de antibiograma <i>Staphylococcus epidermidis</i>	71

Anexo- 8. Resultado de antibiograma <i>Staphylococcus coagulasa</i> negativo.	71
Anexo- 9. Resultado de antibiograma <i>Enterococcus durans</i>	71
Anexo- 10. Resultado de antibiograma <i>Enterococcus faecium</i>	72
Anexo- 11. Resultado de antibiograma <i>Enterococcus faecalis</i>	72
Anexo- 12. Resultado de antibiograma <i>Enterococcus spp.</i>	72
Anexo- 13. Resultado de antibiograma <i>Streptococcus bovis</i>	73
Anexo- 14. Resultado de antibiograma <i>Escherichia coli</i>	73
Anexo- 15. Resultado de antibiograma <i>Enterobacter aerogenes</i>	74
Anexo- 16. Resultado de antibiograma <i>Klebsiella pneumoniae</i>	74
Anexo- 17. Resultado de antibiograma <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	74
Anexo- 18. Resultado de antibiograma <i>Streptococcus agalactiae</i>	74
Anexo- 19. Resultado de antibiograma <i>Streptococcus uberis</i>	75
Anexo- 20. Resultado de antibiograma <i>Acinetobacter baumannii</i>	75
Anexo- 21. Porcentaje total de resistencia por género de bacterias aisladas.	76
Anexo- 22. Antimicrobianos con mayor resistencia.	77
Anexo- 23. Antimicrobianos con mayor sensibilidad.	78
Anexo- 24. Familia de antimicrobianos más resistentes.....	78
Anexo- 25. Familia de antimicrobianos más sensibles.	79
Anexo- 26. Perfil de multirresistencia de los microorganismos evaluados en antibiograma.	79

ABREVIATURAS

ABREVIATURA	DESCRIPCION	UNIDADES
CMT	California Mastitis Test	
NaOH	Hidróxido de sodio	
CCS	Conteo de células somáticas	Células/ mL de leche
RCS	Recuento de células somáticas	
T	Grado Trazas	
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal	
CIM	Concentración Mínima Inhibitoria	µg/mL
MMR	Microorganismo multirresistente	
MRAM	Multirresistencia antimicrobiana	
NCCLS	National Committee for Clinical and Laboratory Standards	
EMB	Eosina Metilo Brillante	
SCN	<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	
CAMP	Christie- Atkins- Munch- Peterson test	
NaCl	Cloruro de sodio	
SXT	Trimetropim/ Sulfametoxazol	
AMP	Ampicilina	
PEN	Penicilina G Procaínica	
AMC	Amoxicilina + Ácido clavulánico	
OXI	Oxitetraciclina	
ERX	Enrofloxacina	
GEN	Gentamicina	
NEO	Neomicina	
CIP	Ciprofloxacina	
S	Sensible	
I	Susceptibilidad Intermedia	
R	Resistente	
PEN.	Penicilinas	
QUINO.	Quinolonas	
TETRA.	Tetraciclinas	
SULFAS.	Sufonamidas	
AMINO.	Aminoglucósidos	
MACRO.	Macrólidos	

1. INTRODUCCION

El uso de antibióticos en medicina veterinaria constituye una de las principales herramientas terapéuticas utilizadas para el control de enfermedades infecciosas de origen bacteriano (Martel *et al* 2000) como es el caso de la mastitis; que es una de las enfermedades con mayor prevalencia que afectan al ganado lechero y es reconocida mundialmente por causar grandes pérdidas económicas tanto al productor como a la industria (San Martín *et al* 2002). La mastitis se define como la inflamación de la glándula mamaria, la cual reduce la producción de leche, alterando la composición de la misma (alteraciones físicas, químicas, organolépticas y contaminación microbiológica de la leche), pudiendo clasificarse en mastitis subclínica y mastitis clínica, en relación a sus manifestaciones clínicas (Gasque 2008).

La infección por microorganismos patógenos es un factor determinante que influye en la presentación de la mastitis; desde el punto de vista epidemiológico algunos de estos microorganismos se transmiten durante el ordeño (patógenos contagiosos: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*); mientras que otros están diseminados en el medio ambiente y llegan a la piel del pezón en el intervalo entre ordeños (microorganismos ambientales: *Streptococcus uberis*, coliformes, *Enterococcus*) (Nedder *et al* 2014).

Los programas de control para esta enfermedad consisten en medidas de higiene durante el ordeño, incluyendo la desinfección de los pezones, que ayuda a reducir la contaminación y el número de patógenos mamarios que pueden llegar al conducto del pezón, el descarte de animales con infecciones intramamarias crónicas y la terapia antibiótica (Calvinho 2010). El principal objetivo de la terapia antibiótica es eliminar al organismo invasor mediante la administración de una cantidad óptima de droga activa en el sitio de la infección, que supere y mantenga por un tiempo adecuado una concentración capaz de inhibir al microorganismo actuante; esto implica que el médico veterinario necesita conocer las características farmacológicas del antimicrobiano a utilizar para hacer un uso racional de este, conocer el agente etiológico involucrado y la susceptibilidad que este presenta a los antibióticos disponibles en el mercado nacional (OMS 2000).

Sin embargo, existen numerosas publicaciones internacionales en el ámbito de la producción animal, incluyendo al ganado lechero, que señalan la existencia de multirresistencia bacteriana debido al uso indiscriminado de los antimicrobianos (Martel *et al* 2000). La resistencia antimicrobiana se produce cuando los microorganismos sufren cambios al verse expuestos a los antimicrobianos, dando como resultado un fracaso terapéutico que produce infecciones persistentes de fácil propagación (OMS 2000).

A través de los años, diversos estudios indican que las bacterias adquieren resistencia no solo a antimicrobianos de una misma familia, sino también a drogas con diferentes estructuras y mecanismos de acción (Martel *et al* 2000). Esta situación plantea graves preocupaciones para la salud pública, pues algunas de las bacterias resistentes de reciente emergencia en los animales se transmiten a las personas, principalmente por los alimentos de origen animal, como es el caso de la leche, o por el contacto directo con animales de granja. Tratar las enfermedades provocadas por esas bacterias resistentes

en las personas resulta más difícil y costoso y, en algunos casos, los antimicrobianos disponibles ya no son eficaces (OMS 2000). Es por eso que los médicos veterinarios, desempeñan un papel clave en este ámbito, a través de su función en la reglamentación y supervisión del uso de los agentes antimicrobianos y en el asesoramiento profesional sobre su utilización a agricultores y propietarios de animales (OIE 2015).

Es por eso, que el objetivo principal de esta investigación fue evaluar la multirresistencia a los antimicrobianos utilizados ante los principales agentes patógenos de la mastitis subclínica y mastitis clínica identificados en leche de vacas en ordeño manual en tres ganaderías del Municipio de Agua Caliente del Departamento de Chalatenango.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1. Definición de mastitis

La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria y sus tejidos secretorios, que reduce la producción del volumen de leche, alterando su composición, además de elevar su carga bacteriana normal (Gasque 2008).

2.2. Clasificación de la mastitis

Según su presentación, la mastitis se clasifica como:

2.2.1. Mastitis subclínica

En la mastitis subclínica la ubre de la vaca permanece aparentemente sana, la leche que produce, a simple vista, es normal, pero una infección incipiente puede estar dañando el tejido glandular provocando una alteración en la leche (Pérez *et al* 2005). Es el tipo más frecuente de mastitis, conduciendo a una infección intramamaria, pero tanto la ubre como la leche tienen aspecto normal. La única forma de detección es por medio de distintos tipos de análisis que dan como resultado un aumento en el número de células somáticas o la presencia de microorganismos (Martínez 2014).

2.2.2. Mastitis clínica

Es aquella en la que se presentan signos clínicos, que desencadenan sintomatología sistémica como fiebre, inapetencia y decaimiento; la glándula muestra signos de inflamación (rubor, calor, edema, dolor) y, en algunos casos, llega a estados de fibrosis con pérdida de la función por atrofia de los alvéolos galactóforos. Por su parte, la leche toma aspecto sanguinolento, con coágulos, grumos y notoria disminución de la producción (Martínez *et al* 2013).

Según el grado de severidad, la mastitis clínica se clasifica en:

- **Mastitis clínica subaguda:** esta forma de inflamación es levemente clínica y los síntomas son alteraciones menores en la leche, como grumos, flóculos u aspecto gelatinoso. No hay signos sistémicos de la enfermedad (Chaves *et al* 2010).
- **Mastitis clínica aguda:** estas mastitis se caracterizan por un ataque repentino con enrojecimiento, hinchazón y endurecimiento del cuarto afectado, el cual además es sensible al tacto. La leche tiene un aspecto muy anormal (purulento, seroso o sanguinolento) y la producción disminuye marcada y repentinamente. Los síntomas generales que pueden presentarse son: aumento de la temperatura rectal, pérdida del apetito, disminución de la función ruminal, pulso acelerado, deshidratación, debilidad, temblores, diarrea y depresión (Chaves *et al* 2010).
- **Mastitis clínica hiperaguda:** Esta forma muy poco frecuente de inflamación mamaria se caracteriza por acontecer muy rápidamente. Los síntomas son los mismos que los descritos para la mastitis clínica aguda, pero su expresión es mucho más severa (Chaves *et al* 2010).

2.3 Etiología

Con base a su etiología infecciosa, la mastitis bovina se divide en contagiosa y ambiental (Calderón y Rodríguez 2008).

Los microorganismos que pueden causar mastitis contagiosa son:

- ***Streptococcus agalactiae***: su único reservorio son los sueros de leche y la ubre y se caracteriza por causar coágulos de fibrina en cuartos afectados y puede impedir el drenaje de la ubre. Es altamente contagioso y ese contagio ocurre principalmente durante el ordeño.
- ***Staphylococcus aureus***: es uno de los agentes patógenos causantes de mastitis crónicas más comunes; generalmente es subclínica, aunque las vacas pueden tener ataques agudos o subagudos, especialmente en la etapa posparto (Gasque 2008).
- ***Mycoplasma bovis***: Causa un cuadro de mastitis severo que afecta todos los cuartos de la ubre y coincide con baja drástica de la producción láctea, con inflamación de la ubre y cambios en la apariencia de la leche, la cual al principio se observa más espesa, cambiando paulatinamente de color desde el amarillo hasta el café, volviéndose después purulenta, aguada y con fibrina (Quiroz 2000).
- ***Corynebacterium bovis***: suele aparecer cuando no se realiza el sellado post-ordeño y terapia de vaca seca e indica deficiencias en las medidas preventivas antes de la aparición de los patógenos mayores (Gasque 2008).

La mastitis ambiental es causada por microorganismos como:

- ***Streptococcus***: Dentro de este género se menciona con más frecuencia a *S. dysgalactiae* que se caracteriza por causar infecciones subclínicas transitorias. Otros Estreptococos, como el *uberis*, se localizan en piel y superficie de la ubre, así como en vejiga y vagina. La infección causada por bacterias de este género es de curso moderado pudiendo persistir y resultar en casos crónicos. Al inicio la infección se presenta con elevado número de células somáticas para disminuir enseguida y pocos días después nuevamente aumentar (Rojas 2009; Chaves *et al* 2010).
- **Coliformes**: este tipo de mastitis es causado por varios tipos de microorganismos, que incluyen: *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Enterobacter aerogenes*. Causan cuadros de mastitis; generalmente de presentación ligeramente aguda y ocasionalmente con cuadros de mastitis severamente agudos. El 90% de los casos de este grupo son producidos por *Escherichia coli* (Chaves *et al* 2010).
- **Enterococcus**: los microorganismos de este género incluyen a *Streptococcus bovis*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *E. durans* entre otros, habitan en las vacas y su ambiente y pueden causar cuadros subclínicos y también clínicos de diferente intensidad, desde leves hasta agudos, tanto en vacas en lactancia como secas, pero la infección es más frecuentemente en el período de seca, causando infecciones de corta duración (menos de 30 días), pero un poco más prolongadas que las ocasionadas por coliformes (Rojas 2009).

2.4. Factores de riesgo asociados a la mastitis

La mastitis es una enfermedad de difícil erradicación ya que es causada por múltiples factores (Andresen 2001), asociados tanto a la vaca como a su entorno. Dentro de los factores asociados a la vaca se mencionan la raza, la predisposición genética, el número de partos o lactancias, la etapa de la lactancia, el nivel de producción y los intervalos reproductivos (Steenefeld *et al* 2008). Algunos de los factores del entorno que pueden influir en la incidencia de mastitis son la zona donde se ubica la finca, el ható-año-época

de parto, las prácticas de alimentación, las prácticas del ordeño, la calidad e higiene del albergue, las condiciones climatológicas y las prácticas de manejo preventivo o terapéutico (Schukken *et al* 2010).

Por lo tanto, las medidas higiénicas, especialmente durante el proceso del ordeño, son importantes ya que ayudan a reducir la contaminación de los pezones con organismos patógenos, cuya principal puerta de entrada a la glándula mamaria es el conducto del pezón. En consecuencia, las prácticas de higiene son el complemento más importante de los programas de control con la finalidad de minimizar el número de patógenos mamarios que lleguen al conducto del pezón y evitar así una nueva infección (Kruze 1998).

2.5. Métodos de detección de la mastitis bovina

2.5.1. Observación y palpación de la ubre

Se realiza con base a los métodos tradicionales de inspección para comprobar cambios de coloración de la piel, aumento de volumen de la glándula, etc. Y palpación para comprobar temperatura, sensibilidad, textura, fibrosis, nódulos, abscesos, etc. (Caraguay 2012).

2.5.2. Pruebas físicas.

Estas pruebas sólo son útiles en casos de mastitis clínicas y no detectan mastitis subclínicas.

- **Prueba del paño negro:** se realiza durante la preparación de la vaca para el ordeño. Consiste en la detección de grumos en la leche haciendo pasar los primeros chorros a través de una malla negra. Es recomendable realizar este procedimiento en todos los ordeños ya que además de detectar leche anormal, se eliminan bacterias que normalmente se encuentran en mayor cantidad en estos primeros chorros y además se estimula la “bajada” de la leche (Pérez *et al* 2005).
- **Prueba de taza probadora:** se examinan los primeros chorros de leche de cada ordeño sobre un recipiente (strip cup) de fondo oscuro. Los coágulos, escamas, hilos, materia fibrosa, secreciones acuosas, o color anormal indican que la leche no es normal y que hay problemas probables (Bedolla *et al* 2007).
- **Prueba de la escudilla de ordeño:** para leches anormales, se recoge la muestra sobre un tejido negro extendido encima de la escudilla, los grumos se hacen así muy visibles (Bedolla *et al* 2007).

2.5.3 Pruebas Químicas

- **Conductividad eléctrica:** se utiliza como un método para la detección de mastitis se basa en el aumento en la cantidad de sodio y cloro presentes en la leche cuando existe una alteración de la glándula mamaria, provocándose entonces un aumento en la conductividad de la misma (Guerra 2006).
- **Papel indicador de mastitis:** este método consiste en un papel sobre el que se hace caer directamente del pezón algunas gotas de leche, se consideran sospechosas las leches que dan una coloración correspondiente a un pH igual o superior a 7 ya que la

leche proveniente de glándulas mamarias afectadas por mastitis tiene pH alcalino, lo que se le atribuye a la disminución de lactosa e incremento de sales que pasan de la sangre a la leche. La prueba descubre el 50% de los cuartos infectados (Ruiz 2014).

- **Prueba de Whiteside:** su principio se basa en la detección de exceso de leucocitos mezclando la leche con una solución de NaOH al 4%. La leche negativa a mastitis permanece líquida, mientras la leche positiva forma un precipitado que varía de ligero a muy denso y viscoso, correspondiente al grado de infección del cuarto afectado (Mateus 1986).
- **Recuento de Células Somáticas (RCS):** El término 'células somáticas' o 'Conteo de Células Somáticas (CCS)' indica una concentración de los diferentes leucocitos y células epiteliales en un mililitro de leche (Monardes y Barria 1995). La determinación del contenido de células somáticas de la leche, del tanque, de la vaca o de los cuartos de la ubre es el medio auxiliar de diagnóstico más importante, para juzgar el estado de salud de la ubre de un hato (Volter *et al* 2004). La importancia del conteo de células somáticas en la leche es que podemos conocer si la leche que obtenemos de la glándula mamaria es de buena calidad, así mismo, conoceremos el estado de salud de la ubre al obtener un número elevado de células somáticas (Hernández y Bedolla 2008).
- **Prueba de California para mastitis (CMT):** El CMT estima el número de células somáticas de la leche y puede realizarse al pie de la vaca para detectar mastitis. Los valores del CMT se relacionan con el número de células somáticas en la leche (Bedolla *et al* 2007). El número es alto porque las células somáticas migran de la sangre hacia la leche como respuesta a la infección. Cuanto más severa es la infección, mayor será el número de células somáticas, cuando el mismo supera las 200.000 células/mL, estamos en presencia de condiciones anormales en la ubre. El número de células somáticas en la leche tiende a crecer durante el ordeño y permanece alto durante varias horas (Chaves *et al* 2010). Para obtener resultados confiables, el CMT debe realizarse justo antes del ordeño, pero después de la estimulación y el despunte. El reactivo del CMT es un detergente que reacciona con el material nuclear de las células somáticas formando un gel. A mayor presencia de células se libera una mayor concentración de ADN, por lo tanto, mayor será la formación del gel, traducándose en nuestra lectura e interpretación del resultado como el grado más elevado de inflamación. Es decir, permite determinar la respuesta inflamatoria con base en la viscosidad del gel que se forma al mezclar el reactivo (púrpura de bromocresol) con la leche, permitiendo evaluar cada cuarto independientemente. Esta reacción se clasifica en 0, T (Trazas), 1, 2, ó 3 dependiendo de la cantidad de gel formado (Mellenberger y Roth 2000).

2.5.4 Pruebas Complementarias

Pruebas bacteriológicas: Los cultivos en laboratorio son necesarios para identificar los organismos específicos que se encuentran comprendidos en un caso clínico de mastitis y para distinguir los animales sanos de aquellos que presentan un caso subclínico. La fidelidad de los resultados de laboratorio depende de los cuidados sanitarios que se

tengan durante la toma de muestras y su manipulación posterior. Los procedimientos bacteriológicos son esenciales para la selección de los agentes terapéuticos que tienen especificidad para el germen presente (Pinzón 1989).

2.6. Tratamiento farmacológico de la mastitis.

La mastitis es la razón más común para el uso de antimicrobianos en las vacas lecheras. La mastitis ha sido tratada con antimicrobianos por más de cincuenta años, pero aún no existe un consenso sobre el tratamiento más eficaz, seguro y económico (Pyörälä 2011). Se debe considerar el impacto en la salud pública ya que las vacas lecheras producen leche para el consumo humano (OIE 2008). Los antimicrobianos comercializados en el país, para el tratamiento de la mastitis, son clasificados y enlistados en el cuadro 1 y 2.

Cuadro 1. Antibióticos utilizados para el tratamiento de mastitis disponibles en El Salvador.

COMPUESTO ACTIVO	
Sulfametoxazol	Trihidrato de Ampicilina
Trimetropim	Cloxacilina Benzatínica
Penicilina G Procaínica	Oxitetraciclina base
Amoxicilina	Sulfato de Neomicina
Cefoperazona sódica	Sulfadimina sódica
Enrofloxacin	Gentamicina sulfato
Sulfametacina	Penicilina G Benzatina
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	Marbofloxacin
Espiramicina	Dihidroestreptomycin
Sulfadiazina	Dihidrato de oxitetraciclina

Fuente: Elaboración propia

Cuadro 2. Clasificación de los antimicrobianos y mecanismos de acción

ACCIÓN	GRUPO	FAMILIA	ANTIMICROBIANO
INHIBEN LA SÍNTESIS DE LA PARED CELULAR	PENICILINAS	Naturales	Penicilina G (bencil), penicilina G procaína, penicilina G benzatina.
		Penicilinas orales	Penicilina V, fenitilina, propicilina
		Aminopenicilinas	Metampicilina, ciclacilina.
		Resistentes a B-lactamasas	Oxacilina, Cloxacilina, dicloxacilina, nafacilina
		Amplio espectro	Ampicilina, Amoxicilina, Ticarcilina, carbencilina
	CEFALOSPORINAS	Primera generación (espectro estrecho)	Cefalotina, cefapirina, cefalexina, cefadroxil.
		Segunda generación (espectro aumentado)	Cefuroxima, ceforamida, cefaclor, cefamandol, cefoxitina
		Tercera generación (amplio espectro)	Ceftiofur, ceftriaxona, cefotaxima, cefoperazona
		Cuarta generación (espectro mejorado)	Cefepima, cefquinoma.
Otros	Carbapemenes	Imipenem	
	Monobactamas	Aztreonam	
	Ácido clavulánico		
INHIBEN LA SÍNTESIS DE PROTEÍNAS	Aminoglucósidos: consisten en azúcares aminados y un anillo llamado aminociclitol		
		Espectro reducido	Estreptomina, dihidroestreptomina
		Amplio espectro	Neomicina, canamicina, gentamicina, tobramicina
		Diversos	Apramicina
	Tetraciclinas: tienen en común en su estructura el anillo naftaleno (4 anillos)		
		Acción corta	Tetraciclina, oxitetraciclina, clortetraciclina.
		Acción intermedia	Demetilclortetraciclina, metaciclina
		Acción prolongada	Doxiciclina
	Macrólidos: Poseen en su estructura un anillo latónico con azúcares aminados.		
		Anillo de 12 constituyentes	Sin uso en práctica clínica
	Anillo de 14 constituyentes	Eritromicina, oleandomicina, troleandomicina	
	Anillo de 16 constituyentes	Tilosina, espiramicina, josamicina.	
INHIBEN LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS.	Quinolonas y flouroquinolonas: derivados del ácido carboxílico.		
		Primera generación (espectro estrecho)	Ácidonalidíxico, Ácido pipemídico, Ácido oxocínico, flumequina.
		Segunda generación (amplio espectro)	Flumequina, ciprofloxacina, norfloxacina, levofloxacina, ofloxacina, aminofloxacina.
		Tercera generación (espectro mejorado)	Enrofloxacina, damofloxacina, sarafloxacina
	Sulfonamidas: El núcleo básico es p-amino-bencenosulfonamida		
		Uso habitual	Sulfatiazol, sulfametazina, sulfadiazina
		Muy solubles (urinarias)	Sulfisoxazol, sulfasomidina
		Poco solubles (éntéricas)	Sulfaguanidina, succinilsulfatiazol
		Potenciadas	Sulfonamias + diaminopirimidinas
		Uso tópico	Sulfacetamida, sulfadiazina de plata.
	Otros antimicrobianos: Cloranfenicol y derivados, Lincosamidas, Polimixinas, Bacitracinas, Rifamicinas, Nitrofuranos, Nitromidazoles.		

Fuente: Molina López, Departamento de Microbiología y parasitología Universidad Autónoma de México– recursos en bacteriología – terapéutica 2014.

2.6.1 Consideraciones farmacocinéticas y farmacodinámicas

La glándula mamaria bovina es un objetivo difícil para el tratamiento antimicrobiano. La penetración de las sustancias en la leche cuando se administran por vía parenteral al igual que la absorción y distribución a lo largo de la ubre cuando se infunden por vía

intramamaria (IMM) dependen de las características farmacocinéticas, tales como solubilidad en lípidos, grado de ionización, nivel de adhesión a las proteínas séricas y de la ubre y tipo de vehículo. El tratamiento antimicrobiano en las vacas lecheras crea residuos en la leche, y la prevención de esos residuos es un aspecto importante en el tratamiento de la mastitis (Pyörälä 2011). La farmacodinámica de los antimicrobianos es otro aspecto que debe tenerse en cuenta. Se ha observado que la actividad de los macrólidos, las tetraciclinas y las trimetoprimas-sulfamidas se reduce en la leche (Fang y Pyörälä 1996). La susceptibilidad antimicrobiana determinada *in vitro* ha sido considerada como un requisito previo para el tratamiento. Sin embargo, la actividad *in vitro* no garantiza la eficacia *in vivo* durante el tratamiento de la mastitis bovina. La resistencia a los antimicrobianos entre los patógenos causantes de mastitis aún no ha surgido como un tema de relevancia clínica; no obstante, las regiones geográficas pueden diferir a este respecto (Pyörälä 2011). El tratamiento de la mastitis subclínica con antimicrobianos, por lo general no es económico durante la lactancia debido a los altos costos del tratamiento y la pobre eficacia. En un estudio realizado con una gran cantidad de casos de mastitis subclínica la tasa global de curación bacteriológica para el tratamiento antimicrobiano fue de 75% y la tasa sin tratamiento fue de 68% (Wilson *et al* 1999).

2.7 Tipos de resistencia de los microorganismos a los antimicrobianos

En el siglo XX fueron descubiertos los antibióticos, constituyendo un avance en el control de las enfermedades infecciosas. No obstante, siendo las bacterias organismos vivos, poseen mecanismos biológicos que les permiten adaptarse a situaciones adversas para ellas, como es el caso de la presión que ejercen los antimicrobianos. Surge así la resistencia antimicrobiana que es una expresión natural de la evolución y genética bacteriana (Cabrera *et al* 2007).

La resistencia se describe como la relativa ausencia de susceptibilidad de un microorganismo a un tratamiento particular en ciertas condiciones. La susceptibilidad se mide de acuerdo con la concentración mínima inhibitoria (CIM), que se define como la concentración más baja a la cual se inhibe el crecimiento de una colonia bacteriana aislada, que se encuentra en investigación tras un periodo adecuado de incubación. (Cabrera *et al* 2008). La resistencia se ha clasificado en tres tipos, según la forma en que la adquiere la bacteria:

- **Resistencia natural o intrínseca:** es aquella donde el microorganismo por sus características estructurales carece de sensibilidad a los medicamentos. Este tipo de resistencia se transmite de forma vertical durante la replicación. Como ocurre con las bacterias Gram negativas, que poseen en su membrana celular externa canales proteicos denominados porinas que se caracterizan por ser muy selectivos, impidiendo el paso de sustancias hidrofóbicas. Este tipo de resistencia es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano, por lo que esta no es una resistencia variable (Cabrera *et al* 2007).
- **Resistencia adquirida:** es la adquisición de un carácter de la resistencia previamente ausente en la bacteria (Stanchi *et al* 2007).

