

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO

HEREDIA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



FRECUENCIA DE PATÓGENOS BACTERIANOS Y DE  
RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN MASTITIS BOVINA CLÍNICA Y  
SUBCLÍNICA DE GANADO BROWN SWISS AL PASTOREO EN  
MELGAR, PUNO

Tesis para optar el título profesional de  
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Juana Maria Najarro Pucuhuayla  
Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Lima, Perú.

2024

# FRECUENCIA DE PATÓGENOS BACTERIANOS Y DE RESISTENCIA ANTIBIÓTICA EN MASTITIS BOVINA CLÍNICA Y SUBCLÍNICA DE GANADO BROWN SWISS AL PASTOREO EN MELGAR, PUNO.docx

## INFORME DE ORIGINALIDAD

<b>9</b> %	<b>9</b> %	<b>3</b> %	<b>0</b> %
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

## FUENTES PRIMARIAS

<b>1</b>	<b>repositorio.upch.edu.pe</b> Fuente de Internet	<b>1</b> %
<b>2</b>	<b>hdl.handle.net</b> Fuente de Internet	<b>1</b> %
<b>3</b>	<b>ri.ues.edu.sv</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1</b> %
<b>4</b>	<b>sedici.unlp.edu.ar</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1</b> %
<b>5</b>	<b>www.scielo.org.pe</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1</b> %
<b>6</b>	<b>bibliotecadigital.udea.edu.co</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1</b> %
<b>7</b>	<b>www.researchgate.net</b> Fuente de Internet	<b>&lt;1</b> %
<b>8</b>	<b>Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia</b>	<b>&lt;1</b> %

## **DEDICATORIA**

A mis grandes amigos peludos,  
que me motivaron a elegir esta  
hermosa profesión y a mis  
padres Nova y Cirilo.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi asesor el Dr. Hugo Deza por su apoyo incondicional e infinita paciencia.

A mi mentor el Dr. Luis Jara por introducirme al mundo de la microbiología.

Agradezco al Laboratorio de Nutrición Animal e Inocuidad Alimentaria en Veterinaria

de FAVEZ por permitirme utilizar sus equipos e instalaciones y a su personal

la Sra. Rosita y al Dr. Roy por su gran apoyo.

Agradezco a la ASCRIGAR por permitirme desarrollar este estudio en Melgar, Puno.

En especial a la Ing. Yesenia Almanza y a la Municipalidad de Macari.

A PRONABEC por permitirme estudiar en ahora mi alma mater la Universidad Peruana

Cayetano Heredia, un sueño que nunca imaginé.

A mis colegas por su motivación y apoyo en el laboratorio Mariela, Roberto y Patricia.

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	1
ABSTRACT. ....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
MATERIALES Y MÉTODOS.....	8
1. Lugar de estudio.....	8
2. Diseño de estudio.....	8
3. Población objetivo y tamaño de muestra.....	9
4. Criterios de inclusión y exclusión.....	9
5. Recolección de data .....	9
a. Ficha de datos.....	9
6. Diagnóstico de mastitis.....	10
a. Diagnóstico de mastitis clínica.....	10
b. Diagnóstico de mastitis subclínica.....	10
7. Recolección de muestras.....	11
8. Procesamiento de muestras.....	12
a. Identificación de agentes patógenos.....	12
b. Antibiograma.....	14
9. Plan de análisis de datos.....	16
10. Consideraciones éticas.....	16
11. Financiamiento.....	16
RESULTADOS.....	17
DISCUSIÓN.....	28
CONCLUSIONES.....	48
RECOMENDACIONES.....	49
BIBLIOGRAFÍA.....	50
ANEXOS.....	64

