

# EVALUACIÓN DEL ESTADO DE RESISTENCIA DE AGENTES ETIOLÓGICOS DE MASTITIS CLÍNICA Y SUBCLÍNICA FRENTE A ALGUNOS ANTIMICROBIANOS UTILIZADOS EN HEMBRAS BOVINAS DEL MUNICIPIO DE SOTAQUIRÁ (BOYACÁ-COLOMBIA)

**Evaluation of resistance from Bacteria Causing Clinic and Subclinic Mastitis Against Some Antimicrobials Used in Dairy Cows in Sotaquirá Municipality (Boyacá-Colombia)**

**Darío Martínez-Pacheco<sup>1</sup>, Anastasia Cruz-Carrillo<sup>2\*</sup>, Alirio Millán<sup>1</sup> y Giovanni Moreno-Figueredo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Grupo IRABI, Programa de Medicina Veterinaria, Fundación Universitaria Juan de Castellanos. Tunja, Colombia.

<sup>2</sup>Grupo GIBNA, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

\*anastasia.cruz@uptc.edu.co; anicata22@hotmail.com

## RESUMEN

La mastitis se presenta en vacas en producción o en periodo seco y es causada principalmente por bacterias. El tratamiento con antibacterianos suele ser eficaz, aunque las bacterias pueden desarrollar resistencia a algunos fármacos conduciendo a ineficacia. En el municipio de Sotaquirá (Colombia), reconocido por su producción de leche, no se han realizado estudios para identificar las bacterias causantes de mastitis, como tampoco la proporción en la que se presenta la enfermedad o la existencia de resistencia de las bacterias. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar la presencia de mastitis y los agentes causales de ésta, las características del ordeño y la presencia de resistencia a algunos antibacterianos. Se visitaron predios distribuidos en todo el Municipio, cuyos propietarios aceptaron participar en el estudio. Se evaluó la rutina de ordeño, se hizo un examen clínico de la glándula mamaria y valoración física de la leche para el diagnóstico de mastitis clínica y la prueba de mastitis California (CMT) para diagnosticar mastitis subclínica; se tomaron muestras de leche para identificación bacteriana y las pruebas de sensibilidad. Del total de animales evaluados (N= 390), 153 tuvieron mastitis subclínica (40,4%) en grados 1, 2 y 3 (31; 36,6 y 31%, respectivamente); dos tuvieron cuartos atrofiados y dos mastitis clínica. Se aislaron *Micrococcus* spp, *Escherichia coli*, *Klebsiella planticola*, *Streptococcus bovis*, *Staphylococcus apophyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis* y *Sporolactobacillus* spp., entre otras. La mayoría de los microorganismos fueron resistentes a cefalotina y penicilina G.

Por el contrario, 68% fueron sensibles a ceftriaxona y ciprofloxacina y 50% a amoxicilina. Setenta y cinco por ciento de los microorganismos fueron ligeramente sensibles a ampicilina. *E. coli* mostró resistencia a varios fármacos. Con los resultados de este estudio se comprueba la presencia de la enfermedad en los animales de la zona, pocos casos de mastitis clínica y niveles de resistencia considerables.

**Palabras clave:** Eficacia antibiótica, leche, calidad higiénica de la leche.

## ABSTRACT

Mastitis is found in cows during production or dry period and is mainly caused by bacteria. Antibacterial treatment is usually effective, although bacteria can develop resistance to certain drugs, leading to inefficiency. In the Municipality of Sotaquirá (Colombia), known for its production of milk, studies to identify bacteria causing mastitis have not been undertaken either to determine the proportion in which the disease occurs or the existence of resistance in bacteria. Therefore, the objective of this study was to evaluate the presence of mastitis and its causative agents, milking characteristics and the presence of resistance to some antibacterials. Farms throughout the Municipality whose owners agreed to participate in the study were visited. The milking routine was evaluated along with a clinical examination of the mammary gland and physical assessment of the milk for the diagnosis of clinical mastitis; also, a California mastitis test to diagnose subclinical mastitis was performed. Milk samples for bacterial identification and susceptibility testing were taken. Of the total of animals evaluated

(N=390), 153 had subclinical mastitis (40.4%) in grades 1, 2 and 3 (31, 36.6, and 31%, respectively); two had loss of integrity of the mammary tissue and two had clinical mastitis. Isolation of *Micrococcus spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella planticola*, *Streptococcus bovis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis*, and *Sporolactobacillus spp.* among others, was possible. The majority of microorganisms were resistant to cephalothin and penicillin G. On the contrary, 68% were susceptible to ciprofloxacin and ceftriaxone, and 50% to amoxicillin; 75% of microorganisms were slightly susceptible to ampicillin. *E. coli* showed resistance to multiple drugs. Results from this study confirm the presence of the disease in animals in the area as well as a few cases of clinical mastitis and relatively low resistance levels.

**Key words:** Antibiotic efficacy, milk, milk microbiological quality.

## INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina (*Bos taurus* y *Bos indicus*) es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria causado principalmente por la presencia de microorganismos como bacterias incluyendo *Mycoplasma spp.*, hongos y virus, aunque algunas veces es de origen traumático o causada por agentes tóxicos [8, 31]. Es la enfermedad que más afecta los hatos lecheros, constituyendo un factor importante por las pérdidas económicas que produce, debidas a la disminución de la producción y calidad láctea de cada individuo afectado y a los costos de las terapias instauradas [9, 13, 39]. Adicionalmente, la generación de organismos resistentes a antibacterianos disminuye la eficacia de los tratamientos tradicionales, constituyendo un problema de salud pública, porque dichos microorganismos pueden ser transmitidos al ser humano a través de la leche [18]. El desarrollo de resistencia es un proceso dinámico y progresivo, que debe ser estudiado de manera periódica en las diferentes regiones del mundo [5, 14]. Por tal motivo, en el presente estudio se buscó conocer el estado de resistencia contra antibacterianos de uso común por parte de las bacterias causantes de mastitis clínica y subclínica en hatos lecheros del municipio de Sotaquirá (Boyacá-Colombia).