- **Resistencia mutacional:** Es la derivada de mutaciones espontáneas en la información contenida en el cromosoma (por alteración de la secuencia natural de nucleótidos en el ADN). Las mutaciones pueden ocurrir en genes persistentes en las células o en genes adquiridos (Stanchi *et al.* 2007).

2.7.1 Mecanismos de transferencia genética

La transferencia del material genético responsable de la resistencia puede ocurrir por:

- **Transducción:** transferencia de cualquier parte de un genoma bacteriano, cuando un fago atemperado (genoma del virus que se encuentra inserto en el ADN bacteriano) durante su fase de ensamblaje, encapsula este material. Si el fragmento de ADN que queda envuelto es totalmente bacteriano se denomina transducción generalizada y si sólo se encapsula parte del genoma bacteriano pero se conserva el genoma viral se habla de transducción especializada (Cabrera *et al* 2008).
- **Conjugación:** transferencia de material genético contenido en plásmidos de una bacteria a otra a través de una hebra sexual; estos plásmidos usualmente contienen genes que le confieren resistencia a drogas, antisépticos y desinfectantes (Cabrera *et al* 2008).
- **Transformación:** transferencia de genes desde un ADN desnudo de una bacteria previamente lisada a otra que lo recibe y lo incorpora a su genoma. Transposición: Movimiento de una sección de ADN (transposon) que puede contener genes para la resistencia a diferentes antibióticos y otros genes casete unidos en equipo para expresión de un promotor en particular (Cabrera *et al* 2008).

2.8 Mecanismos de resistencia bacteriana.

Cabrera *et al* (2008) describe los mecanismos más importantes de resistencia a los antibióticos de la siguiente manera:

a) Modificación enzimática o destrucción del antibiótico

Es el mecanismo de resistencia que utilizan algunas bacterias contra medicamentos betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes y monobactámicos). El ejemplo más representativo son las betalactamasas, enzimas que inactivan el antibiótico al hidrolizar el anillo betalactámico de la molécula. Otra clase importante de antibióticos que son destruidos por enzimas, son los aminoglucósidos. Se sabe que hay tres tipos de modificaciones catalizadas por O-fosfotransferasas (OPH), O-adeniltransferasas (ANT) y N-acetiltransferasas (ACT) que inactivan estos medicamentos. Se reconocen cuatro clases de betalactamasas:

Clase A: penicilinasas

Clase B: betalactamasas

Clase C: cefalosporinasas

Clase D: oxacilinasas

La resistencia surge de estímulos naturales o mutaciones en los cromosomas de los genes o de la adquisición de elementos genéticos extra cromosomales (plásmidos o transposones) que portan los genes de transferencia. Los genes que codifican para estas enzimas se encuentran generalmente en elementos móviles como transposones y

plásmidos, por ejemplo en *S. aureus*; algunas veces se han encontrado en el cromosoma bacteriano en *Pseudomonas aeruginosa*. A pesar de los esfuerzos en la producción de medicamentos que pudieran resistir la acción de las betalactamasas como la cloxacilina, las bacterias alteraron el sitio blanco y esto llevó al desarrollo de *Staphylococcus aureus* multirresistente (*MRSA*). Se produjo entonces la tercera y cuarta generación de cefalosporinas, resistentes a las betalactamasas producidas por bacterias gramnegativas; sin embargo, con el uso amplio, las bacterias desarrollaron un mecanismo para destruir el medicamento: las Betalactamasas de Espectro Extendido (BLEEs). A fin de contrarrestar esta acción de las bacterias se produjeron los carbapenemes resistentes a las BLEEs, pero una vez que se generalizó su empleo, las poblaciones bacterianas iniciaron la producción de carbapenemasas que hidrolizan estos medicamentos (Cabrera *et al* 2008).

b) Presencia de bombas de eflujo que expulsan el antibiótico

El mecanismo de eflujo para múltiples agentes antimicrobianos contribuye a la resistencia intrínseca y adquirida contra tales agentes. El análisis del genoma de bacterias Grampositivas y Gramnegativas ha confirmado la amplia distribución de estos sistemas. Este modo de resistencia puede llegar a disminuir o inclusive suprimir la susceptibilidad a un amplio rango de antimicrobianos. El diseño de eflujo (bomba) es mediado por proteínas de transporte, que confieren resistencia a los componentes tóxicos. En las bacterias Gramnegativas es necesario un sistema de eflujo tripartita para expulsar el antimicrobiano hacia el medio externo: una proteína localizada en la membrana citoplasmática, otra en el espacio periplasmático (proteína de fusión de membrana MFP) y una tercera en la membrana externa (factor de membrana externa). Los sistemas de eflujo particularmente de bacterias Gramnegativas se asocian con resistencia a múltiples antimicrobianos de importancia clínica como las fluoroquinolonas (Cabrera *et al* 2008).

c) Impermeabilidad al antibiótico.

Existen diferencias en la composición de la envoltura celular de las bacterias y en especial en la cantidad del peptidoglucano. Además de una capa pequeña de peptidoglucano en las bacterias Gramnegativas, se conoce una estructura de membrana consistente en lipopolisacárido y lipoproteína anclados al peptidoglucano junto con grandes proteínas de membrana externa llamadas porinas. Estas porinas varían en número y tamaño y funcionan como canales acuosos generan una ruta hidrofílica a través de la estructura de la membrana hacia el espacio periplásmico. La resistencia intrínseca de bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus spp* se relaciona con la poca cantidad de moléculas de porina, las mutaciones que resultan por la alteración de la forma y el número de las ya existentes, influyen en la permeabilidad a los antibióticos, por lo cual se presentan diversos tipos de resistencia a través de la membrana (Cabrera *et al* 2008).

d) Modificación del sitio blanco

Uno de los mecanismos de resistencia más importante, es aquel en el que la mutación bacteriana se manifiesta en un cambio de la estructura del sitio de acción del fármaco. En este grupo se puede destacar las modificaciones por metilación del ARNr (Ácido ribonucleico ribosomal) que hacen resistentes a algunas bacterias Gram negativas, frente a los macrólidos, este mecanismo constituye el método por el cual disminuye la afinidad

del antibiótico por el ribosoma sin afectar la síntesis de proteínas bacterianas (Martínez *et al* 2014).

2.9 Definición de Multirresistencia Antimicrobiana (MRAM)

Epidemiológicamente los microorganismos multirresistentes (MMR) se definen como aquellos microorganismos que son resistentes a una o más clases de antibióticos. No existe una definición universalmente aceptada de bacteria multirresistente que sea aplicable a todos estos microorganismos; el concepto puede tener matices diferentes en función de que el enfoque sea clínico, microbiológico o epidemiológico. Desde un punto de vista general, la definición debe incluir al menos dos condiciones: que exista resistencia a más de una familia o grupo de antimicrobianos de uso habitual, y que esa resistencia tenga relevancia clínica (es decir, que suponga o pueda suponer una dificultad para el tratamiento) y epidemiológica (posibilidad de brotes epidémicos, transmisión del mecanismo de resistencia, etc.), aceptando estas condiciones, el término “microorganismo multirresistente” se ha utilizado sobre todo para bacterias clásicamente hospitalarias que han desarrollado resistencia a múltiples antimicrobianos, y que son capaces de ocasionar brotes (López-Pueyo *et al* 2010).

2.10 Métodos estandarizados para la determinación de la sensibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de animales.

2.10.1 Test de difusión por discos

El principio del método involucra el uso de una cantidad constante de antimicrobiano en un reservorio (discos de papel) aplicado sobre la superficie del agar en el cual se ha cultivado el microorganismo en cuestión. Se forma así una gradiente de concentración del antimicrobiano y la sensibilidad del microorganismo está indicada por el tamaño de la zona de inhibición del crecimiento alrededor del reservorio. El diámetro obtenido dependerá no solo de la sensibilidad del microorganismo y la carga del disco, sino también del espesor de la capa del agar, su pH y composición, de la capacidad de difusión de la droga en ese medio, la temperatura, la velocidad de duplicación bacteriana, y el tamaño y fase del inóculo. Los discos deben distribuirse equitativamente de forma que las zonas de inhibición alrededor de los discos antimicrobianos no se solapen, hasta tal punto que no pueda determinarse la zona de inhibición (National Committee for Clinical and Laboratory Standards NCCLS 2002).

2.10.2 Test de dilución

La técnica de dilución en caldo y agar puede ser utilizada para medir cuantitativamente la actividad *in vitro* de un antimicrobiano frente a un cultivo bacteriano. Estos métodos se basan en la preparación de una serie de tubos, pocillos o placas con caldo o agar respectivamente, a los cuales se les agrega un antibiótico en distintas concentraciones. Luego se inoculan cada uno de los tubos, pocillos o placas con una suspensión estandarizada del microorganismo en estudio. Las pruebas se leen después de incubar toda la noche a 35°C y se determina la concentración inhibitoria mínima del antimicrobiano frente al microorganismo ensayado (NCCLS 2002).

2.10.3 Categorías de interpretación

- **Sensible (S):** Esta categoría implica que una infección dada por la cepa en estudio puede ser tratada apropiadamente con la dosis de antibiótico recomendada para el tipo de infección y la especie infectante, a menos que hubiera contraindicaciones.
- **Intermedio (I):** Esta categoría incluye cepas que pueden ser inhibidas por concentraciones de antibiótico más elevadas, siempre que las dosis usadas puedan ser aumentadas (p ej: β -lactámicos) o que sean concentradas fisiológicamente en el tejido infectado (p ej: β -lactámicos y quinolonas en orina). También nos indica una “zona buffer” que debería evitar que pequeños factores técnicos difíciles de controlar causen mayores discrepancias de interpretación.
- **Nivel “Extra label”:** El organismo puede ser considerado sensible si se aplica la droga utilizando apropiadas modificaciones de dosificación con respecto a las recomendadas por el laboratorio fabricante.
- **Resistente (R):** Las cepas resistentes no son inhibidas por las concentraciones séricas normalmente alcanzadas a dosis habituales y/o presentan mecanismos específicos de resistencia microbiana y la eficacia clínica no ha sido comprobada (NCCLS 2002).

3. MATERIALES Y METODOS

Los materiales utilizados durante la metodología de campo fueron:

- 1 hielera de 42 cm de alto x 57 cm de ancho x 36.2 cm de fondo aproximadamente.
- 1 paquete de bolsas estériles de 150 mL.
- 6 rollos de papel toalla.
- 2 cajas de guantes.
- 2 pares de botas de hule.
- 5 paquetes de gel refrigerante.
- 3 marcadores permanentes
- 1 libreta de campo.
- 2 litros de reactivo de CMT.
- 4 paletas para CMT.
- 2 frascos de 100 mL de jabón yodado

3.1 Ubicación geográfica

La fase de campo de la investigación se llevó a cabo en tres ganaderías con ordeño manual ubicadas en la zona central de El Salvador, en el Municipio de Agua Caliente del departamento de Chalatenango (Figura 1).

El municipio está ubicado a 70 kilómetros de San Salvador y a 45 kilómetros de la cabecera departamental de Chalatenango. Se encuentra a una altura media de 380 metros sobre el nivel del mar, sus coordenadas son 14°10'00"N 89°13'00"O (Enciclopedia de El Salvador 2001) y posee una temperatura promedio de 21.0- 33.0°C y humedad relativa de 78.08% en promedio (SNET 2007).

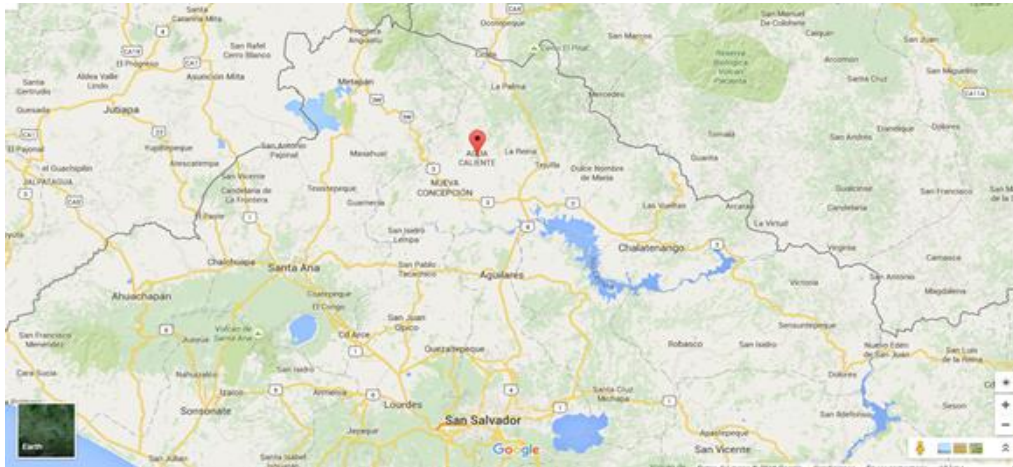


Figura 1: Ubicación geográfica del Municipio de Agua Caliente.

Estas propiedades se caracterizaban por ser de fácil acceso ya que se encontraban en la misma área geográfica, cada una de ellas contaba con un número igual o superior a 40 animales en un sistema de producción semi-intensivo con un manejo semi-estabulado (Figura 2), poseen un registro productivo, reproductivo y sanitario de las enfermedades más comunes incluyendo los casos de mastitis subclínica y mastitis clínica, así como de los medicamentos que han sido administrados para su tratamiento; además que los propietarios de cada una de ellas se encontraban dispuestos a colaborar con la investigación.



Figura 2: Salas de espera y salas de ordeño de las ganaderías estudiadas.

3.2 Metodología de campo

3.2.1 Determinación de mastitis

Mastitis clínica: Para comprobar que los animales presentaban mastitis clínica se realizó un examen físico de la ubre con el fin de identificar si existía un aumento del volumen de la glándula, alteración de la temperatura, dolor al tacto, fibrosis, edema o abscesos (Caraguay 2012). También se observó si la leche obtenida en el ordeño presentaba alguna alteración en su composición organoléptica o alteraciones físicas como la presencia de un aspecto sanguinolento, coágulos ó grumos (Martínez *et al* 2013).

Mastitis subclínica: Para la determinación de mastitis subclínica se realizó la prueba de California para mastitis (CMT) de acuerdo al procedimiento propuesto por Mellenberger y Roth (2000) a todas las vacas que se encontraban en producción. (Figura 3) (Anexo-1).



Figura 3: Realización de la prueba de California para mastitis.

3.2.2 Selección de unidades experimentales.

La selección de los animales a muestrear se realizó a partir de los resultados positivos a mastitis subclínica y mastitis clínica que se obtuvieron de la prueba de California Mastitis para mastitis (Mellenberger y Roth 2000) y del exámen físico de la ubre que se realizó al total de animales en ordeño por ganadería.

3.2.3 Toma de muestras

Se realizó un único muestreo durante la hora de ordeño en cada ganadería. Se limpiaron con jabón yodado las ubres y pezones para retirar cualquier tipo de suciedad, y se secaron con papel toalla descartable. Se contó con la ayuda de los ordeñadores de cada ganadería, por lo que a cada uno de ellos se les desinfectó las manos con jabón yodado y se les proporcionó un par de guantes para el momento de recolección de la muestra (Figura 4).



Figura 4: Recolección de muestra

Posteriormente se eliminaron los tres primeros chorros de leche y se recolectaron en una bolsa de plástico estéril aproximadamente 100 ml de leche, para luego almacenarlas en una hielera a una temperatura aproximada de 5°C para su transporte al laboratorio de microbiología del Centro de Investigación y Desarrollo en Salud (CENSALUD). Los datos obtenidos de las ganaderías y de cada una de las vacas muestreadas se registraron y anotaron en una hoja diseñada especialmente para su posterior análisis (Anexo-2).

3.3 Metodología de Laboratorio

3.3.1 Procedimiento microbiológico

a) Aislamiento e identificación de Bacterias causantes de mastitis: El aislamiento de las bacterias Gram positivas y negativas se realizó, de acuerdo a las directrices propuestas por Bacteriological Analytical Manual (BAM 2014) para el análisis bacteriológico de microorganismos productores de mastitis (Anexo-3). El procedimiento se realizó en el siguiente orden:

1. Siembra primaria: se realizó la siembra de 10 mL de cada una de las muestras de leche en 90 mL de diferentes caldos de enriquecimiento (Caldo tripticasa soja, caldo cerebro corazón, agua peptonada y caldo lactosado + Tween al 5%) con el fin de nutrir y recuperar las bacterias a identificar. Posteriormente se incubaron por un periodo de 24 a 48 horas en atmósfera de aerobiosis y anaerobiosis de acuerdo a los requerimientos de cada una de las bacterias por aislar.

2. La siembra en medios selectivos: se realizó transcurrido el tiempo de incubación de los caldos nutritivos. Para el aislamiento de bacterias Gramnegativas, se tomó una asada del caldo tripticasa soja, caldo lactosado + tween al 5% y agua peptonada para realizar la siembra en agar Cetrimide, agar Maconkey, agar Eosina Metilo Brillante (EMB) y medio de cultivo SMACK, mientras que para las bacterias Grampositivas se tomó una asada del caldo cerebro-corazón y se inoculó en Agar sangre y agar Baird Parker (Figura 5). Posteriormente los medios de cultivo inoculados se incubaron por un periodo de 24 hrs a 48 hrs bajo condiciones de aerobiosis y anaerobiosis respectivamente.



Figura 5: Inoculación en medios selectivos

3. Observación de morfología macroscópica y microscópica: se observó el crecimiento bacteriano transcurridas 24 y 48 hrs después de la inoculación de las placas; para las placas de Cetrimide, agar MaConkey, agar Eosina Metilo Brillante (EMB) y SMACK se observó el color de las colonias, textura y tamaño; para el agar sangre se observó tamaño, color y presencia de beta, gamma o alfa hemólisis, mientras que para el agar Baird Parker se observó color, tamaño y presencia o usencia de halo (Figura 6).

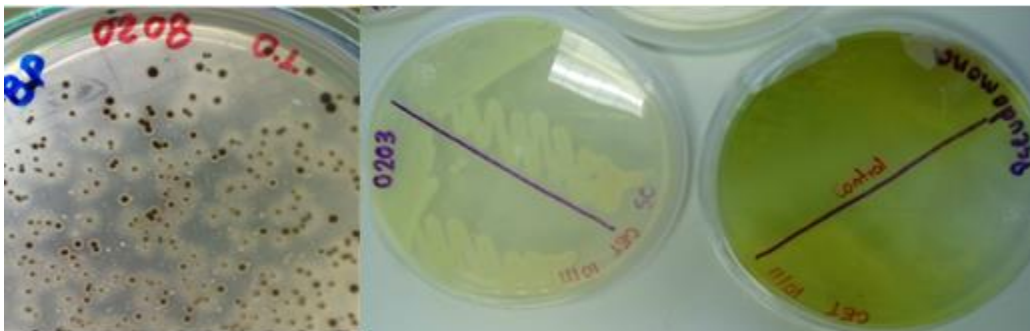


Figura 6: Crecimiento bacteriano en medio de cultivo Baird Parker (derecha), crecimiento bacteriano en agar Cetrimide en comparación con crecimiento de *Pseudomonas spp* (izquierda).

De cada una de las colonias sospechosas se tomó una asada y se colocó en un porta objetos para realizar tinción Gram y poder observar las características propias para cada género de bacterias; como es el caso de *Staphylococcus* donde se observaron cocos esféricos, Grampositivos que por lo general están dispuestos de forma irregular como racimos de uvas, para *Streptococcus* y *Enterococcus* se observaron células de forma esférica u ovoide de menos de 2 μm de diámetro, Grampositivas e inmóviles con tendencia a formar cadenas o parejas; mientras que para la familia *Enterobacteriaceae* se buscaron células con forma de bacilos, gramnegativos de 2-4 μm por 0.4-0.6 μm sin espora (Figura 7).

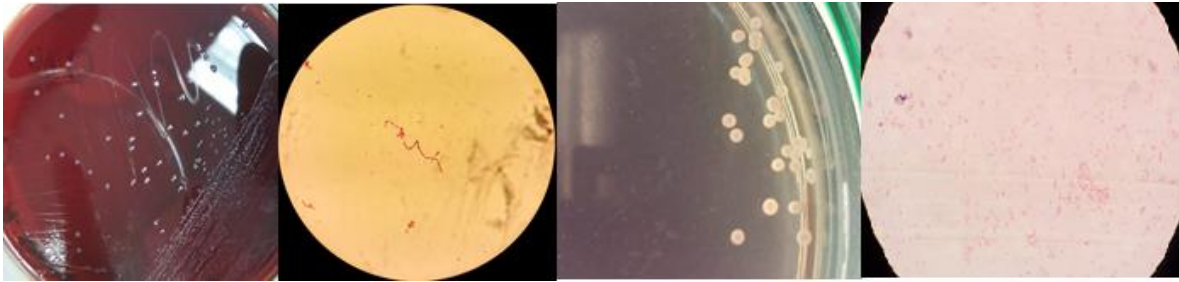


Figura 7: Macroscopía y microscopía de *Streptococcus agalactiae* (derecha), macroscopía y microscopía de *Acinetobacter baumannii* (izquierda).

4. Siembra en medios de cultivo diferenciales o medios de cultivos cromogénicos:

Los medios de cultivo diferenciales permitieron poner de manifiesto las características distintivas de las colonias de los microorganismos que se pretendía identificar, distinguiéndolas de grupos bacterianos en función del color. Los medios cromogénicos utilizados para el género *Staphylococcus* fueron Baird Parker junto con el medio de cultivo Manitol salado, en donde el cambio de color permitió identificar dos grandes grupos: *Staphylococcus coagulasa negativo* (SCN) y *Staphylococcus coagulasa positivo*. Para el género de *Streptococcus* se utilizó el medio Bilis Esculina, en donde la formación de un compuesto color verde oliva o negro permitió diferenciarlas del género *Enterococcus*, ya que estas bacterias son las únicas que pueden hidrolizar la esculina del medio. Para la familia *Enterobacteriaceae* específicamente *Escherichia coli*, se utilizó el medio de cultivo EMB en donde las colonias características de esta bacteria producen un color verde metálico, mientras que para el medio Rapid HiColiform, se observó un color verde fluorescente que podía ser visible al exponerse a una luz ultravioleta (Figura 8).

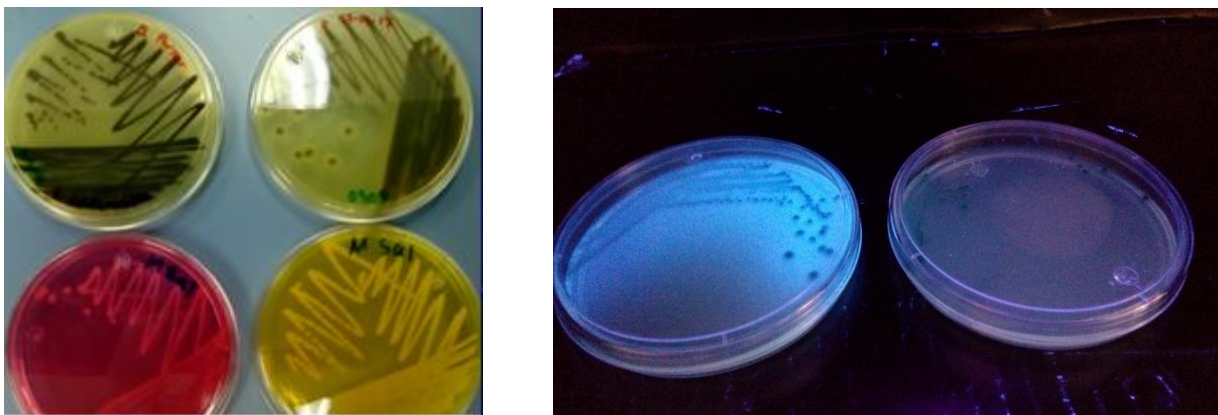


Figura 8: *Staphylococcus coagulasa negativo* en medio Baird Parker y Manitol Salado color rojo y *Staphylococcus aureus* en Baird Parker y manitol salado color amarillo (izquierda), *Escherichia coli* (colonias positivas son fluorescentes a luz ultravioleta en cámara de oscuridad y negativas cuando carecen de fluorescencia) en medio Rapid Hicoliform (derecha).

Los medios de cultivo inoculados se incubaron por un período de 24 hrs a 48 horas. En atmósfera de aerobiosis (género *Enterobacteriaceae* y *Staphylococcus*) y anaerobiosis (Género *Enterococcus* y *Streptococcus*). Transcurrido el tiempo de incubación, se inocularon en medios de cultivo nutritivos las colonias sospechosas para poder obtener colonias puras y posteriormente realizar las pruebas bioquímicas.

5. Pruebas bioquímicas: para determinar las características metabólicas de las bacterias aisladas, se realizaron diferentes pruebas bioquímicas de acuerdo a los requerimientos metabólicos de cada bacteria, para *Staphylococcus aureus* y SCN se utilizó la prueba de coagulasa, prueba de DNAsa y la prueba de catalasa; para el género *Streptococcus* se realizó la prueba de catalasa, CAMP, Voges Proskauer, prueba de sorbitol y lactosa, para la identificación de *Enterococcus* se utilizaron las pruebas de crecimiento en cloruro de sodio (NaCl) al 6.5%, crecimiento a 45°C, sorbitol y rafinosa, y por último para la familia *Enterobacteriaceae* las pruebas bioquímicas utilizadas para su identificación fueron la prueba IMViC, que incluye la prueba de rojo de metilo, la reacción Voges Proskauer y la prueba de citrato, también se realizó la prueba de movilidad y oxidasa. Para el caso de *Vibrio* spp, *Bordetella* spp y *Acinetobacter baumannii* se utilizó el kit comercial de pruebas bioquímicas API E20 (Figura 9).



Figura 9: Pruebas bioquímicas IMViC positiva a *Escherichia coli*, prueba bioquímica comercial API E20 positivo a *Acinetobacter baumannii*.

b) Determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos por el método de disco difusión: Se realizó el procedimiento para la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión de acuerdo a los estándares aprobados por el NCCLS (2002) para bacterias aisladas de muestras animales. El medio de cultivo de elección fue el Agar Müller-Hinton y su preparación fue de acuerdo a lo establecido por el fabricante. Para los microorganismos del género *Streptococcus* y *Enterococcus* se le añadió al medio de cultivo 5% de sangre.

