

SENSIBILIDAD A LOS AGENTES ANTIMICROBIANOS DE ALGUNOS PATÓGENOS MASTITOGÉNICOS AISLADOS DE LECHE DE CUARTOS DE BOVINOS MESTIZOS DOBLE PROPÓSITO

Sensitivity to antimicrobials Agents of Some Mastitogenic Pathogens Isolated from Milk Quarters of Dual Purpose Bovines

José F. Faría Reyes¹, Kutchyinskaya Valero-Leal², Gerardo D'Pool¹, Aleida García Urdaneta³ y María Allara Cagnasso¹

¹Facultad de Ciencias Veterinarias. ²Facultad de Medicina. ³Facultad de Agronomía.
Universidad del Zulia, Apartado 15252. Maracaibo 4005-A, Venezuela. E-mail: kutchy@cantv.net

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el fin de determinar la sensibilidad a los antimicrobianos de patógenos mastitogénicos aislados de 158 muestras de leche de cuartos de bovinos mestizos doble propósito de 4 fincas del estado Zulia, Venezuela. A las muestras de leche recolectadas asépticamente se le determinó la presencia de residuos antimicrobianos a través del Delvotest® SP. El aislamiento de los patógenos se realizó siguiendo especificaciones de la National Mastitis Council. La sensibilidad a los agentes antimicrobianos se determinó por el método de difusión en placa (Kirby-Bauer). Sólo dos muestras de leche presentaron residuos de antimicrobianos. Un total de 133 cepas bacterianas fueron aisladas, 51 *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN), 32 *S. intermedius*, 22 *S. aureus*, 18 *Streptococcus* spp y 10 *Bacillus* spp. Las cepas más resistentes fueron los SCN al presentar resistencia a 9 de los 12 antimicrobianos probados, seguidos por *Bacillus* spp (8/12), *S. intermedius* (6/12), *S. aureus* (5/12) y *Streptococcus* spp (3/9). Los mayores porcentajes de resistencia en las diferentes especies bacterianas aisladas se encontraron frente a los antibióticos beta-lactámicos. De acuerdo a los resultados obtenidos se sugiere la implementación de programas nacionales de monitoreo de resistencia bacteriana en medicina veterinaria debido al riesgo de transmisión de bacterias antibiótico-resistentes al hombre a través del consumo de productos lácteos no pasteurizados.

Palabras clave: Sensibilidad, antimicrobianos, patógenos mastitogénicos, leche.

ABSTRACT

To determine sensitivity of mastitogenic pathogens to antimicrobial agents, 158 samples were recollected from milk quarters of dual purpose bovines in four (4) farms of Zulia state, Venezuela. Samples were analyzed to determine presence of antibiotics by using the Delvotest® SP. The bacterial culture isolations were made following the National Mastitis Council procedures. Sensitivity was determined by Kirby-Bauer method. Only two samples of milk presented antimicrobial residues. One hundred thirty three strains were isolated: 51 coagulase negative *Staphylococcus* (CNS), 32 *S. intermedius*, 22 *S. aureus*, 18 *Streptococcus* spp y 10 *Bacillus* spp. The most resistant strains were the CNS showing resistance to 9 of 12 antimicrobials, followed by *Bacillus* spp (8/12), *S. intermedius* (6/12), *S. aureus* (5/12) and *Streptococcus* spp (3/9). The highest percents of resistance in the bacterial strains isolated were founded in beta-lactamic antibiotics. Results from this trial suggest the implementation of monitoring national programs of bacterial resistance in veterinary medicine, due to the risks that could cause to the public health through the intake of non pasteurized milk products.

Key words: Sensitivity, antimicrobials, mastitogenic pathogens, milk.

INTRODUCCIÓN

La mastitis es considerada una de las enfermedades más costosas de las fincas lecheras, debido al impacto económico manifestado en la disminución de la producción de leche, los gastos por servicio médico veterinario y medicamentos; así como también, por el volumen de leche descartada durante el

tratamiento, realizado con el fin de evitar la contaminación de la totalidad de la leche y el posible daño a la salud pública [5].