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Lugar de estudio.** El trabajo se realizó en 21 predios del municipio de Sotaquirá, el cual está ubicado a 2.800 msnm, en la provincia Centro del departamento de Boyacá (Nororiente Colombiano), tiene una temperatura promedio de 14°C con una extensión de 288,65 Km. Las zonas identificadas son bosque seco montano bajo, bosque muy húmedo montano bajo, bosque húmedo montano, bosque húmedo montano bajo y páramo andino. La ganadería se desarrolla en las áreas planas con extensiones mayores y de grandes productores y en zona de ladera donde se encuentran minifundios y microfundios, en unas y otras se maneja el sistema de pastoreo rotacional con pasto kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) y ryegrass (*Lolium*

spp.). El trabajo se hizo en predios de pequeños y medianos productores, distribuidos en diferentes veredas del Municipio, con deficientes rutinas de ordeño a pesar de producir una cantidad considerable de leche para la región [1].

**Evaluación de rutina de ordeño.** En cada predio se observó sin intervenir todo el procedimiento realizado por los ordeñadores, desde que los animales eran traídos al sitio de ordeño hasta ser llevados a sus respectivos potreros.

**Diagnóstico de mastitis.** Al inicio del ordeño se observaron las características de la leche en cada cuarto de cada animal, para establecer la presencia de grumos, sangre, o cambios de color que sugirieran la presencia de mastitis clínica [20]. En los animales positivos se examinó la ubre, para identificar aumento de la temperatura, fibrosis, edema o dolor. En los animales con mastitis clínica se evaluó la presencia de manifestaciones sistémicas como fiebre, decaimiento o anorexia.

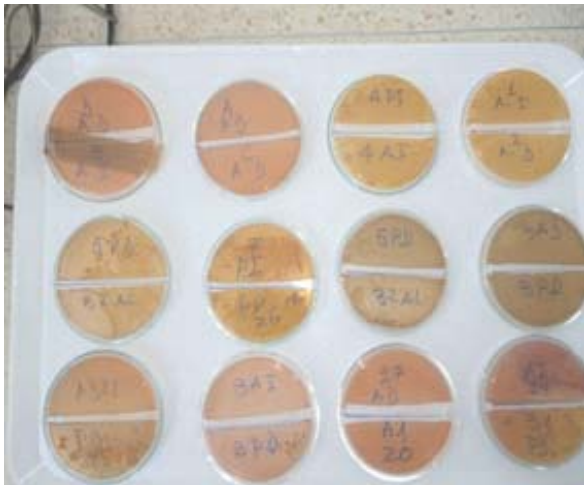
Antes de iniciar el ordeño y previo desecho de los primeros hilos de leche de cada cuarto, se tomaron uno o dos chorros sobre la paleta y se agregó el reactivo comercial (dodecylbenzenesulfonato de sodio de cristal violeta), en un volumen equivalente, se mezclaron y se observó para interpretar el resultado [4] (FIG. 1). Para el análisis de los resultados y la interpretación del California mastitis test (CMT) [25], se tuvieron en cuenta aquellos animales que tuvieron calificación 1, 2 ó 3. De cada uno de los cuartos positivos a cualquier tipo de mastitis se tomaron muestra de leche en tubos de vidrio estériles rotulados; se enviaron en una cava portátil Rubbermaid de 51 L, con hielo en gel.



**FIGURA 1. REALIZACIÓN DE CMT.**

### Pruebas microbiológicas

Cada muestra de leche fue sembrada en placas de Petri con agar sangre, chocolate y MacConkey e incubadas a 37°C por 48 horas. Cumplida la incubación, aquellas en las que no hubo crecimiento bacteriano se marcaron como negativas y desecharon, mientras que en las que sí lo hubo se procedió a tomar una muestra de cada colonia (FIG. 2), la cual fue montada en una lámina portaobjetos para realizar la tinción de Gram.



**FIGURA 2. CULTIVO DE MUESTRAS DE LECHE Y CRECIMIENTO BACTERIANO.**

La identificación de bacterias cocoides Gram positivas que crecieron en agar sangre (FIG. 3) y agar chocolate, se realizó con las pruebas de catalasa y coagulasa. Se observaron los resultados, la morfología de las colonias, la presencia o no de hemólisis y se procedió a hacer otras pruebas bioquímicas para identificar los géneros y especies.

Igualmente, para la identificación de bacterias Gram negativas que crecieron en agar MacConkey, se realizaron las pruebas bioquímicas correspondientes: agar citrato Simons, medio TSI (Triple Azúcar – Hierro), agar LIA (Lisina Descarboxilasa), agar SIM (Sulfuro Indol Movilidad), caldo VP (Voges Proskauer), caldo RM (Rojo de Metilo), prueba de la gelatina, de caldo básico rojo de fenol, de caldo urea [21].

Adicionalmente se hicieron las pruebas de cultivo en medio EGB (*Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico), medio CUH para fermentación de carbohidratos (manitol, sorbitol, inulina, lactosa, rafinosa), prueba de bacitracina, prueba de caldo salado, hidrólisis PYR (pirridolaminopeptidasa), prueba de vancomicina, prueba de la novobiocina, prueba de la oxidasa, prueba de



**FIGURA 3. TOMA DE MUESTRA PARA LA IDENTIFICACIÓN BACTERIANA.**

descarboxilasa, prueba de movilidad, prueba de reducción de nitratos, prueba de la optoquina [21].