Los antimicrobianos que se evaluaron fueron: Trimetoprim-Sulfametoxazol (SXT) 1.25/23.75 µg, Ampicilina (AMP) 10 µg, Penicilina G Procaínica (PEN) 10 UI, Amoxicilina con ácido clavulánico (AMC) 20/10 µg, Oxitetraciclina (OXI) 30 µg, Enrofloxacin (ERX) 10 µg, Gentamicina (GEN) 10 µg, Eritromicina (ERI) 15 µg, Neomicina (NEO) 30 µg y Ciprofloxacina (CIP) 5 µg.; ya que estos antimicrobianos son de uso frecuente en las ganaderías en estudio y son recomendados por la bibliografía consultada para el tratamiento de mastitis (Valencia *et al* 2003; Acuña *et al* 2008; Ruiz *et al* 2010; Pyörälä 2011).

1. Preparación del inóculo: se preparó el inóculo en solución salina estéril al 0.9% a partir de colonias seleccionadas de una placa de cultivo puro de 18 a 24 horas de incubación. Inmediatamente la suspensión se ajustó a la escala 0.5 de McFarland haciendo uso de un turbidímetro.

2. Inoculación de las placas: posteriormente al ajuste del inóculo, se sumergió un hisopo estéril en la suspensión y luego se presionó firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo. Se inoculó la superficie seca de la placa con agar Müller Hinton, estriando con el hisopo en tres direcciones para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos.

3. Aplicación de los discos: se colocaron los discos antibióticos sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril, haciendo presión suavemente sobre cada uno de ellos para asegurar un contacto completo con la superficie del agar. Los discos se ubicaron de modo que estuvieran a una distancia mínima de 25 mm uno del otro para evitar la superposición de las zonas de inhibición.

4. Incubación: las placas se incubaron en posición invertida a 35°C, dentro de los 15 minutos posteriores a la aplicación de los discos. Transcurrido el tiempo de incubación, se examinó cada placa y se midieron los diámetros de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

5. Lectura e interpretación de resultados: la placa Petri se observó con luz y con fondo negro para visualizar mejor el halo de inhibición y así poder medir el diámetro haciendo uso de un pie de Rey. Los diámetros de inhibición se interpretaron con base a las tablas propuestas por NCCLS (2002) (Anexo 4) y la sensibilidad de cada cepa bacteriana se reportó como sensible (S), intermedio (I) y resistente (R) de acuerdo a los resultados (Figura 10).

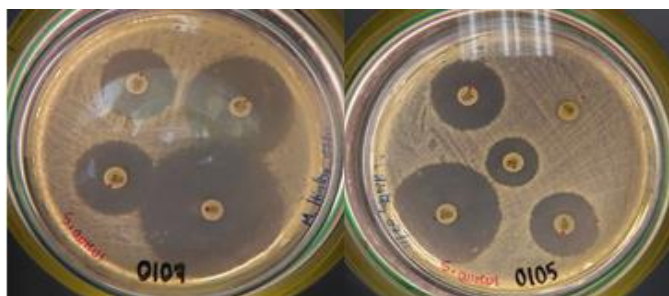


Figura 10: Lectura de resultados antibiograma para *Staphylococcus aureus*.

3.4 Metodología Estadística

Se realizó un estudio observacional el cual se utilizó un diseño descriptivo transversal para describir y observar el patrón de mastitis clínica y subclínica, las bacterias patógenas aisladas y su multirresistencia.

Para la determinación de la frecuencia de mastitis clínica y subclínica, las bacterias patógenas aisladas y su multirresistencia (fracción de la población enferma en un período de tiempo determinado) se utilizó la siguiente fórmula (Martín *et al* 1997):

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{n}^\circ \text{ de animales con enfermedad en un periodo de tiempo}}{\text{n}^\circ \text{ de animales en riesgo en ese periodo de tiempo}} \times 100$$

4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1 Resultados de Prueba de California para mastitis.

La investigación se llevó a cabo en tres ganaderías bovinas del Municipio de Agua Caliente, Departamento de Chalatenango, las cuales promediaban de 40 a 80 animales en ordeño manual. Se realizó la prueba de CMT a un total de 154 animales, resultando 46 (29.87%) animales positivos a algún grado de mastitis (Cuadro 3). De este porcentaje, 28 (60.9%) corresponde a mastitis subclínica y 18 (39.1%) a mastitis clínica.

Cuadro 3. Resultados de prueba de California para mastitis en bovinos en ordeño por unidad productiva.

Unidades productivas	Bovinos positivos	Bovinos Negativos	TOTAL
Ganadería 1	23 (28.75%)	57 (71.25%)	80
Ganadería 2	14 (35.00%)	26 (65.00%)	40
Ganadería 3	9 (26.47%)	25 (73.52%)	34
TOTAL	46 (29.87%)	108 (70.12%)	154

Diferentes autores indican que la prevalencia de cualquier tipo de mastitis en un hato lechero se encuentra entre el 15% y 60% (Ruiz 2012; Martínez y Moreno 2013). El resultado obtenido en esta investigación en cuanto a la prevalencia de mastitis fue de 29.87%, que resulta mayor al obtenido en Ecuador por Acuña *et al* (2008) y en Costa Rica por Mora *et al* (2015) quienes reportaron un 10.67% y 11.6% respectivamente; siendo similar a lo reportado en Venezuela por Scaramelli y González (2005), en El Salvador por Mangandi (2008) y en Cuba por Alfonso *et al* (2008) que obtuvieron resultados que oscilan entre 23.6% y 33.33%; y resultando significativamente menor a lo reportado en México por Pastor y Bedolla (2008), en Irán por Kasravi *et al* (2010), en Brasil por Ruiz *et*

al (2011) y en Colombia por Morales (2011), cuyos resultados oscilan entre el 38% al 60% de mastitis.

Del total de vacas positivas a CMT, se clasificó al 60.9% como mastitis subclínica, el cual fue mayor al 39.1% de mastitis clínica (Cuadro 4); siendo similar a lo reportado en investigaciones realizadas en México, Colombia y Perú (Ávila *et al* 2002; Calderón *et al* 2010; Gerlach *et al* 2009; Pastor *et al* 2010; Santivañez *et al* 2013).

Las variaciones de los porcentajes de prevalencia de mastitis en esta investigación podrían estar influenciadas por el número de animales en estudio, tipo de ordeño, higiene durante la rutina de ordeño, instalaciones, condiciones climáticas, entre otras.

Cuadro 4. Prevalencia de mastitis subclínica y clínica en bovinos positivos a CMT por unidad productiva.

Ganadería	Mastitis clínica	Mastitis subclínica	Total de animales
Ganadería 1	10 (55.55%)	13 (46.42%)	23
Ganadería 2	5 (27.77%)	9 (32.14%)	14
Ganadería 3	3 (16.66%)	6 (21.42%)	9
TOTAL	18 (39.10%)	28 (60.90%)	46

4.2 Resultado de aislamiento microbiológico.

De las muestras obtenidas de vacas positivas a CMT se aislaron 19 microorganismos involucrados en la patogénesis de la mastitis bovina (Cuadro 5), siendo los géneros más frecuentes *Staphylococcus* (29.7%), *Enterococcus* (27.4%) y *Escherichia* (17.85%).

El género *Staphylococcus*, es uno de los géneros de bacterias más comúnmente aislados en las mastitis bovinas (Del Cura 2008). La mastitis relacionada con los microorganismos de este género es bastante frecuente en el ganado bovino ordeñado tanto manual como mecánicamente, presentándose con cuadros inflamatorios severamente agudos y crónicos (Rojas 2009). Dentro de este género, *Staphylococcus aureus* fue el más aislado con una frecuencia de 22.61%, la cual es similar a lo reportado en Uruguay por Giannechini *et al* (2014) y por Bonifaz y Conlago (2016) en Ecuador, quienes obtuvieron un 27.8% y un 29.09% respectivamente. Siendo mayor a lo obtenido en Venezuela por Valero – Leal *et al* (2010) y en Cuba por Relova *et al* (2008) que reportaron un 1.20% y 17% de *S. aureus* respectivamente; y menor a los hallazgos encontrados en Colombia por Valencia *et al* (2003) quien reportó un 44.44% y en Chile por San Martín *et al* (2009) con un 55.53%. Los diferentes grados de patogenicidad de *S.aureus* influyen en la variabilidad en los porcentajes de aislados en mastitis (Pellegrino *et al* 2011; Fernández *et al* 2012). El alto porcentaje de *S. aureus* encontrado en las ganaderías estudiadas podría estar influenciado por la deficiencia de buenas prácticas de ordeño que permiten la diseminación de este microorganismo en las ganaderías. Dentro del mismo género se aisló en menor proporción *S. epidermidis* con un 4.76% y *Staphylococcus coagulasa* negativo con un 2.38%.

Cuadro 5. Microorganismos aislados causantes de mastitis.

GENEROS	MICROORGANISMO	TOTAL DE AISLAMIENTOS	Porcentaje
Staphylococcus	1. <i>Staphylococcus aureus</i>	19	22.61
	2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	4.76
	3. <i>Staphylococcus coagulasa</i> negativo	2	2.38
	SUBTOTAL	25	29.7
Enterococcus	4. <i>Enterococcus durans</i>	8	9.52
	5. <i>Enterococcus faecalis</i>	5	5.95
	6. <i>Enterococcus spp</i>	4	4.76
	7. <i>Streptococcus bovis</i>	4	4.76
	8. <i>Enterococcus faecium</i>	2	2.38
	SUBTOTAL	23	27.4
Escherichia	9. <i>Escherichia coli</i>	15	17.85
Enterobacter	10. <i>Enterobacter aerogenes</i>	3	3.57
Klebsiella	11. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2.38
	SUBTOTAL	20	23.8
Streptococcus	12. <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4	4.76
	13. <i>Streptococcus agalactiae</i>	2	2.38
	14. <i>Streptococcus uberis</i>	2	2.39
	SUBTOTAL	8	9.52
Vibrio	15. <i>Vibrio fluvialis</i>	2	2.38
Bacillus	16. <i>Bacillus subtilis</i>	1	1.19
Bordetella	17. <i>Bordetella spp</i>	1	1.19
Acinetobacter	18. <i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1.19
	SUBTOTAL	5	5.95
Candida	19. <i>Candida spp</i>	3	3.57
	SUBTOTAL	3	3.57
	TOTAL	84	100%

Streptococcus bovis pertenece al serogrupo D de Lancefield, incluido dentro del grupo de cocos incapaces de multiplicarse en condiciones hostiles, pertenecientes al género *Enterococcus* (Stanchi 2007).

Con respecto al género de *Enterococcus* se aisló un 27.37% en las muestras de leche incluyendo *E. durans* (9.52%), *E. faecalis* (5.95%), *Enterococcus spp* (4.76%), *S. bovis* (4.76%) y *E. faecium* (2.38%). El porcentaje obtenido del género *Enterococcus* es considerablemente alto en comparación al 9.52% reportado por Valencia *et al* (2003) y el 1.82% aislado por Calderón *et al* (2011) en diferentes departamentos de Colombia. Debido a que *Enterococcus* forman parte de la flora intestinal normal de humanos y animales, su presencia en leche es un indicativo de contaminación fecal y un reflejo de la deficiencia de las buenas prácticas de ordeño.

Dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, se identificaron tres géneros; *Escherichia*, *Klebsiella* y *Enterobacter* que en conjunto representaron un 23.8% de aislamientos, siendo *Escherichia coli* la bacteria más frecuente con un 17.85%. El porcentaje obtenido para esta bacteria es alto en comparación al 4.76% y 0.60% encontrado en investigaciones realizadas en Colombia por Valencia *et al* (2003) y Calderón *et al* (2011)

respectivamente, al igual que el 2.1% encontrado en ganaderías de Pernambuco en Brasil por Ruiz *et al* (2011) y el 3.8% reportado en Paraguay por Aponte (2007). Un porcentaje mayor fue encontrado en Chile por Azocar (2001) y San Martín (2009), quienes reportaron porcentajes entre el 20% al 40.76% respectivamente.

Los microorganismos encontrados con menor frecuencia dentro de esta familia fueron *Enterobacter aerogenes* (3.57%) y *Klebsiella pneumoniae* (2.38%). Los géneros identificados actúan como agentes etiológicos de la mastitis bovina de origen ambiental ya que son habitantes de la flora normal del tracto intestinal del ser humano y los animales, es decir que la infección de mastitis causada por estos microorganismos puede variar de acuerdo a las condiciones e higiene de las instalaciones en que se encuentren los animales (Ruíz 2017; Bonifaz y Conlago 2016). Otros factores que podrían justificar la presencia de estas bacterias son las condiciones climáticas de los meses en que se realizó la toma de muestras, que se caracterizaron por ser cálidos y húmedos lo que podría estar contribuyendo a la proliferación y persistencia de estas bacterias en el medio ambiente.

En esta investigación, con respecto al género *Streptococcus* se logró identificar un 9.52% de aislados, de los cuales se identificó a *S. dysgalactiae* como el más frecuente con un 4.76%, siendo un resultado alto en comparación al porcentaje de 0.8% encontrado por Aponte (2007) en Uruguay y menor al 13% reportado por Bonifaz y Conlago (2016) en Ecuador. Dentro del mismo género y en menor porcentaje se aisló a *Streptococcus uberis* (2.38%) y *Streptococcus agalactiae* (2.38%). Las bacterias del género *Streptococcus* se caracterizan por actuar como microorganismos contagiosos y ambientales y por su capacidad de resistir a la fagocitosis y al ataque de los leucocitos, pudiendo producir mastitis crónicas (Jones y Swisher 2009).

También se aisló un 5.95% de microorganismos oportunistas que pueden infectar los cuartos mamarios de forma infrecuente (Stanchi 2007), de los cuales el 2.38% se identificó como *Vibrio fluvialis*, el 1.19% como *Bordetella spp*, el 1.19% como *Bacillus subtilis* y el 1.19% como *Acinetobacter baumannii*.

Con respecto a *A. baumannii*, a pesar de que ha sido generalmente vinculado con infecciones de origen nosocomial en pacientes inmunocomprometidos es también un patógeno emergente de gran importancia en medicina veterinaria (Müller *et al* 2014). En Suiza, Edimiani *et al* (2011) reportaron aislados de *A. baumannii* en animales de compañía que padecían de infecciones de origen nosocomial. En cuanto a su relación con la mastitis bovina, se han realizado estudios para determinar su prevalencia y susceptibilidad antimicrobiana en tanques de leche en Corea por Gurung *et al* (2013) quienes reportaron un 32.4% de aislados, un resultado significativamente alto en comparación a lo obtenido en esta investigación (1.19%), siendo similar al 1.3% obtenido en Estados Unidos por Jayarao y Wang (1999) y mayor al 0.3% reportado en Corea por Nam *et al* (2010). Debido a la diversa procedencia de este género, la presencia de *A. baumannii* en vacas con mastitis se podría deber a la contaminación de la superficie de la

ubre, glándulas mamarias infectadas, máquinas de ordeño, sistemas de transporte de la leche y uso de agua contaminada para el lavado de la ubre o el equipo de ordeño (Gurung *et al* 2013; Dinesh *et al* 2016).

De igual forma se obtuvo un 3.57% de aislados de *Candida spp* del total de muestras evaluadas. Esta especie de levaduras es propia del medio ambiente y pueden ser responsables de casos esporádicos de mastitis (Andersen 2008). Estas son encontradas cuando otros patógenos están invadiendo la ubre y están produciendo casos de mastitis subclínica o clínica, es decir que son considerados microorganismos que producen infecciones secundarias (Canadian Bovine Mastitis and Milk Quality Research Network 2010).

Como puede apreciarse se obtuvo una diversidad de aislamientos bacterianos, lo cual es característico de las mastitis bovinas, lo que la convierte en una patología muy compleja por su múltiple etiología (Valero-Leal *et al* 2010) (Anexo-5). Al clasificar los diferentes microorganismos aislados en contagiosos y ambientales (Cuadro 6), se evidenció que hubo un predominio de los microorganismos ambientales (66.85%) en comparación con los microorganismos contagiosos (33.35%).

Cuadro 6. Distribución de los patógenos contagiosos y ambientales en las ganaderías estudiadas.

TIPOS DE PATÓGENOS			
GANADERÍA	CONTAGIOSOS (%)	AMBIENTALES (%)	TOTAL
Ganadería 1	42.10 (8)	57.90 (30)	38
Ganadería 2	57.89 (11)	42.11 (14)	25
Ganadería 3	42.86 (9)	57.14 (12)	21
% Total	33.35 (28)	66.85 (57)	84

Estos resultados difieren con investigaciones realizadas en Guatemala, Colombia, Argentina, Chile y Uruguay, en donde se reportaron como principales responsables de causar infecciones intramamarias a los patógenos contagiosos, con un marcado predominio de *S. aureus* y *S. agalactiae* (López 2008; Calderón *et al* 2011; Pellegrino *et al* 2011; Azocar 2011; Giannechini *et al* 2014).

Sin embargo, en la última década uno de los mayores cambios en la epidemiología de la mastitis ha sido el incremento de la importancia de los patógenos ambientales, principalmente los *Streptococcus* y coliformes (Chaves 2000). Las mastitis causadas por patógenos ambientales, por sí mismas, rara vez son lo suficientemente frecuentes y persistentes; sin embargo, del 100% de las mastitis clínicas el 66 % pueden ser provocadas por *Streptococcus* ambientales o bien por coliformes con un 85 %, por lo cual su identificación en ganaderías lecheras debe ser considerada.

En cuanto a la presencia de los microorganismos aislados según el tipo de mastitis, se pudo observar que para la mastitis subclínica se obtuvieron 47 aislamientos de distintas especies bacterianas, de los cuales los más representativos fueron *S. aureus* (23.4%), *E. coli* (14.8%) y *E. faecalis* (10.6%); mientras que para mastitis clínica se obtuvo una

cantidad de 36 aislados, siendo los más representativos *S. aureus* (25.0%), *E. coli* (22.2%) y *E. durans* (11.1%) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Microorganismos aislados según el tipo de mastitis.

MASTITIS SUBCLÍNICA			MASTITIS CLÍNICA		
Microorganismo	#aislamientos	%	Microorganismo	#aislamientos	%
<i>S. aureus</i>	10	21.7%	<i>S. aureus</i>	9	25.0%
<i>E. coli</i>	7	14.8%	<i>E. coli</i>	8	22.2%
<i>E. faecalis</i>	5	10.6%	<i>E. durans</i>	4	11.1%
<i>E. durans</i>	4	8.5%	<i>S. epidermidis</i>	2	5.5%
<i>E. aerogenes</i>	3	6.3%	<i>S. dysgalactiae</i>	2	5.5%
<i>E. spp</i>	3	6.3%	<i>K. pneumoniae</i>	1	2.7%
<i>S. bovis</i>	3	6.3%	<i>S. bovis</i>	1	2.7%
<i>S. dysgalactiae</i>	2	4.2%	<i>E. spp</i>	1	2.7%
<i>S. epidermidis</i>	2	4.2%	<i>S. uberis</i>	1	2.7%
<i>V. fluvialis</i>	2	4.2%	<i>Candida spp</i>	1	2.7%
<i>Candida spp.</i>	1	2.1%	<i>Bordetella spp.</i>	1	2.7%
<i>S. agalactiae</i>	1	2.1%	SCN	1	2.7%
<i>S. uberis</i>	1	2.1%	<i>E. faecalis</i>	1	2.7%
<i>E. faecium</i>	1	2.1%	<i>S. epidermidis</i>	1	2.7%
SCN	1	2.1%	<i>S. agalactiae</i>	1	2.7%
			<i>A. baumannii</i>	1	2.7%
TOTAL	46		TOTAL	36	

SCN (*Staphylococcus coagulasa* negativo).

Sin embargo, se puede apreciar que el microorganismo patógeno con mayor prevalencia en ambos tipos de mastitis en las haciendas estudiadas fue *S. aureus*. Estos resultados concuerdan con lo reportado en Uruguay, en donde se obtuvo una prevalencia de 19.8% en mastitis subclínica y un 27.8 % en mastitis clínica, siendo mayor a la de los demás microorganismos aislados (Giannechini *et al* 2014). Esta bacteria, debido a su carácter contagioso es de fácil propagación en la ganadería si no se toman las medidas apropiadas de control y lo convierten en un agente importante en el recuento elevado de células somáticas, ocasionando un impacto negativo en la producción y calidad de la leche (Bolaños *et al* 2012). De igual manera, la presencia de *E. coli* y *Enterococcus* en hatos lecheros podría atribuirse a deficiencias higiénicas en el ordeño y el medio ambiente de las vacas, ya que estos microorganismos infectan las ubres de las vacas por contaminación directa de los pezones con heces.

4.3 Resultados de antibiograma.

Se evaluaron los perfiles de resistencia a 15 microorganismos aislados, con excepción a las cepas aisladas de *Vibrio fluvialis*, *Bacillus spp.*, *Bordetella spp* y *Candida spp*, frente a diez antimicrobianos de uso más frecuente pertenecientes a la familia de las penicilinas, quinolonas, tetraciclinas, sulfonamidas, aminoglucósidos y macrólidos; siendo los antimicrobianos evaluados Penicilina G Procaínica (PEN), Amoxicilina con ácido

clavulánico (AMC), Ampicilina (AMP), Enrofloxacin (ERX), Ciprofloxacina (CIP), Oxitetraciclina (OXI), Trimetoprim-sulfametoxazol (SXT), Gentamicina (GEN), Neomicina (NEO) y Eritromicina (ERI). Los aislamientos fueron categorizados como sensibles (S), susceptibilidad intermedia (I) y resistentes (R) de acuerdo a los parámetros establecidos por la NCCLS (2002). Los microorganismos que presentaron resistencia a dos o más familias de antibióticos se clasificaron como multirresistentes.

4.3.1 Género *Staphylococcus*

El resultado del antibiograma realizado a las cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* (19), demostró que el 57.89% presenta resistencia a Oxitetraciclina, el 47.36% a Penicilina y Ampicilina, y el 5.26% a Enrofloxacin (Figura 11) (Anexo- 6).



Figura 11: Perfil de resistencia de *Staphylococcus aureus*

Los resultados obtenidos son similares a los encontrados en Jordania por Alekish y Al-Qudah (2013), quienes reportaron un 77.7% de resistencia de las cepas aisladas de *S. aureus* para la Oxitetraciclina. En cuanto a los porcentajes de resistencia de la Ampicilina y Penicilina, estudios en Chile, India y Jordania, reportaron rangos de 25% al 77.7% de resistencia de las cepas aisladas de *S. aureus* (San Martín *et al* 2009; Alekish y Al-Qudah 2013; Khan 2013). En cuanto a los resultados de resistencia a Enrofloxacin, esta no muestra porcentajes altos, ya que no es un medicamento totalmente indicado para su uso en tratamiento de mastitis bovinas, sin embargo, en los últimos años se ha venido incorporando en la terapia de secado en vacas en ordeño y para el tratamiento de mastitis clínica causada por *Staphylococcus*. Los antibióticos con mayor sensibilidad para *S. aureus* fueron Ciprofloxacina, Trimetoprim-sulfa y Neomicina en un 100%, por lo que su uso puede ser considerado para el tratamiento de la mastitis causada por *S. aureus*.

Mientras que para los aislados de *S. epidermidis* (4), el 75% de las cepas mostraron resistencia a Oxitetraciclina, el 50% a Ampicilina, y el 25% a Gentamicina y Eritromicina,

siendo los antibióticos con mayor sensibilidad Amoxicilina más Ácido clavulánico, Enrofloxacina, Ciprofloxacina Trimetoprim-sulfametoxazol y Neomicina en un 100% (Figura 12) (Anexo- 7).

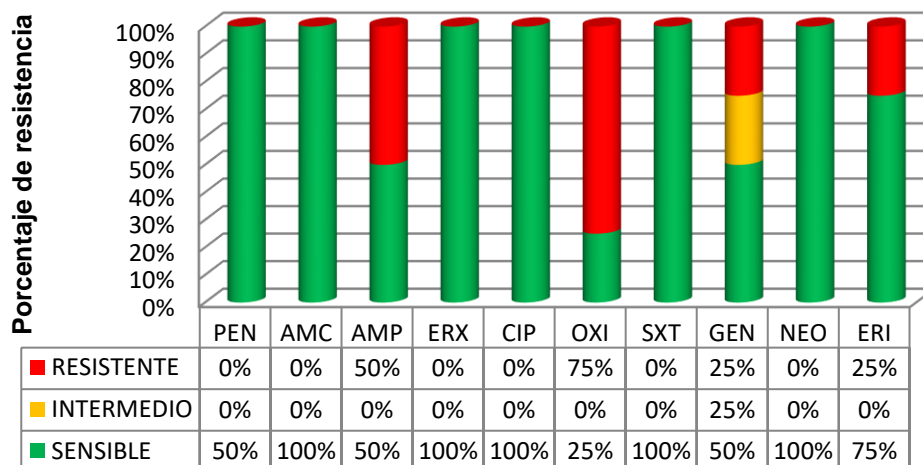


Figura 12: Perfil de resistencia de *Staphylococcus epidermidis*

Los aislados de *Staphylococcus coagulasa* negativo (SCN) (2) presentaron sensibilidad a los antibióticos evaluados de las familias de Penicilinas, Sulfas, Aminoglucósidos y Macrólidos, caso contrario para la Oxitetraciclina que mostró una resistencia del 100% y un 50% para Ciprofloxacina (Figura 13) (Anexo-8).

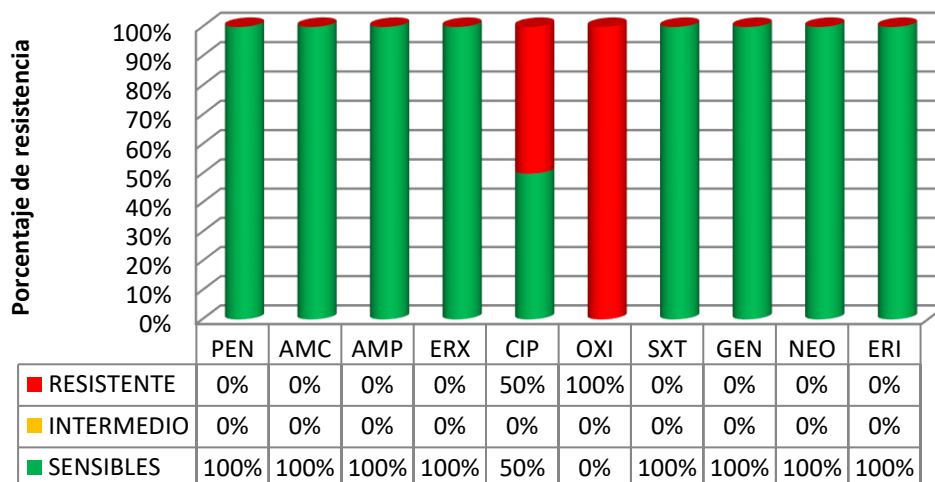


Figura 13: Perfil de resistencia de *Staphylococcus coagulasa* negativo

4.3.2 Género *Enterococcus*

De las cepas aisladas de *Enterococcus durans* (8), el 37.5% fueron resistentes a Eritromicina y Ampicilina, y el 12.5% a Oxitetraciclina y Gentamicina, siendo Amoxicilina más Ácido clavulánico, Enrofloxacina y Ciprofloxacina los antibióticos con mayor sensibilidad en un 100% (Figura 14) (Anexo-9).