Dada la diversidad de agentes etiológicos causantes de mastitis, existe gran variedad de medidas de control; dentro de éstas la terapia antimicrobiana ha jugado un papel determinante en el control de la enfermedad, en especial en los casos en los cuales su aplicación es realizada en forma apropiada, al identificarse en primer lugar el agente etiológico y posteriormente conocer la sensibilidad del mismo a los antimicrobianos [24].

La prevalencia de mastitis subclínica en Venezuela oscila entre un 36 y un 52% [1, 15], y se ha atribuido principalmente a las deficientes condiciones higiénico-sanitarias, lo cual ha contribuido a la aparición de esta enfermedad y al uso frecuente de la terapia antimicrobiana, la cual se ha venido aplicando en forma empírica, al desconocerse en la mayoría de los casos el agente causal y su patrón de sensibilidad a los antimicrobianos; quedando muchas veces la elección y suministro del fármaco, en manos de personal no idóneo de las unidades de producción.

El uso indiscriminado de los antimicrobianos ha hecho suponer que las bacterias presentes en la leche producida en el país, podrían alcanzar elevados porcentajes de resistencia frente a estos compuestos; por ello, en el estado Zulia, entidad donde se produce más del 60% de la producción nacional de leche, se han realizado diversas investigaciones [8, 10-13, 26] con el fin de determinar los patrones de sensibilidad de las bacterias aisladas de leche a nivel de receptoría; encontrándose un número considerable de cepas multiresistentes, cuya presencia se cree está asociada a la selectividad provocada por la presencia de residuos de antibióticos detectados en la leche [12, 13].

La presencia de bacterias resistentes a los antimicrobianos tiene una implicación negativa en el tratamiento de las infecciones en animales, por la dificultad que se crea en la selección del fármaco; por otra parte, estas bacterias han sido consideradas un factor de riesgo para la salud humana por la posible transmisión al hombre de cepas resistentes a través del consumo de productos lácteos no pasteurizados; práctica muy común en el país donde cerca del 50% del queso blanco que se produce es elaborado a partir de leche cruda [9, 30].

La presente investigación fue realizada con el propósito de evaluar la sensibilidad a los agentes antimicrobianos, de patógenos mastitogénicos aislados de leche de cuartos, proveniente de animales mestizos doble propósito en cuatro fincas del estado Zulia, Venezuela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Animales

Para el desarrollo del estudio se escogieron cuatro explotaciones ganaderas cuyos propietarios se mostraron dispuestos a participar en la investigación, las fincas estaban ubi-

cadadas en los municipios San Francisco, Miranda y Rosario de Perija del estado Zulia. Cada finca fue visitada en una ocasión durante el ordeño vespertino donde se seleccionaron aleatoriamente el 10% de las vacas en ordeño (10 animales por finca).

Muestras de leche

Se recolectaron 158 muestras de leche, provenientes de igual número de cuartos productivos. Previo a la recolección de la muestra, los pezones fueron desinfectados con una solución iodada y secados con papel absorbente, posteriormente se descartó el primer chorro y se procedió a la recolección de 60 ml de leche de cada cuarto en recipientes estériles separados [19]. Al finalizar, las muestras fueron transportadas en cavas con hielo hasta el laboratorio para su análisis.

Residuos de antimicrobianos

A su llegada al laboratorio las muestras fueron examinadas para detectar la presencia de residuos de antimicrobianos. Se empleó el método comercial Delvotest® SP (GistBrocades Delft, the Netherlands), siguiéndose las especificaciones del fabricante con la utilización de control positivo y negativo. En esta prueba de inhibición microbiana se emplea el *Bacillus stearothermophilus* var. *calidolactis* como microorganismo.

Aislamiento e identificación de patógenos mastitogénicos

El aislamiento de los patógenos mamarios se realizó a partir del medio de agar sangre siguiendo las especificaciones de la National Mastitis Council [23]. La identificación de los diferentes agentes bacterianos se basó en sus características morfológicas y bioquímicas de acuerdo a metodología diagnóstica previamente mencionada [19-21].