## RESUMEN

La mastitis bovina es una patología de consideración en la producción láctea, por su prevalencia, recurrencia y pérdidas económicas, siendo por ende una de las enfermedades de mayor importancia en un hato lechero. En tal sentido se diseñó el presente estudio con el objetivo de identificar los agentes patógenos que generan la mastitis clínica y subclínica en hatos Brown Swiss de producción láctea ubicados en Melgar, Puno, Perú. Se realizó un estudio transversal en 171 vacas en lactación, empleándose la prueba de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica y la prueba de fondo negro para la mastitis clínica. Se tomaron muestras de leche de vacas con mastitis clínica y subclínica (2+ y 3+); para la identificación de los patógenos se realizó cultivos, microscopia, pruebas bioquímicas y para la resistencia antimicrobiana se determinó por el método de Kirby-Bauer. La frecuencia de mastitis subclínica fue de 42.1% (72 vacas con 55 cepas) y de mastitis clínica 2.92% (5 vacas con 8 cepas). La frecuencia de los patógenos identificados en mastitis subclínica fueron de *Staphylococcus aureus* 52.7%, *Staphylococcus intermedius* 23.6%, *Staphylococcus hyicus* 12.7%, *Staphylococcus sp.* 7.3% y *Streptococcus uberis* 3.6%; y en mastitis clínica fue de *S. aureus* 50%, *S. intermedius* 25% y *S. hyicus* 25%. El antibiograma determinó una resistencia antimicrobiana para neomicina de 32.3 %, penicilina g de 17.1%, oxitetraciclina de 25.3%, cefalexina de 7%, amoxicilina con ácido clavulánico de 4.4%, ceftriaxona de 10.1%, enrofloxacin de 0.6%, ceftiofur de 1.9% y ceftazidima de 1.3 %, no hubo resistencia con gentamicina, florfenicol, sulfatrimetropim y estreptomina. El análisis de datos se realizó utilizando estadística descriptiva, en Microsoft Excel 2019 y EpiTools epidemiological calculators. *S. aureus*, *S. intermedius* y *S. hyicus* fueron los principales patógenos en mastitis clínica y subclínica bovina, con alta frecuencia y resistencia antimicrobiana. La sensibilidad in vitro a neomicina, oxitetraciclina y penicilina g fue ineficiente, mientras gentamicina, florfenicol, sulfatrimetropim y estreptomina resultaron efectivos.

### **PALABRAS CLAVE:**

*Mastitis, resistencia antimicrobiana, identificación bacteriana, Staphylococcus, vacas.*

## ABSTRACT

Bovine mastitis is a major pathology in dairy production, due to its prevalence, recurrence and economic losses, and is therefore one of the most important diseases in a dairy herd. In this sense, the present study was designed with the objective of identifying the pathogens that generate clinical and subclinical mastitis in Brown Swiss dairy herds located in Melgar, Puno, Peru. A cross-sectional study was conducted in 171 lactating cows, using the CMT test for the diagnosis of subclinical mastitis and the black background test for clinical mastitis. Milk samples were taken from cows with clinical and subclinical mastitis (2+ and 3+); For the identification of pathogens, cultures, microscopy, biochemical tests were performed, and for antimicrobial resistance, it was determined by the Kirby-Bauer method. The frequency of subclinical mastitis was 42.1% (72 cows with 55 strains) and clinical mastitis was 2.92% (5 cows with 8 strains). The frequency of pathogens identified in subclinical mastitis was *Staphylococcus aureus* 52.7%, *Staphylococcus intermedius* 23.6%, *Staphylococcus hyicus* 12.7%, *Staphylococcus sp.* 7.3% and *Streptococcus uberis* 3.6%; and in clinical mastitis it was *S. aureus* 50%, *S. intermedius* 25% and *S. hyicus* 25%. The antimicrobial susceptibility test determined an antimicrobial resistance for neomycin of 32.3%, penicillin g of 17.1%, oxytetracycline of 25.3%, cephalexin of 7%, amoxicillin with clavulanic acid of 4.4%, ceftriaxone of 10.1%, enrofloxacin of 0.6%, ceftiofur of 1.9% and ceftazidime of 1.3%, there was no resistance with gentamicin, florfenicol, sulfatrimetropim and streptomycin. Data analysis was performed using descriptive statistics, Microsoft Excel 2019 and EpiTools epidemiological calculators. *S. aureus*, *S. intermedius* and *S. hyicus* were the main pathogens in clinical and subclinical bovine mastitis, with high frequency and antimicrobial resistance. In vitro sensitivity to neomycin, oxytetracycline and penicillin g was inefficient, while gentamicin, florfenicol, sulfatrimetropim and streptomycin were effective.

### KEYWORDS:

*Mastitis, antimicrobial resistance, bacterial identification, Staphylococcus, cows.*

## INTRODUCCIÓN

La mastitis en ganado bovino es una de las patologías de mayor consideración en la producción láctea por su prevalencia, recurrencia y pérdidas económicas que trae consigo, a causa de la disminución de producción láctea, el incremento de farmacoterapia, descarte de vacas temprano y sanciones por la elevada cuenta de células somáticas (Wellenberg *et al.*, 2002).