Se utilizó el método de Kirby Bauer usando cajas de petri con agar Muller Hinton [20], para la siembra de las bacterias, por el método de estrías en cuatro cuadrantes, en los que posteriormente se colocaron ocho sensibilizadores (sensibilizadores annar®), por placa, para la prueba de sensibilidad a los antibacterianos. Realizada la incubación a 37°C por 24 horas, se valoraron los halos de inhibición interpretando como sensible (halo >26 mm), ligeramente sensible (halo entre 18-26 mm) y resistente (halo <18 mm). Los antibacterianos evaluados fueron gentamicina, ciprofloxacina, trimetoprim-sulfa, oxacilina, neomicina, dicloxacilina, ceftriaxon, cefadrina, amoxicilina, cefalotina, ampicilina, penicilina G, lincomicina y eritromicina.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se evaluó un total de 390 animales distribuidos en 21 predios, en los que se permitió realizar el estudio.

### Evaluación de la rutina de ordeño

Se constató que en solo cinco predios se hace pre-sellado y sellado, la ubre suele lavarse pero generalmente se seca con toalla compartida para todos los animales y solo en pocos casos se usa un material desechable. La desinfección de los pezones pre-ordeño se realiza en seis del total de predios estudiados, así como el despunte; con relación al sellado, en 11 de los 21 predios lo practican considerándose esto como un bajo porcentaje. Se pudo encontrar que en solo dos predios la rutina de ordeño se realiza satisfactoriamente; sin embargo, en éstos el porcentaje de mastitis subclínica estuvo entre 46,6-57,7%. En cerca del 50% de las fincas el ordeño se calificó como malo.



**FIGURA 4. RESULTADOS DE ANTIBIOGRAMA.**

En los predios estudiados, los animales son tratados correctamente, lo cual concuerda con lo recomendado por muchos autores quienes hacen referencia a la conveniencia de trasladar los animales sin producir estrés [34, 36, 42]; sin embargo, en todos los casos se evidenció la presencia de perros (*Canis lupus familiaris*), durante todo el ordeño. Por otra parte, la higiene durante el ordeño disminuye la probabilidad de infección bacteriana en 70%, por lo que una mala rutina de ordeño aumenta la incidencia de mastitis [10, 27, 35]. Con base en lo anterior, se puede afirmar que en la mayoría de los predios estudiados no se aplican las prácticas de higienización o se hacen de forma incorrecta. En consecuencia, se podría inferir que buena parte de incidencia de la mastitis de la zona estudiada se puede deber a errores en la rutina de ordeño.

#### Diagnóstico de mastitis clínica y subclínica

Los animales muestreados fueron de las razas Holstein (N=51), Normando (N=60), Jersey (N=20) y cruces de éstas (N=26), y se encontraban en diferentes etapas de la producción. Del total de animales ordeñados (N = 390), dos presentaban mastitis clínica con las alteraciones propias de la glándula mamaria pero sin manifestaciones sistémicas; se encontraron dos cuartos atrofiados (0,6%). De las 390 hembras evaluadas, 157 tuvieron mastitis, lo que corresponde a 40,25% del total (TABLA I), con 284 cuartos afectados con mastitis subclínica, que corresponde a 98,6% de los cuartos no sanos; mientras solo dos fueron diagnosticados con mastitis clínica (0,66%). En todos los predios evaluados hubo mastitis y en ningún caso hubo predios en los que todos los animales fueran negativos. Adicionalmente se puede afirmar que en la mayoría de animales con mastitis subclínica, ésta se presenta en más de un cuarto. Considerando los predios de manera individual, la positividad a mastitis subclínica estuvo entre 8,2 y 81,39% de los animales en producción, mostrando variabilidad entre los predios. Específicamente, 32,29% de los casos fueron grado I; 35,41% grado II y 30,9% grado III.

La presencia de mastitis clínica en este estudio (0,66%) fue similar a lo encontrado en Duitama, Boyacá (0,2%) [18] y

**TABLA I  
CONSOLIDADO DE LOS RESULTADOS DE MASTITIS  
SUBCLÍNICA EN LOS ANIMALES DE ESTUDIO**

Predio #	Total de animales en ordeño	Total de animales positivos	Porcentaje de animales positivos (%)
1	9	4	44,4
2	3	1	33,3
3	15	4	26,6
4	5	2	40
5	19	9	47,3
6	18	2	11,1
7	7	2	28,5
8	28	10	35,7
9	14	6	42,8
10	12	6	50
11	9	2	22,2
12	3	2	66,6
13	5	4	80
14	12	10	83,3
15	3	1	33,3
16	68	6	8,2
17	30	14	46,6
18	30	14	46,6
19	37	21	54,0
20	43	36	81,3
21	20	3	15
<b>Total</b>	<b>390</b>	<b>157</b>	<b>40,25</b>

en Belén (0,32%); se encontró 0,6% de cuartos atrofiados [7], porcentaje inferior a lo reportado en el trabajo desarrollado en Montería (Colombia), donde encontraron 1,6% de cuartos atrofiados pezones perdidos [7], mientras que en el norte del departamento de Huila (Colombia), 2,5% de los cuartos evaluados se catalogaron como cuartos no funcionales [32] y en Venezuela 1,25% [20]. Lo anterior sucede cuando se presenta mastitis clínica y ésta no es tratada [24, 39]. A diferencia de lo reportado por Guizar y Bedollano se observaron signos sistémicos [23]. Las alteraciones observadas en la leche coincidieron con lo reportado por la literatura [4, 45], así como la disminución de la producción de leche [2].

