

**UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO
HEREDIA**

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



“Identificación y determinación de resistencia antibiótica de bacterias causantes de mastitis bovina sub clínica en la raza Simmental de crianza extensiva en el distrito de Pomacochas, región Amazonas”

Tesis para optar por el título profesional de: MÉDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA

Vanessa Frias Torres

Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Lima, Perú

2023

DEDICATORIA

Dedico la presente tesis a mis queridos padres Hugo y Margarita por brindarme su apoyo incondicional, a mi hermano Iker por su cariño, a mi abuelita Olinda quién desde el cielo vela por mi bienestar y a mi persona especial por animarme en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a Dios por este gran logro, a la Universidad Peruana Cayetano Heredia por permitirme formarme profesionalmente en lo que tanto me apasiona, un agradecimiento especial a mi asesor el Dr. Carlos Shiva Ramayoni por su tiempo y apoyo incondicional durante todo este proceso.

Quiero hacer llegar mi agradecimiento a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza y a los profesionales que laboran en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de Animales Domésticos, por permitirme hacer uso de sus ambientes para la elaboración de esta investigación, así mismo agradezco su apoyo para lograrlo.

Identificación y determinación de resistencia antibiótica de bacterias causantes de mastitis bovina sub clínica en la raza Simmental de crianza extensiva en el distrito de Pomacochas, región Amazonas

INFORME DE ORIGINALIDAD

15%

INDICE DE SIMILITUD

15%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.upch.edu.pe Fuente de Internet	1%
2	ri.ues.edu.sv Fuente de Internet	1%
3	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
4	revistas.upch.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	repositorio.uaaan.mx:8080 Fuente de Internet	<1%
6	www.repositorio.usac.edu.gt Fuente de Internet	<1%
7	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	<1%
8	1library.co Fuente de Internet	<1%

9	www.un.org Fuente de Internet	<1 %
10	Submitted to Universidad Nacional del Centro del Peru Trabajo del estudiante	<1 %
11	Submitted to Universidad de Las Américas Trabajo del estudiante	<1 %
12	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
13	revistas.untrm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
14	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1 %
15	www.scielo.org.pe Fuente de Internet	<1 %
16	pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet	<1 %
17	repositorio.uap.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
18	repositorio.uchile.cl Fuente de Internet	<1 %
19	helvia.uco.es Fuente de Internet	<1 %
20	repositorio.ucs.br	

Fuente de Internet

<1 %

21 repositorio.unap.edu.pe
Fuente de Internet

<1 %

22 repositorio.utn.edu.ec
Fuente de Internet

<1 %

23 reunionpecuaria2018.inifap.gob.mx
Fuente de Internet

<1 %

24 www.dspace.uce.edu.ec
Fuente de Internet

<1 %

25 issuu.com
Fuente de Internet

<1 %

26 repositorio.unheval.edu.pe
Fuente de Internet

<1 %

27 docplayer.es
Fuente de Internet

<1 %

28 sedici.unlp.edu.ar
Fuente de Internet

<1 %

29 rus.ucf.edu.cu
Fuente de Internet

<1 %

30 Laura Escolà-Vergé, Ibai Los-Arcos, Benito Almirante. "Nuevos antibióticos para el tratamiento de las infecciones por

<1 %

microorganismos multirresistentes", Medicina
Clínica, 2020

Publicación

31	repository.lasallista.edu.co Fuente de Internet	<1 %
32	María del Pilar María Sánchez Bonilla, Norma Patricia Gutiérrez Murillo, Iván José Posada Almanza. "Prevalencia de mastitis bovina en el Cañón de Anaime, región lechera de Colombia, incluyendo etiología y resistencia antimicrobiana", Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 2018 Publicación	<1 %
33	digital.csic.es Fuente de Internet	<1 %
34	repositorio.utmachala.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
35	bibliotecadigital.udea.edu.co Fuente de Internet	<1 %
36	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
37	repositorio.unp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
38	scielo.sld.cu Fuente de Internet	<1 %

untrm.edu.pe

39	Fuente de Internet	<1 %
40	v3r.esp.org Fuente de Internet	<1 %
41	cict.umcc.cu Fuente de Internet	<1 %
42	produccioncientificaluz.org Fuente de Internet	<1 %
43	repositorio.untrm.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
44	www.ijah.in Fuente de Internet	<1 %
45	Alejandro Fenollar Penadés. "Estudio de la transmisión de resistencias a antibióticos mediante métodos moleculares en el sector avícola y su implicación para la salud pública", Universitat Politecnica de Valencia, 2020 Publicación	<1 %
46	dspace.pucesi.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
47	eujournal.org Fuente de Internet	<1 %
48	iracbiogen.com Fuente de Internet	<1 %
repositorio.uis.edu.co		

49	Fuente de Internet	<1 %
50	repositorio.uncp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
51	repositorio.unsaac.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
52	www.semanticscholar.org Fuente de Internet	<1 %
53	www.slideshare.net Fuente de Internet	<1 %
54	Nadine Schubert, Hazel J Nichols, Jamie C Winternitz. "How can the MHC mediate social odor via the microbiota community? A deep dive into mechanisms", Behavioral Ecology, 2021 Publicación	<1 %
55	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	<1 %
56	colposdigital.colpos.mx:8080 Fuente de Internet	<1 %
57	docs.wixstatic.com Fuente de Internet	<1 %
58	drpmi.unpad.ac.id Fuente de Internet	<1 %
	dspace.ucacue.edu.ec	

59	Fuente de Internet	<1 %
60	dspace.ups.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
61	pdfcookie.com Fuente de Internet	<1 %
62	repositorio.cientifica.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
63	repositorio.espe.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
64	repositorio.udea.edu.co Fuente de Internet	<1 %
65	repositorio.ug.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
66	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
67	riudg.udg.mx Fuente de Internet	<1 %
68	riul.unanleon.edu.ni:8080 Fuente de Internet	<1 %
69	scienti.minciencias.gov.co Fuente de Internet	<1 %
70	www.crandall.gpsmusic.com Fuente de Internet	<1 %

71	www.mindustry.hk Fuente de Internet	<1 %
72	www.scielo.org.co Fuente de Internet	<1 %
73	Huijun Geng, Wei Zou, Meixia Zhang, Le Xu, Fanming Liu, Xiaoyu Li, Lili Wang, Yongping Xu. "Evaluation of phage therapy in the treatment of Staphylococcus aureus-induced mastitis in mice", Folia Microbiologica, 2019 Publicación	<1 %
74	Oscar Elisban Gómez-Quispe, Crhis Stefani Santivañez-Ballón, Fernando Arauco Villar, Oscar Henry Espezua Flores et al. "Criterios de Interpretación para California Mastitis Test en el Diagnóstico de Mastitis Subclínica en Bovinos", Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 2015 Publicación	<1 %
75	repositorio.unal.edu.co Fuente de Internet	<1 %
76	repositorio.unfv.edu.pe Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas Activo

Excluir coincidencias Apagado

Excluir bibliografía Activo

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
MATERIALES Y MÉTODOS	11
1. Lugar de estudio	11
2. Tipo de estudio	11
3. Población objetivo y tamaño de muestra	11
4. Criterios de inclusión y exclusión	11
5. Recolección de muestras	12
6. Procesamiento de muestras.....	12
6.1 Diagnostico de mastitis	12
6.2 Aislamiento bacteriológico	13
6.3 Resistencia antibiótica método de Disco Difusión o Kirby Bauer	14
7. Análisis de datos.....	15
8. Consideraciones éticas.....	15
9. Financiamiento	15
RESULTADOS	16
DISCUSIÓN	24
CONCLUSIONES	33
RECOMENDACIONES	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	47

RESUMEN

La mastitis bovina es una de las enfermedades más recurrentes dentro de los hatos lecheros, causada muchas veces por agentes bacterianos que dan lugar a cambios fisicoquímicos de la leche, especialmente la mastitis subclínica es la más difícil de detectar y la que causa mayores pérdidas económicas. El objetivo de este estudio fue identificar y determinar la resistencia antibiótica de bacterias causantes de mastitis bovina sub clínica en la raza Simmental de crianza extensiva en el distrito de Pomacochas, región Amazonas. Los datos fueron procesados en Microsoft Excel mediante gráficos, donde se muestran los resultados se identificó a seis géneros bacterianos como; *Staphylococcus* sp (60%), *Streptococcus* sp (10%), *Bacillus* sp (13.3%), *Clostridium* sp (6.7%), *Klebsiella* sp (3.3%) y *Escherichia coli* (6.7%) Además se realizó el antibiograma por el método de disco difusión o Kirby Bauer, donde se determinó que penicilina desarrolló mayor resistencia (100%), y los antibióticos con mayor sensibilidad fueron enrofloxacina, gentamicina y ciprofloxacina (100%).

Palabras clave: *Mastitis, resistencia antibiótica, bovinos, bacterias*

ABSTRACT

Bovine mastitis is one of the most recurrent diseases in dairy herds, often caused by bacterial agents that give rise to physicochemical changes in milk, especially subclinical mastitis, which is the most difficult to detect and causes the greatest economic losses. The objective of this study was to identify and determine the antibiotic resistance of bacteria causing subclinical bovine mastitis in the extensively raised Simmental breed in the district of Pomacochas, Amazonas region. The data were processed in Microsoft Excel using graphs, where the results show six bacterial genera were identified as; *Staphylococcus* sp (60%), *Streptococcus* sp (10%), *Bacillus* sp (13.3%), *Clostridium* sp (6.7%), *Klebsiella* sp (3.3%) and *Escherichia coli* (6.7%). In addition, the antibiogram was performed by the Kirby Bauer or diffusion disk method, where it was determined that penicillin developed greater resistance (100%), and the antibiotics with greater sensitivity were enrofloxacin, gentamicin and ciprofloxacin (100%).

Key words: *Mastitis, antibiotic resistance, cattle, bacteria.*

INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina se define como la inflamación de la glándula mamaria causada principalmente por bacterias (Zuluaga *et al.*, 2010), sin embargo, se presenta también como una respuesta a daños traumáticos, térmicos y químicos (Karina, 2011). La inflamación genera cambios fisicoquímicos en la leche aumentando el número de células somáticas debido a microorganismos patógenos presentes (Gutiérrez y Agudelo, 2009). La respuesta inflamatoria se presenta con el fin de eliminar al agente infeccioso para recuperar los tejidos dañados y devolver a la glándula a su función normal (Figuroa *et al.*, 2008).

En la mastitis bovina se encuentran dos formas de presentación, en caso de mastitis clínica se evidencia el proceso de inflamación y dolor en la ubre, además de cambios fisicoquímicos en la leche (Ramírez *et al.*, 2011), en tanto que mastitis sub clínica se caracteriza por tener una elevada cantidad de células somáticas en la leche en combinación con microorganismos y la ausencia de signos clínicos (Aguilar y Álvarez, 2019).

La incidencia de mastitis es alta alrededor del mundo, especialmente la mastitis sub clínica es la causante de cuantiosas pérdidas en comparación con mastitis clínica, alrededor de 60 - 70 % son las bajas económicas asociadas a los problemas de mastitis (De Vlieghe *et al.*, 2012; Sinha *et al.*, 2014), en ese sentido Abebe *et al* (2016) indica que desde una visión global, las pérdidas económicas se estiman en 35 mil millones de dólares anualmente. Donde se incluyen pérdidas por disminución de la producción y rechazo de leche contaminada ya sea con restos de antibióticos, o por el elevado recuento de células somáticas, así mismo por costos veterinarios y sacrificio de las vacas gravemente enfermas. Esto último dificulta el diagnóstico y tratamiento (Fernández, 2012).