Prueba de sensibilidad a los agentes antimicrobianos

La evaluación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos se realizó mediante el método de difusión en placa, utilizándose la técnica de Kirby-Bauer estandarizada por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) [22]. Luego de la identificación bioquímica de especie, se tomaron de 3 a 5 colonias de cada patógeno y se suspendieron en caldo soya tripticasa (Merck) el cual era incubado a 35°C por 24 horas. Posteriormente, la suspensión se ajustó a una turbidez equivalente a 0,5 de la escala de McFarland (correspondiente a $1,5 \times 10^8$ ufc/mL). En seguida, la suspensión estandarizada fue sembrada en la superficie del agar Mueller Hinton (Merck) y sobre el inóculo se colocaron los sensibilizadores (BBL™) recomendados para las cepas de *Staphylococcus* spp y *Bacillus* spp por la NCCLS [22]: penicilina (10UI), oxacilina (1 µg), ampicilina (10 µg), cefotaxima (30 µg), ceftriaxone (30 µg), vancomicina (30 µg), gentamicina (10 µg), eritromicina (15 µg), tetraciclina (30 µg), ciprofloxacina (5 µg), ofloxacina (5 µg), clindamicina (2 µg), trimetoprim/sulfametoxazole (1,25 µg/23,75 µg), cloranfenicol (30 µg) y rifampicina (5 µg).

Para las cepas aisladas de *Streptococcus* spp se utilizaron los sensibilizadores (BBL™) sugeridos por el NCCLS [22]: penicilina (10UI), ampicilina (10 µg), cefotaxima (30 µg), ceftriaxona (30 µg), vancomicina (30 µg), eritromicina (15 µg), ofloxacina (5 µg), cloranfenicol (30 µg) y clindamicina (2 µg). Una vez colocados los sensibilizadores, el medio fue incubado por 18-24 horas a 35°C. Como cepa control se utilizó *S. aureus* ATCC 25923. Los resultados de la prueba de sensibilidad fueron categorizados como susceptibles (S), intermedios (I) y resistentes (R) basados en los criterios de interpretación de la NCCLS [22].

El disco de oxacilina fue incluido para detectar resistencia a la meticilina, por ser este antibiótico más estable que la meticilina y proveer resultados más confiables. Las cepas de *Staphylococcus* spp penicilina resistentes y oxacilina sensibles se reportan como resistentes a penicilinas lábiles a las β -lactamasas (ampicilina), mientras que las cepas oxacilina resistentes se reportan como resistentes a todos los β -lactámicos utilizados (penicilina y ampicilina) [22].

Análisis de los resultados

La interpretación de sensibilidad y resistencia se basó en las recomendaciones de la NCCLS [22]. A cada especie bacteriana identificada, se le calculó el porcentaje de cepas susceptibles, resistentes e intermedias.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Del total de muestras analizadas sólo dos (1,26%) resultaron positivas a la prueba de detección de residuos de antibióticos, este resultado es bajo al compararse con lo obtenido en algunas investigaciones realizadas en otras zonas del estado Zulia al evaluar muestras de leche cruda a nivel de receptoría. Rivero y col. [26], encontraron que de 216 muestras de leche cruda recogida a nivel de tanques de enfriamiento el 20,4% presentaba residuos. Faría y col. [10], al estudiar 416 muestras de leche cruda tomada a nivel de cántara en receptoría reportaron un 11,53% de muestras positivas. Otra investigación realizada por los mismos autores [14], en 200 muestras de leche obtuvieron un 22,5% de positividad a la prueba de detección de residuos de antimicrobianos.

En las 158 muestras de leche de cuartos analizadas se aislaron 133 cepas bacterianas, 51 (38,34%) *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN), 32 (24,06%) *Staphylococcus intermedius*, 22 (16,54%) *Staphylococcus aureus*, 18 (13,53%) *Streptococcus* spp y 10 (7,51%) *Bacillus* spp. Estos resultados se corresponden con los obtenidos en diversas investigaciones realizadas en la región [1, 8, 14, 18], donde se ha reportado al género *Staphylococcus* y *Streptococcus* como los principales agentes etiológicos en la producción de mastitis subclínica.

De las 51 cepas de *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN) aisladas, 8 (15,68%) fueron resistentes a un antibiótico, 15 (29,41%) presentaron resistencia a dos o más agentes antimicrobianos mientras que 28 (54,90%) de los aislamientos fueron susceptibles a los 12 antimicrobianos probados. El porcentaje de resistencia encontrado fue más bajo al compararlo con lo reportado por Faría y col. [12], quienes aislaron 20 cepas de SCN en leche recolectada a nivel de cántara en el estado Zulia, las cuales se caracterizaron por ser todas multiresistentes.