A pesar de que en la mayoría de predios la tecnificación es regular, la presencia de mastitis clínica pudo ser baja debido a que con ordeño manual se facilita la identificación de la alteración, propiciando la administración de tratamientos. Adicionalmente, en muchos predios se deja el ternero después de finalizado el ordeño, lo que favorece el escurrido y la eliminación de bacterias, así como se logra una mayor permanencia de la vaca en pie, evitando el paso de bacterias por el conducto del pezón [8, 17, 22, 38]. El hallazgo de 41,7% de animales con mastitis subclínica fue inferior a lo reportado en el Alto Chi-

camocha (Boyacá) [36], con prevalencia de 48,58%. Sin embargo, fue superior a lo encontrado en algunas regiones de Argentina con 15 a 20% de vacas positivas [12].

#### Aislamiento bacteriano

De las 157 muestras enviadas al laboratorio, se hicieron 153 aislamientos y no se logró aislamientos en 4 de ellas (2,5%). En las muestras restantes se identificaron géneros de bacterias (TABLA II) dentro de las que se destacan, *Streptococcus*, con 35 aislamientos (22,8%), aunque no todos de la misma especie: *Streptococcus agalactiae* (1,3%), *S. pyogenes* (1,96%), *S. uberis* (3,92%), *S. bovis* (1,96%), *Enterococcus* (*S. grupo D*) (5,22%) y *S. lactis* (5,88%).

En el segundo lugar, especies de *Staphylococcus* fueron aisladas de 25 muestras (16,33%) identificándose, *S. epidermidis*, *S. aureus* y *S. saprophyticus*. *Sporolactobacillus* spp. fue aislado de 11 muestras (7,18%). Adicionalmente y considerando los aislamientos de manera independiente, la bacteria que se identificó con más frecuencia fue *Micrococcus* spp con 15 aislamientos (9,8%); otro microorganismo de frecuente aislamiento fue *Klebsiella planticola* (8,49%); así mismo se aisló *Corynebacterium bovis* y *Nocardia* spp, provenientes de vacas con mastitis subclínica (TABLA II).

Estos aislamientos bacterianos son similares a lo reportado en la literatura, en donde se reconoce a *Streptococcus*, como uno de los principales géneros que con más frecuencia causa mastitis [3, 40], tal como se encontró en el presente trabajo. *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* y *S. uberis* reportados como los más comunes en varias zonas [26, 29]. En la zona de estudio fueron en orden decreciente de frecuencia: *S. lactis*, *S. uberis*, *S. bovis*, *S. agalactiae*. Algunos autores reportan la presencia de la bacteria, como *Streptococcus* spp, quedando sin definir la especie [40]; sin embargo, otros la reportan identificando la especie aislada [11]. Adicionalmente, los estudios indican que *Staphylococcus aureus* es la causa microbiológica más relevante de mastitis subclínica [30], algunos indican porcentajes superiores (80%) [34]; mientras que *S. epidermidis* y *S. saprophyticus* son considerados como flora normal de la piel, actuando como bacterias oportunistas [3, 13, 44].

*E. coli*, bacteria ambiental causante de mastitis subclínica y clínica produce manifestaciones sistémicas, leves, moderadas o severas en vacas en periodo seco o en producción [16, 26, 37, 43, 46]. En el presente estudio, se aisló de animales con mastitis subclínica que no mostraron signología. *Micrococcus* spp. fue aislado en 9,15% de las muestras de leche obtenidas en este estudio (15 de los aislamientos), coincidiendo con lo reportado por algunos autores [40, 44]. En este estudio, *Klebsiella* spp. fue una bacteria de hallazgo frecuente en vacas con mastitis subclínica presentando comportamiento similar a lo reportado [27, 47]. *Corynebacterium* spp. se encuentra en ubres y canales de los pezones, por lo que la infección ocurre cuando no se realiza una higiene adecuada pudiendo provocar mastitis leve [28, 30]. Del total de aislamientos logrados en este trabajo, ocho

TABLA II  
PORCENTAJE DE AISLAMIENTOS SEGÚN GÉNERO Y ESPECIE BACTERIANA

Bacterias aisladas	# De Aislamientos	% De Aislamientos
<i>Streptococcus bovis</i>	3	1,96
<i>Streptococcus uberis</i>	6	3,92
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2	1,30
<i>Streptococcus lactis</i>	9	5,88
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3	1,96
<i>Enterococcus</i> spp.	8	5,22
<i>Streptolactobacillus</i> spp.	4	2,61
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	7	4,57
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	9	5,88
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	5,88
<i>Micrococcus</i> spp	15	9,80
<i>Klebsiella planticola</i>	13	8,49
<i>Escherichia coli</i>	14	9,15
<i>Sporolactobacillus</i> pp.	11	7,18
<i>Corynebacterium bovis</i>	8	5,22
<i>Enterobacter aerogenes</i>	6	3,92
<i>Achromobacter</i> spp.	4	2,61
<i>Achromobacter alcaligenes</i>	3	1,96
<i>Citrobacter freundii</i>	3	1,96
<i>Propionibacterium</i> spp	3	1,96
<i>Enterobacter cloacae</i>	3	1,96
<i>Yersinia intermedia</i>	3	1,96
<i>Nocardia</i> spp	2	1,30
<i>Tetragenococcus</i> spp.	2	1,30
<i>Fusobacterium</i> spp.	2	1,30
<i>Yersinia kristensenii</i>	1	0,65
<i>Citrobacter diversus</i>	1	0,65
<i>Pediococcus</i> spp.	1	0,65
Total	153	100

(5,22%) correspondieron a este género, resultado que se esperaba, en razón a que este microorganismo contagioso se transmite con facilidad de una animal a otro [33]. *Corynebacterium* spp. se aísla comúnmente de leche proveniente de vacas con mastitis clínica o subclínica, reportándose *C. bovis* y *Trueperella (Corynebacterium) pyogenes* como los agentes más comunes [8, 32], aunque en el presente estudio solo se encontró *C. bovis*, de manera similar a lo reportado [7, 21]. A diferencia de lo indicado por varios autores, en este estudio no se aisló *Mycoplasma* spp. [15, 30]. Del total de muestras enviadas al laboratorio, en 2,5% no hubo aislamiento bacteriano, a pesar de haber sido tomadas de animales con mastitis subclínica, resultado inferior al 60% de muestras negativas reportados por otra investigación [18], y a otro estudio donde encuentran 55,9% de muestras sin aislamiento [15].