Para conocer la fisiopatología de mastitis se debe tener en cuenta la existencia de mecanismos de defensa que protegen a la ubre como el esfínter de la punta del pezón, que evita la entrada de microorganismos dentro del canal del pezón. Así mismo, la formación de un tapón lactosado formado gracias a la queratinización del epitelio del canal del pezón constituye una barrera efectiva ante el ingreso de agentes malignos. Desde el enfoque inmunológico, las células somáticas (leucocitos en su mayoría), se trasladan hacia los alveolos mamarios debido a las señales antigénicas recibidas con el objetivo de neutralizar la infección. Los monocitos y linfocitos se encargan de iniciar el proceso inflamatorio, el cual se presenta en tres fases: aguda, subaguda y crónica esta última relacionada con el final del proceso inflamatorio donde se da el reemplazo del tejido alveolar por tejido conectivo disfuncional lo que conlleva la pérdida de producción (Aguilar y Álvarez, 2019).

Para realizar el diagnóstico de mastitis existen diversos métodos, uno de ellos es el California Mastitis Test (CMT), la cual se considera como una prueba elemental, rápida, fácil de realizar y presenta bajo costo para el productor, dicha prueba es usada para identificar a mastitis subclínica dentro de un hato ganadero, misma que se puede realizar durante la rutina de ordeño (Mira *et al.*, 2013). CMT estima la cantidad de ADN de las células que se encuentran en la leche. El reactivo usado es un tipo de detergente que disuelve la pared celular y el núcleo de los leucocitos, libera el contenido nuclear y constituye una mezcla gelatinosa, de manera que la consistencia de la leche dependerá del número de leucocitos presentes (Mellenberger, 2001).

Los principales agentes causantes de mastitis son bacterias como: *Streptococcus* sp, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus*, siendo estos patógenos propios de mastitis (Ruegg, 2017; Zaatout *et al.*, 2020), mientras que

Mycoplasma sp, *Staphylococcus coagulasa negativos*, *Corynebacterium bovis*, *Escherichia coli*, *Kleibsiella* sp, *Pseudomonas* sp, y *Enterococcus* sp son considerados como agentes patógenos ambientales (Ferguson, 2007; Aguilar y Álvarez, 2019; Bianchi *et al.*, 2019).

Dentro de los factores predisponentes para la mastitis se puede considerar una rutina de ordeño deficiente, mal estado del equipo de ordeño, técnicas de ordeño inadecuadas y ruptura o desgarró del ligamento suspensorio de la ubre, así como daños generados por traumatismos (Aguilar y Álvarez, 2019).

Entre las bacterias más prevalentes en la mastitis bovina se encuentran las bacterias del género *Staphylococcus*, dado que se encuentran muy extendidos en el ambiente pudiendo infectar tanto a animales como al humano (Silva *et al.*, 2014). En el tratamiento de mastitis se usa usualmente a los antibióticos (Aguilar y Álvarez, 2019), que pueden ser administrados ya sea de forma sistémica o intramamaria, siendo los más usados los betalactámicos como penicilinas o cefalosporinas, macrólidos y aminoglucósidos (Martínez *et al.*, 2013). No obstante, ha habido un notable incremento de bacterias que han desarrollado resistencia a los antibióticos, afectando su empleo para el tratamiento de diversas enfermedades. *Staphylococcus aureus* es una de las bacterias que se han creado resistencia a múltiples fármacos (Papadopoulus *et al.*, 2019). El método más usado para determinar resistencia antibiótica es el de disco difusión o Kirby Bauer, el cual emplea discos de papel impregnados con una serie de antibióticos. Estos se colocan en las placas de cultivo que han sido sembradas con colonias bacterianas, para luego del periodo de incubación medir el halo de inhibición, interpretando los resultados como sensible, intermedio y resistente (Sacsquispe y Velásquez, 2002).

Algunos de estos agentes patógenos han desarrollado niveles de resistencia a varios tipos de antibióticos, lo que se conoce como bacterias multirresistentes, un estudio menciona que en España, la resistencia combinada por parte de *Escherichia coli* frente a cefalosporinas de tercera generación, fluoroquinolonas y aminoglucósidos varía de 5 a 10% (ECDC, 2016) Mientras que *Klebsiella pneumoniae* varía de 1 a 5%, sin embargo en otros países como Italia y Grecia es superior al 50% de multirresistencia, lo cual significa un peligro para la salud (Escolá- Vergé et al., 2020).

De forma similar, en dos estados mexicanos se realizó un estudio donde aislaron 92 cepas de *S. aureus*, de las cuales a 30 cepas se le aplicó ensayos de resistencia a antibiótica, donde presentaron alto porcentaje (100%) de resistencia a penicilina, dicloxacilina, ampicilina y ceftazidima (Guzmán-Rodríguez et al. 2020). De manera similar se realizó un estudio en 20 vacas con mastitis recurrente, donde se probó la eficacia de enrofloxacin y ceftiofur para su tratamiento. Sin embargo, determinaron la resistencia de *Staphylococcus spp coagulasa negativo*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus uberis* y *Corynebacterium bovis* (Alfonseca-Silva et al. 2021)

Xiao et al. (2022) mencionan que cefquinoma es una cefalosporina de cuarta generación usada para el tratamiento de mastitis causada por *E. coli*, en su estudio realizaron pruebas en vacas lactantes para determinar la dosis efectiva, recomendando el uso de 75mg/vaca, sin embargo de los aislados trabajados se determinaron que algunas cepas resultaron ser resistentes a este antibiótico.

En Brasil se desarrolló una investigación donde determinan la resistencia antibiótica de 83 aislados de *Streptococcus uberis* a eritromicina (80.7%), tetraciclina (59%) y penicilina (57.8%), mientras que ceftiofur y enrofloxacin presentaron valores menores de resistencia

10.8 y 1.2 respectivamente (Martins et al. 2021).

En cuanto a *E. coli* un estudio menciona que es resistente a varios antibióticos, sin embargo, ciertas cepas son sensibles a ciprofloxacina, pero presentan menos susceptibilidad a antibióticos como gentamicina, penicilina, oxacilina y neomicina (Li et al., 2020).

En el país se han desarrollado diversos estudios para comprobar la resistencia antibiótica en microorganismos que generan mastitis. En uno de estos estudios se aislaron *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* sp, *Escherichia coli* y *Streptococcus* sp, y que fueron sensibles a gentamicina y resistentes a penicilina (Sánchez, 2018). Resultados similares fueron encontrados en Lurín por Villanueva y Morales (2017), donde las bacterias mostraron sensibilidad a gentamicina, amikacina, estreptomina, cefalexina y enrofloxacin y resistencia a betalactámicos. Asimismo, Rodríguez y Muñoz (2017) reportaron bacterias gram negativas como *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp, *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella* sp, *Proteus* sp, *Enterobacter* sp, *Citrobacter* sp y bacterias gram positivas como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus* sp, obteniendo mayor resistencia para oxacilina y rifampicina.

En esta línea, Sánchez et al. (2018) encontró en Colombia que entre 50 y 60% de las cepas de *Staphylococcus coagulans* negativos eran resistentes a penicilina y eritromicina, en tanto que Pellegrino et al. (2011) en Argentina reportó que el 58.5% (37/63) de cepas de *S. aureus* presentaban resistencia a antibióticos de amplio uso en el tratamiento de mastitis bovina. Asimismo, el estudio de Freitas et al. (2018) en Brasil encontró que las 30 cepas de *Staphylococcus* aisladas de casos de mastitis bovina eran resistentes a trimetoprima, tetraciclina y neomicina.

Miranda y Morales – Cauti (2022) en su estudio indican que 43,7% (256/586) de las vacas estudiadas mostraron mastitis subclínica, de los 307 aislados determinaron que la bacteria con mayor repetición fue *Klebsiella oxytoca* con 20,2% (62/307), seguido por *Enterobacter cloacae* con 12,0% (37/307) y *Streptococcus agalactiae* con 9,1% (28/307). A estos patógenos se realizó un perfil de resistencia antimicrobiana teniendo como resultados que los dos primeros tuvieron porcentajes mayores de resistencia frente a penicilina, cefalotina, amikacina, estreptomicina, tetraciclina, gentamicina, cefalexina y enrofloxacin, en relación con *S. agalactiae*.

Se reconoce que tanto los factores de virulencia como de resistencia antibiótica de *S. aureus* dependen del genotipo y condiciones ambientales relacionados con el sistema de producción (Guzmán-Rodríguez *et al.*, 2020). En un estudio en múltiples países se determinó, asimismo, la existencia de genes relacionados con la resistencia antibiótica (*blaZ*, *mecA*, *mecC*, *ermA*, *ermB* y *ermC*), aunque no siempre hubo correspondencia entre la presencia de los genes y la resistencia antimicrobiana fenotípica (Monistero *et al.*, 2020).

Otro estudio en Rusia determinó que uno de los principales factores asociados a resistencia fueron las citotoxinas, incluidas las hemolisinas y las leucocidinas, además de la identificación del gen tipo ST 97 de *S. aureus* (Fursova *et al.*, 2020). Así mismo, la existencia de diversos genes permiten que las bacterias como *S. aureus* realice cambios en su estructura como la sustitución del sitio diana mediante el cambio de la proteína de unión a penicilina, protección del sitio diana (bomba de eflujo), modificación del sitio diana (ARNr metilasa), entre otras modificaciones, evitando así que los antibióticos hagan daño, por lo tanto generando resistencia (Castro *et al.*, 2020).

Se sabe que el sistema inmune cumple un importante rol en la manifestación de enfermedades, es por ello que durante el período de transición se evidencia la depresión inmunológica en las vacas, que consigue su mayor nivel al momento del parto y puede permanecer hasta la tercera semana post parto (Breñaldo, 2012). El estrés físico y metabólico que se genera durante las etapas de gestación, parto y lactación, contribuyen a la baja de la inmunidad y como resultados el aumento de enfermedades (Mallard et al., 1998). Durante y después del parto la inmunosupresión aumenta la susceptibilidad a que las vacas enfermen de metritis (Huzzey et al., 2007) y mastitis (Drackley, 1999).

La producción lechera es la principal fuente de sustento para los productores dedicados a este rubro de la ganadería (Aguilar y Álvarez, 2019). Según la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura (UNESCO), la leche es un alimento indispensable para la nutrición humana y principalmente en los niños.

Dentro de las consecuencias de la mastitis bovina se puede mencionar mermas en la producción y calidad de la leche, (Aguilar y Álvarez, 2019), así como severas pérdidas económicas por el menor volumen de venta, por la reducción del precio por litro de leche con altos niveles de células somáticas y por el descarte de animales. La mastitis representa el 70% de las pérdidas en la economía de los productores (Bedolla y Ponce, 2008; Ceballos, 2015). Asimismo, se debe de considerar el desarrollo de cepas resistentes a los antibióticos que incrementan los gastos en medicamentos al tratar animales enfermos con productos que se han vuelto inefectivos a dichas cepas (Sánchez, 2018).

El ganado de la raza Simmental es considerado como una de las razas más significativas a nivel mundial, ya que son criados como animales de doble propósito, es decir, tanto para la

producción de carne y leche, es así, que en la región Amazonas, la crianza de esta raza se está volviendo en una de las mejores opciones para la ganadería, que es el principal sustento de las familias. Esta raza se desarrolla en varias de las provincias de la región siendo Bongará una de ellas. Debido a que existe una actividad ganadera con limitaciones, hay poca inversión de recursos para la producción pecuaria y baja adopción de tecnologías en la región el sistema de crianza predominante es el extensivo (Maicelo y Bardales, 2017).

Es así, que este estudio tuvo como objetivo identificar y determinar la resistencia de bacterias causantes de mastitis bovina sub clínica en la raza Simmental de crianza extensiva en el distrito de Pomacochas, región Amazonas. Así como identificar fenotípicamente las bacterias causantes de mastitis bovina sub clínica y caracterizar la resistencia antibiótica de bacterias causantes de mastitis bovina sub clínica en la raza Simmental de crianza extensiva en el distrito de Pomacochas, región Amazonas.