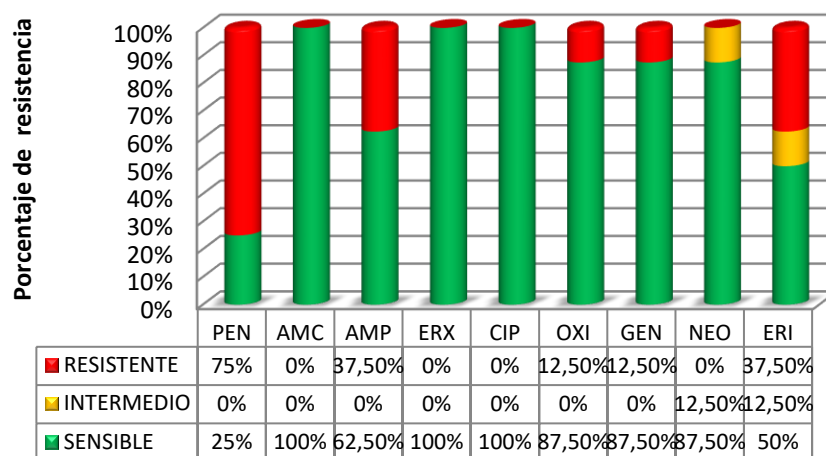


Figura 14: Perfil de resistencia de *Enterococcus durans*

De las cepas aisladas de *E. faecium*, el 50% presentaron resistencia intermedia a Oxitetraciclina. Los antibióticos con mayor sensibilidad fueron Enrofloxacina y Neomicina en un 100% (Figura 15) (Anexo-10). De igual forma, del total de los aislados de *Enterococcus faecalis* (4) el 50% mostraron resistencia a Neomicina, y el 25% a Oxitetraciclina, mientras que para Penicilina, Amoxicilina más Ácido clavulánico, Ampicilina, Enrofloxacina, Ciprofloxacina, Gentamicina y Eritromicina se observó un 100% de sensibilidad (Figura 16) (Anexo- 11).

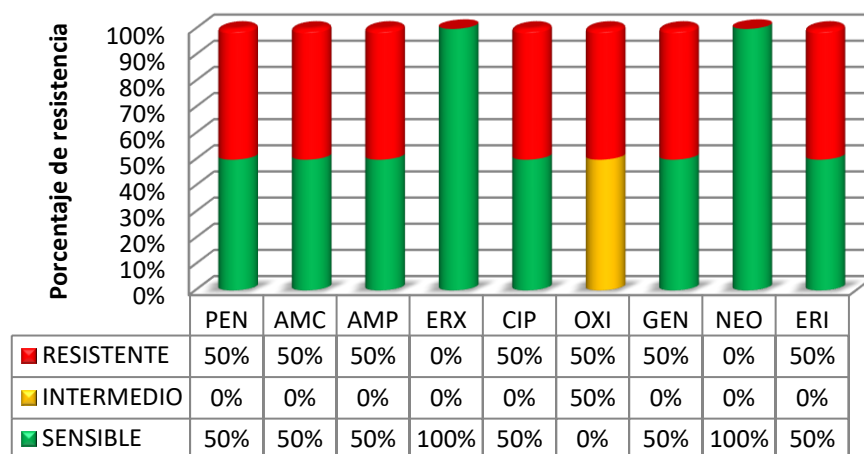


Figura 15: Perfil de resistencia de *Enterococcus faecium*

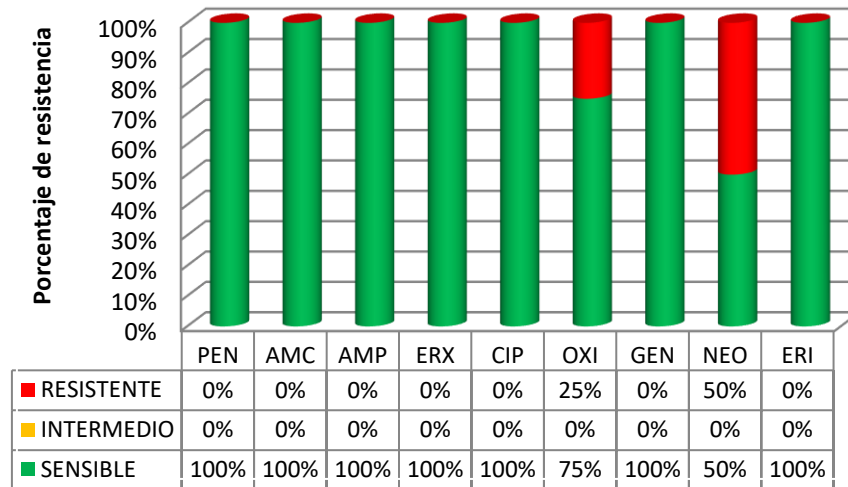


Figura 16: Perfil de resistencia *Enterococcus faecalis*.

Para los aislados de *Enterococcus spp.* (4) el 25% de ellos mostraron resistencia a Penicilina, Ampicilina, Enrofloxacina, Ciprofloxacina, Oxitetraciclina y Eritromicina. Los antibióticos con mayor sensibilidad fueron Amoxicilina más Ácido clavulánico, Enrofloxacina, Gentamicina y Neomicina en un 100% (Figura 17) (Anexo-12); mientras que para las 5 cepas aisladas de *S. bovis* únicamente el 20 % (1) mostraron resistencia a Eritromicina y el 40% a Oxitetraciclina (Figura 18) (Anexo-13).

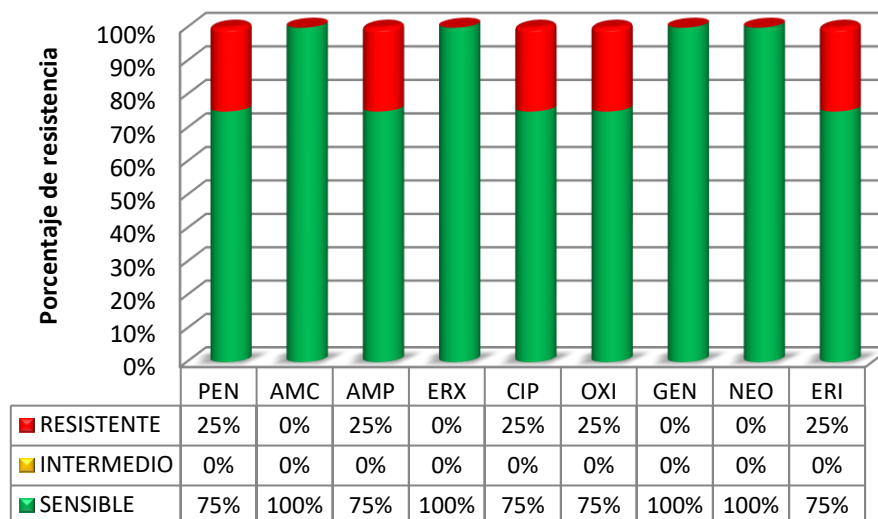


Figura 17: Perfil de resistencia de *Enterococcus spp.*

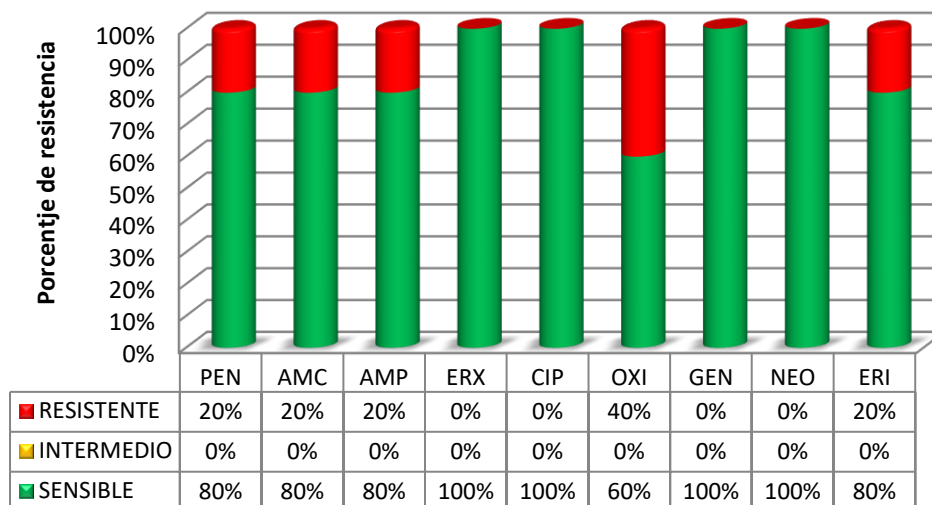


Figura 18: Perfil de resistencia de *Streptococcus bovis*

Los antibióticos con mayor sensibilidad fueron Enrofloxacina, Ciprofloxacina, Gentamicina y Neomicina con un 100%. La multirresistencia antimicrobiana en cepas de *E. faecalis* y *E. faecium* se han incrementado en cuanto a su asociación con infecciones de origen nosocomial. Lo cual es de particular interés debido al potencial que demuestran los alimentos como vehículo de transmisión de estas cepas al ser humano, debido a la capacidad de los *Enterococcus* que al ser ingeridos pueden sobrevivir el paso gástrico, multiplicarse y colonizar el tracto gastrointestinal por una significativa cantidad de tiempo.

De hecho existe fuerte evidencia epidemiológica que vincula el uso de antibióticos en medicina humana y producción animal con la presencia de cepas resistentes en productos de origen animal, como es el caso de la leche cruda (Johnston y Jaykus 2004).

4.3.3 Géneros *Escherichia*, *Enterobacter* y *Klebsiella*

Los resultados del antibiograma de las 15 cepas de *Escherichia coli* demostraron que el 93% de cepas aisladas fueron resistentes a Penicilina, el 60% a Eritromicina, el 26.66% a Oxitetraciclina y el 6.66% a Ampicilina; siendo los antibióticos con mayor sensibilidad Enrofloxacina, Ciprofloxacina, Trimetoprim-sulfametoxazol y Gentamicina en un 100% (Figura 19) (Anexo-14).

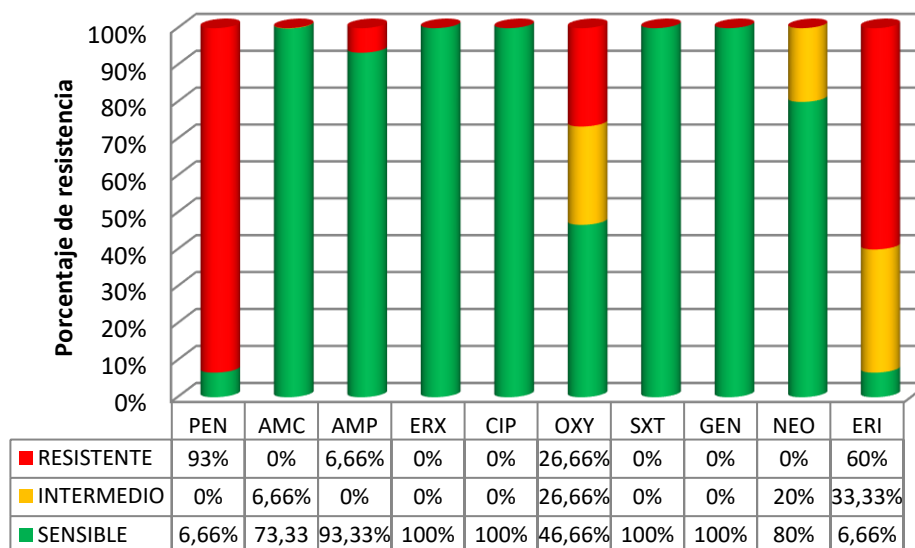


Figura 19: Perfil de resistencia de *Escherichia coli*

Así también, en Chile, se han reportado altos niveles de resistencia a Penicilina (superiores al 70%) en cepas de *E. coli* aisladas de mastitis clínica (San Martín *et al* 2002; Figueroa 2004). La baja sensibilidad se puede atribuir al uso excesivo de este fármaco, ya que en estas últimas décadas ha sido empleada masivamente, y es considerado de primera elección para muchas enfermedades de origen bacteriano en el ganado bovino (San Martín *et al* 2009).

Para los aislados de *E. aerogenes* (3) el 66.6% mostraron resistencia intermedia a la Oxitetraciclina, mientras que los antibióticos con mayor sensibilidad fueron Enrofloxacina, Ciprofloxacina, Trimetoprim-sulfametoxazol y Gentamicina en un 100% (Figura 20) (Anexo-15).

De las cepas aisladas de *Klebsiella pneumoniae* (2) el 50% presentó resistencia intermedia a Neomicina y Eritromicina. Los antibióticos con mayor sensibilidad fueron Enrofloxacina, Ciprofloxacina, Oxitetraciclina, Trimetoprim-sulfametoxazol, Gentamicina y Neomicina en un 100% (Figura 21) (Anexo- 16).

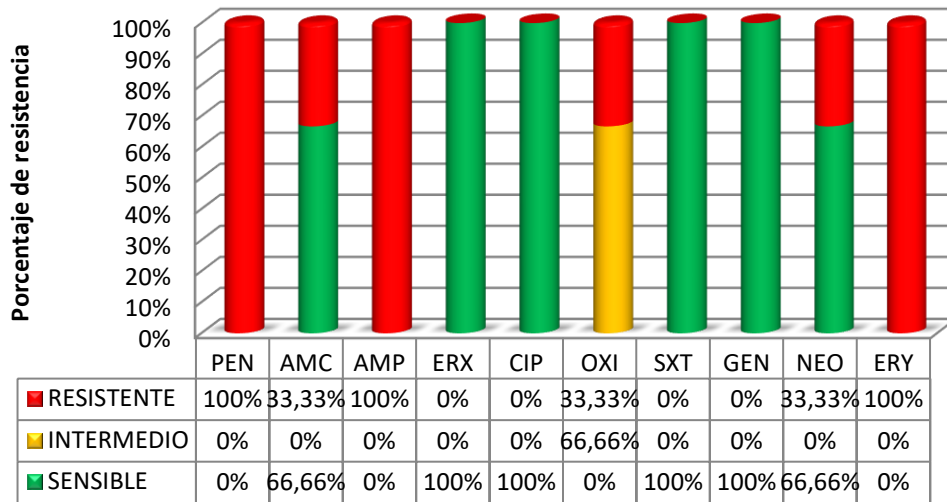


Figura 20: Perfil de resistencia de *Enterobacter aerogenes*

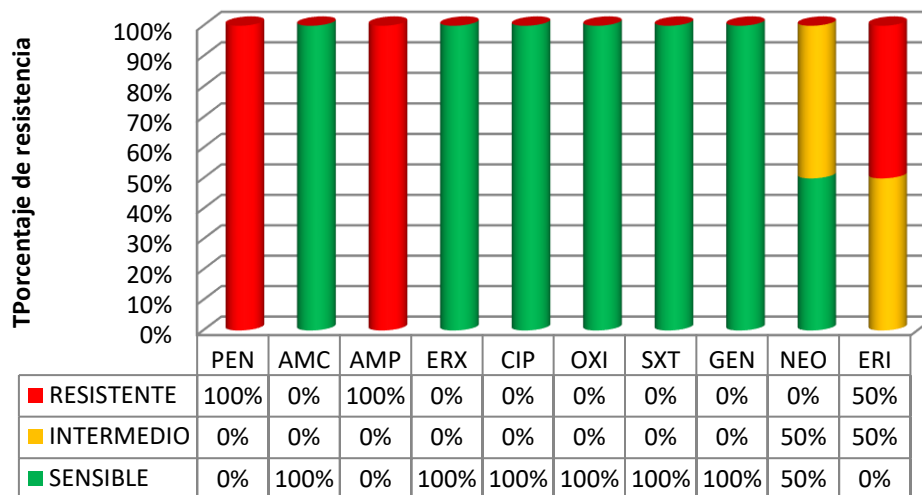


Figura 21: Perfil de resistencia de *Klebsiella pneumoniae*

4.3.4 Género *Streptococcus*

El antibiograma para *Streptococcus dysgalactiae* demostró que de las 4 cepas aisladas el 100% presentó resistencia a Oxitetraciclina, el 75% a Gentamicina y Neomicina, y el 25% a Penicilina, amoxicilina más ácido clavulánico y Eritromicina. Los antibióticos con mayor sensibilidad fueron Ampicilina, Enrofloxacina, Ciprofloxacina y Trimetoprim-sulfametoxazol en un 100% (Figura 22) (Anexo-17).

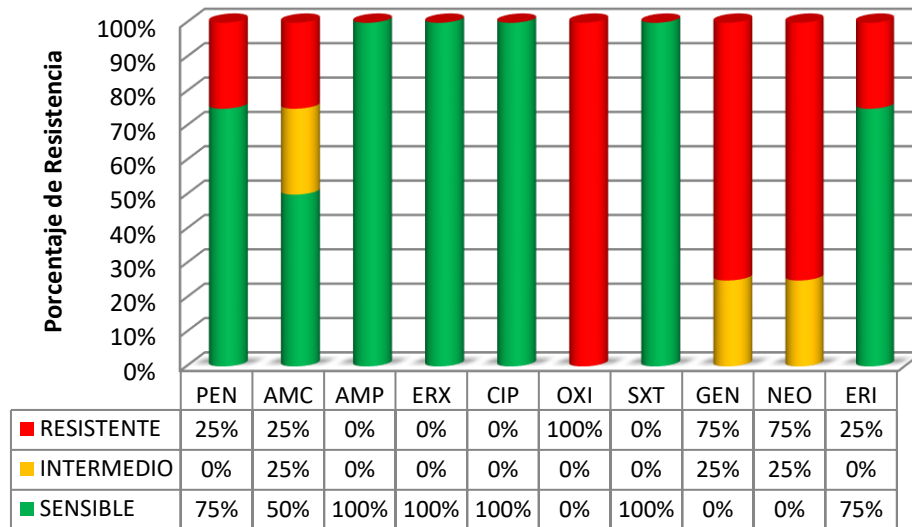


Figura 22: Perfil de resistencia de *Streptococcus dysgalactiae*

Los resultados del antibiograma para los dos aislamientos de *S. agalactiae* mostraron resistencia intermedia a Amoxicilina más ácido clavulánico en un 50% y una sensibilidad del 100% para Enrofloxacina, Ciprofloxacina, Gentamicina y Neomicina (Figura 23) (Anexo-18).

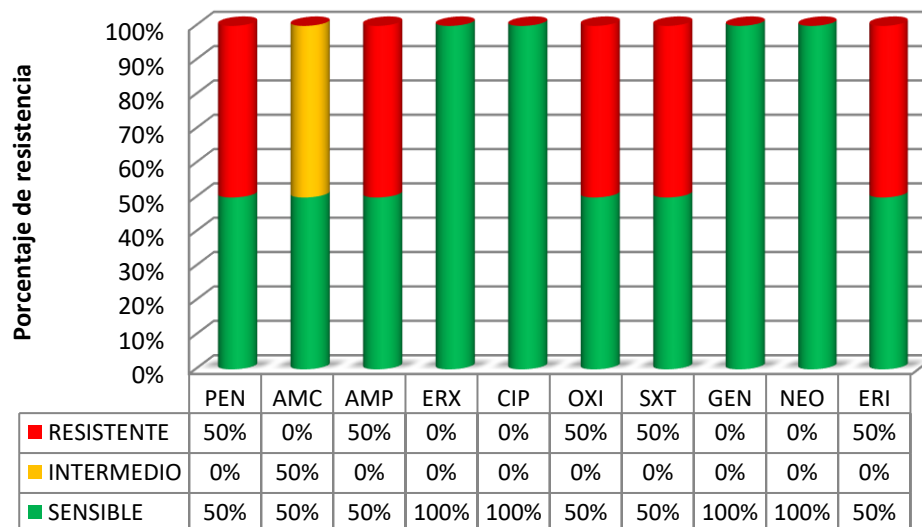


Figura 23: Perfil de resistencia de *Streptococcus agalactiae*

Para los dos aislados de *Streptococcus uberis* se demostró que el 50% presentó resistencia intermedia a Amoxicilina más ácido clavulánico y el 100% fue sensible a Enrofloxacina, Gentamicina y Neomicina (Figura 24) (Anexo-19).

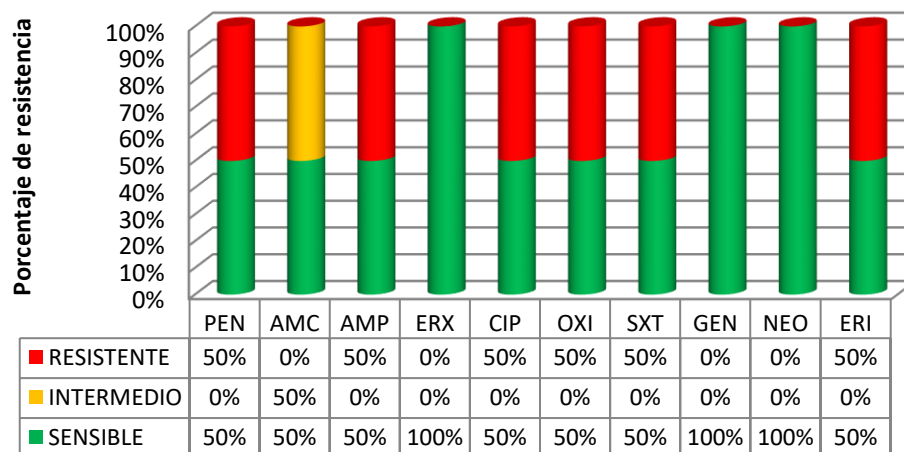


Figura 24: Perfil de resistencia de *Streptococcus uberis*

En el caso de los *Streptococcus* (*S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*), a pesar de que los betalactámicos llevan utilizándose durante décadas, los niveles de resistencia son bajos, sin embargo, se ha detectado una resistencia emergente a los Macrólidos y Tetraciclinas, lo cual podría deberse al uso indiscriminado de estos fármacos en los tratamientos contra mastitis bovina (Pyörälä 2011).

4.3.5 Género *Acinetobacter*

El antibiograma realizado a la única cepa aislada de *Acinetobacter baumannii* demostró que este microorganismo es resistente a la Ampicilina y Penicilina y que presentó una resistencia intermedia a Oxitetraciclina y Eritromicina en un 100%. Los antibióticos con mayor sensibilidad fueron: Enrofloxacina, Ciprofloxacina, Trimetoprim-sulfametoxazol, Gentamicina y Neomicina en un 100% (Figura 25) (Anexo-20).

De acuerdo a los resultados esta cepa no se considera como un microorganismo multirresistente ya que únicamente presentó resistencia a la familia de las penicilinas, al cual es naturalmente resistente (Stanchi 2008).

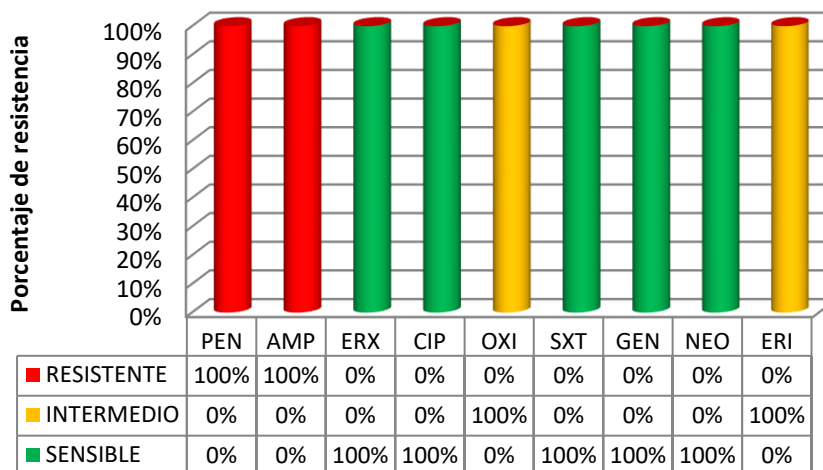


Figura 25: Perfil de resistencia de *Acinetobacter baumannii*

4.4 Resultados de multirresistencia antimicrobiana.

De las 25 bacterias aisladas del género *Staphylococcus* se identificaron que 10 de ellas presentaron multirresistencia a dos o más familias de antimicrobianos siendo el perfil de multirresistencia observado con mayor frecuencia para Penicilinas y Tetraciclinas con un 80%, dentro de las cuales los antibióticos más resistentes fueron Penicilina, Ampicilina y Oxitetraciclina respectivamente (Figura 26).

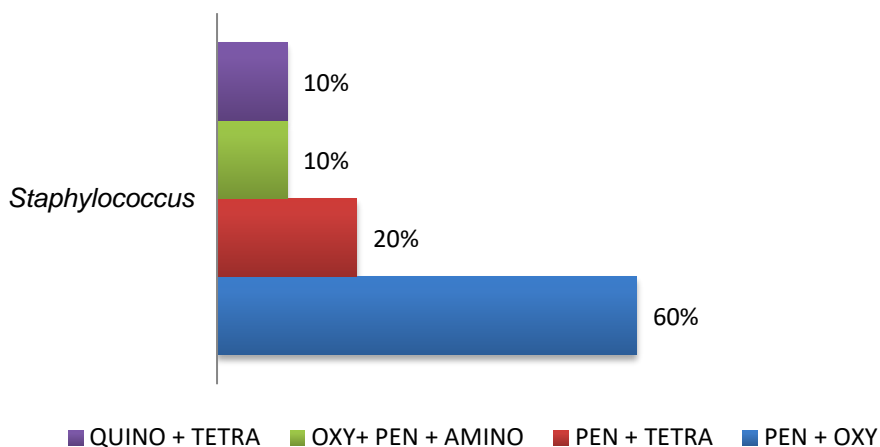


Figura 26. Perfil de multirresistencia del género *Staphylococcus*

En una investigación realizada en Argentina por Pellegrino *et al* (2011) se obtuvo como resultado que del 58.7% de cepas estudiadas de *S. aureus* provenientes de vacas con algún grado de mastitis mostraron multirresistencia a una o más familias de antibióticos.