## Estado de resistencia

Dentro del grupo de los beta-lactámicos, frente a dicloxacilina hubo sensibilidad de *S. aureus* y *Enterococcus* spp; para oxacilina, ningún aislamiento de los evaluados fue sensible y en cambio hubo resistencia por parte de *Nocardia* spp, para los dos fármacos mencionados. *Citrobacter freundii* fue el único microorganismo aislado que fue resistente a amoxicilina, ya que la mayoría fueron sensibles. Se encontró resistencia de *E. coli* a ampicilina, penicilina G y oxacilina. Fue notorio el número de microorganismos que mostró resistencia ligera frente a los principios activos valorados.

Respecto al otro grupo de beta-lactámicos, las cefalosporinas, hubo resistencia de varias bacterias, dentro de las que se destacan algunos *Streptococcus* spp, *Staphylococcus* spp y *Enterobacter* spp. Frente a cefalotina y cefadrina, ninguno de los aislados fue sensible y solo algunos lo fueron frente a ceftriaxona. Hubo resistencia intermedia de *S. aureus*, *S. pyogenes* y *S. agalactiae* a penicilina G, dicloxacilina y oxacilina; así mismo se observó en *E. coli* para penicilina G y ampicilina; *S. agalactiae* y *S. pyogenes* mostraron resistencia intermedia contra ceftriaxona y cefadrina, respectivamente, mientras que *Enterobacter aerogenes* lo fue a cefadrina y cefalotina.

Por otra parte, para el grupo de las quinolonas, específicamente la ciprofloxacina, se encontró baja resistencia de las bacterias. Las bacterias que mayor sensibilidad presentaron fueron *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterobacter* spp, entre otros; mientras que *Enterococcus* spp y *Citrobacter freundii* fueron ligeramente sensibles.

En este estudio, no hubo ninguna bacteria resistente a las sulfonamidas, en cambio varias fueron sensibles o mostraron sensibilidad intermedia, dentro de las que se destacan algunas enterobacterias, *S. saprophyticus* y *Nocardia* spp. Dentro del grupo de los aminoglicósidos, *Klebsiella planticola* y *Achromobacter* spp, fueron resistentes a gentamicina y *S. pyogenes* y *Enterobacter aerogenes* a neomicina; varias bacterias mostraron completa sensibilidad o por lo menos parcial, a dichos aminoglicósidos. Dentro del grupo de los macrólidos, fueron evaluados eritromicina y lincomicina, frente a las cuales solo hubo sensibilidad por parte de *Enterococcus* spp para la primera y de *S. pyogenes* y *S. aureus*, para la segunda. Hubo sensibilidad intermedia de *S. pyogenes*, *S. aureus*, *S. agalactiae* frente a eritromicina y de *Streptococcus agalactiae* a lincomicina.

La resistencia para penicilina G por parte de *S. aureus*, *E. coli* y *Yersinia* spp. coincide con los hallazgos en San Pedro de los Milagros (Antioquia) [41], y con otros trabajos reportados recientemente [6, 15, 33], en donde se encontró resistencia de *S. aureus* contra ésta. Igualmente se encontró en Argentina que *S. aureus* era la bacteria más resistente a este antibacteriano [36]. No hubo resistencia de *Streptococcus* spp contra penicilina G, como fue reportado en un trabajo [41]. Por su parte, hubo sensibilidad de *Klebsiella* spp a este antibiótico, en tanto que algunas cepas de *E. coli*, *S. pyogenes* y *S. sa-*

*prophyticus* mostraron sensibilidad intermedia. Aunque frente a oxacilina, cloxacilina y dicloxacilina, se reporta resistencia [14], en el presente estudio, únicamente fueron resistentes a éstos algunas cepas de *S. aureus* y *Nocardia* spp, comportamiento similar a lo encontrado en Duitama, Boyacá, donde hubo considerable resistencia de *S. aureus* y *Streptococcus* spp [18]. Contrario a lo anterior, fueron sensibles *Streptococcus agalactiae* y *S. pyogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus* spp., lo cual coincide con lo detectado en Chile, donde no hubo resistencia de *S. aureus* frente a oxacilina y cloxacilina [6, 33, 45], como tampoco de *Streptococcus* spp en el oriente antioqueño [42].

Frente a amoxicilina se verificó la susceptibilidad de *S. pyogenes* y *S. agalactiae*, *S. saprophyticus* y *S. aureus* y *E. aerogenes*, a diferencia de lo encontrado en otras zonas del país o en otros países [19]. Contrario a lo reportado en Chile [33], donde hubo resistencia de *S. aureus* a amoxicilina, en este trabajo no se encontró. *E. coli*, *Klebsiella* spp y *Enterococcus* spp, así como *Staphylococcus* spp y *Streptococcus* spp, fueron sensibles a ampicilina, a diferencia de lo encontrado en Chile, donde se reporta resistencia de *S. aureus* [44].

En el presente estudio se encontró resistencia de *Enterobacter cloacae* a cefadrina, cefalotina y ceftriaxon mientras que *S. aureus*, *Streptococcus* spp, *E. coli*, *Citrobacter* spp y *Nocardia* spp, fueron resistentes solo a las dos primeras, este resultado difiere de un reporte donde encontraron resistencia de *S. aureus* frente a ceftriaxona [45].