MATERIALES Y MÉTODOS

1. Lugar de Estudio

El estudio fue realizado en el Distrito de Pomacochas, que se encuentra ubicado en la provincia de Bongará, Región Amazonas, a una altura de 2200 msnm, presenta un clima lluvioso, semicálido y húmedo, con precipitación promedio de 1040mm y puede alcanzar una temperatura máxima de 25 °C y mínima de 15 °C, la humedad media es de 86%. Donde se colectaron las muestras de leche en el mes de junio del 2022 (época lluviosa), el procesamiento de las mismas se llevó a cabo en el Laboratorio de Enfermedades Infecciosas y Parasitarias de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza - Amazonas (UNTRM).

2. Tipo de Estudio

Este estudio se considera como observacional descriptivo, ya que se analizó los resultados obtenidos luego de realizar los procedimientos de laboratorio, como la identificación de los microorganismos causantes de mastitis y determinar el perfil de resistencia antibiótica de los mismos.

3. Población Objetivo y tamaño de muestra

La muestra para este estudio estuvo representada por 30 vacas de raza Simmental, que fueron equivalentes al total de animales en producción disponibles. Las muestras fueron tomadas de 6 hatos distintos, los cuales conforman a la población total de productores del distrito.

4. Criterios de inclusión y exclusión

Se incluyeron a vacas de raza Simmental que se encontraban en etapa de lactación, alimentadas al pastoreo y con rutina de ordeño manual (una vez al día). Para el

aislamiento bacteriológico se consideró a las vacas cuyos cuartos mamarios al momento de la lectura del California Mastitis Test (CMT) hayan sido positivos (1-3), siendo vacas enfermas con mastitis sub clínica (Sargeant *et al.*, 2001).

Se excluyeron a las vacas que se encontraron con tratamiento a base de antibióticos 15 días antes de la colecta de muestras y a aquellos cuartos mamarios de resultado negativo a CMT a los cuales no se realizó el aislamiento.

5. Recolección de muestras

Las muestras de leche fueron colectadas en época lluviosa, siguiendo las normas de bioseguridad e higiene, realizando el lavado con agua y jabón neutro, desinfección de los pezones con alcohol y eliminando el primer chorro de leche (despunte) antes de la colecta de las muestras. Así mismo, se tomaron datos de las vacas muestreadas como edad, número de partos, antecedentes de mastitis, etapa de lactación y tipo de ordeño.

La cantidad de leche a recolectada fue de 15 ml en tubos falcón, antes de comenzar la rutina de ordeño, teniendo en cuenta el diagnóstico de mastitis explicado dentro de 6.1. Dichas muestras fueron previamente identificadas y refrigeradas inmediatamente en un cooler manteniendo una temperatura de 4 a 7 °C, y transportadas hacia el laboratorio dentro de las seis horas de haber sido colectadas.

6. Procesamiento de muestras

6.1 Diagnóstico de mastitis

El diagnóstico de mastitis se realizó usando la prueba de campo de California Mastitis Test (CMT), de marca Syr Vet. Inc. Canadá. La interpretación de los resultados (Mellenberger, 2001) se hizo de la siguiente manera:

- N (negativo): No Infectado. No hay coagulación alguna.

- T (trazas): Posible Infección. Ligero espesamiento inicial de la mezcla.
- 1 (Positivo débil): Infectado. Espesamiento de la mezcla sin tendencia a formar gel.
- 2 (Positivo evidente): Infectado. Espesamiento de la mezcla con ligera formación de gel.
- 3 (Positivo fuerte): Infectado. Formación de gel.

6.2 Aislamiento bacteriológico

El aislamiento bacteriológico se realizó por cuarto mamario afectado, siguiendo el protocolo de cultivo de muestras de leche del laboratorio de Enfermedades infecciosas y parasitarias de la UNTRM. Para ello, se usó el agar nutritivo (HIMEDIA, India) suplementado con sangre de bovino 5% (agar sangre) y agar Mac Conkey (MERCK, Alemania), para observar el crecimiento bacteriano.

Las muestras de leche (100 µl) de cuyos cuartos mamarios con resultado positivo (1-3) a CMT fueron homogenizadas y colocadas, en las placas de agar usando un asa estéril realizando el tipo de siembra conocido como “estriamiento”. Se incubaron por 24 – 48 horas a 37 °C en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis, dicha condición se logró al colocar las placas dentro de una caja con cierre hermético.

Las placas consideradas como positivas pasaron al proceso de identificación de acuerdo a la forma y color de las colonias, además se usó tinción Gram y pruebas bioquímicas como catalasa, SIM (MERK, Alemania), Agar Lisina Hierro (LIA) (MERK, Alemania), Triple Sugar Iron (TSI) (MERK, Alemania) y Citrato de Simmons (HIMEDIA, India) (Bou *et al.*, 2010). Para el caso de *Clostridium* se

sumó para su identificación las características obtenidas en las placas de cultivo como la morfología y color de las colonias, el característico olor a estiércol producido por un compuesto denominado paracresol, fluorescencia bajo la luz y al microscopio se observó bacilos gram positivos (Flores y Duery, 2017).

6.3 Resistencia antibiótica método de Disco Difusión o Kirby Bauer:

Para determinar la resistencia antibiótica de las bacterias se utilizó el método de disco difusión o Kirby Bauer, siguiendo las recomendaciones del Manual de procedimientos anual para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión (Sacsquispe y Velásquez, 2002), dicho protocolo fue modificado y ajustado de acuerdo a los insumos y materiales disponibles en el laboratorio. Se seleccionaron discos de sensibilidad de antibióticos comunes para el tratamiento de mastitis en la zona, ampicilina (10 µg), neomicina (30 µg), oxacilina (1µg), penicilina (10 U), enrofloxacina (5 µg), ciprofloxacina (5 µg) y gentamicina (10 µg).

La colocación del inóculo se hizo usando el método directo de inoculación a partir de colonias aisladas y preparadas en una suspensión directa en caldo nutritivo (HIMEDIA, India), la cual se ajustó a la escala de 0,5 de Mc Farland (Sacsquispe y Velásquez, 2002), usando la escala preparada a base de BaCl₂ y HSO₄.

En placas de agar Mueller Hinton (HIMEDIA, India), se diseminó 100 µl de inóculo usando una espátula de Drigalski para obtener una distribución pareja, los discos fueron colocados uniformemente a una distancia mínima de 25mm uno del otro, para evitar la superposición de los halos de inhibición. La incubación se realizó por 24 horas a 37 °C en condiciones de aerobiosis y anaerobiosis, para la

interpretación de los resultados se midió los diámetros de las zonas de inhibición con una regla, expresado en milímetros (mm), interpretándose de la siguiente manera: S (sensible), I (intermedio) y R (resistente) (Sacsquispe y Velásquez, 2002).

7. Análisis de datos

El análisis de datos se desarrolló mediante estadística descriptiva. Las variables cualitativas fueron resumidas en tablas de frecuencias absolutas y relativas, y las variables cuantitativas a través de medidas de tendencia central y dispersión. Para ello se usó el programa Microsoft Excel 2013 ®.

Donde se resumió la información de la siguiente manera: resultados de la prueba de CMT teniendo en cuenta la edad, etapa de producción y cantidad de cuartos afectados de cada vaca. Así mismo, se detallaron los datos del aislamiento bacteriológico según el grado de infección de mastitis obtenido en la prueba de CMT. En cuanto a los resultados de la resistencia antibiótica se resumió de acuerdo a las bacterias aisladas, teniendo en cuenta la concentración del antibiótico usado y el grado de resistencia desarrollado (Resistente, Intermedio o Sensible).

8. Consideraciones éticas

El presente estudio fue aprobado por el Comité Institucional de Ética para el uso de Animales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia. Mediante la constancia 016-05-22.

9. Financiamiento

Este estudio fue financiado por el proyecto SNIP 303742 denominado “Caracterización del microbioma bovino con diagnóstico de mastitis” que se desarrolla en la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas.

RESULTADOS

La frecuencia de vacas con mastitis subclínica fue de 40% (12/30). En la tabla 1 se detalla los resultados de la prueba de campo CMT de las 12 vacas positivas, donde se observa que las edades van desde 3 años hasta 11 años, se encontraban en etapa de lactación temprana, media o tardía y presentaron diferentes grados de infección siendo + positivo débil, ++ positivo evidente y +++ positivo fuerte, que afectaron a uno o más cuartos mamarios.

Tabla 1: Resultados de California Mastitis Test (CMT) de vacas Simmental del distrito de Pomacochas.

Vaca	Edad (años)	Etapa de producción ^a	Cuartos afectados ^b				Clasificación de mastitis subclínica
			AD	PD	AI	PI	
1	5	Temprana	-	+	-	-	Débil
2	7	Media	++	-	-	-	Evidente
3	4	Temprana	-	-	+	-	Débil
4	3	Temprana	-	-	+	-	Débil
5	5	Tardía	-	++	+	+	Evidente
6	11	Tardía	++	+	++	-	Evidente
7	9	Temprana	-	-	-	+	Débil
8	6	Tardía	++	++	+++	+	Fuerte
9	6	Tardía	+++	+++	+++	+++	Fuerte
10	3	Temprana	+++	+++	+++	-	Fuerte
11	6	Media	+++	-	+++	+++	Fuerte
12	5	Tardía	-	+	++	-	Evidente

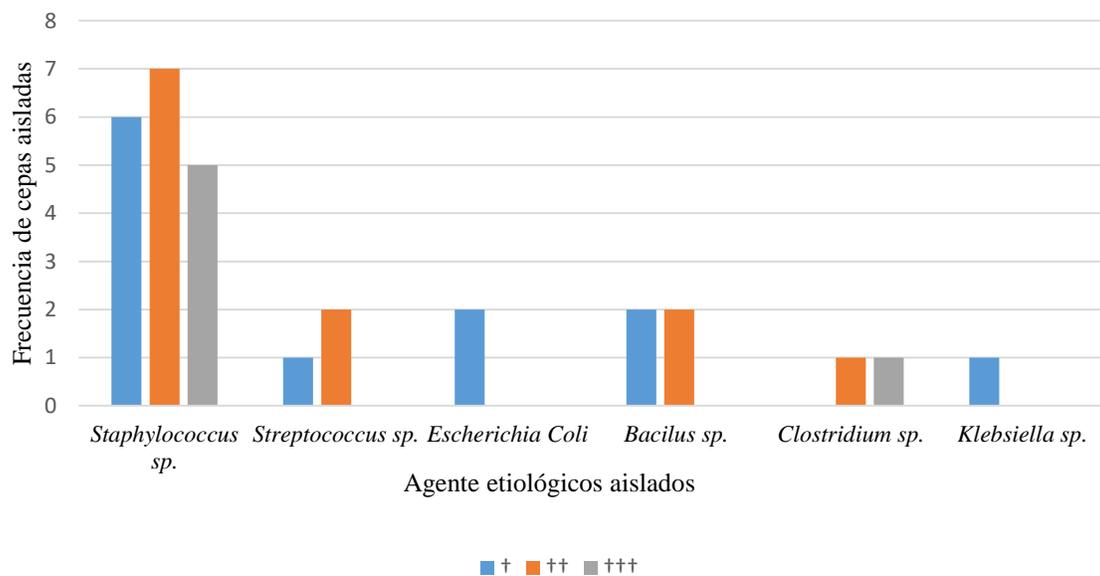
a: temprana 0 -60 días, media 61-200 días, 201 días en adelante

b:- AD: Anterior derecho, PD: Posterior derecho, AI: Anterior Izquierdo, PI: Posterior Izquierdo

-Negativo, + Positivo débil, ++ Positivo evidente, +++ Positivo fuerte

Así mismo, se identificó los géneros de bacterias tales como *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp, *Klebsiella* sp, *Bacillus* sp, *Clostridium* sp y *Escherichia coli*, mismos que presentaron características compatibles con los resultados obtenidos para los mencionados géneros.