Resultados similares fueron obtenidos por Palacios *et al* (2017) en México, estudio en el cual el 74.76% de cepas de *S. aureus* presentaron multirresistencia a distintas familias de antimicrobianos; en un 74.75% a los betalactámicos, 71.95% a los macrólidos y en un 67.28% a las Quinolonas.

En este estudio, de las cepas multirresistentes aisladas, el 47.36% mostró resistencia a la Penicilina y Ampicilina de la familia de Penicilinas; este resultado podría estar relacionado con el mecanismo de resistencia de esta bacteria, en el cual, debido a la producción de betalactamasas y PBP2 α (proteína de unión a la penicilina), le atribuye la capacidad de modificar el sitio de unión del antimicrobiano, por lo tanto, imposibilita la destrucción del microorganismo. Este mecanismo está descrito en bacterias anaerobias y distintas cepas de *Staphylococcus* como *S. epidermidis*, *S. coagulans* negativo y *S. resistente* a la meticilina (MRS), y son muy similares a los mecanismos de resistencia de Tetraciclinas y Aminoglucósidos.

Dentro del género *Enterococcus* se realizó un total de 23 aislamientos, logrando identificar que 8 de ellos presentaron multirresistencia con mayor frecuencia a las familias de Penicilinas y Macrólidos (75.0%), en donde los antibióticos más resistentes fueron Penicilina, Ampicilina y Eritromicina (Figura 27).

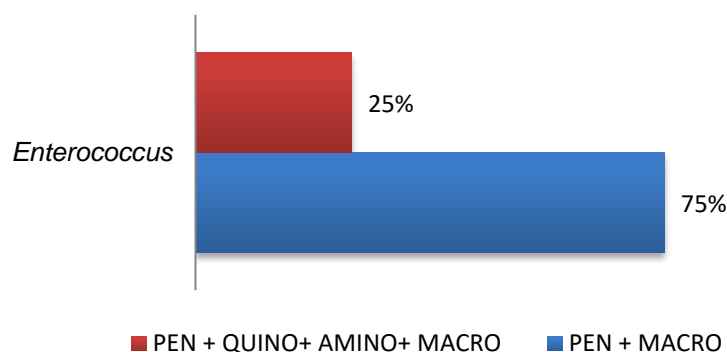


Figura 27. Perfil de multirresistencia del género *Enterococcus*.

Debido al aumento de la multirresistencia de *Enterococcus* y la amenaza que representa para la salud pública como agente nosocomial, en Chile se realizó un estudio en el que se determinó que en el 30% de cepas de *Enterococcus* estudiadas presentaron multirresistencia a dos o más antimicrobianos de distintas familias, de los cuales el Cloranfenicol obtuvo un 90.4%, seguido por Tetraciclina y Ciprofloxacina con un 60.4% y 30.1% respectivamente (Silva *et al* 2006). De igual forma, en un estudio realizado por Schell *et al* (2014) las cepas aisladas de *Enterococcus* presentaron un 44.4% de resistencia a Eritromicina y Tetraciclina, 25.0% a Ciprofloxacina y un 19.4% a Levofloxacina, dichos antimicrobianos pertenecen a distintas familias de antimicrobianos.

Los mecanismos de resistencia hacia la familia de Penicilinas de los microorganismos de este género, podrían atribuirse a la producción de enzimas como las betalactamasas, y las BLEE (Betalactamasas de Espectro Extendido) que se observan mayoritariamente en

cepas de Enterobacterias y con menor frecuencia en los bacilos Gram negativos no fermentadores. La diseminación de estas resistencias muchas veces se ve facilitada por el intercambio de material genético entre las distintas especies bacterianas. Estas enzimas confieren resistencia a todas las Penicilinas, Cefalosporinas de 1^a, 2^a, 3^a y 4^a generación y al Monobactam.

Para la familia de Enterobacteriaceae de un total de 20 aislados pertenecientes a los géneros *Escherichia*, *Enterobacter* y *Klebsiella* se lograron identificar 13 aislados multirresistentes a dos o más familias de antibióticos evaluados, de las cuales la combinación más frecuente fue para Penicilinas y los Macrólidos (61.50%); siendo Penicilina, Ampicilina y Eritromicina los antibióticos más resistentes (Figura 28).

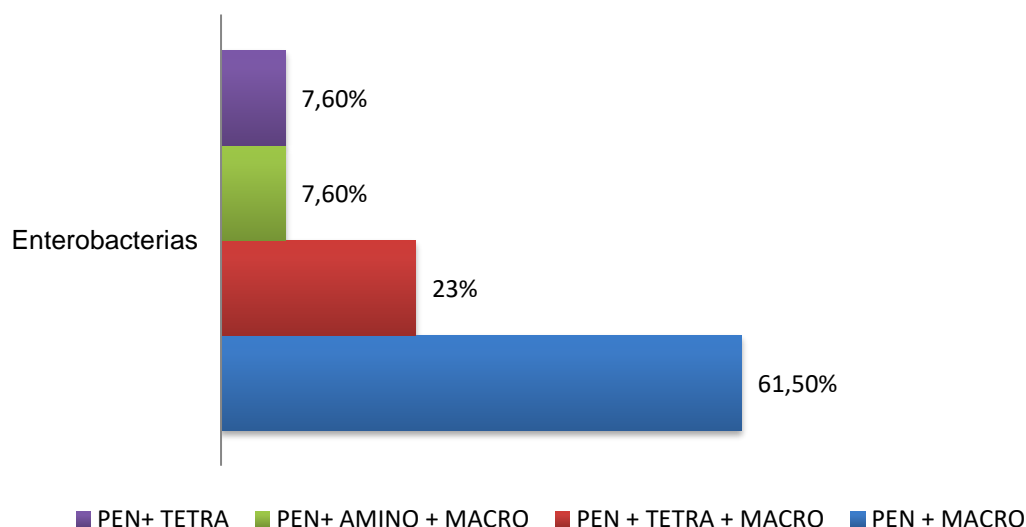


Figura 28. Perfil de multirresistencia de Enterobacterias.

En un estudio realizado en Chile por Cayul (2003) del total de cepas analizadas de *E. coli* el 99.9% fueron multirresistentes a tres o más antimicrobianos de distintas familias, los cuales presentaron resistencia en un 93.0% a Lincomicina, 92.0% a Cloxacilina, 87.0% a Penicilina y Novobicina, y con menor porcentaje (1.0%) a Enrofloxacina y Cefoperazona. De igual forma en un estudio realizado en Alemania y México se obtuvieron resultados de multirresistencia a antimicrobianos de dos o más familias en cepas aisladas de *E. coli*, en las cuales, Ampicilina mostró un 55% y Penicilina G, Eritromicina, Oxacilina y Pirlimicina 100% de resistencia (Castañeda *et al* 2009).

Los mecanismos de resistencia que se pueden atribuir a la familia *Enterobacteriaceae*, específicamente a bacterias como *K. pneumoniae* y *E. coli* (aunque han sido identificados en *Proteus*, *Serratia*, *Enterobacter* y *Salmonella*) son la producción de enzimas betalactamasas y las BLEES, que hidrolizan los antibióticos betalactámicos incluyendo cefalosporinas de tercera y cuarta generación, el aztreonam; los Aminoglucósidos

(acetiltransferasas, adeniltransferasas, fosfotransferasas) y Macrólidos (esterasas y fosfotransferasas).

El perfil de multirresistencia obtenido para las 8 bacterias aisladas del género de *Streptococcus* indicó que 6 de ellas presentaron mayor multirresistencia a la combinación de las familias de las Tetraciclinas y a la familia de los Aminoácidos, siendo los antibióticos más resistentes Oxitetraciclina, Gentamicina y Neomicina (Figura 29).

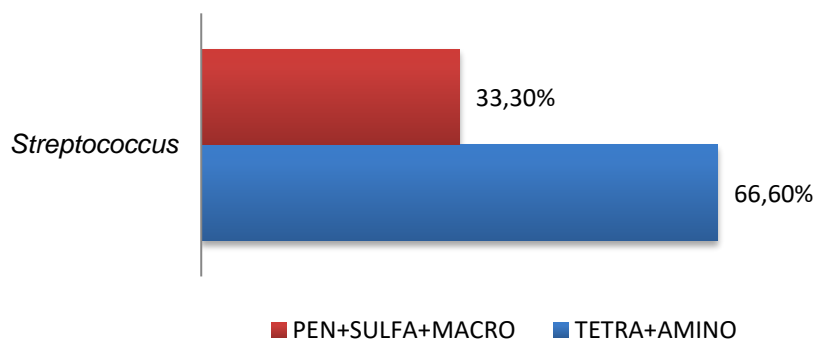


Figura 29. Perfil de multirresistencia del género *Streptococcus*.

En un estudio realizado en Brasil por Santiago-Neto *et al* (2014) se observó un 27.8% de multirresistencia a dos o más familias de antimicrobianos para el género *Streptococcus*, en el cual se identificó resistencia ante las tetraciclinas en un 55.5%, a las lincosamidas en un 33.3%, y a los macrólidos y betalactámicos en un 22.2%. En cuanto a los patrones de multirresistencia para *S. dysgalactiae*, en un estudio realizado en Chile por Cayul (2003) se observó que el 92.3% de cepas aisladas de *Streptococcus dysgalactiae* el 75.0% presentó multirresistencia a cinco o más antimicrobianos, los cuales tres pertenecían a distintas familias de antimicrobianos.

El mecanismo de resistencia característico de este género es la alteración de la PBP (proteína de unión a la penicilina), que se da por modificación de la enzima blanco en la pared bacteriana, mediante la presencia de un gen (MecA), que codifica una PBP modificada la PBP2 α , para la cual no tienen afinidad los betalactámicos.

Otros factores que podrían influenciar la resistencia desarrollada por las bacterias causantes de mastitis bovina se pueden relacionar al uso indiscriminado de antibióticos y preparados intramamarios que contienen combinaciones de antibióticos de amplio espectro que son administrados por los propietarios de los animales sin prescripción de un médico veterinario; de igual forma cuando no se practica un diagnóstico microbiológico para identificar los agentes causantes de la mastitis en un hato previo a la administración de antibióticos que podrían no ser los adecuados para erradicar o tratar la enfermedad.

5. CONCLUSIONES

1. De los 154 animales a los que se les realizó la prueba de California para determinar mastitis (CMT), 46 (29.87%) resultaron positivos a algún grado de mastitis, de los cuales 28 (60.9%) se clasificaron como mastitis subclínica y 18 (39.1%) como mastitis clínica.
2. De las 46 muestras obtenidas de vacas positivas a CMT se aislaron 19 microorganismos involucrados en la patogénesis de la mastitis bovina, siendo los géneros más frecuentes *Staphylococcus spp.* con un 29.7% (25 aislados), *Enterococcus spp.* 27.4% (24 aislados), *Escherichia* 17.85% (15 aislados), *Streptococcus* 9.52% (8 aislados), *Enterobacter* 3.57% (3 aislados), *Candida* 3.57% (3 aislados), *Klebsiella* 2.38% (2 aislados), *Vibrio* 2.38% (2 aislados), *Bacillus* 1.19% (1 aislado), *Bordetella* 1.19% (1 aislado) y *Acinetobacter* 1.19% (1 aislado).
3. Los agentes etiológicos causantes de mastitis más frecuentes fueron *S. aureus* (22.61%), *E. coli* (17.85%) y *E. durans* (9.52%); y los menos frecuentes *B. subtilis* (1.19%), *Bordetella spp* (1.19%) y *A. baumannii* (1.19%), lo que confirma la variedad de agentes involucrados en la patogénesis de la mastitis bovina.
4. Los microorganismos ambientales fueron los agentes causales de mastitis más predominantes (66.65%), entre los cuales se encontraron *E. coli* (26.31%), *E. durans* (14.28%), *E. faecalis* (8.92%), *S. dysgalactiae* (7.14%), *S. bovis* (7.14%), *Enterococcus spp* (7.14%), *E. aerogenes* (5.35%), *S. uberis* (3.57%), *E. faecium* (3.57%), *K. pneumoniae* (3.57%), *V. fluvialis* (3.57%). En menor proporción se encontraron microorganismos contagiosos (33.35%), como *S. aureus* (70.3%), *S. epidermidis* (14.81%), *S. coagulasa negativo* (7.40%) y *S. agalactiae* (7.40%).
5. En mastitis subclínica los agentes aislados con mayor frecuencia fueron *S. aureus* (23.4%), *E. coli* (14.8%) y *E. faecalis* (10.6%); y para mastitis clínica fueron *S. aureus* (25.0%), *E. coli* (22.2%) y *E. durans* (11.1%).
6. Los antibiogramas demostraron que las bacterias identificadas presentaron mayor resistencia a la familia de las Tetraciclinas (48.0%), Macrólidos (45.4%) y Penicilinas (41.96%); y mayor sensibilidad a Sulfonamidas (97.4%), Quinolonas (96.7%) y Aminoglucósidos (86.4%).
7. De los diez antimicrobianos evaluados, las bacterias presentaron mayor resistencia a Penicilina (57.14%), Ampicilina (53.24%), Oxitetraciclina (48.0%) y Eritromicina (45.4%); y mostraron mayor sensibilidad a Enrofloxacina (98.61%), Trimetoprim-sulfametoxazol (97.41%), Ciprofloxacina (94.81%), Gentamicina (88.32%), Amoxicilina más ácido clavulánico (84.5%) y Neomicina (84.5%).

8. Los perfiles de multiresistencia más frecuentes fueron penicilina y macrólidos (37.83%), penicilina y tetraciclina (16.20%); tetraciclinas y aminoglucósidos (10.80%); penicilina, tetraciclinas y macrólidos (8.10%) y otras combinaciones con menor proporción que suman un 27%.

6. RECOMENDACIONES

1. Realizar periódicamente pruebas de campo para la determinación de mastitis subclínica y clínica en vacas en producción en ganaderías lecheras con la finalidad de minimizar las pérdidas en la producción.
2. Identificar mediante técnicas de diagnóstico de laboratorio, específicamente pruebas bacteriológicas los agentes patógenos causantes de mastitis subclínica y clínica presentes en la leche.
3. Realizar pruebas de sensibilidad antimicrobiana a los patógenos asociados a mastitis frente a los antibióticos mayormente utilizados para el control de mastitis, y así determinar el antibiótico con mayor efectividad para el tratamiento de la enfermedad.
4. Establecer programas de vigilancia epidemiológica en ganaderías lecheras que permitan identificar, evaluar y establecer los grupos de bacterias resistentes emergentes en el ganado lechero que podrían representar un riesgo potencial para la salud pública.
5. Desarrollar programas de buenas prácticas de ordeño en las ganaderías lecheras de El Salvador para reducir las infecciones intramamarias y la contaminación de la leche.
6. Ejecutar campañas de educación para los productores y profesionales involucrados en salud animal en las ganaderías lecheras para concienciar sobre el uso adecuado de los antibióticos.
7. Realizar estudios que determinen la multirresistencia de los agentes patógenos involucrados en la mastitis clínica y subclínica de ganado lechero en El Salvador.

7. BIBLIOGRAFIA

- Acuña, V., Rivadeneira, A. 2008.** Aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha (en línea). Sangolquí, EC. Consultado 28 nov. 2015. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2553/1/T-ESPE-IASA%20I-003435.pdf>
- Alfaro Rodríguez, M.; Hurtarte Rodríguez, A.; Valle Hernández, R. 2014.** Implementación de un manual de ordeño higiénico en dos establecimientos lecheros y evaluación de su efectividad mediante análisis microbiológico en el departamento de Sonsonate, El Salvador. Tesis Lic. San Salvador, ES. Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas. 94 p.
- Alfonso, I, Pérez, C, Silveira, E. 2008.** Evaluación epizootiológica de la mastitis bovina en cuatro vaquerías. (en línea). Revista electrónica de Veterinaria. 9(7):1-9. Consultado 21 mar. 2017. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63617061002>
- Andresen, Hans. 2001. Mastitis: prevención y Control.** (en línea). Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. 12(2):2-6. Consultado 16 jul. 2016. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172001000200010&script=sci_arttext
- Aleskish, M.O.; Al-Qudah, K.; Al-Saleh, A. 2013.** Prevalence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens isolated from bovine mastitis in northern Jordan. (en línea). Revue de Médecine Vétérinaire. 6(163) 319-326. Consultado 18 abr. 2016. Disponible en: <http://www.researchgate.net/publication/260266455>
- Aponte, F. 2007.** Perfil de resistencia in vitro a antimicrobianos d cepas causantes de mastitis aisladas de leche cruda bovina en establecimientos de pequeña y mediana producción (en línea). Asunción, PY. Consultado: 17 mar. 2017. Disponible: revistascientificas.una.py/index.php/RIIC/article/view/329
- Ávila, S.; Gutiérrez, A.; Sánchez, J.; Canizal, E. 2002.** Comparación del estado de salud de la ubre y la calidad sanitaria de la leche de vacas ordeñadas manual o mecánicamente (en línea). Morelos, MX. Consultado 15 mar. 2017. Disponible en: www.ejournal.unam.mx/rvm/vol33-04/RVM33404.pdf
- Azocar, J. 2001.** Prevalencia, incidencia y etiología de mastitis en un centro de acopio lechero, comuna de María Pinto, Región Metropolitana. Santiago de Chile. CL. Consultado 25 abr. 2017. Disponible en: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/106715/azocar_j.pdf?sequence=4&isAllowed=y
- Bedolla, C., Castañeda, V., Wolter, W. 2007.** Métodos de Detección de la Mastitis Bovina. (en línea). Revista electrónica de Veterinaria. 7(9):1-17. Consultado 27 nov. 2015. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf>
- Bedolla, C., Ponce, M. 2008.** Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. (en línea). Revista electrónica de Veterinaria. 9(4). Consultado 20

- mar. 2017. Disponible en:
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040408/040805.pdf>
- Bonifaz, N., Conlago, F. 2016.** Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de california para mastitis con identificación del agente etiológico, en Paquiestancia, Ecuador. (en línea). La Granja: Revista de ciencias de la vida. 24(2)45-51. Consultado 2 may. 2017. Disponible en:
<http://revistas.ups.edu.ec/index.php/granja/article/view/1363>
- Bolaños, F.; Trujillo, J.; Peña, J.; Cerquera, J.; Granja, Yury. 2012.** Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico (en línea). Florencia, COL. Consultado 20 mar. 2017. Disponible en: www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones.../bovinos.../78-mastitis.pdf
- Cabrera, C., Gómez, R., Zúñiga, A., 2007.** La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. (en línea). Colombia Médica. 38(2). Consultado 29 oct. 2015. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?rc07034>
- Cabrera, C., Mejía, C. 2008.** Los mecanismos de resistencia a antibióticos: ¿Podremos lograr un equilibrio entre el uso – abuso de los antibióticos y así lograr la disminución de la resistencia bacteriana a estos medicamentos? (en línea). Cali, Colombia. Consultado 29 oct. 2015. Disponible en:
http://www.unilibrecali.edu.co/appsul/RCSLibre/vol_%2031/los%20mecanismos%20de%20resistencia%20a%20antibioticos.pdf
- Calderón, A., Rodríguez, V. 2008.** Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense. (en línea). Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias. 21 (4). Consultado 24 nov. 2015. Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=2897973>
- Calderón, A.; Rodríguez, V.; Arrieta, G.; Máttar, S. 2011.** Prevalencia de mastitis bovina en sistemas de doble propósito en Montería (Colombia): etiología y susceptibilidad antibacteriana (en línea). Consultado: 26 mar. 2017. Disponible en:
www.redalyc.org/pdf/2950/295022380004.pdf
- Calvinho, L. 2010.** Terapia antibiótica para vaca seca. (en línea). Rafaela, AR. Consultado 10 mar. 2016. Disponible en: <http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/Terapia-Vaca-Seca-Revision-Calvinho-2010.pdf>
- Canadian Bovine Mastitis and Milk Quality Research Network. 2010.** All about mastitis: Mastitis bacteria (en línea). Quebec, CA. Consultado 1 mar. 2017. Disponible en: <http://www.medvet.umontreal.ca>
- Caraguay, M. 2012.** Diagnóstico de mastitis subclínica por el método California Mastitis Test, aislamiento, identificación y sensibilidad del germen en las ganaderías de la Parroquia Chantaco del Cantón Loja. (en línea). Loja, EC. Consultado 15 feb. 2016.

Disponible en:
<http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5389/1/DIAGN%C3%93STICO%20DE%20MASTITIS%20SUBCL%C3%8DNICA%20POR%20%20EL%20M%C3%89TOD%20CALIFORNIA.pdf>

Castañeda, M., Castañeda, H.; Salas, E.; Eisenberg, T.; Wolter, W.; Bedolla, C. 2009. Resistencia antibacterial de cepas aisladas de mastitis bovina en el estado de Hessen, Alemania y el Estado de Jalisco, México. Consultado 29 may. 2017. Disponible en: http://congresos.cio.mx/memorias_congreso_mujer/archivos/extensos/sesion1/S1-BCA32.docx.

Castañeda, M., Castañeda, H., Castañeda, E., Eisenberg, T., Wolter, W., Bedolla, C. 2015. Resistencia antibacterial de cepas aisladas de mastitis bovina en el estado de Hessen, Alemania y el Estado de Jalisco, México. *In* Encuentro participación de la Mujer en la Ciencia. (XII, 2015, Guanajuato.MX). Memorias. Guanajuato.MX. Vol. 1. p. 1-2.

Cayul, A. 2003. Estudio de resistencia a antimicrobianos de uso frecuente en medicina veterinaria, de patógenos bacterianos aislados de metritis bovina en rebaños lecheros de la X^a Región. Valdivia, CL. Consultado 29 may. 2017. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2003/fvc385e/doc/fvc385e.pdf>

Chaves, J. 2000. Sistemas de producción lechera de Argentina y Cuba: calidad de leche y mastitis bovina. (en línea) Buenos Aires. AR. Consultado 16 dic. 2016. Disponible en: <http://infolactea.com/wp-content/uploads/2015/03/526.PDF>

Chaves, J. 2010. Mastitis Bovina: Su control y prevención es una tarea permanente. (en línea). Buenos Aires, AR. Consultado 21 nov. 2015. Disponible en: http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/mastitis_bovina.htm.pdf

Concha, C. 2010. Mastitis bovina: Nuevos aspectos de diagnóstico, tratamiento y control. (en línea). Santiago, CH. Consultado 10 feb. 2016. Disponible en: http://www.uchile.cl/documentos/mastitis-bovina-nuevos-aspectos-de-diagnostico-tratamiento-y-control_58311_8.pdf

Del Cura, A. 2009. Mamitis por *Staphylococcus* en ganado bovino (en línea). Consultado 27 abr. 2017. Disponible en: http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/35/cys_35_50-52_Mamitis_staphylococcus_ganado_bovino.pdf

Diéguez, F.; Fuentes, G.; Yus, E. 2012. Terapia combinada para el tratamiento de mastitis causadas por *Streptococcus uberis*. (en línea). Galicia. ES. Consultado 11 may. 2017. Disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia/11314/id-empresas/terapia-combinada-para-el-tratamiento-de-mastitis-causadas-por-streptococcus-uberis.html>

Dinesh, M.F.; Khan, I.H.; Rakesh, P.; David, R.L.; Guylaine, T.; Edward, Topp.; Ayush, K. 2016. Isolation and Characterization of *Acinetobacter baumannii* recovered from *Campylobacter* Selective Medium. (en línea). *Frontiers in Microbiology*. 7(18): 1-9. Consultado 10 feb. 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5114274/>

- Enciclopedia de el Salvador. 2001.** Grupo editorial Océano. Barcelona, España. 109 p.
- Endimiani, A.; Hujer, K.M.; Hujer, A.M.; Bertschy, I.; Rossano, A.; Koch, C.; Gerber, V.; Francey, T.; Bonomo, R.A; Perreten, V. 2001.** (en línea). Bern. CH. Consultado 10 feb. 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21733964>
- Escobal, I.; Esnal, A.; García, M. 2000.** Mamitis en ganado vacuno: Control de patógenos contagiosos. (en línea). ES. Consultado 11 may. 2017. Disponible en http://www.analiticaveterinaria.com/pdf/mamitis_contagiosas_ganado_vacuno.pdf
- Fang, W; Pyörälä, S. 1996.** Mastitis-Causing *Escherichia coli*: Serum Sensitivity and Susceptibility to Selected Antibacterials in Milk. (en línea). Journal of dairy science. 79(1):76–82. Consultado 20 feb 2016. Disponible en: [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(96\)76336-1/abstract](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(96)76336-1/abstract)
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2012.** Situación de la Lechería en América Latina y El Caribe (en línea). CL. Consultado 23 nov. 2015. Disponible en: http://www.fao.org/fileadmin/templates/est/COMM_MARKETS_MONITORING/Dairy/Documents/Paper_Lecher%C3%ADa_AmLatina_2011.pdf
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). 2014.** La resistencia a los antimicrobianos, sus mecanismos y epidemiología (en línea). Consultado 22 nov. 2015. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/007/y5468s/y5468s0d.htm>
- Fernández, O.; Trujillo, J.; Peña, J.; Cerquera, J.; Granja, Y. 2012.** Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. (en línea). AR. Consultado 24 abr. 2016. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/78-mastitis.pdf
- Figueroa, M.A. 2004.** *Escherichia coli* como bacteria indicadora en el monitoreo de la resistencia a antimicrobianos de uso en ganado bovino. (en línea). Santiago. CL. Consultado 22 abr. 2017. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/130803/Escherichia-coli-%20como-bacteria-indicadora-en-el-monitoreo-de-la-%20resistencia-a-antimicrobianos-de-uso-en-ganado-bovino.pdf?sequence=1>
- Gasque, R. 2008.** Enciclopedia Bovina. I ed. Distrito Federal, MX, UNAM. 176 p.
- Guerra, V. 2006.** La Mastitis y sus Pruebas Diagnósticas en Campo. (en línea). Consultado 18 ene. 2016. Disponible en: http://www.engormix.com/MA-ganaderia-leche/sanidad/articulos/mastitis-sus-pruebas-diagnosticas-t935/165-p0.htm#=_
- Gerlach, F., Ayala, F., Denogean, F., Moreno, S., Gerlach, L. 2009.** (en línea). Incidencia y costo de la mastitis en un establo del Municipio de Santa Ana, Sonora. Revista Mexicana de Agronegocios. 24 (2): 789-780. Consultado 20 nov. 2016. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14113208>