Los SCN se han caracterizado por ser resistentes a más de un agente antimicrobiano, y poco susceptibles a los antibióticos cuando se comparan con los *Staphylococcus* coagulasa positiva [25], condición que dificulta el tratamiento de los procesos infecciosos que ocasionan.

En la TABLA I se muestran los resultados de la prueba de sensibilidad de los SCN frente a los antimicrobianos probados. La mayor resistencia de los SCN se observó frente a penicilina y ampicilina (25,49%). En otros países latinoamericanos como Chile [28] y Argentina [17] se han reportado resultados similares (25 y 27,6%, respectivamente) a los obtenidos en la presente investigación en cuanto a la resistencia de SCN a penicilina.

También se observó resistencia frente a tetraciclina (15,68%), eritromicina (11,76%) y clindamicina (9,80%); resultados similares a lo reportado en otros estudios [12, 32]. Todos los aislamientos de SCN se presentaron susceptibles a ciprofloxacina, rifampicina y vancomicina. La literatura describe que a estos antibióticos son sensibles la mayoría de los SCN *in vitro* [2].

En relación a *S.intermedius*, ocho (25%) aislamientos presentaron resistencia a dos o más drogas, mientras que 24 (75%) resultaron susceptibles a todos los antibióticos. Se ha reportado que las cepas resistentes de *S. intermedius* se caracterizan por presentar una resistencia dual o triple [32]. Un comportamiento similar fue reportado por Faría y col. [12], en cepas aisladas de leche de cántaras.

En la TABLA II se presentan los resultados de susceptibilidad de *S. intermedius* frente a los 12 antimicrobianos probados. El mayor porcentaje de resistencia para *S. intermedius* se observó frente a penicilina (15,63%), ampicilina (12,50%) y tetraciclina (12,50%); estos resultados difieren con lo encontrado en cepas aisladas en leche de cántara contaminadas con residuos de antibióticos [12] donde se aislaron cepas de *S. intermedius* resistentes 100% ante penicilina, oxacilina y lincomicina. Estos resultados evidencian la importancia de realizar la prueba de sensibilidad a los antimicrobianos, previo a la aplicación del tratamiento, debido a las variaciones de patrones de sensibilidad de las cepas aisladas de una finca a otra y en diferentes sectores dentro de un mismo estado.

La resistencia a eritromicina, clindamicina y cloranfenicol se encontró por debajo del 10%. Todas las cepas fueron sus-

TABLA I
SENSIBILIDAD *IN VITRO* DE CEPAS DE *Staphylococcus* COAGULASA NEGATIVA AISLADAS DE LECHE DE CUARTOS DE BOVINOS MESTIZOS DOBLE PROPÓSITO FRENTE A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

Agente Antimicrobiano	Susceptibilidad (%)	Resistencia (%)	Intermedio (%)
Tetraciclina	84,31	15,68	0,00
Cloranfenicol	94,11	5,88	0,00
Gentamicina	98,03	1,96	0,00
Ampicilina	74,50	25,49	0,00
Ciprofloxacina	100,00	0,00	0,00
Rifampicina	100,00	0,00	0,00
Vancomicina	100,00	0,00	0,00
Eritromicina	88,23	11,76	0,00
Trimetoprim/sulfametoxazole	94,11	5,88	0,00
Oxacilina	96,07	3,92	0,00
Penicilina	74,50	25,49	0,00
Clindamicina	90,19	9,80	0,00

TABLA II
SENSIBILIDAD *IN VITRO* DE CEPAS DE *Staphylococcus intermedius* AISLADAS DE LECHE DE CUARTOS DE BOVINOS MESTIZOS DOBLE PROPÓSITO FRENTE A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

Agente Antimicrobiano	Susceptibilidad (%)	Resistencia (%)	Intermedio (%)
Tetraciclina	87,50	12,50	0,00
Cloranfenicol	96,87	3,12	0,00
Gentamicina	100,00	0,00	0,00
Ampicilina	87,50	12,50	0,00
Ciprofloxacina	100,00	0,00	0,00
Rifampicina	100,00	0,00	0,00
Vancomicina	100,00	0,00	0,00
Eritromicina	90,62	9,37	0,00
Trimetoprim/sulfametoxazole	100,00	0,00	0,00
Oxacilina	100,00	0,00	0,00
Penicilina	84,38	15,63	0,00
Clindamicina	90,62	9,37	0,00

ceptibles a gentamicina, ciprofloxacina, rifampicina, vancomicina, trimetoprim sulfametoxazole y oxacilina.