En el gráfico 1, se detalla la frecuencia de las bacterias aisladas según el grado de infección y el género identificado. *Staphylococcus* sp tuvo presencia en los tres grados de infección, teniendo mayor número de aislados en positivo evidente (++) , en cuanto a *Streptococcus* sp se tuvo un total de tres aislados, siendo uno en positivo débil y dos en positivo evidente. Se identificó además dos cepas de *E coli* presentes en las muestras con resultado ++. Y en cuanto a *Bacillus* sp se determinó cuatro cepas, dos en positivo débil y dos en positivo evidente. Así mismo el género *Clostridium* sp presentó en total dos cepas proveniente de las muestras de + y +++ . Finalmente solo fue identificada una cepa del género *Klebsiella* sp que estuvo presente en una muestra de positivo débil.



+ Positivo débil, ++ Positivo evidente, +++ Positivo fuerte

Gráfico 1: Bacterias aisladas según grado de infección de mastitis subclínica en vacas de raza Simmental en el distrito de Pomacochas.

En el gráfico 2, se observa el porcentaje de bacterias que fueron aisladas en este estudio, siendo el género *Staphylococcus* sp el más frecuente entre las cepas aisladas con un 60% del total. Así mismo se puede notar que el segundo género con más frecuencia es *Bacillus* sp ya que representa el 13.3% de las bacterias identificadas. *Streptococcus* sp tuvo una frecuencia de 10%, seguido de *Clostridium* sp y *E. coli* con una frecuencia de 6.7% en ambos casos y finalmente *Klebsiella* sp estuvo presente con 3.3%.

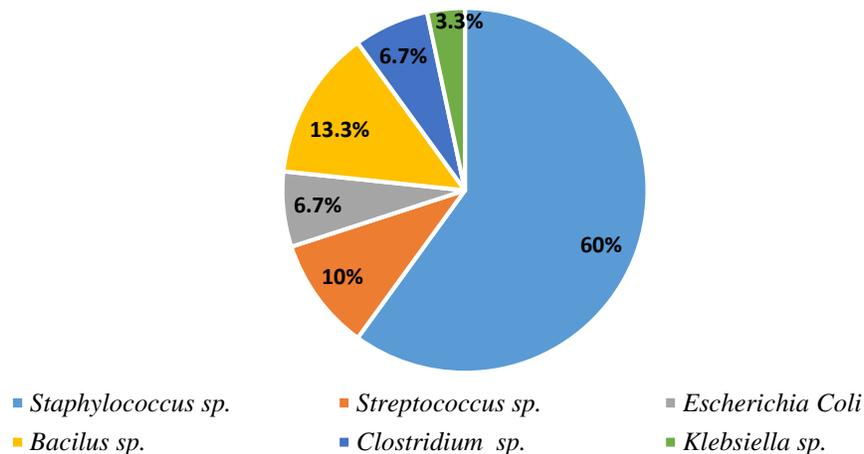


Gráfico 2: Frecuencia de bacterias aisladas en mastitis subclínica en vacas de raza Simmental en el distrito de Pomacochas.

El gráfico 3 muestra el resultado general obtenido del antibiograma por el método de disco difusión Kirby Bauer realizada a las bacterias identificadas. Se usó siete antibióticos; penicilina, enrofloxacina, ciprofloxacina, neomicina, ampicilina, gentamicina y oxacilina. El

51.90% de las muestras analizadas presentan sensibilidad a los siete antibióticos, mientras que el 39.52% muestra resistencia y el 8.57% se encuentra en la categoría intermedia.

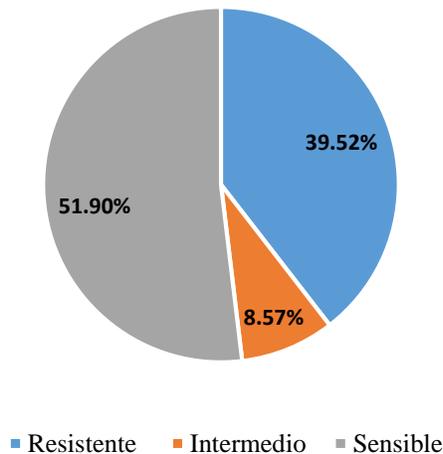


Gráfico 3: Resultado general de antibiograma de bacterias causantes de mastitis subclínica en vacas de raza Simmental en el distrito de Pomacochas (porcentaje).

En el gráfico 4 se detalla el perfil de resistencia de *Staphylococcus* sp donde se muestran los porcentajes de resistencia y sensibilidad. El 88.9 % de las muestras fueron resistentes a ampicilina, oxacilina tuvo 44.4% de resistencia y 55.6% de sensibilidad, neomicina presentó 55.6% de resistencia, 39% intermedio y 5.56% de sensibilidad, gentamicina, ciprofloxacina y enrofloxacina el 100% de sensibilidad, mientras que penicilina fue 100% resistente.

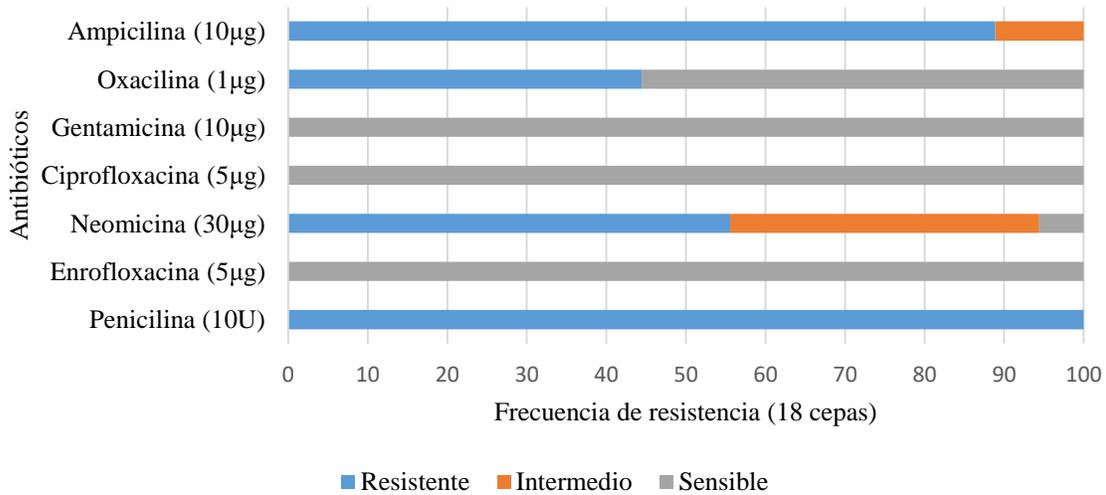


Gráfico 4: Frecuencia de resistencia de aislados de *Staphylococcus* sp en vacas de raza Simmental del distrito de Pomacochas.

En el gráfico 5 se puede observar el perfil de resistencia de *Streptococcus* sp, ampicilina, oxacilina y neomicina presentaron el 66.7% de resistencia, mientras que 33.3% de las muestras fueron sensibles. Mientras que gentamicina, ciprofloxacina y enrofloxacina el 100% fueron sensibles, sin embargo, penicilina fue 100% resistente.

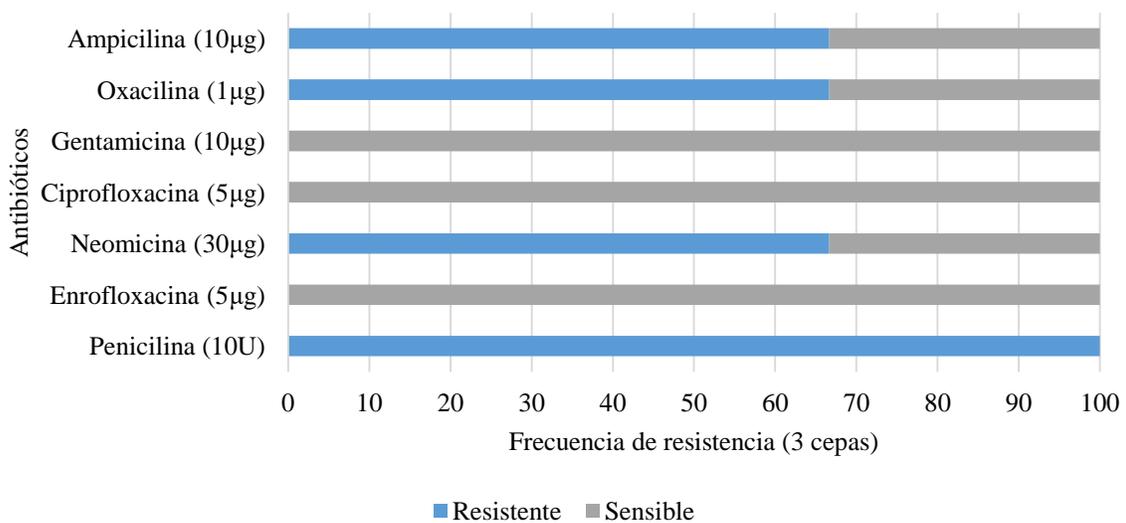


Gráfico 5: Frecuencia de resistencia de aislados de *Streptococcus* sp en vacas de raza Simmental del distrito de Pomacochas.

El gráfico 6 muestra el perfil de resistencia de *E. coli*, donde el 100% de resistencia se presentó para los antibióticos; ampicilina, penicilina y oxacilina, en cambio neomicina tuvo como resultado 100% intermedio, finalmente gentamicina, ciprofloxacina y enrofloxacina mostraron 100% de sensibilidad.

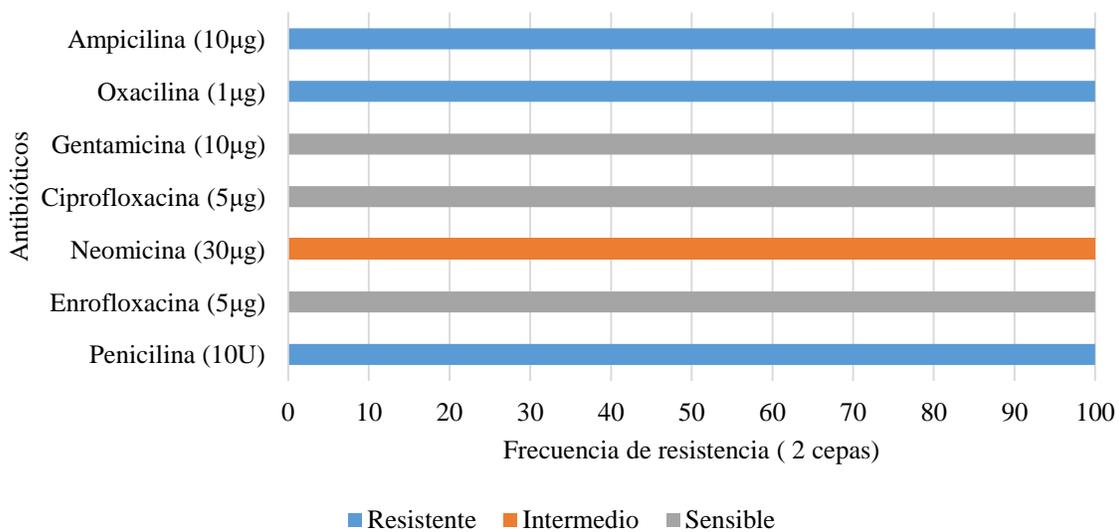


Gráfico 6: Frecuencia de resistencia de aislados de *E. coli* en vacas de raza Simmental del distrito de Pomacochas.

En el gráfico 7 el perfil de resistencia de *Bacillus* sp, indica que el 75% de muestras fueron resistentes a penicilina, oxacilina y ampicilina, mientras que el 25% fueron sensibles, en cuanto a neomicina el 50% fueron intermedios y el 50% resistentes, enrofloxacina, gentamicina y ciprofloxacina tuvieron el 100% de sensibilidad.