- Giannechini, R.; Concha, C.; Delucci, I.; Gil, J.; Salvarrey, L.; Rivero, R. 2014.** Mastitis bovina, reconocimiento de los patógenos y su resistencia antimicrobiana en la cuenca Lechera del Sur de Uruguay (en línea). Consultado: 1 mar. 2017. Disponible en: <http://www.revistasmvu.com.uy/ultimo-numero/74-cientificos/266-cientifico-mastitis-bovina-reconocimiento-de-los-patogenos-y-su-resistencia-antimicrobiana-en-la-cuenca-lechera-del-sur-de-uruguay.html>
- Gurung, M.; Nam, H.M.; Tamang, D.M.; Chae, M.H.; Jang, G.C.; Jung, S.C.; Lim, S.K. 2013.** Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* from raw bulk tank milk in Korea. (en línea). *Journal of Dairy Science*. 96(4): 1997-2000. Consultado 10 feb. 2007. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002203021300132X>
- Hernández, J., Bedolla, J. 2008.** Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. (en línea). *Revista electrónica de Veterinaria*. 4(9):1-33. Consultado 16 feb. 2016. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090908/090904.pdf>
- IICA. 2011.** Caracterización de la cadena productiva de lácteos en El salvador. El Salvador. MAG-CENTA. pp 125.
- Jayarao, B.M.; Wang, L. 1999.** A Study on the Prevalence of Gram-Negative Bacteria in Bulk Tank Milk. (en línea). *Journal of Dairy Science*. 82(12):2026. Consultado 2 feb. 2017. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/12684158_A_Study_on_the_Prevalence_of_Gram-Negative_Bacteria_in_Bulk_Tank_Milk
- Johnston, L.; Jaykus, L. 2004.** Antimicrobial resistance of enterococcus species isolated from produce (en línea). Carolina del norte, US. Consultado 10 abr. 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15128577>
- Jones, G.M.; Swisher, J.M. Jr. 2009.** Environmental *Streptococcal* and Coliform Mastitis. (en línea). Virginia. US. Consultado 28 abr. 2017. Disponible en: https://www.pubs.ext.vt.edu/content/dam/pubs_ext_vt_edu/404/404-234/404-234_pdf.pdf
- Khan, S.U. 2013.** Drug resistance in chronically affected mastitic cows in two districts of Indian State of Kashmir. (en línea). *International Journal of Modern Biology and Medicine*. 3(3): 144-155. Consultado 25 mar. 2016. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/93ca/a108770669169e4e34185096bea262713b78.pdf>
- Kasravi, R., Bolourchi, M., Farzaneh, N., Seifi, H., Barin, A., Hovareshti, P, Gharagozlu, F. 2010.** Relationship between in vitro antimicrobial sensitivity of bovine subclinical mastitis isolates and treatment outcome in lactating dairy cows. (en línea). *Iranian Journal of Veterinary Research*. 11(3):250-251. Consultado 18 abr. 2017. Disponible en: http://ijvr.shirazu.ac.ir/article_126_953d6017493d2ca62198f7365bffc53.pdf
- Kirk, J.; Mellenberger, R. 1990.** Mastitis Control Program for Environmental *Strep.* infected dairy cows. (en línea). US. Consultado 15 oct. 2016. Disponible en: http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/mastitis-control-program_environmental-strep-infected.pdf

- Klostermann, K., Crispie, F., Flynn J., Meaney, J., Paul, R., Hill C. 2009.** Efficacy of a teat dip containing the bacteriocin lacticin 3147 to eliminate Gram-positive pathogens associated with bovine mastitis. (en línea). *Journal of Dairy Research*. 77(2):231-238. Consultado 29 oct. 2015. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19785910>
- Kruze, J. 1998.** La rutina de ordeño y su rol en los programas de control de mastitis bovina. (en línea). *Archivos de Medicina Veterinaria*. 30 (2): 3-6. Consultado 15 jul. 2016. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X1998000200001
- López Calderón, M.R. 2008.** Evaluación de la resistencia antibiótica de los microorganismos aislados en casos de mastitis clínica en una explotación lechera. (en línea). Ciudad de Guatemala. GT. Consultado 10 ago. 2016. Disponible en: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/3506/>
- López-Pueyo, M.J; Barcenilla-Gaite, F.; Amaya, R.; Garnacho, J. 2011.** Multirresistencia antibiótica en unidades de críticos (en línea). Elsevier. 35(1):41—53. Consultado 25 may. 2017. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/medinte/v35n1/puesta.pdf>
- Mangandi, V. 2008.** Determinación de mastitis subclínica en vacas lecheras por medio del recuento de células somáticas en el tanque. Tesis Lic. San Salvador, ES. Universidad de el Salvador Facultad de Ciencias Agronómicas. 58 p.
- Máttar, S, Calderón, A, Soletto, D, Sierra, M, Tordecilla, G. 2009.** Detección de Antibióticos en Leches: Un Problema de Salud Pública (en línea). Instituto de Investigaciones Biológicas del Trópico. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba, CO. Consultado 10 jun. 2016. Disponible en: <http://www.scielosp.org/pdf/rsap/v11n4/v11n4a09.pdf>
- Mateus, G. 1986.** Mastitis en Bovinos (en línea). Turrialba, CR. Consultado 23 nov. 2015. Disponible en: <http://www.sidalc.net/repdoc/A6379E/A6379E.PDF>
- Martel, J.,Tardy, F., Brisabois, A., Lailier, R., Coudert, M., Chalus-Dancla, E. 2000.** The French antibiotic resistance monitoring programmes. (en línea). *International Journal of Antimicrobial Agents*. 14 (4) 275–283. Consultado 23 feb. 2016. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857900001370>
- Martín, SW., Meek, AH. Willeberg, P. 1997.** Epidemiología Veterinaria, principios y métodos. Medidas de la frecuencia de la enfermedad y de la producción. Trad. JM Tarazona. New Ed., Zaragoza, ES. CRIBIA. 62 p.
- Martínez, D., Cruz, A., Moreno, G. 2013.** Resistencia de las bacterias causantes de mastitis bovina frente a los antimicrobianos más frecuentes. (en línea). *Conexión Agropecuaria JDC*. 3(1):53-73. Consultado 25 nov. 2015. Disponible en: <http://www.revistasjdc.com/main/index.php/conexagro/article/download/273/265>.
- Martínez, C. 2014.** Mastitis y sus causas predisponentes. (en línea). La Pampa, AR. Consultado 25 nov. 2015. Disponible en: <http://merlassino.blogspot.com/2014/11/martinez-celeste-soledad-mastitis-y-sus.html>

- Mellenberger, R; Roth, C. 2000.** Hoja de información de la prueba de Mastitis California (CMT). Dpto. de Ciencia Animal, Universidad del Estado de Michigan y Universidad de Wisconsin-Mádison, US. (en línea). Consultado 27 oct 2015. Disponible en: <http://www.uwex.edu/milkquality/PDF/CMT%20spanish.pdf>.
- Microbiological Methods & Bacteriological Analytical Manual. 2014.** Maryland, EU. Consultado 10 feb. 2016. Disponible: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm114664.htm>
- Ministerio de Salud del Perú, Instituto Nacional de Salud, Organismo Público Descentralizado de Sector Salud. 2002.** Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión. Normas Técnicas N° 30. Lima, Perú.
- Molina López, J. 2014.** Universidad Autónoma de México. Departamento de Microbiología y parasitología: Terapéutica. Drogas antibacterianas. (en línea). México. MX. Consultado 10 mar. 2016. Disponible en: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/terapeutica.html>
- Monardes, H., Barría, N. 1995.** Recuento de Células Somáticas y Mastitis. (en línea). Revista TecnoVet. 1(1). Consultado 16 feb. 2016. Disponible en: <http://www.tecnovet.uchile.cl/index.php/RT/article/view/5141/5024>
- Mora, M.G, Vargas, B, Romero, J, Camacho, J. 2015.** Ministerio de Ganadería y Agricultura. Factores de riesgo para la incidencia de mastitis clínica en ganado lechero de Costa Rica. (en línea).CR. Consultado 30 mar. 2017. Disponible en: http://www.mag.go.cr/rev_agr/v39n02_077.pdf
- Morales, H. 2011.** Mastitis bovina: Enfoque biotecnológico. (en línea). Revista Reciteia. 11(1): 215. Consultado 22 mar. 2017. Disponible en: <http://revistareciteia.es.tl/A%F1o.-11-v.-11-n.-1b.htm>
- Moreno, R.; Cruz, C. 2013.** Patología de glándula mamaria, Glándula mamaria: Agentes productores de mastitis (en línea). Consultado: 12 mar. 2017. Disponible en: <http://cardenti8.blogspot.com/2013/03/patologia-de-glandula-mamaria-mvz.html>
- Müller,S; Janben, T; Wieler, L. 2014. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in veterinary medicine – emergence of an underestimated pathogen?.** Consultado 14 jun 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25872253>
- Nam, H.M.; Lim, S.K.;Kim, J-M.; Joo, JK.; Jang, KC.; Jung, SC. 2009. In Vitro Activities of Antimicrobials Against Six Important Species of Gram-Negative Bacteria Isolated From Raw Milk Samples in Korea.** (en línea). PubMed Journals. 7(2) 222-224. Consultado 5 feb. 2017. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/articles/19895257/>

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard. 2002. Second Edition. Vol. 19 No. 11.

Nedder, R; Signorini; Cuatrin, A; Gianre, V; Calvino, L. 2014. Prevalencia de bacterias patógenas de mastitis bovina en leche de tanque de frío y evaluación de medios de cultivo para el recuento y la identificación de *Staphylococcus aureus*. (en línea). Buenos Aires, AR. Consultado 11 mar. 2016. Disponible en: <https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar/ojs/index.php/FAVEveterinaria/article/viewFile/4972/7554>

OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2008. Guidelines on the responsible and prudent use of antimicrobial agents in veterinary medicine. (en línea). Consultado 25 oct. 2015. Disponible en: http://www.oie.int/eng/normes/Mcode/en_chapitre_1.6.7.htm

OIE (Organización Mundial de Sanidad Animal). 2015. Resistencia a los Antimicrobianos (en línea). Consultado 20 nov. 2015. Disponible en: http://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Fact_sheets/ANTIBIO_ES.pdf

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2000. Resistencia a los antimicrobianos: una amenaza mundial (en línea). Consultado 23 nov. 2015. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s2250s/s2250s.pdf>

Organismo Salvadoreño de Reglamentación técnica (OSARTEC), SV. 2008. Norma Salvadoreña obligatoria: Leche Cruda de Vaca. NSO 67.01.01:06. Ed. CONACYT. San Salvador. 8 p.

Pacheco, M.; Carrillo, C.; Figueredo, M. 2013. Resistencia de las bacterias causantes de mastitis bovina frente a los antimicrobianos más frecuentes. Consultado 30 de sep 2016 Disponible en: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Y2D4p9PecdQJ:www.revista-sjdc.com/main/index.php/conexagro/article/download/273/265+&cd=1&hl=es&ct=clnk&gl=sv>

Palacios, J.; Brisuela, J.; Oshima, S.; López, G.; Herrera, J. C.; Rentería, T.; Angulo, D.; Medina, G. 2017. Identificación y perfil de resistencia a antibióticos de *S. Aureus* en casos de mastitis bovina en establos lecheros de la península de Baja California. Baja California, MX. Consultado 29 may. 2017. Disponible en: http://www.engormix.com/ganaderia-carne/articulos/identificacion-perfil-resistencia-antibioticos-t40079.htm#_=_

Paredes Celarié, D. 2004. Tratamientos alternativos en el control de la mastitis clínica bovina; plasma marino, propóleos y chichipince (*Hamelia patens*). Tesis Lic. San Salvador, ES. Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas.

- Pastor, J.; Bedolla, J. L. 2008.** Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el Municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California (en línea). Michoacán, MX. Consultado 18 mar. 2017. Disponible en: www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101008/101004.pdf
- Pedraza, C. 1991.** Efecto de la mastitis clínica sobre la producción de leche. Consultado 14 sep 2015. Disponible en: <http://www2.inia.cl/medios/biblioteca/agritec/NR13281.pdf>
- Pellegrino, M.; Frola, I.; Odierno, L.; Bongli, C. 2011.** Bovine Mastitis: Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk. (en línea). Revista electrónica de veterinaria. 12(7):1-14. Consultado jun. 2016. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070711.html>
- Pérez, J. 2013.** La estadística: Una orquesta hecha instrumento. Análisis de correspondencias. Consultado 14 jul 2016. Disponible en: <https://estadisticaorquestainstrumento.wordpress.com/2013/07/06/tema-27-analisis-de-correspondencias/>
- Pérez, C.; Bedolla, C.; Castañeda, V. 2005.** Importancia del conteo de células somáticas en la cría sustentable de vacas productoras de leche. Sustentabilidad. 3(1): 86-94.
- Pinzón, J. 1989.** Mastitis Bovina: Tipos, Agentes causales y Diagnósticos. (en línea). Táchira, VE. Consultado 29 oct 2015. Disponible en: http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_tec/FonaiapDivulga/fd31/texto/mastitis.htm
- Pyörälä, S. 2011.** El Tratamiento de la Mastitis Durante la Lactancia. (en línea). Saarentaus, FI. Consultado 20 feb 2016. Disponible en: <http://www.perulactea.com/2011/04/01/el-tratamiento-de-la-mastitis-durante-la-lactancia/>
- Quiroz, M. 2000.** Micoplasmosis: Clínica de los bovinos. (en línea). Hidalgo, MX. Consultado 25 jul 2015. Disponible en: <http://www.ammveb.net/clinica/micoplasmosis.pdf>
- Relova, D.; Armenteros, M.; Capdevila, J. 2008.** Caracterización de la situación clínico-epizootiológica de la mastitis bovina en vacas primerizas Holstein de una lechería especializada (en línea). La Habana, CU. Consultado: 15 mar. 2017. Disponible en: www.veterinaria.org/revistas/redvet
- Reyes, J.; Valero-Leal, K.; Córser, P.; García, A.; Cagnasso, M. 2002.** Resistencia a los antimicrobianos de *Enterococcus* aislados de leche cruda (en línea). Zulia, VE. Consultado: 15 mar. 2017. Disponible en: www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/27593/2/articulo6.pdf
- Rojas S. 2009.** Mastitis en ganado bovino. (en línea). Medellín. CO. Consultada 5 may. 2017. Disponible en: <http://buendato.com/profiles/blogs/mastitis-en-ganado-bovino>

- Ruíz, A.; Ponce, P.; Gómez, G.; Mota, R.; Sampaio, E.; Lucena, E.; Benone, S. 2010.** Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: Comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2011000100009
- Ruiz, P.; Ponce, P.; Gomes, G.; Mota, R.; Sampaio, E.; Lucena, E.; Benone, S. 2011.** Prevalencia de Mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: Comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil (En línea). Pernambuco, BR. Consultado 1 abr. 2017. Disponible en: scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2011000100009
- Ruiz, R. 2012.** Mastitis bacteriana en ganado bovino: etiología y técnicas de diagnóstico en el laboratorio. MX. Consultado 28 may. 2017. Disponible en: http://www.ammveb.net/articulos/Mastitis_bacteriana.pdf
- Ruiz, R. 2014.** Técnicas alternativas para el diagnóstico de mastitis. MX. Consultado 16 nov. 2015. Disponible en: <http://bmeditores.mx/tecnicas-alternativas-para-el-diagnostico-de-mastitis>
- Ruiz, R. 2017.** Mastitis bacteriana en ganado bovino: Etiología y técnicas de diagnóstico en el laboratorio (en línea). Ciudad de México, MX. Consultado: 1 mar. 2017. Disponible en: www.ammveb.net/articulos/Mastitis_bacteriana.pdf
- Santiago-Neto W.; Machado, G.; Paim, D.; Campos, T.; Brito, M.; Cardoso, M.; Corbellini, L. 2014.** Age related to the presence of antimicrobial resistant bacteria in twenty one dairy herds in Rio Grande do Sul, Brazil. Pesquisa Veterinária Brasileira. 24(7): 1-7. Consultado 29 may. 2017. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0100736X2014000700001&script=sci_arttext&lng=es
- Santivañez, C.; Gómez, O.; Cárdenas, L.; Escobedo, M.; Bustinza, R.; Peña, J. 2013.** Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos (en línea). Apurímac, PE. Consultado 26 mar. 2017. Disponible en: vip.ucaldas.edu.co/vetzootec/downloads/v7n2a07c.pdf
- San Martín, B., Kruze, J., Morales, M., León, B., Espinoza, S., Iragüen, D., Puga, J., Borie, C. 2002.** Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y Xª Región en Chile. (en línea). Archivos Médicos Vet. 34 (2). Consultado 23 feb 2016. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2002000200008&script=sci_arttext
- San Martín, B.; Kruze, J.; Morales, M.; Agüero, H.; León, B.; Espinoza, S.; Iragüen, D.; Puga, J.; Borie, C. 2009.** Resistencia Bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y Xª Región, Chile (en línea). Consultado: 1 mar. 2017. Disponible: www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2002000200008



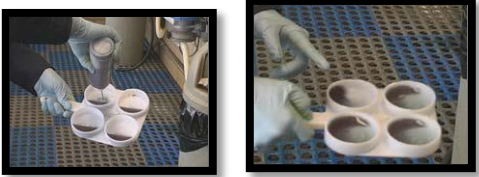

- SNET (Servicio Nacional de Estudios Territoriales). 2007.** Clima en El Salvador. Consultado 17 de junio de 2016. Disponible en: <http://www.snet.gob.sv/meteorologia/climaelsal.htm>
- Scaramelli, A, González, Z. 2005.** Manual de ganadería doble propósito: Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina. (en línea). Venezuela. Consultado 30 mar. 2017. Disponible en: http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo9-s5.pdf
- Schell, C.; Sparo, M.; Bernstein, J.; Grenóvero, S.; Delpech, G.; Pourcel, G.; Luca, M.; Basualdo, J. 2014.** Factores de virulencia y multirresistencia en cepas de *Enterococcus faecalis* aisladas de infecciones invasivas humanas. La Plata, AR. Consultado 29 may. 2017. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/265592843_Factores_de_virulencia_y_multirresistencia_en_cepas_de_Enterococcus_faecalis_aisladas_de_infecciones_invasivas_humanas
- Schukken YH, Bar D, Hertl J, Gröhn YT. 2010.** Correlated time to event data: Modeling repeated clinical mastitis data from dairy cattle in New York State. (en línea). Journal of Dairy Science. 1(8) 3–4. Consultado 16 jul. 2016. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21035216>
- Shim, E., Shanks, R., Morin, D. 2004.** Milk loss and treatment costs associated with two treatment protocols for clinical mastitis in dairy cows. (en línea). Journal of Dairy Science. 87(8) 2702–2708. Consultado 10 oct. 2015. Disponible en: [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(04\)73397-4/pdf](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(04)73397-4/pdf)
- Silva, J.; Asserella, L.; Bolados, N.; Herrera, N.; Leyton, J. 2006.** Resistencia a antimicrobianos en cepas de *Enterococcus sp* aisladas en hospitales del norte de Chile. Antofagasta, CL. Consultado 29 may. 2017. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v23n3/art05.pdf>
- Stanchi, Oscar N. 2007.** Microbiología Veterinaria. Eds PE Martino, E Gentilini, EH Reinoso, MG Echeverría, NA Leadini, JA Copes. 2 ed. Buenos Aires. Ar. Intermedica. 105-107 p.
- Steenefeld W, Hogeveen H, Barkema HW, Van den Broek J, Huirne RB. 2008.** The influence of cow factors on the incidence of clinical mastitis in dairy cows. (en línea). Journal of Dairy Science. 91(4) 272–278. Consultado 16 jul. 2016. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18349231>
- Valencia, H.; Jurado, H.; Morán, C. 2003.** Aislamiento e identificación de microorganismos causantes de mastitis subclínica y su sensibilidad a antibióticos en hatos lecheros del suroccidente (en línea). Pasto, CO. Consultado: 1 mar. 2017. Disponible en: revistas.udenar.edu.co/index.php/usalud/article/view/304
- Valero-Leal, K.; Valbuena, E.; Chacón, F.; Olivares, Y.; Castro, G.; Briñez, W. 2010.** Patógenos contagiosos y ambientales aislados de cuartos mamarios con mastitis subclínica de alto riesgo en tres fincas del estado Zulia (en línea). Maracaibo, VE. Consultado 16 mar. 2017. Disponible en:

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592010000500008

- Wilson, D., Gonzalez, R., Garrison, L., Groöhn, Y. 1999.** Comparison of Seven Antibiotic Treatments with No Treatment for Bacteriological Efficacy Against Bovine Mastitis Pathogens. (en línea). *Journal of dairy science*. 82(8):1664–1670. Consultado 20 feb 2016. Disponible en: [http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302\(99\)75395-6/abstract](http://www.journalofdairyscience.org/article/S0022-0302(99)75395-6/abstract)
- Wolter, W. y Kloppert, B. 2004.** Interpretación de los resultados del conteo celular y de la aplicación de la terapia. *Avances en el Diagnóstico y Control de la Mastitis Bovina*. Guadalajara, Jalisco, México. 5 pp.

8. ANEXOS

Anexo- 1. Procedimiento y lectura de prueba de california para mastitis (CMT)

EQUIPO	PROCEDIMIENTO
	<p>Se tomará una muestra de leche de cada cuarto en una raqueta de CMT limpia. La raqueta tiene cuatro pequeños compartimientos marcados como A, B, C, y D para identificar los cuartos de los que proviene cada muestra. La solución CMT debe ser reconstituida de acuerdo a las instrucciones del producto.</p>
	<p>PASO 1: Tomar aproximadamente 2 ml de leche de cada cuarto. Esto corresponde a la cantidad de leche que quedaría en los compartimientos al colocar la raqueta en posición casi vertical.</p>
	<p>PASO 2: Agregue igual cantidad de solución CMT a cada compartimiento. Rote la raqueta con movimientos circulares hasta mezclar totalmente el contenido. No lo mezcle por más de 10 segundos.</p>
	<p>PASO 3: “Lea” rápidamente la prueba. La reacción visible desaparece en unos 20 segundos. La reacción recibe una calificación visual. Entre más gel se forme, mayor es la calificación.</p>

Fuente: Mellenberger, Roth. Hoja de información de Prueba de Mastitis. Universidad de Wisconsin-Madison.

A- 1.2. Lectura de la prueba de california para mastitis.

	LECTURA RESULTADOS
	<p>N = Negativo (<i>No Infectado</i>). No hay espesamiento de la mezcla.</p>
	<p>T= Trazas (<i>Posible Infección</i>). Ligero espesamiento de la mezcla. La reacción "Trazas" parece desvanecerse con la rotación continua de la raqueta. Ejemplo: Si en los 4 cuartos se leen "trazas", no hay infección. Si en uno-dos cuartos se leen "trazas", hay posible infección.</p>
	<p>1= Positivo Débil (<i>Infectado</i>). Definido espesamiento de la mezcla, pero sin tendencia a formar gel. Si la raqueta se rota por más de 20 segundos, el espesamiento puede desaparecer.</p>
	<p>2= Positivo Evidente (<i>Infectado</i>). Inmediato espesamiento de la mezcla con ligera formación de gel. Mientras la mezcla se agita, esta se mueve hacia el centro de la copa, exponiendo el fondo del borde externo. Cuando el movimiento se detiene, la mezcla se nivela y cubre todo el fondo de la copa.</p>
	<p>3= Positivo Fuerte (<i>Infectado</i>). Hay formación de gel y la superficie de la mezcla se eleva (como un huevo frito). Esta elevación central permanece aún después de detener el movimiento de rotación de la raqueta de CMT.</p>
	<p>La raqueta debe lavarse después de cada prueba.</p>

Fuente: Mellenberger, Roth. Hoja de información de Prueba de Mastitis. Universidad de Wisconsin-Madison.

A- 1.3. Interpretación de los resultados de CMT.

El grado de CMT está directamente relacionado con el promedio del conteo de células somáticas. A continuación se muestra dicha relación.

Grado de CMT	Rango de células somáticas	INTERPRETACIÓN
NEGATIVO	0 – 200.000	Cuarto sano
TRAZAS	200.000 – 400.000	Mastitis subclínica
1	400.00 – 1.200.000	Mastitis subclínica
2	1.200.000 – 5.000.000	Infección seria
3	Más de 5.000.000	Infección seria

Fuente:Wellenberger, Roth. Hoja de información de Prueba de Mastitis. Universidad de Wisconsin-Madison.

Anexo- 2. Hoja de registro de datos generales de las ganaderías en estudio y hoja de registro de toma de muestras.

HOJA DE REGISTRO

1. DATOS GENERALES

- a. Nombre de la ganadería/ Propietario-

- b. Cantidad de Animales:_____
- ✓ En producción_____
- ✓ Novillas_____
- ✓ Primer parto_____
- ✓ Multíparas_____

2. PROCESO DEL ORDEÑO

- a. Cantidad de ordeños al día/hora_____
- b. Numero de los encargados del ordeño_____
- c. Lavado de manos antes de manipular la glándula mamaria SI_____ NO_____
- d. ¿Se realiza limpieza de pezones? SI_____ NO_____
- e. ¿Se realiza despunte de pezones? SI_____ NO_____
- f. ¿Existe limpieza de pezón después del ordeño? SI_____ NO_____
- g. ¿Se realiza sellado de los pezones? SI_____ NO_____

3. TRATAMIENTO

- a. ¿Quién es la persona encargada de administrar tratamiento a los animales?_____
- b. Se utiliza tratamiento sistémico (inyectado) o local (jeringuillas):_____
- c. Nombre de el/los productos utilizado para el tratamiento?