De las 22 cepas aisladas de *S. aureus*, sólo 3 (13,63%) presentaron resistencia múltiple, al ser resistentes a más de 3 antibióticos, las 19 (86,36%) cepas restantes se mostraron sensibles a todas las drogas probadas. Ocasionalmente en medicina veterinaria se reportan aislamientos de cepas multi-resistentes de *S. aureus* [6, 7, 29, 31]. La importancia de estas cepas radica en que pueden ser transmitidas al humano a través del consumo de leche o de quesos elaborados con leche cruda, práctica muy común en el país [14].

La TABLA III muestra los porcentajes de susceptibilidad y resistencia de *S. aureus* frente a los 12 antimicrobianos probados. La mayor resistencia (13,63%) se observó frente a penicilina y ampicilina, seguido por un 9,09% de resistencia a tetraciclina, eritromicina y oxacilina. Resultados similares al reportado por D'Pool [8], en cepas de *Staphylococcus* hemolíticos aislados de mastitis bovina en el estado Zulia, pero diferentes de los encontrados por Faria y col. [12] quienes aislaron cepas de *S. aureus* en leche con residuos de antimicrobianos resistentes 100% a penicilina, oxacilina y 60% a cefoperazone. Estudios realizados en diferentes países sobre sensibilidad antimicrobiana de *S. aureus* de origen bovino, han revelado que

la mayor resistencia de este microorganismo se presenta contra los antibióticos betaláctamicos y aminoglucósidos y en menor proporción contra macrólidos, lincosamina/clindamicina, tetraciclina y sulfonamidas [3, 4, 16, 28, 32].

Dentro del género *Streptococcus* se identificaron dos especies; *S. agalactiae* (94%) y *S. bovis* (6%), este último mostró susceptibilidad a todos los antibióticos probados, mientras que *S. agalactiae* presentó resistencia en un 5,88% a penicilina, ampicilina y eritromicina (TABLA IV), estos resultados coinciden con lo reportado por Roberts y Brown [27], quienes encontraron una resistencia de 7% del género *Streptococcus* frente a eritromicina.

La resistencia de 5,88% observada en las cepas aisladas de *S. agalactiae* debe ser considerada, por cuanto este género se ha caracterizado por ser sensible *in vitro* a los antibióticos β -lactámicos [9]. Esta situación puede ser debida al

uso extensivo de estas drogas (β -lactámicos) en el país, al ser utilizados como tratamiento de elección para las infecciones ocasionadas por *Streptococcus*, esta condición crea la necesidad de racionalizar su uso.

Se identificaron 6 especies del género *Bacillus*: *B. circulans*, *B. polymyxa*, *B. macerans*, *B. cereus*, *B. sphaericus* y *B. megaterium*. El 90% de las cepas presentaron resistencia múltiple, al ser resistente a más de un antimicrobiano. Los fármacos que resultaron efectivos fueron: tetraciclina, cloranfenicol, gentamicina y ciprofloxacina (TABLA V). Casi todas las especies presentaron una baja susceptibilidad a los agentes β -lactámicos, este hecho también ha sido reportado previamente por Faría y col. [13], quienes reportaron una resistencia del 100% frente a penicilina y oxacilina. Esta resistencia puede ser causada por modificación enzimática del agente antimicrobiano debido a la producción de β -lactamasa.