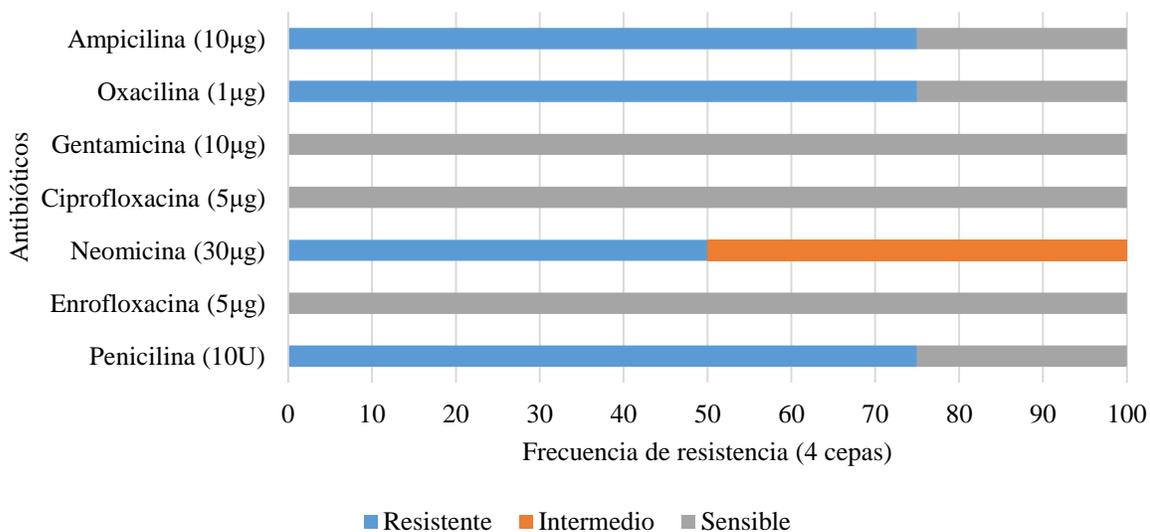


Gráfico 7: Frecuencia de resistencia de aislados de *Bacillus* sp en vacas de raza Simmental del distrito de Pomacochas.

El gráfico 8 muestra perfil de resistencia de *Clostridium* sp, donde el 50% de las muestras fueron intermedias a neomicina y ampicilina, mientras que el otro 50% fue resistente. 100% de sensibilidad para oxacilina, gentamicina, enrofloxacina y ciprofloxacina, mientras que 100% de resistencia para penicilina.

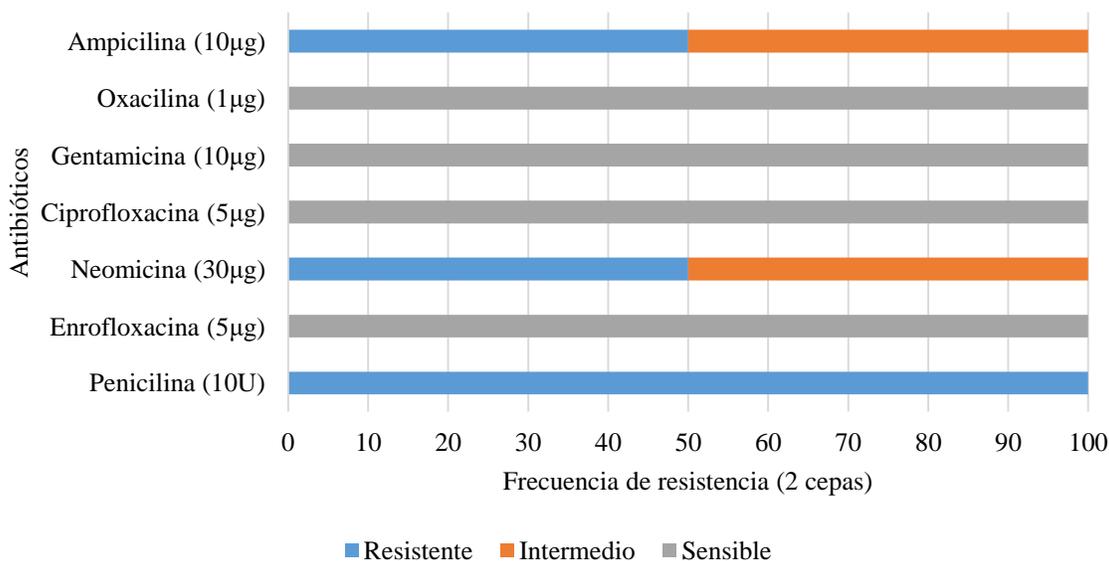


Gráfico 8: Frecuencia de resistencia de aislados de *Clostridium sp* en vacas de raza Simmental del distrito de Pomacochas.

El gráfico 9 indica el perfil de resistencia de *Klebsiella sp*, donde penicilina, neomicina y ampicilina tuvieron 100% de resistencia, mientras que enrofloxacina, ciprofloxacina, gentamicina y oxacilina fueron sensibles al 100%.

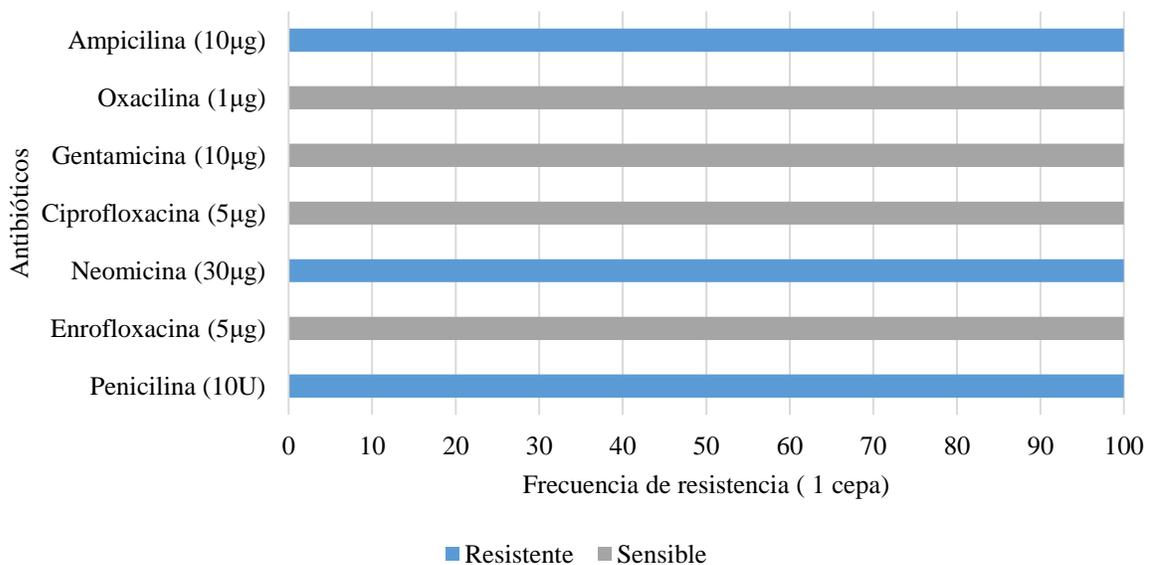


Gráfico 9: Frecuencia de resistencia de aislados de *Klebsiella sp* en vacas de raza Simmental del distrito de Pomacochas.

DISCUSIÓN

La mastitis bovina se define como una inflamación de la ubre generada principalmente por bacterias, sin embargo existen otros factores que desencadenan esta respuesta (Karina, 2011; Zuluaga *et al.*, 2010). Por lo tanto la mastitis es el resultado de la respuesta inmunitaria del huésped ante los agentes patógenos que afectan la ubre (Gurjar *et al.*, 2012). Una ubre sana tiene equilibrio en su microbiota, ya que esta presenta una serie de bacterias dentro de su composición, mismas que desempeñan un papel importante para la salud del animal, cuando existen alteraciones en dicha comunidad bacteriana, conocido como disbiosis desencadenan patologías como mastitis (Rainard 2017; Derakhshani *et al.*, 2018; Andrews *et al.*, 2019).

Es el caso de Sánchez (2018) donde menciona que el 38% de las vacas muestreadas dieron como positivo a mastitis sub clínica al realizar CMT. En la misma línea, Rodríguez y Muñoz (2017) indican que en su estudio obtuvieron como resultado 89% de vacas con mastitis. Mientras que Bianchi *et al* (2019) hacen mención en su investigación que el 73% de los cuartos mamarios analizados presentaron mastitis. Nuestra investigación obtuvo resultados similares a los de Sanchez (2018) ya que 12 de las 30 vacas muestreadas (40 %) resultaron ser positivas a mastitis subclínica. Sin embargo, difiere a lo hallado por Rodríguez y Muñoz (2017) y Bianchi *et al* (2019), quienes reportaron porcentajes más altos, mismos que se puede deber a la cantidad de animales muestreados y la época que se realizó el estudio.

Las vacas que se hallan en la etapa de lactación temprana, pasan por un estrés fisiológico por la reducción en el consumo de alimento desencadena en el Balance de Energía Negativo (BEN), una condición nutricional donde las vacas utilizan sus reservas corporales y son los productos metabólicos de esta movilización los que tienen efectos sobre la salud de la vaca,

al encontrarse en altas concentraciones, aumenta la predisposición del animal a presentar enfermedades como, cetosis, esteatosis hepática, metritis y mastitis, debido a que se deprime el sistema inmune, por lo que afecta la salud del animal y aumenta el número de células somáticas reaccionando al CMT como positivo para mastitis (Leroy *et al.*, 2008). Además las vacas en etapa de lactación temprana tienen alto riesgo de adquirir infecciones intramamarias debido a que la formación del tapón de queratina varía entre ellas y al permanecer abierto propician el ingreso de agentes patógenos dentro del pezón, eso se suma a la rutina de secado inapropiada (Molina *et al.*, 2017). En cuanto a las vacas en etapa de lactación tardía, al encontrarse por un periodo largo de producción se encuentran expuestas en su mayoría a agentes bacterianos que infectan el canal del pezón, así mismo se suman otros factores como el clima, rutina de ordeño y manejo de los animales que propician la adquisición de infecciones intramamarias (Clabby *et al.*, 2023). En la presente investigación los resultados de CMT indican que las vacas en etapa de lactación temprana representan el 41.6% (5/12), mientras que las vacas en etapa de lactación media son el 16.6% (2/12) y finalmente las vacas correspondientes al grupo de lactación tardía representan el 41.6% (5/12). Así mismo, en cuanto a la clasificación de mastitis subclínica se determinó que el 33.3% (4/12) pertenecen a las vacas positivas para las tres clasificaciones (débil, evidente y fuerte). La prueba de CMT fue validada haciendo uso del equipo De Laval Cell Counter (DCC) que trabaja con cassetts con 1 µl de muestra, mediante una sonda fluorescente determina la cantidad de células presentes en leche, coincidiendo con los resultados obtenidos en CMT.

Otro elemento importante a tener en cuenta para la presentación de mastitis es la rutina de ordeño, la misma que debe realizarse teniendo en cuenta medidas de higiene, en un lugar

limpio, el lavado y secado tanto de la ubre como la mano del operador, para evitar la propagación de la enfermedad entre animales; además se debe colocar un sellador para evitar que los microorganismos ingresen por medio del esfínter al encontrarse dilatado producto del ordeño (Aguilar y Álvarez, 2019). En este estudio las vacas fueron ordeñadas manualmente, sin embargo, la rutina de ordeño observada no fue la adecuada, puesto que se realizó el ordeño en el mismo campo donde pastan, el lavado de ubre y de las manos del operador fue deficiente y no se aplica sellador al finalizar el ordeño, por lo que las vacas quedan expuestas a los agentes patógenos.