4. OBSERVACIONES

HOJA DE REGISTRO/TOMA DE MUESTRA

HOJA N° _____

MUESTRA N° _____

HORA: _____

1. DATOS POR ANIMAL:

- a. Nombre de la vaca/identificación: _____
- b. Etapa reproductiva: _____
- c. Número de cuartos afectados: _____
- d. Tratamiento Antibiótico previo: _____
- _____

2. RESULTADO CMT**CUARTO 1**

Grado de CMT	Rango de células somáticas	INTERPRETACIÓN	RESULTADO
NEGATIVO	0 – 200.000	Cuarto sano	
TRAZAS	200.000 – 400.000	Mastitis subclínica	
1	400.00 – 1.200.000	Mastitis subclínica	
2	1.200.000 – 5.000.000	Infección seria	
3	Más de 5.000.000	Infección seria	

CUARTO 2

Grado de CMT	Rango de células somáticas	INTERPRETACIÓN	RESULTADO
NEGATIVO	0 – 200.000	Cuarto sano	
TRAZAS	200.000 – 400.000	Mastitis subclínica	
1	400.00 – 1.200.000	Mastitis subclínica	
2	1.200.000 – 5.000.000	Infección seria	
3	Más de 5.000.000	Infección seria	

CUARTO 3

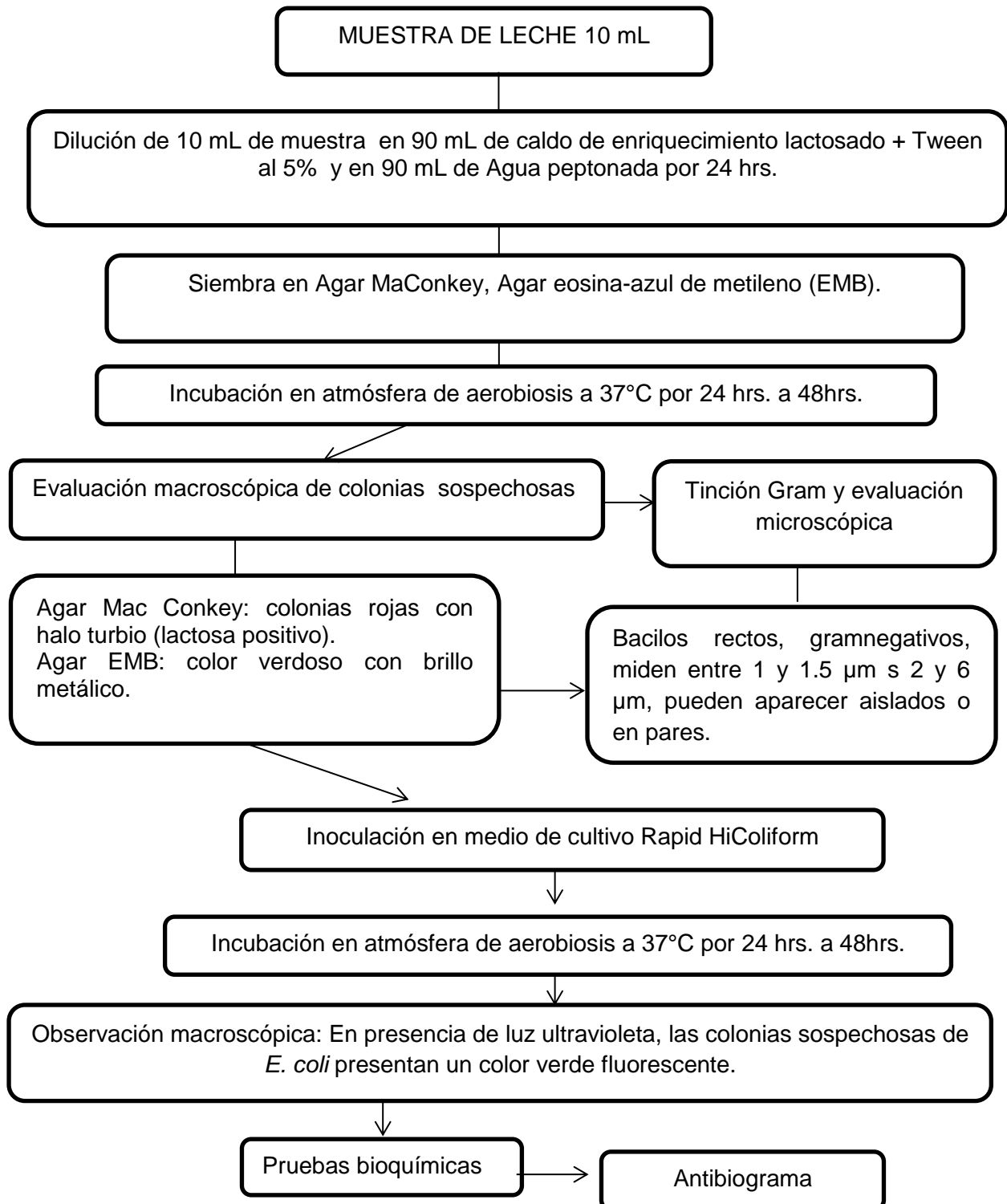
Grado de CMT	Rango de células somáticas	INTERPRETACIÓN	RESULTADO
NEGATIVO	0 – 200.000	Cuarto sano	
TRAZAS	200.000 – 400.000	Mastitis subclínica	
1	400.00 – 1.200.000	Mastitis subclínica	
2	1.200.000 – 5.000.000	Infección seria	
3	Más de 5.000.000	Infección seria	

CUARTO 4

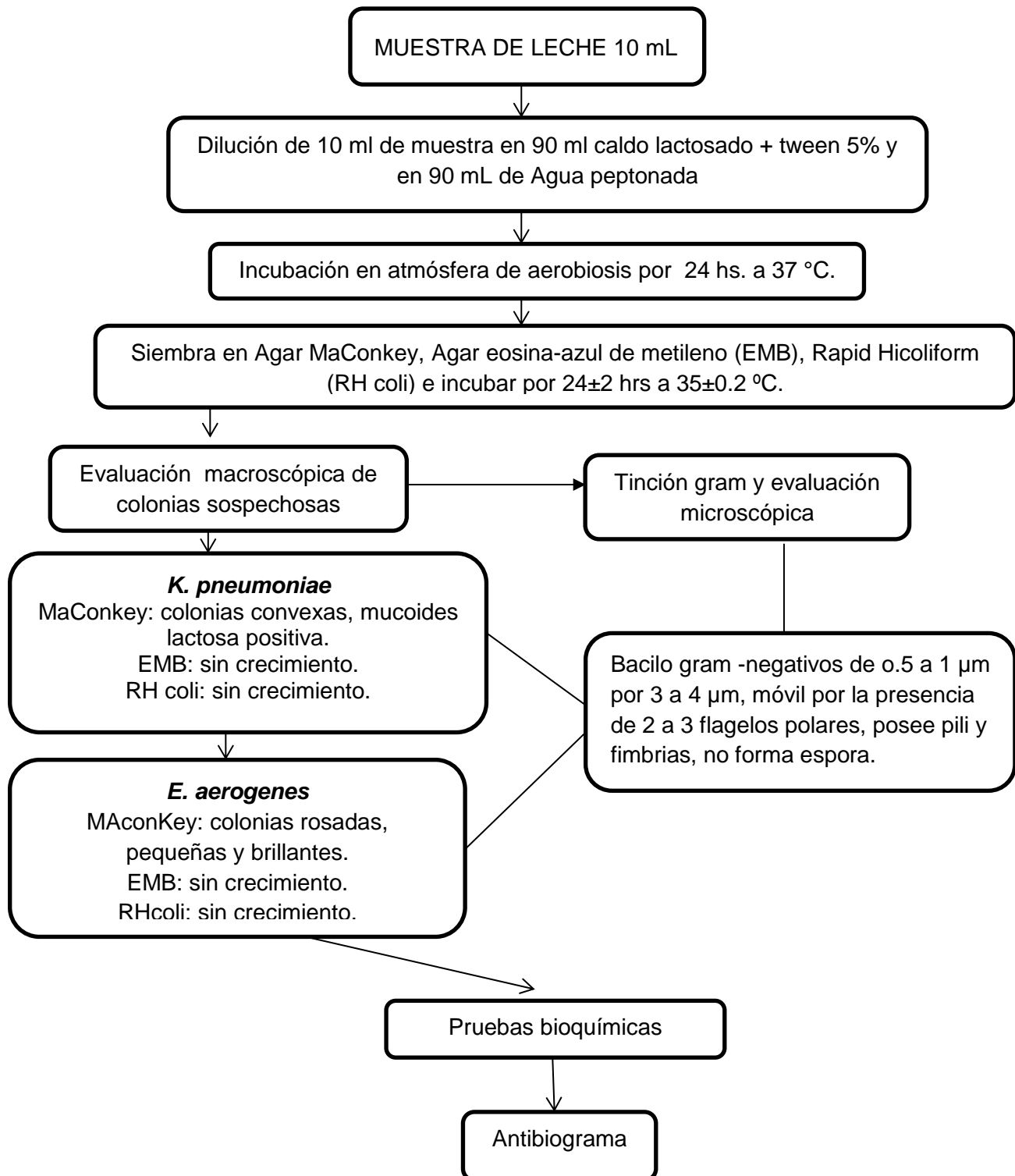
Grado de CMT	Rango de células somáticas	INTERPRETACIÓN	RESULTADO
NEGATIVO	0 – 200.000	Cuarto sano	
TRAZAS	200.000 – 400.000	Mastitis subclínica	
1	400.00 – 1.200.000	Mastitis subclínica	
2	1.200.000 – 5.000.000	Infección seria	
3	Más de 5.000.000	Infección seria	

Anexo- 3. Procedimiento para el aislamiento de bacterias grampositivas y gramnegativas.

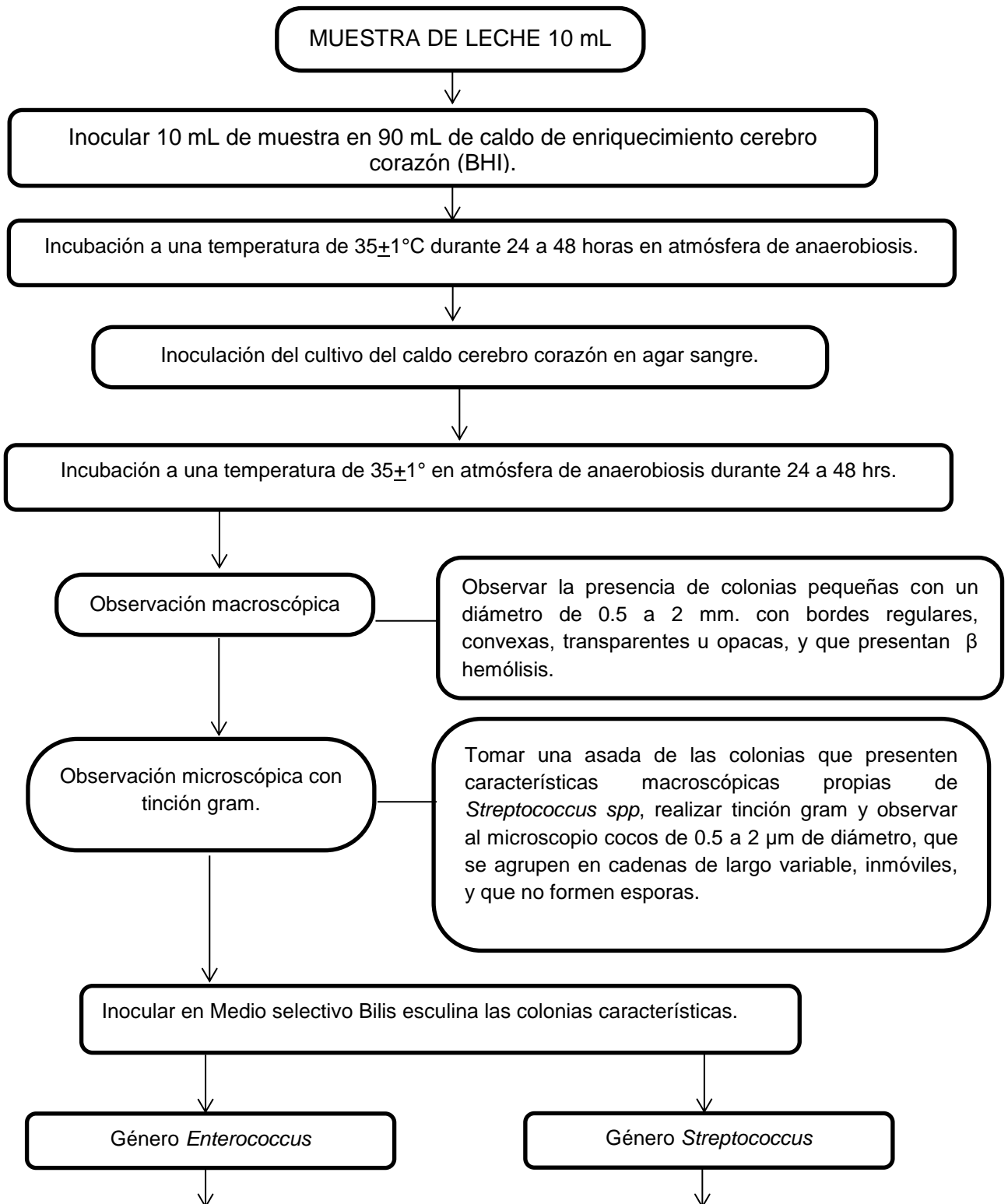
A- 3.1. Flujograma de trabajo para el aislamiento e identificación de *Escherichia coli*.

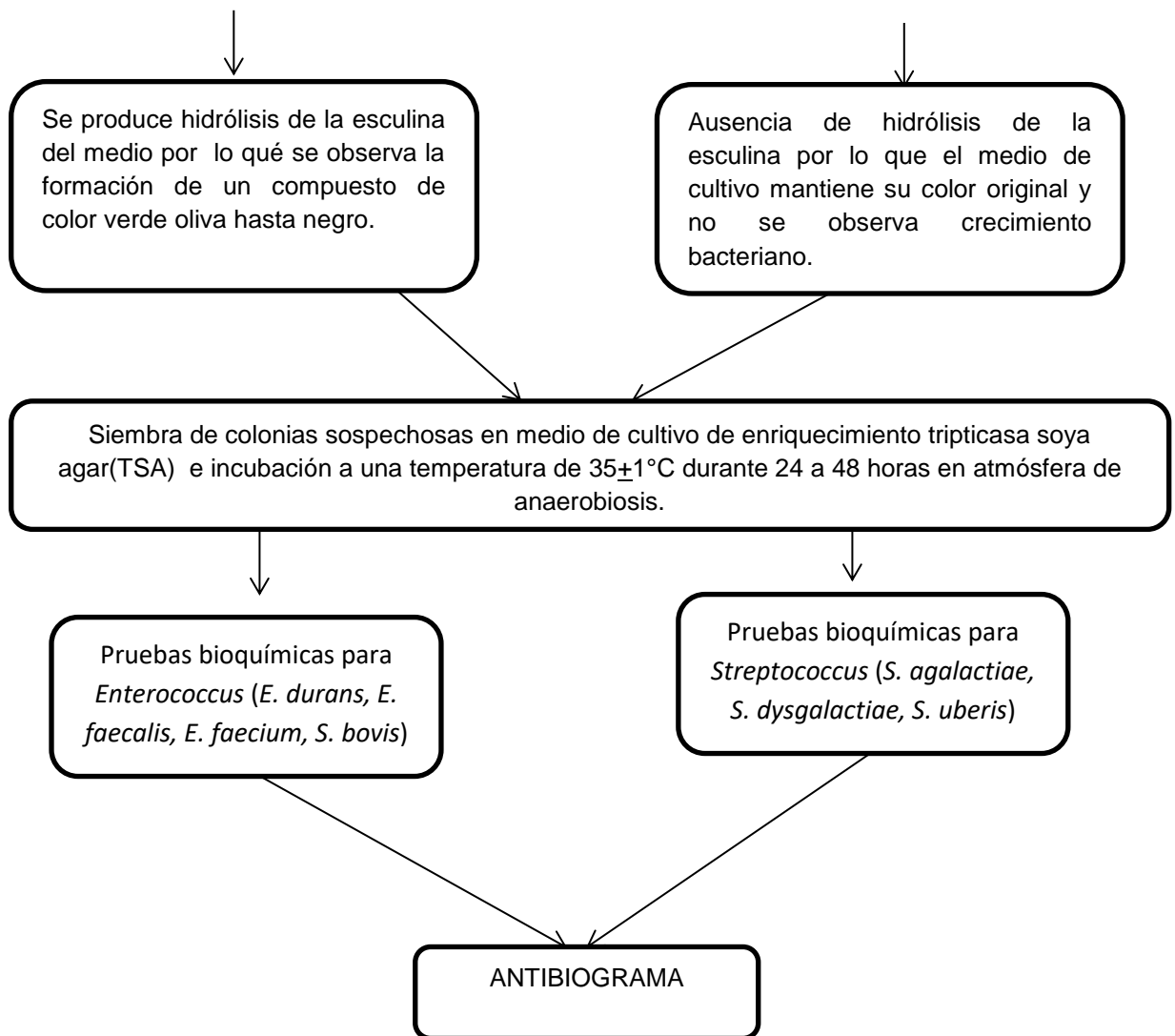


A-3.2. Flujo de trabajo para el aislamiento e identificación de bacterias del género *Enterobacteriaceae* (*K. pneumoniae*, *E. aerogenes*).

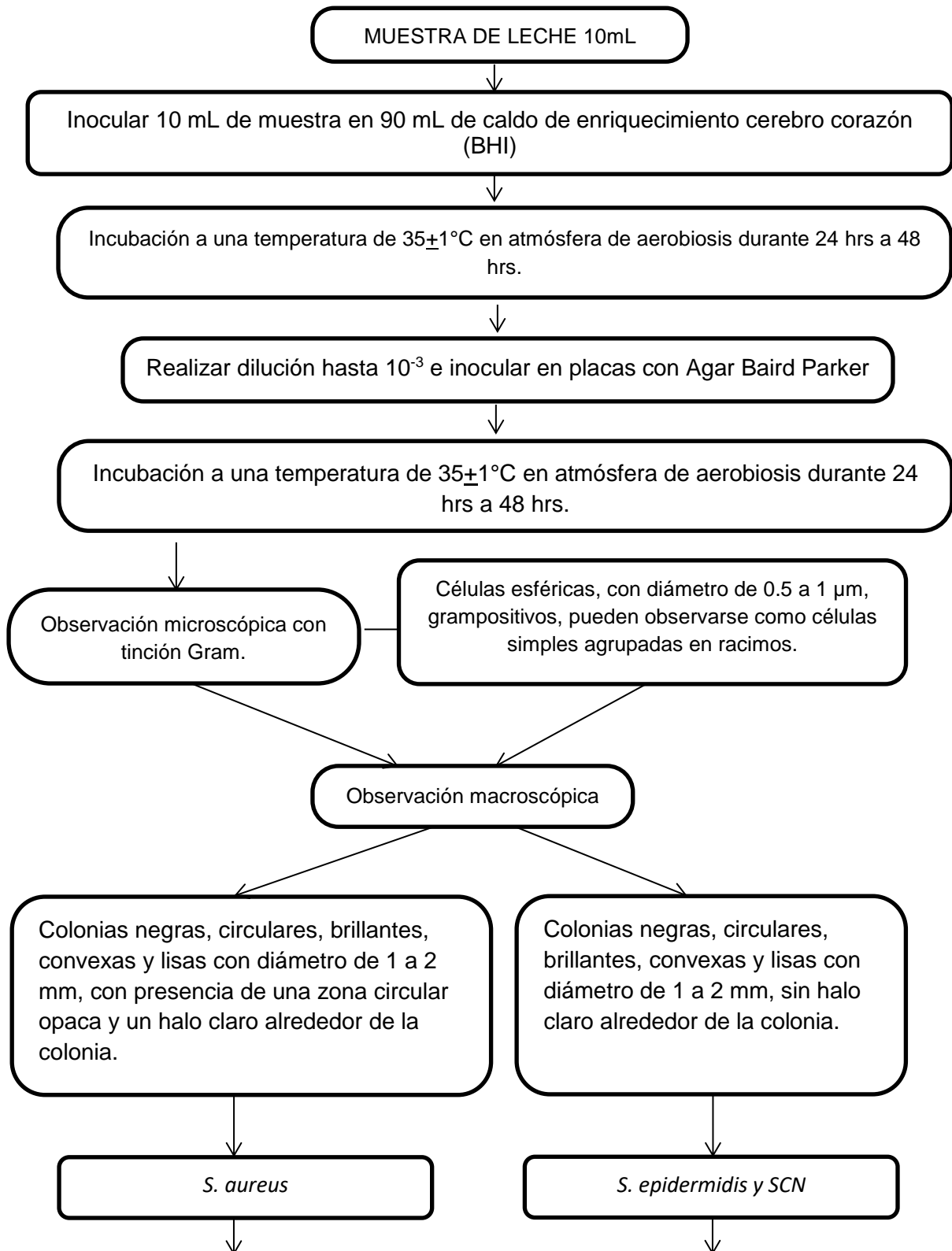


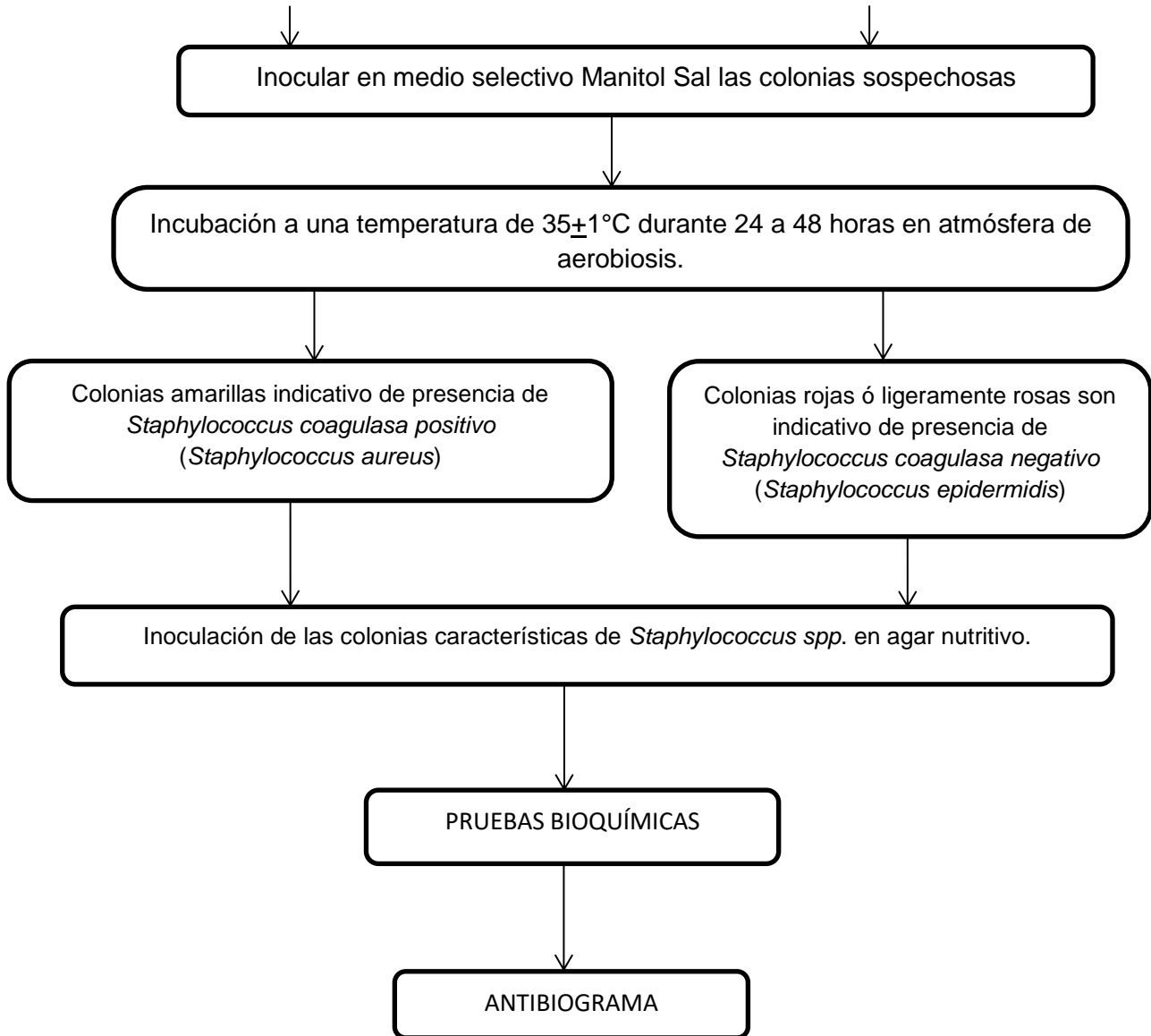
A-3.3. Esquema de trabajo para el aislamiento e identificación del género *Enterococcus* y *Streptococcus*.





A-3.4 Esquema de trabajo para el aislamiento e identificación del género *Staphylococcus* (*S. aureus*, *S. epidermidis* y SCN)





Anexo- 4.Tablas de interpretación del resultado de antibiograma de acuerdo a los estándares de NCCLS.