TABLA III
SENSIBILIDAD *IN VITRO* DE CEPAS DE *Staphylococcus aureus* AISLADAS DE LECHE DE CUARTOS DE BOVINOS MESTIZOS DOBLE PROPÓSITO FRENTE A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

Agente Antimicrobiano	Susceptibilidad (%)	Resistencia (%)	Intermedio (%)
Tetraciclina	90,90	9,09	0,00
Cloranfenicol	100,00	0,00	0,00
Gentamicina	100,00	0,00	0,00
Ampicilina	86,36	13,63	0,00
Ciprofloxacina	100,00	0,00	0,00
Rifampicina	100,00	0,00	0,00
Vancomicina	100,00	0,00	0,00
Eritromicina	90,90	9,09	0,00
Trimetoprim/sulfametoxazole	100,00	0,00	0,00
Oxacilina	90,90	9,09	0,00
Penicilina	86,36	13,63	0,00
Clindamicina	100,00	0,00	0,00

TABLA IV
SENSIBILIDAD *IN VITRO* DE CEPAS DE *Streptococcus agalactiae* AISLADOS DE LECHE DE CUARTOS DE BOVINOS MESTIZOS DOBLE PROPÓSITO FRENTE A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

Agente Antimicrobiano	Susceptibilidad (%)	Resistencia (%)	Intermedio (%)
Cloranfenicol	100,00	0,00	0,00
Ampicilina	88,23	5,88	5,88
Vancomicina	100,00	0,00	0,00
Eritromicina	94,11	5,88	0,00
Penicilina	88,23	5,88	5,88
Clindamicina	94,11	0,00	5,88
Cefotaxima	100,00	0,00	0,00
Ceftriazone	100,00	0,00	0,00
Ofloxacina	100,00	0,00	0,00

TABLA V
SENSIBILIDAD *IN VITRO* DE CEPAS DE *Bacillus* spp AISLADOS DE LECHE DE CUARTOS DE BOVINOS MESTIZOS
DOBLE PROPÓSITO FRENTE A DIFERENTES ANTIMICROBIANOS

Agente Antimicrobiano	Susceptibilidad (%)	Resistencia (%)	Intermedio (%)
Tetraciclina	100,00	0,00	0,00
Cloranfenicol	100,00	0,00	0,00
Gentamicina	100,00	0,00	0,00
Ampicilina	50,00	50,00	0,00
Ciprofloxacina	100,00	0,00	0,00
Rifampicina	70,00	20,00	10,00
Vancomicina	80,00	10,00	10,00
Eritromicina	90,00	10,00	0,00
Trimetoprim/sulfametoxazole	70,00	30,00	0,00
Oxacilina	10,00	80,00	10,00
Penicilina	20,00	80,00	0,00
Clindamicina	40,00	60,00	0,00

A excepción de la resistencia a clindamicina, la resistencia a otros agentes antimicrobianos fue muy variada entre las diferentes especies aisladas. La presencia de especies del género *Bacillus*, resistentes a agentes antimicrobianos β -lactámicos (penicilina, ampicilina, oxacilina), a clindamicina y ocasionalmente a otros fármacos (rifampicina, trimetoprim/sulfametoxazole, vancomicina y eritromicina) sugieren que la selección de los antibióticos para el tratamiento de infecciones por *Bacillus* se debe basar en la prueba de sensibilidad *in vitro*, debido a la existencia de variabilidad de la sensibilidad significativa que presenta el género ante los antimicrobianos.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De las especies bacterianas aisladas los SCN fueron los más resistente a los fármacos probados, seguido por los miembros del género *Bacillus* y por las especies *S. intermedius* y *S. aureus*, mientras que, las cepas de *Streptococcus* spp. resultaron ser las más sensibles a los agentes antimicrobianos.

El antibiótico al cuales las especies aisladas exhibieron mayor resistencia fue contra los β -lactámicos (penicilina y ampicilina).

Los resultados obtenidos indican que la terapia antimicrobiana en el ganado lechero de las cuatro fincas estudiadas no está ajena a la problemática de la resistencia bacteriana.