Dentro de las principales bacterias causantes de mastitis se encuentra un extenso listado, donde destacan patógenos más frecuentes y contagiosos como: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus agalactiae*. Así mismo existen patógenos ambientales miembros de la familia *Enterobacteriaceae* como es el caso de *E. coli* y *S. uberis* (Petersson-Wolfe *et al.*, 2010). Mientras que otras bacterias gram negativas como *Klebsiella* spp., también son aisladas en casos de mastitis (Cortinhas *et al.*, 2016). Mismas que se contagian de una vaca enferma a una vaca sana principalmente por contacto, por lo que la bioseguridad del rebaño es una de las medidas de prevención importantes a considerar para minimizar los casos de mastitis dentro del hato (Kefee 2012).

S. aureus es la bacteria más común identificada en mastitis (McParland *et al.*, 2019), un estudio realizado por Zhang *et al.* (2022) menciona que aislaron el 10.06% de las muestras de mastitis positivas a este agente etiológico. Mientras que otros autores mencionan que la presencia de *Staphylococcus* en su estudio fue de 24.84% como el patógeno con mayor frecuencia en sus aislamientos (Villanueva y Morales 2017). Pellegrino *et al.* (2011) aislaron 21% de muestras positivas a *S. aureus* y Sánchez (2018) encontró que 44% de los

aislamientos representan a *Staphylococcus aureus*. Dichos estudios difieren con los resultados obtenidos en esta investigación, puesto que el género *Staphylococcus* estuvo presente en un 60% siendo la bacteria más común entre las muestras analizadas. Debido a ciertas limitantes en este estudio para lograr la identificación bacteriana sólo se pudo reconocer géneros, por lo tanto, se dificulta diferenciar las especies de *Staphylococcus* presentes.

En tanto existen otras bacterias comúnmente causantes de mastitis como lo son *Streptococcus*, *E. coli* y *Klebsiella*; en el estudio de Sánchez *et al.* (2018) menciona que *Streptococcus* estuvo presente en un 20.7%, mientras que *E. coli* y *Klebsiella* tuvieron como resultado similar 0.5%. Sin embargo, Rodríguez y Muñoz (2017) reportaron un porcentaje mayor de cepas de *E. coli* (28%) y *Klebsiella* (24%) y menor aislamiento de *Streptococcus sp* (8%). En el presente estudio se han encontrado dichos patógenos, no obstante los porcentajes de aislamientos difieren ligeramente, puesto que *Streptococcus sp* se encuentra presente en un 10%, mientras que *E. coli* en un 6.67 % y *Klebsiella* en 3.33%. Así mismo se aisló el género *Bacillus* (13.33 %), mismo que fue reportado también por Villanueva y Morales (2017) donde mencionan a dicha bacteria presente en un 21.74%. El género *Bacillus sp* es poco frecuente en infecciones de la glándula mamaria, sin embargo, la especie *Bacillus cereus* es conocido como un agente causal de mastitis en bovinos responsable de daños como necrosis de la glándula mamaria (Schiefer, 1976), a pesar de eso se conoce que este patógeno se encuentra fácilmente en el suelo, agua, aire, heces y vegetación, por lo que no se descarta la posibilidad que se trate de agentes contaminantes de las muestras.

En nuestro estudio se ha encontrado bacterias compatibles con el género *Clostridium*, mismo que no ha sido reportado con anterioridad en estudios sobre mastitis. La presencia de este

grupo de patógenos se atribuye a la época de muestreo, a las condiciones de crianza de los animales y a la rutina de ordeño inadecuada, puesto que son factores que contribuyen al ingreso de agentes contagiosos considerados como ambientales y desencadenar la enfermedad.

El conocer las especies bacterianas tiene una importancia epidemiológica, ya que sabemos a que patógeno nos enfrentamos mismo que permitirá identificar las medidas a tomar para contrarrestar la infección, además diferenciar si dicha especie es un microorganismo patógeno, potencialmente patógeno o un contaminante, por lo que se podrá conocer también si poseen mecanismos de resistencia y buscar un tratamiento que pueda ser útil (Gobernado y López –Hontangas, 2003).

El tratamiento para la mastitis es usualmente la terapia antibiótica, misma que se ha visto afectada los últimos años por el incremento de la resistencia a los antibióticos por parte de los agentes patógenos causantes de esta enfermedad, por lo que la selección de estos medicamentos para emplearlos en el tratamiento se debe hacer en base a los resultados de cultivos bacterianos y pruebas de sensibilidad (Tiwari *et al.*, 2013). Un problema adicional detectado respecto al uso de antibióticos es los residuos que estos generan en la leche, lo cual puede causar daños perjudiciales a la salud de los consumidores ya que pueden permanecer en la leche durante un tiempo prolongado (Gomes y Henriques, 2016; Kurjogi *et al.*, 2019).

En su estudio Zhang *et al* (2022), utilizaron once agentes antimicrobianos, y todos los aislamientos fueron resistentes al menos a dos antibióticos, especialmente a la penicilina G (91,95%). Dicho 91,95 % de los aislamientos fueron cepas de *S. aureus* los cuales dieron como resultado resistencia a penicilina, similar a informes anteriores, quienes reportan que 85.2% de *S. aureus* aislados presentaron resistencia a la penicilina (Liu *et al.* 2017). Sin

embargo, Mcdougall *et.al* (2014) mencionan que de 364 aislamientos de *S. aureus*, 28 % eran resistentes a la penicilina. Otro estudio indica la resistencia de *S. aureus* frente a gentamicina en un 58.75% y a oxacilina en un 25% (Brahma *et al.*, 2022). En cuanto a los resultados obtenidos en este estudio el género *Staphylococcus* presentó el 100% de resistencia a penicilina, 36% frente a neomicina, 30% a oxacilina y 53% a ampicilina, mientras que en menos porcentaje se encuentra gentamicina.

Streptococcus sp en un estudio presentó 14.3% de resistencia frente a penicilina y clindamicina (Crespi *et al.*, 2022), mientras que *Streptococcus uberis* se mostró resistente a tetraciclina y ceftiofur (Zhang *et al.*, 2021). En nuestro estudio el género *Streptococcus* sp estuvo presente en 10%, siendo resistente a penicilina en 100%, mientras que neomicina, oxacilina y ampicilina presentaron 66% de resistencia. Lo cual difiere con las investigaciones mencionadas.

Se sabe que el 20% de casos de mastitis bovinas son causadas por *Klebsiella pneumoniae* (Katsande *et al.*, 2013), Fu *et al* (2022) menciona que el 35.91% de sus aislados fueron compatibles con *K. pneumoniae* y que el 100% de ellas presentaron sensibilidad hacia enrofloxacin. A diferencia de los resultados obtenidos en nuestra investigación donde el porcentaje de aislados de *Klebsiella* es de 3.3 %, siendo menor a lo reportado por dichos estudios. Sin embargo en cuanto a la sensibilidad a enrofloxacin es similar ya que también presentó una sensibilidad al 100%.

En nuestro país diversos estudios relacionados a resistencia antibiótica en casos de mastitis han sido desarrollados con anterioridad. Sánchez (2018) indica que *Staphylococcus* fue sensible en un 83% a enrofloxacin, 67% a gentamicina, mientras que el 75% mostró resistencia a penicilina, así mismo, *E. coli* mostró el 100 % de sensibilidad hacia gentamicina,

75% frente a enrofloxacin, pero menos respuesta en el caso de penicilina. *Streptococcus* indicó resistencia a penicilina (67%), mientras que sensibilidad hacia gentamicina (83%) y menos respuesta en caso de enrofloxacin. En cuanto a los resultados de esta investigación se puede ver que difieren en los datos obtenidos en el perfil de resistencia. *Staphylococcus* sp mostró 100% de resistencia a penicilina, 88% a ampicilina, 55% a neomicina y 44% a oxacilina, mientras que fue sensible en 100% a enrofloxacin, ciprofloxacina y gentamicina. *Streptococcus* sp, fue sensible a enrofloxacin, gentamicina y ciprofloxacina (100%), oxacilina, ampicilina y neomicina (33.33%) mientras que fue resistente a esos antibióticos en 66.67%. Finalmente, *E. coli* fue resistente a penicilina, oxacilina y ampicilina en 100%, mientras que obtuvo un resultado intermedio al 100% para neomicina y fue totalmente sensible a enrofloxacin, gentamicina y ciprofloxacina.

Villanueva y Morales (2017) en su estudio reportan que *S. aureus* demostró resistencia a penicilina en un 65.6%, sin embargo, el 56.2% de presentó sensibilidad a gentamicina, así como también a otros antibióticos como estreptomina y amikacina. En cuanto a *Streptococcus* este estudio reporta la sensibilidad hacia amikacina y estreptomina mientras que presentó resistencia a penicilina en un 56%. En cuanto a nuestros resultados los niveles de resistencia fueron mayores ya que penicilina es el antibiótico con mayor resistencia por parte de las bacterias aisladas, teniendo como el 100% de resistencia en el caso de *Staphylococcus* sp, *Streptococcus* sp, *E. coli*, *Clostridium* sp y *Klebsiella* sp, mientras que únicamente *Bacillus* sp presentó 75% Y en cuanto a sensibilidad enrofloxacin, gentamicina y ciprofloxacina han sido los antibióticos con mayor porcentaje de sensibilidad ya que tienen resultados del 100% y los antibióticos como neomicina, oxacilina y ampicilina mostraron porcentajes menores en cuanto a sensibilidad o resistencia.

La resistencia a los antibióticos se da debido a que las bacterias han desarrollado factores de virulencia, genes y mecanismos de evasión al antibiótico, los principales genes asociados a resistencia son *blaZ*, *mecA*, *mecC*, *ermA*, *ermB* y *erm*, (Monistoreo *et al.*, 2020), además bacterias como *S. aureus* tienen mecanismos como el cambio de la proteína de unión a penicilina, que la hace resistente a dicho medicamento (Castro *et al.*, 2020).

Los resultados evidencian la problemática que significa la resistencia antibiótica, misma que se encuentra expandida a nivel mundial, siendo un peligro inminente tanto para los bovinos como para los humanos, ya que se encuentran restos de estos medicamentos en la leche destinada para consumo humano agravando la situación (Kurjogi *et al.*, 2019). Así mismo, dichos resultados difieren de las otras investigaciones dadas las condiciones del clima y lugar al momento de la toma de muestra, así mismo el número de animales muestreados y de los aislados identificados, siendo menor en comparación con otros estudios.

El anexo 1 muestra los principales antibióticos distribuidos en el país producidos por diversos laboratorios, uno de los medicamentos más comercializados y de uso excesivo es la penicilina, seguido de neomicina y ampicilina, sin embargo, uno de los limitantes de este estudio fue la lista corta de antibióticos usados, debiendo haberse incluido medicamentos de interés y de uso más difundido en animales mayores como oxitetraciclina y sulfatrimetoprim, mismos que en una investigación indican el porcentaje de resistencia que obtuvieron de 62% y 8% respectivamente (Centeno *et al.*, 2018).

Este estudio muestra según los resultados obtenidos *in vitro* de la frecuencia de resistencia a dichos medicamentos que pueden ser considerados como una opción para el tratamiento de una infección ocasionada por estas bacterias, en años anteriores en la misma región se han realizado estudios acerca de mastitis, comparando los efectos del extracto de ajo con

antibióticos usados para el tratamiento de mastitis, indicando que las tres bacterias aisladas (*E. coli*, *S. aureus* y *S. agalactiae*) son sensibles (Chumbe, 2020).