A. 4.1 Tabla de interpretación para *Staphylococcus spp.*

ANTIBIOTICO	CONCENTRACION (μg)	RESISTENTE (mm)	INTERMEDIO (mm)	SENSIBLE (mm)
Penicilina G procaínica	10 UI	≥ 28	-	≤ 29
Amox. Ac. clavulánico	20 μg /10 μg	≥ 13	14-17	≤ 18
Neomicina	30 μg	≥ 12	13-16	≤ 17
Eritromicina	15 μg	≥ 13	14-22	≤ 23
Oxitetraciclina	30 μg	≥ 14	15-18	≤ 19
Enrofloxacina	5 μg	≥ 16	17-22	≤ 23
Trimetoprim- Sulfametoazol	1.25 μg /23.75 μg	≥ 10	11-15	≤ 16
Ciprofloxacina	5 μg	≥ 15	16-20	≤ 21
Gentamicina	10 μg	≥ 12	13-14	≤ 15
Ampicilina	10 μg	≥ 28	-	≤ 29

A. 4.2 Tabla de interpretación para *Enterococcus spp.*

ANTIBIOTICO	CONCENTRACION (μg)	RESISTENTE (mm)	INTERMEDIO (mm)	SENSIBLE (mm)
Penicilina G Procaínica	10UI	≥ 14	-	≤ 15
Amoxicilina más Ácido clavulánico	20 μg /10 μg	≥ 16	-	≤ 17
Neomicina	30 μg	≥ 12	13-16	≤ 17
Eritromicina	15 μg	≥ 13	14-22	≤ 23
Oxitetraciclina	30 μg	≥ 14	15-18	≤ 19
Enrofloxacina	5 μg	≥ 17	18-22	≤ 23
Trimetoprim- Sulfametoazol	1.25 μg /23.75 μg	≥ 10	11-15	≤ 16
Ciprofloxacina	5 μg	≥ 15	16-20	≤ 21
Gentamicina	10 μg	≥ 6	7-9	≤ 10
Ampicilina	10 μg	≥ 16	-	≤ 17

A. 4.3 Tabla de interpretación para *Streptococcus spp.*

ANTIBIOTICO	CONCENTRACIÓN (μg)	RESISTENTE (mm)	INTERMEDIO (mm)	SENSIBLE (mm)
Penicilina G procaínica	10UI	< 19	20-27	>28
Amoxicilina más ácido clavulánico	20 μg /10 μg	<15	16-20	>21
Neomicina	30 μg	<12	13-16	>17
Eritromicina	15 μg	<15	16-20	>21
Oxitetraciclina	30 μg	<18	19-22	23
Enrofloxacina	5 μg	15	16-20	21
Trimetoprim- sulfametoxazol	1.25 μg /23.75 μg	15	16-18	19
Ciprofloxacina	5 μg	<15	16-20	>21
Gentamicina	10 μg	<12	13-14	>15
Ampicilina	10 μg	<18	19-25	>26

A. 4.4 Tabla de interpretación para la familia *Enterobacteriaceae.*

ANTIBIOTICO	CONCENTRACIÓN (μg)	RESISTENTE (mm)	INTERMEDIO (mm)	SENSIBLE (mm)
Penicilina G procaínica	10UI	<11	12-13	>14
Amoxicilina más ácido clavulánico	20 μg /10 μg	<13	14-17	>18
Neomicina	30 μg	<12	13-16	>17
Eritromicina	15 μg	<13	14-22	>23
Oxitetraciclina	30 μg	<14	15-18	>19
Enrofloxacina	5 μg	<16	17-22	>23
Trimetoprim- sulfametoxazol	1.25 μg /23.75 μg	<10	11-15	>16
Ciprofloxacina	5 μg	<15	16-20	>21
Gentamicina	10 μg	<12	13-14	>15
Ampicilina	10 μg	<13	14-16	>17

Anexo- 5. Número de aislados de microorganismos por muestra.

Ganadería 1		
Código de muestra	Bacterias aisladas	Total
01 01	<i>Candida spp.</i>	1
01 02	<i>S. agalactiae</i>	1
01 03	<i>S. aureus, E. coli</i>	2
01 04	<i>S. uberis, E. coli</i>	2
01 05	<i>E. aerogenes, S. aureus</i>	2
01 06	<i>E. coli</i>	1
01 07	<i>S. aureus</i>	1
01 08	<i>E. coli, E faecium</i>	2
01 09	<i>E. durans, K. pneumoniae, S. aureus</i>	3
01 10	<i>E. spp, E. aerogenes</i>	2
01 11	<i>E. coli</i>	1
01 12	<i>E. coli</i>	1
01 13	<i>E. coli, S. bovis</i>	2
01 14	<i>E. coli</i>	1
01 15	<i>E. coli, S. aureus, S. uberis</i>	3
01 16	<i>E. coli, E. spp</i>	2
01 17	<i>E. aerogenes, S. aureus, E. durans</i>	3
01 18	<i>E. coli, E. durans</i>	2
01 19	<i>E. coli, E. spp.</i>	2
01 22	<i>E. durans</i>	1
01 23	<i>Candida spp., S. epidermidis, E. durans</i>	3
TOTAL		38

Ganadería 2		
Código de muestra	Bacterias aisladas	Total
02 01	<i>E. durans</i>	1
02 02	<i>S. aureus, E. faecalis</i>	2
02 03	<i>S. aureus, Bordetella spp.</i>	2
02 04	<i>S. aureus, E. durans</i>	2
02 05	<i>S. coagulasa negativo, E. durans.</i>	2
02 06	<i>S. aureus, Vibrio fluvialis</i>	2
02 07	<i>S. bovis, E. faecalis</i>	2
02 08	<i>S. coagulasa negativo, E. faecalis, Vibrio fluvialis</i>	3
02 09	<i>E. coli, S. aureus, E. faecalis</i>	3
02 10	<i>S. aureus. E. spp</i>	2
02 11	<i>S. aureus</i>	1
02 12	<i>S. aureus</i>	1
02 13	<i>E. coli, S. aureus, E. faecalis</i>	3
02 14	<i>S. aureus, E. faecalis</i>	2
TOTAL		28

Ganadería 3		
Código de muestra	Bacterias aisladas	Total
03 01	<i>E. coli, S. epidermidis, S. agalactiae</i>	3
03 02	<i>Bacillus subtilis</i>	1
03 03	<i>K. pneumoniae, S. dysgalactiae</i>	2
03 04	<i>S. epidermidis, S. dysgalactiae</i>	2
03 05	<i>S. bovis, S. aureus, S. epidermidis</i>	3
03 06	<i>S. aureus, S. dysgalactiae</i>	2
03 07	<i>A. baumannii, s. bovis, S. dysgalactiae</i>	3
03 08	<i>S. aureus</i>	1
03 09	<i>S. aureus, S. bovis</i>	2
TOTAL		19

Anexo- 6. Resultado de antibiograma *Staphylococcus aureus*.

N°	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MM R	
	MUESTRA	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	ERI	
0103	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	-
0105	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	+
0107	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
0109	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	I	-
0115	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	-
0117	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	I	-
0202	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	-
0203	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	+
0204	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
0206	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	-
0209	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	I	-
0210	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	+
0211	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	-
0213	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	-
0214	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	-
0305-1	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	-
0306	R	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	+
0308	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	+
0309	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	+
% S	52.6 %	94.7 %	52.6%	94.7%	100%	42.1%	100%	94.7 %	100 %	84.2%		6+
% I	0%	5.2%	0%	0%	0%	0%	0%	5.2%	0%	15.7%		
% R	47.3 %	0%	47.3	5.26	0%	57.8%	0%	0%	0%	0%		

PEN: penicilina, AMC: amoxicilina y ácido clavulánico, AMP: Ampicilina, ERX: Enrofloxacin, CIP: Ciprofloxacina, OXY: oxitetraciclina, SXT: Trimetoprim Sulfametoxazol, GEN: Gentamicina, NEO: Neomicina, ERY: Eritromicina.

Anexo- 7. Resultado de antibiograma *Staphylococcus epidermidis*.

N°	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
MUESTRA	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	ERI	
0123	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	+
0301	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	+
0304	S	S	S	S	S	R	S	I	S	S	-
0305	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	+
% S	50	100	50	100	100	25	100	50	100	75	3+
% I	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	25%	0%	0%	
% R	50%	0%	50%	0%	0%	75%	0%	25%	0%	25%	

Anexo- 8. Resultado de antibiograma *Staphylococcus coagulasa negativo*.

N°	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
MUESTRA	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	ERI	
0205	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	-
0208	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	+
% S	100%	100%	100%	100%	50%	0%	100%	100%	100%	100%	1+
% I	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
% R	0%	0%	0%	0%	50%	100%	0%	0%	0%	0%	

Anexo- 9. Resultado de antibiograma *Enterococcus durans*.

N°	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
MUESTRA	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	ERI	
0109	R	S	R	S	S	S	-	S	S	R	+
0117	R	S	R	S	S	S	-	S	I	I	-
0118	R	S	R	S	S	S	-	S	S	R	+
0122	R	S	R	S	S	S	-	S	S	R	+
0123	R	S	R	S	S	S	-	S	S	R	+
0201	S	S	S	S	S	R	-	S	S	S	-
0204	S	S	S	S	S	S	-	S	S	S	-
0205	R	S	S	S	S	S	-	R	S	S	+
% S	25%	100%	62.5%	100%	100%	87.5%	-	87.5%	87.5%	50%	5+
% I	0%	0%	0%	0%	0%	0%	-	0%	12.5%	12.5%	
% R	75%	0%	37.5%	0%	0%	12.5%	-	12.5%	0%	37.5%	

SXT: No evaluado por la Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS)

Anexo- 10. Resultado de antibiograma *Enterococcus faecium*

N°	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
	MUESTRA	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT*	GEN	NEO	
0108	R	R	R	S	R	I	-	R	S	R	+
0202	S	S	S	S	S	R	-	S	S	S	-
% S	50%	50%	50%	100%	50%	0%	-	50%	100%	50%	1+
% I	0%	0%	0%	0%	0%	50%	-	0%	0%	0%	
% R	50%	50%	50%	0%	50%	50%	-	50%	0%	50%	

SXT: No evaluado por la Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS)

Anexo- 11. Resultado de antibiograma *Enterococcus faecalis*.

N°	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
	MUESTRA	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	
0207	S	S	S	S	S	S	-	S	R	S	-
0209	S	S	S	S	S	S	-	S	R	S	-
0213	S	S	S	S	S	S	-	S	S	S	-
0214	S	S	S	S	S	R	-	S	S	S	-
% S	100%	100%	100%	100%	100%	75%	-	100%	50%	100%	
% I	0%	0%	0%	0%	0%	0%	-	0%	0%	0%	
% R	0%	0%	0%	0%	0%	25%	-	0%	50%	0%	

SXT: No evaluado por la Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS)

Anexo- 12. Resultado de antibiograma *Enterococcus spp.*

N°	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
	MUESTRA	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	
0110	S	S	S	S	S	S	-	S	S	S	-
0116	S	S	S	S	R	S	-	S	S	S	-
0119	R	S	R	S	S	S	-	S	S	R	+
0210	S	S	S	S	S	R	-	S	S	S	-
% S	75%	100%	75%	100%	75%	75%	-	100%	100%	75%	1+
% I	0%	0%	0%	0%	0%	0%	-	0%	0%	0%	
% R	25%	0%	25%	0%	25%	25%	-	0%	0%	25%	

SXT: No evaluado por la Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS)

Anexo- 13. Resultado de antibiograma *Streptococcus bovis*.

N° MUESTRA	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	ERI	
0113	R	R	R	S	S	S	-	S	S	R	+
0207	S	S	S	S	S	S	-	S	S	S	-
0305	S	S	S	S	S	R	-	S	S	S	-
0307-2	S	S	S	S	S	S	-	S	S	S	-
0309	S	S	S	S	S	R	-	S	S	S	-
% S	80%	80%	80%	100%	100%	60%	-	100%	100%	80%	1+
% I	0%	0%	0%	0%	0%	0%	-	0%	0%	0%	
% R	20%	20%	20%	0%	0%	40%	-	0%	0%	20%	

SXT: No evaluado por la Clinical and Laboratory Standards Institute (NCCLS)

Anexo- 14. Resultado de antibiograma *Escherichia coli*.

N° MUESTRA	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	ERI	
0103	R	I	R	S	S	I	S	S	S	R	+
0104	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	+
0106	R	S	R	S	S	I	S	S	S	R	+
0108	R	S	R	S	S	R	S	S	S	R	+
0111	R	S	R	S	S	S	S	S	I	I	-
0112	S	S	R	S	S	I	S	S	I	I	-
0113	R	S	R	S	S	S	S	S	I	R	+
0114	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	+
0115	R	S	R	S	S	I	S	S	S	R	+
0116	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	+
0118	R	S	R	S	S	S	S	S	S	I	-
0119	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	+
0209	R	S	R	S	S	S	S	S	S	I	-
0213	R	S	R	S	S	R	S	S	S	I	+
0301	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	-
% S	6.6%	73.3%	93.3	100%	100%	46.6%	100%	100%	80%	6.6%	10+
% I	0%	6.66%	0%	0%	0%	26.6%	0%	0%	20%	33.3%	
% R	93.3%	20%	6.6%	0%	0%	26.6%	0%	0%	0%	60%	

Anexo- 15. Resultado de antibiograma *Enterobacter aerogenes*.

N°	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
	MUESTRA	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	
0105	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R	+
0110	R	S	R	S	S	I	S	S	S	R	+
0117	R	S	R	S	S	I	S	S	S	R	-
% S	0%	66.6%	0%	100%	100%	0%	100%	100%	66.6%	0%	2+
% I	0%	0%	0%	0%	0%	66.6%	0%	0%	0%	0%	
% R	100%	33.3%	100%	0%	0%	33.3%	0%	0%	33.3%	100%	

Anexo- 16. Resultado de antibiograma *Klebsiella pneumoniae*.

N°	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
	MUESTRA	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	
0109	R	S	R	S	S	S	S	S	I	R	+
0303	R	S	R	S	S	S	S	S	S	I	-
% S	0%	100%	0%	100%	100%	100%	100%	100%	50%	0%	1+
% I	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	50%	50%	
% R	100%	0%	100%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	50%	

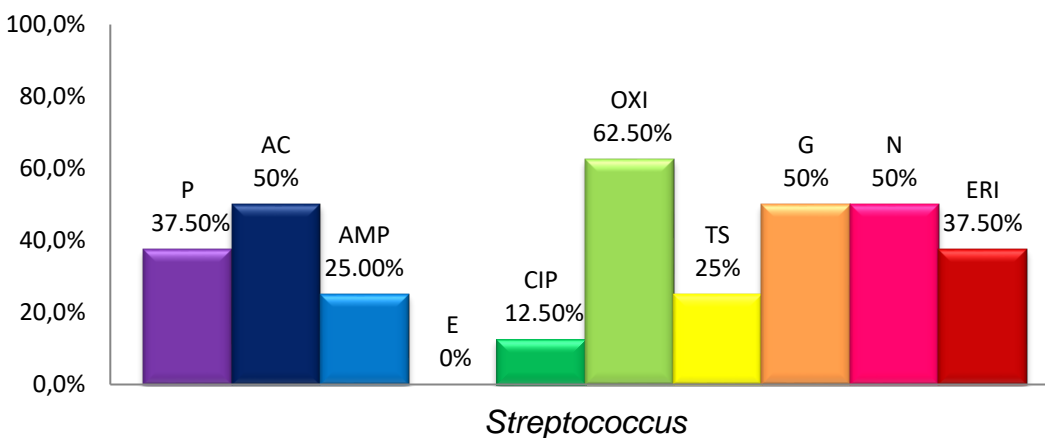
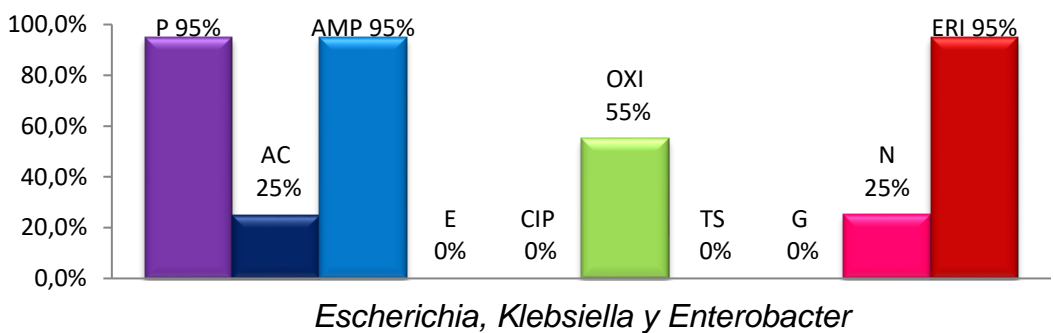
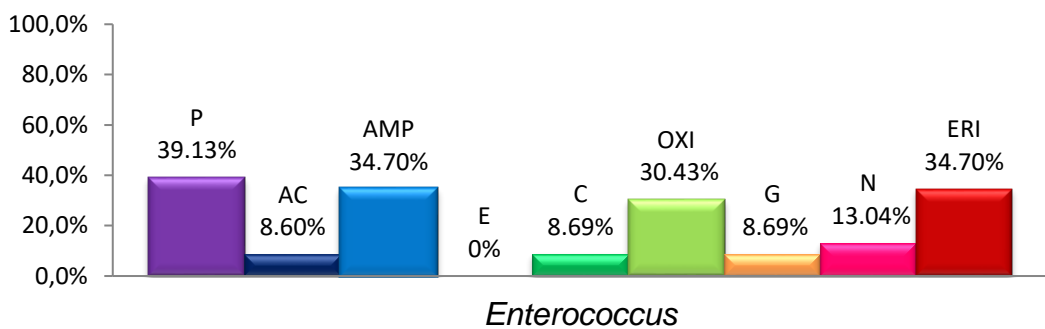
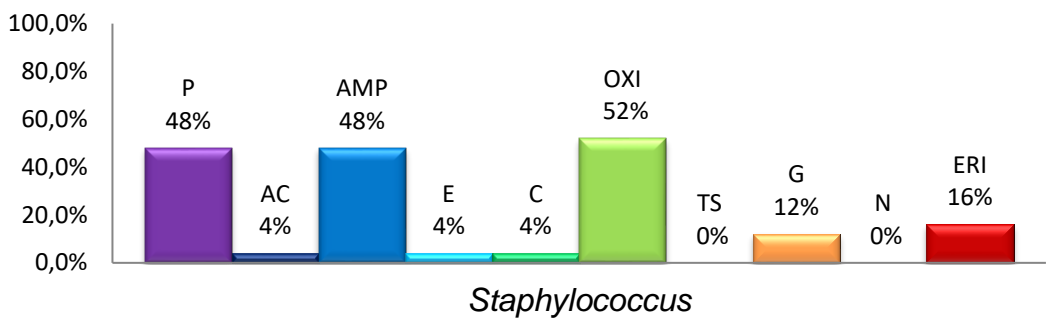
Anexo- 17. Resultado de antibiograma *Streptococcus dysgalactiae*.

N°	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
	MUESTRA	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	
0303	S	R	S	S	S	R	S	R	I	S	+
0304	S	S	S	S	S	R	S	R	R	R	+
0306	S	S	S	S	S	R	S	R	R	S	+
0307-1	R	I	S	S	S	R	S	I	R	S	+
% S	75%	50%	100%	100%	100%	0%	100%	0%	0%	75%	4+
% I	0%	25%	0%	0%	0%	0%	0%	25%	25%	0%	
% R	25%	25%	0%	0%	0%	100%	0%	75%	75%	25%	

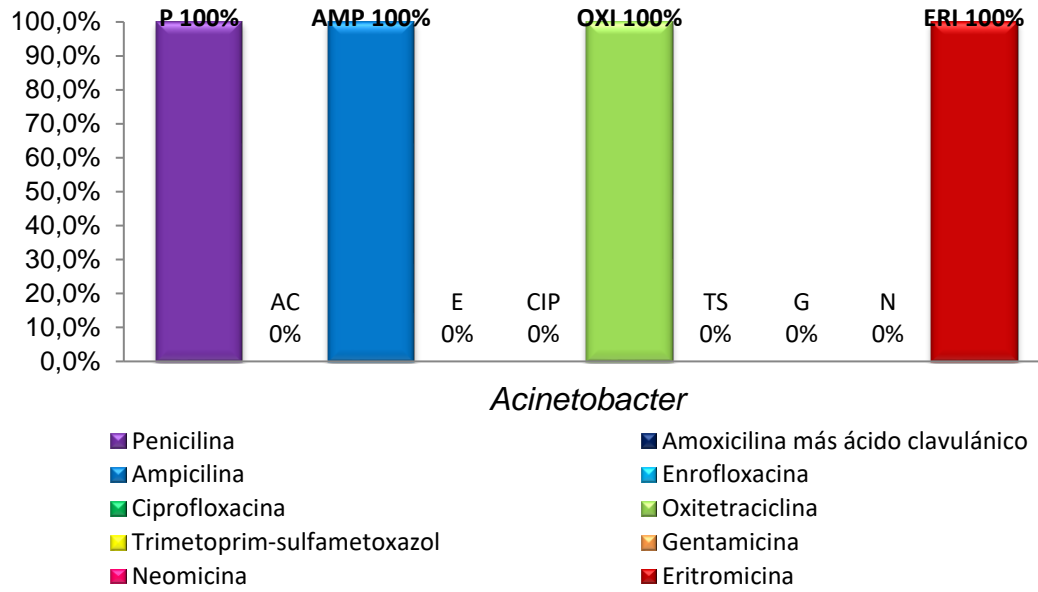
Anexo- 18. Resultado de antibiograma *Streptococcus agalactiae*.

N°	PEN.			QUINO.		TETRA.	SULFAS.	AMINO.		MACRO.	MMR
	MUESTRA	PEN	AMC	AMP	ERX	CIP	OXY	SXT	GEN	NEO	
0102	R	I	R	S	S	S	R	S	S	R	+
0301	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	-
% S	50%	50%	50%	100%	100%	50%	50%	100%	100%	50%	1+
% I	0%	50%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	
% R	50%	50%	50%	0%	0%	50%	50%	0%	0%	50%	

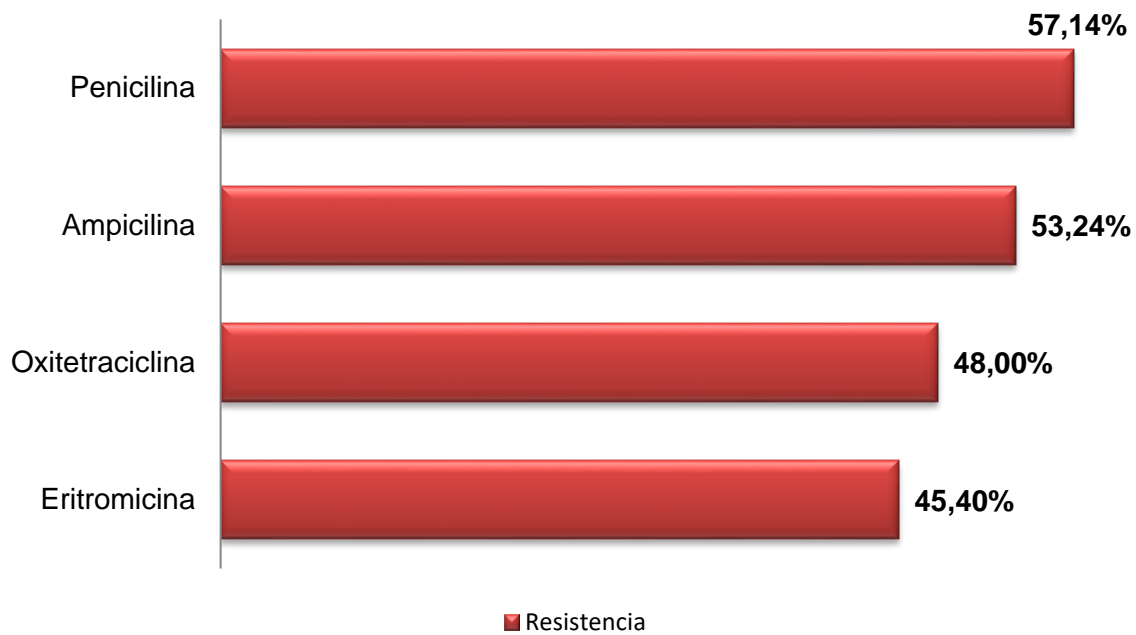
Anexo- 21. Porcentaje total de resistencia por género de bacterias aisladas.

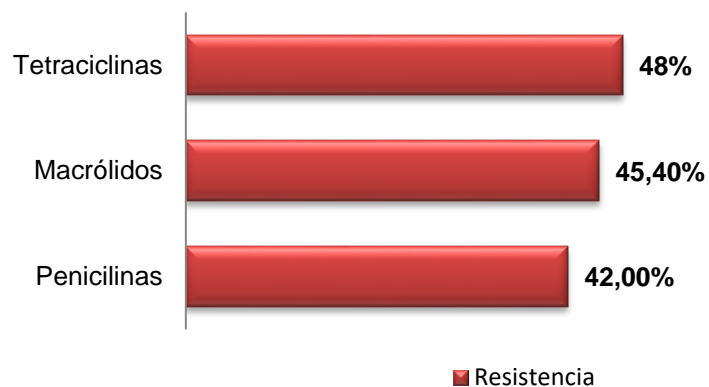


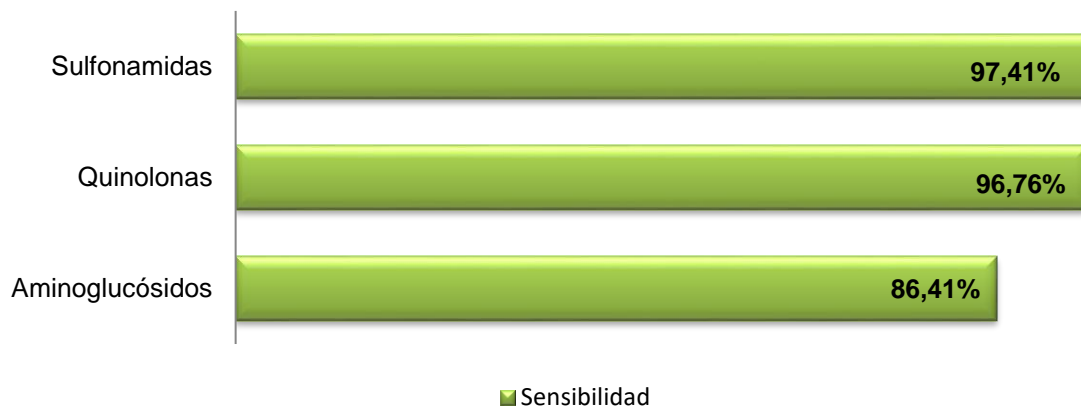
- Penicilina
- Amox más clavulánico
- Ampicilina
- Enrofloxacina
- Ciprofloxacina
- Oxitetraciclina
- Trimetoprim sulfametoxazol
- Gentamicina
- Neomicina
- Eritromicina



Anexo- 22. Antimicrobianos con mayor resistencia.



Anexo- 23. Antimicrobianos con mayor sensibilidad.**Anexo- 24. Familia de antimicrobianos más resistentes.**

Anexo- 25. Familia de antimicrobianos más sensibles.**Anexo- 26. Perfil de multirresistencia de los microorganismos evaluados en antibiograma.**