Se trata de una reacción inflamatoria y/o infecciosa de las glándulas mamarias como respuesta a un traumatismo o presencia de noxas infecciosas que lograron ingresar a la ubre (Calderón y Rodríguez, 2008). Es de origen multifactorial y la susceptibilidad de los animales puede depender entre otros factores de la cantidad de partos por vaca (Harmon, 1994), etapa de lactación (De Haas *et al.*, 2002), distribución y dimensión de los recintos, higiene durante el ordeño (Schreiner y Ruegg, 2003), la tecnología de la máquina de ordeño (Ortiz y Vera, 2006; Velasquez y Vega, 2012) y factores ambientales como la estación del año durante la producción (Skrypeck *et al.*, 2004; Green *et al.*, 2006).

La inflamación del cuarto o glándula mamaria a causa de esta enfermedad inicia cuando agentes patógenos externos, como las bacterias principalmente, superan la primera línea de defensa, el esfínter mamario, ingresan por el pezón y se multiplican dentro de una glándula mamaria. Dentro de la ubre, la segunda línea de defensa son los leucocitos quienes combaten la infección incrementando su concentración en la leche, así invaden los conductos alveolares llegando a dañar las células encargadas de secretar la leche, que mezclados con minerales y factores de coagulación circulan en la zona infectada. Esta leche “cortada” o coagulada cierra los conductos generando la apoptosis de las células



secretoras si no es tratada a tiempo, siendo el alveolo reemplazado por tejido conectivo y cicatricial reduciendo así su tamaño como última línea de defensa para controlar la infección; en este sentido, la mayor consecuencia de la mastitis es reducir de manera permanente la producción láctea del individuo (Sordillo, 2018).

Existen dos tipos de mastitis; la clínica, se caracteriza por presentar signos clínicos como tumefacción, rubor y calor en la ubre, apariencia anormal de la leche (variación del color y textura), anorexia, letargo y postración; y, la mastitis subclínica, quien se distingue por la ausencia tanto de signos clínicos como también de alteraciones físicas en la leche, pero presenta una elevada cuenta de células somáticas (Bedolla *et al.*, 2007), por lo que es necesario el uso de pruebas para su diagnóstico.

El diagnóstico de la mastitis clínica puede ser evaluada con la prueba de fondo negro durante la rutina de ordeño al realizar el despunte de la leche sobre una superficie de fondo negro que puede ser una cubeta, taza o una Strip cup, que permita visualizar los “coágulos, hilos y/o escamas” del material fibroso o acuoso de la secreción, además de contrastar el color de la leche si se presentara amarillento o rojizo (Bedolla *et al.*, 2007).

Una prueba frecuentemente empleada en el diagnóstico de la mastitis subclínica es el Test de Mastitis de California (CMT); este consiste en la valoración de células somáticas de forma indirecta, interpretadas de acuerdo al grado de gelificación de la leche, característica física empleada para asignar una valoración cualitativa en número de cruces (+), puesto que cuanto mayor sea la gelificación más alta será la concentración de células somáticas en la leche y por ende mayor el número de cruces asignado (Saran y Chaffer, 2000; Gómez- Quispe *et al.*, 2015).

El reactivo del CMT, detergente lauril sulfato de sodio o sulfonato de aquilbenceno, al contactar con los leucocitos rompen su pared liberando el ADN, en consecuencia, se forma un cúmulo de restos celulares que muestran un aspecto viscoso, estableciendo la relación entre cantidad estimada de células somáticas y gelificación (Saran y Chaffer, 2000; Gómez- Quispe *et al.*, 2015). Es una prueba de fácil interpretación que puede ser realizada incluso por los propios ganaderos y como medida de control sanitario en el hato.

En la región andina peruana, una de las principales actividades económicas es la crianza de ganado bovino para la producción de leche; en estos hatos es también la mastitis un problema de salud preocupante ya que provoca una pérdida de cantidad y calidad en la leche producida. Actualmente, las publicaciones al respecto son escasas, dificultando la elaboración de programas y proyectos de control para contrarrestar la mastitis, (Santivañez-Ballón *et al.*, 2013), tal como se observa en centros de producción Peruano Andinos (Moriano, 2020), donde los estudios publicados sobre la identificación de patógenos causantes de la mastitis, particularmente en la cuenca lechera de Puno son limitados.