CONCLUSIONES

- En este estudio se ha identificado a seis géneros bacterianos: *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp*, *Bacillus sp*, *Klebsiella sp*, *Clostridium sp* y *Escherichia coli*.
- El género *Staphylococcus sp* es el agente patógeno aislado con mayor frecuencia en este estudio, con 18 cepas (60%), mientras que el género *Klebsiella sp* es el menos frecuente con 1 cepa (3%).
- El perfil de resistencia indican que el 51.90% de las muestras analizadas son sensibles a uno o más de antibióticos utilizados (enrofloxacina, gentamicina, neomicina, ampicilina, penicilina, oxacilina y ciprofloxacina), mientras que el 39.52% son resistentes y el 8.57% son intermedios.
- La frecuencia de resistencia de bacterias causantes de mastitis subclínica en el distrito de Pomacochas, según el antibiograma, indica que Penicilina desarrolló el 100% de resistencia ante *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp*, *Klebsiella sp*, *Clostridium sp* y *E. coli*. No obstante, *Bacillus sp* presentó resistencia del 75%. Sin embargo, Enrofloxacina, Ciprofloxacina y Gentamicina presentaron el 100% de sensibilidad.

RECOMENDACIONES

- Descartar el tratamiento con medicamentos que tengan en su composición penicilina, neomicina, oxacilina o ampicilina, puesto que según los resultados, las bacterias aisladas demostraron resistencia.
- Considerar para el tratamiento de mastitis antibióticos como enrofloxacina, gentamicina y ciprofloxacina, ya que los resultados muestran que las bacterias aisladas en este estudio son sensibles.
- Implementar medidas de higiene y desinfección en la rutina de ordeño.
- Realizar pruebas de campo como CMT con regularidad para descartar mastitis subclínica.
- Realizar pruebas de descarte de residuos de antibióticos en la leche con regularidad.
- Considerar ordeñar a las vacas positivas a mastitis al final, para evitar la diseminación de la enfermedad.
- Tomar muestras de leche de vacas positivas a mastitis, realizar un análisis microbiológico para identificar a los agentes causales y antibiograma para considerar un tratamiento efectivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abebe R, Hatiya H, Abera M, Megersa B, Asmare K. 2016. Mastitis bovina: prevalencia, factores de riesgo y aislamiento de *Staphylococcus aureus* en hatos lecheros en el cobertizo lechero de Hawassa, sur de Etiopía. *BMC Vet Res* 12 :270. doi: 10.1186/s12917-016-0905-3.
2. Addis MF, Bronzo V, Puggioni GMG, Cacciotto C, Tedde V, Pagnozzi D, Locatelli C, Casula A, Curone G, Uzzau S, et al. 2017. Relationship between milk cathelicidin abundance and microbiologic culture in clinical mastitis. *J Dairy Sci* 100: 2944–2953. doi:10.3168/jds.2016-12110
3. Aguilar Gálvez F, Álvarez Díaz CA. 2019. Mastitis bovina. 1° edición. Lozano Zambrano K, editor. Machala -Ecuador. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/15205/1/MASTITIS-BOVINA.pdf>.
4. Alfonseca-Silva E, Cruz-Villa JC, Gutiérrez L, Sumano H. 2021. Successful treatment of recurrent subclinical mastitis in cows caused by enrofloxacin resistant bacteria by means of the sequential intramammary infusion of enrofloxacin HCl-2H₂O and ceftiofur HCl: a clinical trial. *J Vet Sci.* 22(6):e78. doi:10.4142/jvs.2021.22.e78.
5. Andrews T, Neher DA, Weicht TR, Barlow JW.. 2019. El microbioma mamario de vacas lecheras orgánicas lactantes varía según el tiempo, el sitio del tejido y el estado de infección. *PLoS Uno* . 14 (11):e0225001.
6. Bedolla C. y Ponce L M. 2008. Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera *Redvet*, 9: 1–26.

7. Bianchi RM, Schwertz CI, de Cecco BS, Panziera W, De Lorenzo C, Heck LC, Snel GGM, Lopes BC, da Silva FS, Pavarini SP, et al. 2019. Pathological and microbiological characterization of mastitis in dairy cows. *Trop Anim Health Prod.* 51:2057–2066. doi:10.1007/s11250-019-01907-0
8. Bou G, Fernández, A, García, C, Sáez, J.A, Valdezate, S. 2010. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. *Enf Infec Microbiol Clin.* 29:601-608.
9. Brahma U, Suresh A, Murthy S, Bhandari V, Sharma P.2022. Antibiotic Resistance and Molecular Profiling of the Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* Causing Bovine Mastitis from India. *Microorganisms.* 10(4):833. doi: 10.3390/microorganisms10040833
10. Breñaldo F A. 2012. Enfermedades del período de transición posparto y sus efectos en la producción de leche y la fertilidad en un sistema productivo de leche. *Univ de Chile.* <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/133759>
11. Castro V, da Costa G, Guimaraes A, Heinemann M, Pereira A, Seles E. 2020. Relationship between virulence factors and antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis. *J Global Antimicrobiol Resis.* 22: 792-802. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2020.06.010>
12. Ceballos Marquez A. 2015. Importancia económica de la mastitis. *Colombia Univ de Caldas.* doi:10.13140/RG.2.1.2969.8003
13. Centeno S., D, Salvatierra R., G.Calle E. 2018. Detección de fenotipos de resistencia ACCSuT, BLEE y AmpC en cepas de *Salmonella enterica* aisladas de infecciones en animales. *RIVEP*, 29(2), 580–587. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i2.14491>

14. Chumbe Valqui W. 2020. Efecto del extracto de ajo (*Allium sativum*) en el control de los tres principales agentes infecciosos de la mastitis bovina. Tesis pre grado. *Repost inst UNTRM.* 46. <https://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.14077/2284/Chumbe%20Valqui%20Wuilder%20Pablo.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
15. Cortinhas CS, Tomazi T, Zoni MSF, Moro E, Veiga Dos Santos M.. 2016. Ensayo clínico aleatorizado que compara el clorhidrato de ceftiofur con un protocolo de control positivo para el tratamiento intramamario de la mastitis clínica no grave en vacas lecheras . *J Ciencias lácteas* . 99 (7):5619–5628.
16. Clabby C, Valldecabres A, Dillon P, McParland S, Arkins S, O’Sullivan K, Flynn J, Murphy, Silva Boloña P. 2023. Evaluation of test-day milk somatic cell count to predict intramammary infection in late lactation grazing dairy cows. *J. Dairy Sci.* 106:4991–5001 <https://doi.org/10.3168/jds.2022-22627>
17. Crespi E, Pereyra AM, Puigdevall T, Rumi MV, Testorelli MF, Caggiano N, Gulone L, Mollerach M, Gentilini ER, Srednik ME. 2022 Antimicrobial resistance studies in *staphylococci* and *streptococci* isolated from cows with mastitis in Argentina. *J Vet Sci.* 23(6):e12. doi: 10.4142/jvs.21062. PMID: 36448431; PMCID: PMC9715389.
18. De Vliegher S, Fox LK, Piepers S, McDougall S, Barkema HW.. 2012. Revisión invitada: mastitis en novillas lecheras: naturaleza de la enfermedad, impacto potencial, prevención y control . *J Ciencias lácteas* . 95 (3): 1025–1040.
19. Derakhshani H, Plaizier JC, De Buck J, Barkema HW, Khafipour E.. 2018. Composición del canal del pezón y microbiota intramamaria de vacas

- lecheras sometidas a terapia antimicrobiana de vaca seca y sellador interno del pezón . *J Ciencias lácteas* . 101 (11): 10191–10205.
20. Drackley, J. K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier?. *J. Dairy Sci.* 82:2259-2273.
 21. Escolà-Vergé, L., Los-Arcos, I., & Almirante, B. 2020. Nuevos antibióticos para el tratamiento de las infecciones por microorganismos multirresistentes. *Med Clin.* 154 (9): 351-357. doi:10.1016/j.medcli.2019.11.002
 22. [ECDC] European Centre for Disease Prevention and Control.2016. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2016. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC. doi 10.2900/296939.
 23. FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura). Disponible en: <http://www.fao.org/home/es/>
 24. Ferguson J, Azzaro G, Gambina M, Licitra G. 2007. Prevalence of mastitis pathogens in Ragusa, Sicily, from 2000 to 2006. *J Dairy Sci* 90: 5798-5813. doi: 10.3168/jds.2006-903
 25. Fernández Bolaños, Omar F. 2012. Mastitis bovina:Generalidades y métodos de diagnostico. *Rev Vet REVET.* 13:1–11
 26. Figueroa PG, Ignacio J, Bedolla C, Carlos JL. 2008. Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California. *REDVET* 9:1-34. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101008/101004.pdf>
 27. Flores R, Duery O. 2017. Diagnostico microbiológico de *Clostridium difficile*. Instituto de Salud Pública de Chile.

28. Freitas CH, Mendes JF, Villarreal P V, Santos PR, Gonzales HL, Nascente PS. 2018. Identification and antimicrobial susceptibility profile of bacteria causing bovine mastitis from dairy farms in Pelotas Rio Grande do Sul. *Brazilian J Biol.* 78:661–666. doi:10.1590/1519-6984.170727
29. Fu S, Wen C, Wang Z, Qiu Y, Zhang Y, Zuo J, Xu Y, Han X, Luo Z, Chen W, Miao J. 2022 Molecular Epidemiology and Antimicrobial Resistance of Outbreaks of *Klebsiella pneumoniae* Clinical Mastitis in Chinese Dairy Farms. *Microbiol Spectr.* 10(6):e0299722. doi: 10.1128/spectrum.02997-22.
30. Fursova K, Sorokin A, Sokolov S, Dzhelyadin T, Shulcheva I, Shchannikova M, Nikanova D, Artem'eva O, Zinovieva N and Brovko F. 2020. Virulence Factors and Phylogeny of *Staphylococcus aureus* Associated With Bovine Mastitis in Russia Based on Genome Sequences. *Front. Vet. Sci.* 7:135. doi: 10.3389/fvets.2020.00135
31. Gobernado M, López- Hontangas JL. 2003. Identificación bacteriana. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 21 (52): 54-60.
32. Gomes F, Henriques M.. 2016. Control de la mastitis bovina: enfoques terapéuticos antiguos y recientes . *Curr Microbiol* . 72 (4):377–382.
33. Gurjar A, Gioia G, Schukken Y, Welcome F, Zadoks R, Moroni P.. 2012. Diagnóstico molecular aplicado a problemas de mastitis en granjas lecheras . *Vet Clin North Am Food Anim Pract* . 28 (3):565–576.
34. Gutiérrez, L. A., Agudelo, D. A. (2009). Control del crecimiento In Vitro sobre cepas Gram positivas y Gram negativas productoras de mastitis. 6:67–74.
35. Guzmán-Rodríguez JJ, Fabiola León-Galván M, Barboza-Corona JE, Valencia-Posadas M, Loeza-Lara PD, Sánchez-Ceja M, Ochoa-Zarzosa A, López-Meza JE,

- Gutiérrez-Chávez AJ. 2020. Analysis of virulence traits of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in semi-intensive and family dairy farms. *J Vet Sci.* 21:1–14. doi:10.4142/JVS.2020.21.E77
36. Huzzey, J. M.; Veira, D. M.; Weary, D. M.; Von Keyserlingk, M. A. G. 2007. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. *J. Dairy Sci.* 90:3220–3233.
37. Karina P. 2011. Estudio de tipos capsulares de *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina y respuesta inmune a una bacterina de tipo capsular 5 en bovinos. Tesis de Maestría. Buenos Aires: *Universidad Nacional del Litoral*. 153 p.
38. Katsande S, Matope G, Ndengu M, Pfukenyi DM. 2013. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras de pequeñas granjas en Zimbabue . *Onderstepoort J Vet Res* 80 :523. doi: 10.4102/ojvr.v80i1.523.
39. Keefe G. 2012. Actualización sobre el control de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* para el manejo de la mastitis . *Vet Clin North Am Food Anim Pract* . 28 (2):203–216.
40. Kroning IS, Iglesias MA, Mendonça KS, Lopes G V., Silva WP. 2018. Presence of classical enterotoxin genes, agr typing, antimicrobial resistance, and genetic diversity of *staphylococcus aureus* from milk of cows with mastitis in southern Brazil. *J Food Prot.* 81:738–742. doi:10.4315/0362-028X.JFP-17-436
41. Kurjogi M, Issa Mohammad YH, Alghamdi S, Abdelrahman M, Satapute P, Jogaiah S.. 2019. Detección y determinación de la estabilidad de los residuos de antibióticos en la leche de vaca . *PLoS Uno* . 14 (10):e0223475.