Se sugiere la realización de estudios posteriores que incluyan un número representativo de fincas a nivel de la región zuliana para conocer la situación regional con referencia a la sensibilidad a los antimicrobianos de patógenos causantes de mastitis bovina, así como también, la implementación de programas permanentes de monitoreo de sensibilidad bacteriana

en medicina veterinaria con el fin de adoptar medidas para evitar que la resistencia continúe en aumento.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean expresar su agradecimiento al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad del Zulia (CONDES) por el financiamiento de la presente investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALONSO AMELOT, F.R. Programas de control de mastitis subclínica bovina en la cuenca del Lago de Maracaibo. **Rev. Vet. Venez.** XLVII (272/273): 11-93. 1981.
- [2] ARCHER, G. *Staphylococcus epidermidis* y otros estafilococos coagulasa negativos. En: Mandell, G.; Bennett, J.; Dolin, R. (Eds), **Enfermedades Infecciosas. Principios y Prácticas.** 5ª Ed. Vol. 2. Buenos Aires, Argentina. 2539-2548 pp. 2002.
- [3] BETANCOURT, O.; SCARPA, C.; VILLAGRAN, K. Estudio de resistencia de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis subclínica bovina frente a cinco antibióticos en tres sectores de la IX Región de Chile (Nota Técnica). **Rev. Cient. FCV-LUZ.** Vol. XIII (5): 413-417. 2003.
- [4] BUSATO, A.; TRACHSEL, P.; SCHÄLLIBAUM, M.; BLUM, J. Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. **Prev. Vet.Med.** 44: 205-220. 2000.
- [5] CONTRERAS, J.A. Manejo de la mastitis en ganadería de doble propósito. En: Madrid, N. y Soto Beloso, E.

- (Eds), **Manejo de la ganadería mestiza de doble propósito**. LUZ-FCV. Fundación GIRARZ. 143-152 pp. 1999.
- [6] DE MAGALHAES, C.; MORENO, G.; CURTI, P. Antimicrobial susceptibilities of *Staphylococcus aureus* isolated from animal and human sources in Brazil. **Br. Vet. J.** 146 (1): 50-56. 1990.
- [7] DE OLIVEIRA, A.; WATTS, J.; SALMON, S.; AARESTRUP, F. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and the United States. **J. Dairy. Sci.** 83 (4): 855-862. 2000.
- [8] D'POOL, G. Susceptibilidad in vitro de estafilococos hemolíticos aislados de mastitis bovina en el estado Zulia. Universidad del Zulia. Facultad de Ciencias Veterinarias. (Trabajo de Acenso) 42 pp. 1976.
- [9] ERSKINE, R.; WALKER, R.; BOLIN, C.; BARTLETT, P.; WHITE, D. Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. **J. Dairy. Sci.** 85 (5): 1111-1118. 2002.
- [10] FARIA, J. F.; RIVERO, Z.; GALLEGOS, B.; GARCÍA, A. Resistencia a los antimicrobianos y concentración inhibitoria mínima (CIM) de enterobacterias aisladas de leche cruda (I). **Rev. Cient. FCV-LUZ.** VII (4): 315-322. 1998.
- [11] FARIA, J. F.; RIVERO, Z.; GALLEGOS, B.; ALLARA, M. Resistencia a los antimicrobianos y concentración inhibitoria mínima (CIM) de BGNNGF aisladas de leche cruda (II). **Rev. Cient. FCV-LUZ.** IX (1): 11-16. 1999.
- [12] FARIA, J. F.; GARCÍA, A.; MARQUEZ, A.; MANZANILLA, B.; MORALES, D.; GARCÍA, A. Resistencia a los antimicrobianos de *Staphylococcus* aislados de leche cruda. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** Vol. IX (4): 343-348. 1999.
- [13] FARIA, J.; ALLARA, M.; IZQUIERDO, P.; D'POOL, G.; GARCÍA, A.; VALERO-LEAL, K. Resistencia a los antimicrobianos de especies de *Bacillus* aislados de leche cruda. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** Vol. XI (6): 479-484. 2001.
- [14] FARIA, J.; GARCÍA, A.; IZQUIERDO, P.; ALLARA, M.; VALERO, K. Aislamiento de bacterias Gram positivas de leche cruda con residuos de antimicrobianos. **Archiv. Latinoam. de Nut.** 52 (1): 68-73. 2002.
- [15] FERRARO, L.; SCARAMELLI, A.; TROYA, H. Prevalencia de la Mastitis Subclínica Bovina en Venezuela y Evaluación de la Prueba de Mastitis de California (CMT) como Prueba Diagnóstica. **Rev. Cient. FCV-LUZ** IX (2): 81-90. 1999.
- [16] GENTILINI, E.; DENAMIEL, G.; LLORENTE, P.; GODALY, M.; REBUELTO, M.; DEGREGORIO, O. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Argentina. **J. Dairy Sci.** 83 (6): 1224-1227. 2000.
- [17] GENTILINI, E.; DENAMIEL, G.; BETANCOR, A.; REBUELTO, M.; RODRIGUEZ, M.; DE TORRES, R. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. **J. Dairy Sci.** 85 (8): 1913-1917. 2002.
- [18] HOET, A.; D'POOL, G.; FULCADO, W.; POLO, R.; GRATEROL, C.; BRITO, M. Aislamiento de estafilococos coagulasa positivos, distintos a *Staphylococcus aureus*, de cuartos con mastitis subclínica en la Villa del Rosario, Estado Zulia, Venezuela. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** IX (2): 149-153. 1999.
- [19] INTERNATIONAL DAIRY FEDERATION. Laboratory methods for use in mastitis work. Document 132. Brussels, Belgium. 1-26 pp. 1981.
- [20] KLOSS, W.; BANNERMAN, T.. *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Murray, P.; Baron, E.; Pfaller, M.; Tenover, F.; Tenover, R. (Eds), **Manual of Clinical Microbiology**. 7th edition AMS Press. Washington DC. 264-282 pp. 1999.
- [21] LOGAN, N.; TURNBULL, P. Bacillus and recently derived genera. In: Murray, P.; Baron, E.; Pfaller, M.; Tenover, F.; Tenover, R. (Eds), **Manual of Clinical Microbiology**. 7th edition AMS Press. Washington DC. 357-369 pp. 1999.
- [22] NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARD. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: **Twelfth Informational Supplement. NCCLS.** Document M100-S12. Vol. 22 No. 1. 133 pp. 2002.
- [23] NATIONAL MASTITIS COUNCIL. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection.** National Mastitis Council, Inc., Arlington, VA, USA. 1-33 pp. 1990.
- [24] OWENS, W.; RAY, C.; WATTS, J.; YANCEY, R. Comparison of success of antibiotic therapy during lactation and results of antimicrobial susceptibility tests for bovine mastitis. **J. Dairy. Sci.** 80 (2): 313-317. 1997.
- [25] PERRIN-COULFIOD, I.; MARTEL, J. L.; BROUILLET, P.; FEDIDA, M. Identification et sensibilité aux antibiotiques des diverses espèces de staphylocoques associées á des mammítas bovines inapparentes et subclínicas – Résultats d'une enquête regionale. **Rev. Méd. Vét.** (Toulouse). 142: 39-47. 1991.
- [26] RIVERO, Z.; FARIA, J. F.; SANTORO, R. Aislamiento de Gram negativos en leches crudas con antibióticos. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** IV (1): 11-16. 1994.
- [27] ROBERTS, M. C.; BROWN, M. B. Macrolide-lincosamide resistance determinants in streptococcal species isolated from the bovine mammary gland. **Vet. Microbiol.** 40: 253-261. 1994.