Igualmente, *Achromobacter* spp fue la única bacteria resistente a ciprofloxacina, mientras que un alto número de bacterias aisladas mostró sensibilidad (*Streptococcus* spp, *Staphylococcus* spp, *E. coli*, *Klebsiella* spp y *Enterobacter* spp). De manera similar, en un estudio realizado en Chile [6], tampoco se encontró resistencia de *S. aureus* contra la enrofloxacin. Ninguno de los microorganismos aislados mostró resistencia contra la asociación trimetoprim/sulfa y al contrario, gran cantidad de bacterias fueron sensibles (*Enterobacter* spp, *Klebsiella* spp, *Staphylococcus saprophyticus* y *E. coli*) y ligeramente sensibles (*Streptococcus pyogenes* y *agalactiae*, *S. aureus*, *Yersinia kristenensis* y *Citrobacter* spp), resultados diferentes a lo encontrado en Duitama, Boyaca, donde hubo resistencia a esta asociación por parte de *Klebsiella ozaenae* pero sensibilidad por parte de *E. coli* y *C. freundii* [18].

Frente a gentamicina, en el presente estudio hubo resistencia de *Klebsiella* spp y *Achromobacter* spp, mientras que *E. coli*, *Streptococcus pyogenes*, *Yersinia* spp. fueron sensibles. Estos resultados fueron parcialmente similares a los encontrados en Duitama, donde *Klebsiella ozaenae* fue resistente a dicho fármaco, y *E. coli* fue sensible [17]. De manera similar a lo reportado en Chile [6], aquí no se encontró resistencia de *S. aureus* a neomicina. Hubo resistencia a eritromicina de *Yersinia* spp, *Nocardia* spp y *Enterobacter aerogenes*, mientras que *Enterococcus* spp. fueron sensibles y *Streptococcus* spp y *Staphylococcus* spp mostraron sensibilidad intermedia. Estos

resultados difieren de los reportados en un trabajo desarrollado en Argentina, donde hubo resistencia de *S. aureus* frente a este antibacteriano e igualmente lo reportan en Montería (Colombia) [8]; sin embargo, en Chile se encontró resistencia intermedia por parte de *S. aureus* [32], pero en otro reporte se encontró resistencia de esta bacteria frente a eritromicina [45]. En este estudio, las bacterias resistentes a lincomicina fueron *Staphylococcus saprophyticus*, *Nocardia* spp, *Enterobacter aerogenes* y *Yersinia intermedia* y fueron sensibles, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, mientras que en otro estudio se encontró resistencia de *S. aureus* [45].

## CONCLUSIONES

En la zona de estudio, de manera similar a como ocurre en otras localidades de Colombia, la mayoría de los casos de mastitis subclínica se deben a bacterias Gram (+) (*Streptococcus* spp. y *Staphylococcus* spp.), seguidas por *Micrococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *E. coli*, *Klebsiella planticola* y *Sporolactobacillus* spp. A pesar de que en la zona, el uso de antibacterianos para tratar esta enfermedad es bajo, hubo casos de resistencia considerable. Sin embargo, se destaca que *S. aureus*, reconocido como bacteria altamente resistente a la mayoría de antibióticos, aquí mostró sensibilidad frente a varios, lo cual permite inferir que aún se puede contar con fármacos eficaces para el manejo de mastitis causadas por esta bacteria. Así mismo, se destaca que ninguno de los microorganismos aislados fue resistente a sulfa-trimetoprim y solo uno a ciprofloxacina, ceftiraxona, ampicilina y amoxicilina. Por otra parte, no hubo sensibilidad a cefalotina y cefadrina por parte de ninguna de las bacterias aisladas. Se puede orientar un manejo terapéutico correcto con estos resultados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALCALDÍA MAYOR DE SOTAQUIRÁ. Plan de Ordenamiento Territorial del Municipio de Sotaquirá 2008-2011. Consejo Municipal de Sotaquirá. En línea: [www.sotaquiraboyaca.gov.co](http://www.sotaquiraboyaca.gov.co). 9/10/2012.
- [2] APONTE, C.F. Perfil de resistencia in vitro a antimicrobianos de cepas causantes de mastitis aisladas de leche cruda bovina en establecimientos de mediana y pequeña producción. **Mem. Inst. Investig. Cien. Salud.** 5(1): 19-25. 2007.
- [3] ARMENTEROS, M.; PEÑA, J.; PULIDO, J. L.; LINARES, E. Caracterización de los Rebaños de Lechería Especializada en Cuba. **Rev. de Salud Anim.** 42(2):99-105. 2002.
- [4] BEDOLLA, C.C. Métodos de detección de la mastitis bovina. **Rev. Elect. de Vet. REDVET.** 8 (9): 1-17.2007.
- [5] BECERRA, G.; PLASCENCIA, A.; LUÉVANOS, A.; DOMÍNGUEZ, M.; HERNÁNDEZ, I. Mecanismos de resistencia de antimicrobianos en bacterias. **Enf. Infecc. y Microbiol.** 29(2): 71-76. 2009.
- [6] BETANCOURT, O.; SCARPA, C.; VILLAGRÁN, K. Estudio de Resistencia de cepas de *Staphylococcus aureus aureus*, aisladas de mastitis subclínica bovina frente a cinco antibióticos en tres sectores de la IX región de Chile. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XIII (5): 413-417. 2003.
- [7] CALDERÓN, R. A.; RODRÍGUEZ, R. V.; ARRIETA, G. J.; MATTAR, V. S. Prevalence of mastitis in dual purpose cattle farms in montería (Colombia): etiología infecciosa susceptible antibacteriana. **Rev. Colomb. Cien. Pec.** 24:19-28. 2011.
- [8] CALDERÓN, A.; RODRÍGUEZ, V. C. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano Cundiboyacense. **Rev. Colomb Cien. Pec.** 21(4): 582-589. 2008.
- [9] CALDERÓN, A.; GARCÍA, F.; MARTÍNEZ, G. Indicadores de calidad de leches de crudas en diferentes regiones de Colombia. **Rev. MVZ, Córdoba.** 11 (1): 725-73. 2006.
- [10] CALLEJO, R. Rutina de Ordeño. **Frisona Españ.** 17 (176): 92-99. 2010.
- [11] ECHEVERRI, Z.J.J.; JARAMILLO, M.G; RESTREPO, B.L.F. Evaluación comparativa de dos metodologías de diagnóstico de mastitis en un hato lechero del Departamento de Antioquia. **Rev. Lasall. Investig.** 7(1):49-57. 2010.
- [12] CALVINHO, L. Control de mastitis causadas por estrep-tococos ambientales. Jornada APROCAL-INTA 2007. En Línea: [www.aprocal.com.ar](http://www.aprocal.com.ar). 08/04. 2010.
- [13] CALVINHO, L.F.; TIRANTE, L. Prevalencia de microorganismos patógenos de mastitis bovina y evolución del estado de salud de la glándula mamaria en Argentina en los últimos 25 años. **REV. FAVE** Secc. Cien. Vet. 4(1):29-40. 2005.
- [14] CALVINHO, I.F.; CANAVESIO, N.P.; AGUIRRE, R.A.; ALMEIDA, S.P. Bacteriological bulk tank milk quality from dairy farms with high and low somatic cells counts in the central dairy area of Argentina. Proc. 39 th Annual Mtg. Buenos Aires. Argentina N. M. C. Pp 174-145. 2000. En línea [http://aprocal.com.ar/wp-content/uploads/diagnostico\\_de\\_mastitis.htm.pdf](http://aprocal.com.ar/wp-content/uploads/diagnostico_de_mastitis.htm.pdf). 06/09/2013.
- [15] CASTELLANOS, G.M.J.; PEROZO, M.A. Mecanismos de resistencia a antibióticos betalactámicos en *Staphylococcus aureus*. **Kasmera.** 38 (1):18-35. 2010.
- [16] CELY, M.; MENESES, R. Aislamiento e identificación de bacterias presentes en caso de mastitis subclínica en hatos lecheros en el municipio de Belén. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Facultad de