42. Leroy, J., Vanholder, T., Van Kngesel, A., García-Ispuerto, I. y Bols, P. 2008. Nutrient Priorization in Dairy Cows Early Postpartum: Mismatch Between Metabolism and Fertility? *Reprod in Domestic Animls*, 43, 96-103.
43. Liu H, Li S, Meng L, Dong L, Zhao S, Lan X, Wang J, Zheng N. 2017. Prevalencia, susceptibilidad antimicrobiana y caracterización molecular de *Staphylococcus aureus* aislado de hatos lecheros en el norte de China . *J Dairy Sci* 100 :8796–8803. doi: 10.3168/jds.2017-13370.
44. Li W, Xue M, Yu L, Qi K, Ni J, Chen X, Deng R, Shang F, Xue T. 2020. QseBC is involved in the biofilm formation and antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis. *PeerJ*. 8:e8833. doi: 10.7717/peerj.8833.
45. Maicelo J, Bardales J. 2017 Caracterización de los sistemas de producción y formulación de indicadores de adaptabilidad del ganado bovino Simmental/Fleckvieh, región Amazonas. *Rev RICBA*. 1: 19-26. doi: 10.25127/ricba.201701.002
46. Mallard, B. A.; Dekkers,J. C.; Ireland, M. J.; Leslie, K. E.; Sharif, S.; Lacey Vankampen, C.; Wagter, L.; Wilkie, B. N. 1998. Alteration in immune responsiveness during the peripartum period and its ramification on dairy cow and calf health. *J. Dairy Sci*. 81:585-595.
47. Martins L, Gonçalves JL, Leite RF, Tomazi T, Rall VLM, Santos M V. 2021. Association between antimicrobial use and antimicrobial resistance of *Streptococcus uberis* causing clinical mastitis. *J Dairy Sci*. 104(11):12030–12041. doi:10.3168/jds.2021-20177.

48. Martínez D, Cruz A, Moreno G. 2013. Resistencia de las bacterias causantes de mastitis bovina frente a los antimicrobianos más frecuentes. *Co- nexión Agropec JDC* 3: 53-73
49. Mcdougall S, Hussein H, Petrovski KR. 2014. Resistencia antimicrobiana en *Staphylococcus aureus* , *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae* de vacas lecheras con mastitis . *NZ Vet J* 62 :68–76. doi: 10.1080/00480169.2013.843135.
50. McParland S, Dillon PG, Flynn J, Ryan N, Arkins S, Kennedy A.. 2019. Efecto del uso de sellador interno de pezones con o sin terapia con antibióticos en el secado sobre el recuento de células somáticas y la producción de leche posteriores . *J Ciencias lácteas* . 102 (5):4464–4475.
51. Mellenberger, R. 2001. California Mastitis Test (CMT), an invaluable tool for managing mastitis. Dept of Animal Sciences, Michigan State University 1-9.
52. Mira C, Libera A, Souza F, Lima S, Blagitz M. 2013. Celularidad de la leche en el diagnóstico de la infección intramamaria en el ganado. *Revista de Ciências Agrárias/Amazonian J Agri Environ Sci* . 56:7–11. doi: 10.4322/rca.2013.006
53. Miranda M, Morales – Cauti S. 2022. Evaluación de la resistencia antibiótica de bacterias aisladas de mastitis subclínica en bovinos de establos lecheros de Lurín, Lima. *Salud tecnol. vet.* 2022;1: 8-15. DOI: <https://doi.org/10.20453/stv.v10i1.4235>
54. Monistero V, Barberio A, Biscarini F, Cremonesi P, Castiglioni B, Graber HU, Bottini E, Ceballos-Marquez A, Kroemker V, Petzer IM, et al. 2020. Different distribution of antimicrobial resistance genes and virulence profiles of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical mastitis in six countries. *J*

Dairy Sci. 103:3431–3446. doi:10.3168/jds.2019-17141

55. Molina LR, Costa HN, Leão JM, Malacco VMR, Facury Filho EJ, Carvalho AU, Lage CFA. 2017. Eficacia de un sellado interno del pezón asociado con un antibiótico intramamaria de vaca seca para la prevención de infecciones intramamarias en vacas lecheras durante la lactancia seca y temprana períodos. *Pesquí. Veterinario.*37 :465-470. doi:10.1590/s0100736x2017000500007.
56. Papadopoulos P, Angelidis A, Papadopoulos T, Kotzamanidis C, Zdragas A, Papa A, Filioussis G, Sergelidis D. 2019. *Staphylococcus aureus* and methicilin-resistant S.aureus (MRSA) in bulk tank milk, livestock and dairy-farm personnel in north-central and north- eastern Greece: prevalence, characterization and genetic relatedness. *Food Microbiol.* 84:103-249.
57. Pellegrino M, Frola I, Odierno L BC. 2011. Mastitis bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche. *Rev Electron Vet.* 12.
58. Petersson-Wolfe CS, Mullarky IK, Jones GM.. 2010. Mastitis por *Staphylococcus aureus* : causa, detección y control. *Virginia Tech* . Blacksburg, VA.
59. Rainard P. 2017. Microbiota mamaria de rumiantes lecheros: ¿realidad o ficción? *Vet Res* . 48 (1):25.
60. Ramírez N, Henao A., Muñoz M, Jaramillo M, Cerón J, & Baena L. 2011. Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia. *Rev de Med Vet*, 22, 31-42.

61. Rodríguez Pérez R, Muñoz Ganoza E. 2017. Frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana de bacterias causantes de mastitis en bovinos de un establo de Trujillo, Perú. *Rev Investig Vet del Perú*. 28:994. doi:10.15381/rivep.v28i4.13874
62. Ruegg, P. L. 2017. A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *J Dairy Sci*, 100 (12), 10381-10397.
63. Sacsquispe Contreras RE, Velásquez Pomar J. 2002. Manual de procedimientos anual para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. *Organismo Público Descentralizado de Sector Salud*. http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/manual_sensibilidad_2.pdf.
64. Sanchez M, J. 2018. Resistencia antibiótica a los agentes causales de mastitis en vacas. Tesis pre grado. *Repos Inst UNH*:89. <http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/2998><http://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/1540>.
65. Sánchez P, Murillo M, Almanza IJP. 2018. Prevalence of bovine mastitis in the anaima canyon, a colombian dairy region, including etiology and antimicrobial resistance. *Rev Investig Vet del Peru*. 29:226–239. doi:10.15381/rivep.v29i1.14084
66. Sargeant J M, Leslie K E, Shirley J E, Pulkrabek B J, Lim G H. 2001. Sensitivity and Specificity of Somatic Cell Count and California Mastitis Test for Identifying Intramammary Infection in Early Lactation. *J Dairy Sci*. 84: 2018-2024. doi: [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74645-0](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74645-0)
67. Schiefer B. 1976. Pathology of *Bacillus cereus* mastitis in dairy cows. *Can Vet J* 17, 239-243.

68. Sinha MK, Thombare NN, Mondal B.. 2014. Mastitis subclínica en animales lecheros: incidencia, economía y factores predisponentes .*ciencia mundo j* . 523984.
69. Silva NCC, Guimarães FF, Manzi MDP, Gómez-Sanz E, Gómez P, Araújo JP, Langoni H, Rall VLM, Torres C. 2014. Characterization of methicillin-resistant *coagulase-negative staphylococci* in milk from cows with mastitis in Brazil. *Antonie van Leeuwenhoek, Int J Gen Mol Microbiol*. 106:227–233. doi:10.1007/s10482-014-0185-5
70. Tiwari R, Chakraborty S, Dhama K, Rajagunalan S, Singh SV.. 2013. Resistencia a los antibióticos: un problema de salud emergente: causas, preocupaciones, desafíos y soluciones: una revisión . *Int J Curr Res* . 5 (07): 1880–1892.
71. UNESCO (Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura). Disponible en: <http://www.unesco.org/new/es/>
72. Villanueva GT, Morales SC. 2017. Resistencia antibiótica de patógenos bacterianos aislados de mastitis clínica en bovinos de crianza intensiva. *Rev Electron Vet*. 18.
73. Xiao X, Chen X, Yan K, Jiang L, Li R, Liu Y, Wang M, Wang Z. 2022. PK/PD integration and pharmacodynamic cutoff of cefquinome against cow mastitis due to *Escherichia coli*. *J Vet Pharmacol Ther*. 45(1):83–91. doi:10.1111/jvp.13012.
74. Zhang T, Niu G, Boonyayatra S, Pichpol D. 2021 Antimicrobial Resistance Profiles and Genes in *Streptococcus uberis* Associated With Bovine Mastitis in Thailand. *Front Vet* 8:705338. doi: 10.3389/fvets.2021.705338.
75. Zhang Z, Chen Y, Li X, Wang X, Li H. 2022. Detection of Antibiotic Resistance, Virulence Gene, and Drug Resistance Gene of *Staphylococcus aureus* Isolates

from Bovine Mastitis. *Microbiol Spectr.*10 (4):e0047122. doi:
10.1128/spectrum.00471-22

76. Zuluaga, J. J. E., Jaramillo, M. G., & Betancur, L. F. R. (2010). Evaluación comparativa de dos metodologías de diagnóstico de mastitis en un hato lechero del Departamento de Antioquia., 7:49–57.
77. Zaatout, N., Ayachi, A., & Kecha, M. 2020. *Staphylococcus aureus* persistence properties associated with bovine mastitis and alternative therapeutic modalities. *J Applied Microbiol*, 129(5), 1102-1119.

ANEXOS

Anexo 1: Antibióticos distribuidos en Perú

LABORATORIO	NOMBRE COMERCIAL	COMPOSICIÓN
Agrovvet Market	Neo-Pen RTU	Neomicina sulfato (10g) Penicilina G (20g)
	Pen Duo Strep	Dihidroestreptomicina, sulfato (25000000 U.I.) Penicilina G procaínica (20000000 U.I.)
	Cefa-sec	Cefalexina, monohidrato (200 mg) Neomicina, sulfato (340 mg) Vitamina A (retinol acetato) (10000 mg)
	Cefa-milk	Cefalexina monohidrato (200 mg) Gentamicina sulfato (100mg) Dexametasona (0.750 mg) Vitamina A (10 000 U.I)
	Combiótico LA	Penicilina G benzatínica (10 000 000 U.I) Penicilina G procaínica (10 000 000 U.I) Dihidroestreptomicina sulfato (20 g)
Biomont	Enromax LA	Diclofenaco sódico (3 g) Enrofloxacina base (20 g)
	Estreptomont	Dihidroestreptomicina sulfato (25g) Penicilina G procaínica (20000000U.I)
Montana	Pencimont 20/25	Penicilina G procaínica (20 000 000 U.I) Dihidroestreptomicina sulfato (25 g)
Microsules	Estrepto penicilina	Procaína Penicilina G (200.000 UI) Sulfato de Dihidroestreptomicina (314 mg)
	Ampicilina microsules	Ampicilina Trihidratada (20 g)
TQC	Pentec	Bencilpenicilina procaína 200.000 U.I Dihidroestreptomicina sulfato 250.000 U.I
	Ceftocidin	Cefalexina (100 mg) Neomicina, sulfato (50 mg) Penicilina G procaínica (300 mg)
MSD	Pencivet	Penicilina G benzatínica 3 000000UI Penicilina G procaínica 1500 000 UI Penicilina G potásica 1500 000 UI Sulfato de estreptomicina 2500 mg

(Elaboración propia)