- [28] SAN MARTIN, B.; KRUIZE, J.; MORALES, A.; AGÜERO, H.; LEON, B.; ESPINOZA, S.; IRAGÜEN, D.; PUGA, J.; BORIE, C. Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y X^a Región, Chile. **Arch. Med. Vet.** 34 (2): 221-234. 2002.
- [29] SEGUIN, J.; WALKER, R.; CARON, J.; KLOSS, W.; GEORGE, C.; HOLLIS, R.; JONES, R.; PFALLER, M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a veterinary teaching hospital: potential human to animal transmission. **J. Clin. Microbiol.** 37 (5): 1459-1463. 1999.
- [30] TEALE, C.; DAVID, G. Antibiotic resistance in mastitis bacteria. **Proceedings of the British Mastitis Conference.** Wallindorfs. Uca. Septiembre del 21 al 24. 24-29 pp. 1999.
- [31] WATTS, J.; SALMON, S. Activity of selected antimicrobial agents against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infections that produce β -lactamase. **J. Dairy. Sci.** 80 (4): 788-791. 1997.
- [32] WERCKENTHIN, CH.; CARDOSO, M.; MARTEL, J.; SCHWARZ, S. Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with particular reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus* and canine *Staphylococcus intermedius*. **Vet. Res.** 32: 341-362. 2001.