- Ciencias Agropecuarias. Tunja, Boyacá. Trabajo de Grado. Pp 68. 2004.
- [17] CHAVEZ, C.J. Calidad de leche y mastitis bovina. Curso de sistemas de producción lechera en Argentina y Cuba. Universidad de Buenos Aires. 2004. En Línea: [www.icaarg.com.ar](http://www.icaarg.com.ar). 8/04/2010.
- [18] COSTA, D.A.; REINEMANN, D.J. El propósito de la rutina de ordeño. 2004. Instituto Babcock, Universidad de Wisconsin. Ordeño y Calidad de Leche No. 407. En Línea: [http://babcock.wisc.edu/sites/default/files/documents/productdownload/du\\_407.es.pdf](http://babcock.wisc.edu/sites/default/files/documents/productdownload/du_407.es.pdf). 26/03/2012.
- [19] CRUZ, C.A.; ESTEPA, C.E.; HERNÁNDEZ, L.J.J.; SANABRIA, V.J.P. Identificación de bacterias causantes de mastitis bovina y su resistencia ante algunos antibacterianos. **Actual. Divul. Cientif.** 10(1), 81-91. 2007.
- [20] FARIA, R.J.F.; VALERO, L.K.; D'POOL, G.; GARCÍA, U.A.; ALLARA, C.M.; FERNANDEZ, B. O. F.; TRUJILLO, G.J.E.; PEÑA, C.J.J.; CERQUERA, G.J.; GRANJA, S.Y.T. Mastitis bovina: Generalidades y métodos de diagnóstico. 2012. REDVET. 13(11):1-11. En línea [www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar). 9/04/2013.
- [21] FERNÁNDEZ, O.A.; GACÍA, D.F.C.; SÁEZ, N.J.A., VALDEZATE, R.S. Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Editorial EIMC. 52 pp. 2012.
- [22] GREEN, M.J.; BRADLEY, A.J.; NEWTONB, H.; BROWNE, W. J. Seasonal variation of bulk milk somatic cell counts in UK dairy herds. **Prev. Vet. Med.** 74:293-308. 2006.
- [23] GUIZAR, F.P.J.I.; BEDOLLA, C.J.L.C. Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California. **Rev. Elec. de Vet.** IX (10): 1-34. 2008.
- [24] HARMON, R.J. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cells counts. **Dairy Sci.** 77: 2103-2112. 2004.
- [25] HOGAN, J.; SMITH, L. Coliform Mastitis. **Vet. Res.** 24: 507- 519. 2003.
- [26] KO, W.C.; LEE, H.C.; WANG, L.R.; LEE, C.T.; LIU, A.J.; WU, J.J. Serotyping and antimicrobial susceptibility of group B streptococcus over an eight-year period in southern Taiwan. **Eur. J. Clin. Microb. Infect. Dis.** 20. 334-339. 2001.
- [27] KHAN, I.U.; HASSAN, A.; ABDULMAWJOOD, A.; LANIMLER, C.; WOLTER, W.; ZSCHOCK, M. Identification and epidemiological characterization of *Streptococcus uberis* isolated from bovine mastitis using conventional methods. **J. Vet. Sci.** 4:213-223. 2003.
- [28] MORALES, D. Agentes bacterianos y conteo de células somáticas de cuartos mestizos doble propósito ordeñados en forma manual o mecánica en cuatro fincas lecheras del estado Zulia, Venezuela. **Rev. Cient. FCV-LUZ.** XV (1):64-67. 2005.
- [29] MUÑOZ, M.A.; WELCOME, F.L.; SHUKKEN, Y.H.; ZADOKS, R.N. Molecular epidemiology of two *Klebsiella pneumoniae* mastitis outbreaks on a dairy farm in the New York States. **J. Clin. Microb.** 45 (2): 3954-3971. 2007.
- [30] MURRAY, P.R.; ROSENTHAL, K.S.; PFALLER, M.A. Diagnóstico de Laboratorio. En: **Microbiología Médica.** 6<sup>th</sup> Ed. Mosby Inc El sevier. Madrid. Sección 4. Pp 157-169. 2002.
- [31] NOVOA, R.; ARMENTEROS, M.; ABELEDO, M.A.; CASANOVAS, E.; VALERA, R.; CABALLERO, C.; PULIDO, J. Factores de riesgo asociados a la prevalencia de mastitis clínica y subclínica. **Salud Anim.** 27 (2):84-88. 2005.
- [32] NOVOA, Q.R.M. Evaluación epizootiología y económica de la mastitis bovina en rebaños lecheros especializados de la provincia de Cienfuegos. Universidad Agraria de la Habana. Cuba. Trabajo de grado. 98pp. 2003.
- [33] PARADA, J.L.; GONCALVEZ, D.; SOCCOL, V.T.; LIMA, M.; SOCCOL, C.R. Bovine mastitis in the metropolitan area of Curitiba: Antibiotic resistance and antimicrobial control of the infection Brazilian. **Arch. Biol. Technol.** 54(4):709-716. 2011.
- [34] PARRA, A.J.L. Situación Sanitaria de la mastitis en bovinos doble propósito del norte del Huila. Revista Nataima. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria. **Rev. Corpoica**, 6:39-153. 1996.
- [35] PASTOR, G. F. J. I.; BEDOLLA, C. J. L. C. Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro Michoacan, mediante la prueba de California. 2008. Redvet. IX (10). En línea: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101008.html>. 09/04/2013.
- [36] PELLEGRINO, M.S.; FROLA, I.D.; ODIERNO, L.M.; BOGNI, C.1. Mastitis Bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus*, aisladas de leche. **Rev. Elect. Vet.** 12 (7): 1-14. 2011.
- [37] PERANO, C. Evaluación de la rutina de ordeño en tambos comerciales. UNCPBA. Tandil. Trabajo de Grado. Pp 73. 2009.
- [38] PINZÓN, A.; MORENO, F.C.; RODRÍGUEZ, G. Efectos de la mastitis subclínica en algunos hatos de la cuenca lechera del alto Chicamocha (Departamento de Boyacá) **Rev. Med. Vet.** (17): 23 – 35. 2009.
- [39] PIÑERES, G.G; TÉLLEZ, I.G; CUBILLOS, G.A. La Calidad como Factor Competitividad en la Cadena Láctea. 2005. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Colombia. En línea: <http://www.veterinaria.unal.edu.co/inv/gigep/Libro%20Calidad%20Leche.pdf>. 10/08/2013.



- [40] RADOSTITS, O.M.; GAY C.C.; BLOOD, D.C.; HINCHLIFF, K.W. "Enfermedades de la Glándula Mamaria". En: **Medicina Veterinaria. Tratado de las Enfermedades del Ganado Bovino, Ovino, Porcino, Caprino y Equino**. 9ª Ed. Vol. 1. Ed. McGraw-Hill Interamericana. Madrid, España. Pp 738-752. 2002.
- [41] RAMÍREZ, N.; GAVIRIA, G.; ARROYAVE, O.; SIERRA, B. B., BENJUMEA, E.J. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros Antioquia. **Rev. Col. Cien. Pec.** 14 (1): 76-87. 2001.
- [42] ROLDÁN, A.; PERDOMO, P.; SÁNCHEZ, H.; RAMÍREZ, M.N. Tecnificación del sistema de producción ganadera de doble propósito en el trópico alto andino Colombiano: amamantamiento restringido. **Livest. Res. Rural Develop.** 12 (2): 57-65. 2000.
- [43] RUIZ, A.K.; PONDE, P.; GÓMEZ, G.; MOTA, R.A.; SAMPAIO, E.; LUCENA, E.R.; BENONE, S. Prevalencia de mastitis bovina, subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. **Rev. Salud Anim.** 33 (1): 57-64. 2011.
- [44] RUSSI, N. Susceptibilidad a antibióticos de *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina. Universidad Nacional del Litoral. La esperanza. Trabajo de Grado. Pp 35-65. 2008.
- [45] SAN MARTIN, B.; KRUIZE, J.; MORALES, M.A.; AGÜERO, H.; LEÓN, B.; ESPINOZA, S; IRAGUEN, D; PUGA, J; BORIE, C. Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y Xª Región, Chile. **Arch. Med.** 34 (2): 221-234. 2002.
- [46] SKRYPECK, R.; WOJTKOWSKI, J.; FAHR, R.D. Factor affecting somatics cells count in cow bulk tank milk-case study from Poland. **J.Vet. Med. Physiol. Pathol. Clinic. Med.** 51 (3): 127-131. 2004.
- [47] ZADOKS, R.N; MUÑOZ, M.A; BENNET, G.J. Klebsiella mastitis-beyond bedding.2008. En línea: [http://www.dairyone.com/Publications/QM2%20articles/QM2\\_1\\_2008.pdf](http://www.dairyone.com/Publications/QM2%20articles/QM2_1_2008.pdf). 07/04/2013.