Puno es una de las regiones más representativas de producción lechera del sur peruano, la mayor cantidad de medianos y pequeños productores están distribuidos en esta región, según el último Censo Nacional Agropecuario (CENAGRO), (MINAGRI, 2017). La provincia de Melgar, denominada la capital ganadera del Perú (Ley °30031, 2012), ubicada en Puno, se caracteriza por la crianza de ganado Brown Swiss que es una raza con mejor adaptación a la altura y baja presión atmosférica. Asimismo, esta provincia pionera en la crianza de ganado Brown Swiss cuenta con la Asociación de Criadores de Ganado Registrado (ASCRIGAR), una de la más sólidas y mejor organizadas

asociaciones de ganaderos del Perú, esta organización sin fines de lucro agrupa a un importante número de ganaderos criadores de ganado Brown Swiss registrado, y por su nivel de organización fue más viable la invitación y participación en el estudio de un gran número de ganaderos, hecho que favoreció la obtención de los resultados de esta investigación. A su vez, los resultados obtenidos en el presente trabajo y las visitas que se realizaron a cada hato aportaron indirectamente en la mejora del manejo ganadero.

A pesar de que la región Puno, es una de las regiones con la mayor población de ganado Brown Swiss, son escasas las publicaciones tanto de manejo productivo y reproductivo asociadas a esta raza y región (Mamani, 2014; Paqui, 2011; Pinazo, 1986). La data disponible en la actualidad es antigua y señala una prevalencia de mastitis subclínica de 61.7% en Puno, en Juliaca 65% (Escobedo, 1998) y en Melgar de 33.64% (Condori, 2017), y en sus distritos como Cupi y Umachiri se determinó una prevalencia de 40.4% (Mamani, 2014) y 33.64% (Condori, 2017) respectivamente.

Respecto a los patógenos más frecuentes en mastitis bovina, *S. aureus*, es el de mayor importancia debido a su grado de patogenicidad. Sin embargo, investigaciones en diferentes países reportan a estafilococos diferentes a *S. aureus*, como los Estafilococos Coagulasa Positivo (ECP) con 4.04% y Estafilococos Coagulasa Negativo (ECN) con 11.75% de prevalencia (Calderón y Rodríguez, 2008). Estos estudios muestran una oportunidad en la investigación de estos patógenos “emergentes” diferentes a *S. aureus*, tanto de ECP como de ECN (Pyörälä y Taponen, 2009; El-Jakee *et al.*, 2013; Björk *et al.*, 2014; Hosseinzadeh; Dastmalchi, 2014; Schukken *et al.*, 2009), dado que se está ampliando la investigación al respecto, es posible observar incongruencias en los

resultados reportados entre diferentes autores; pero todos ellos remarcan la importancia que tienen los ECP y ECN como agentes etiológicos.

En cuanto a la terapéutica, hoy en día el mal uso y abuso de los tratamientos antibióticos está produciendo la resistencia antimicrobiana (García, 2012), esto genera que la enfermedad agrave y pueda llegar a causar la muerte de los pacientes (García, 2012), en cuanto a la ganadería al no respetarse el periodo de retiro farmacológico, se promueve la resistencia antimicrobiana en los consumidores, los seres humanos (FAO, 2022), es por eso que identificar los patógenos bacterianos más frecuentes y de resistencia antibiótica aislados en vacas con mastitis contribuye a atenuar esta problemática, así como contribuye con la información generada e invita a realizar estudios similares periódicamente para que se pueda evidenciar cómo varía la resistencia antimicrobiana conforme los ganaderos instauren un manejo adecuado en la producción lechera.

Por todo lo anteriormente señalado, se diseñó el presente estudio con el objetivo de identificar los principales patógenos bacterianos causantes de la mastitis clínica y subclínica en vacas Brown Swiss, y dentro de ello determinar el perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los patógenos aislados, y la frecuencia de mastitis clínica y subclínica en vacunos Brown Swiss de establos lecheros manejados al pastoreo en Melgar – Puno. A su vez se pudo recolectar información sobre las actividades y características de la rutina de ordeño, las cuales fueron tomadas durante la visita a los establos.

## **MATERIALES Y MÉTODO**

### **1. Lugar de estudio. –**

En el presente estudio la toma de muestra se ejecutó en la provincia de Melgar del departamento de Puno, en los distritos de Ayaviri, Macari y Cupi entre el 26 y 28 de septiembre del 2022. El análisis de muestras se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal e Inocuidad Alimentaria en Veterinaria de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FAVEZ) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, ubicado en el distrito de San Martín de Porres, en el departamento de Lima. Las muestras fueron transportadas de Puno a Lima vía terrestre, antes de las 72 horas de tomadas las muestras. El estudio se realizó con la participación de criadores de vacunos Brown Swiss adscritos a la Asociación de Criadores de Ganado Registrado (ASCRIGAR) ubicada en Melgar, Puno.

### **2. Diseño de estudio. –**

El estudio fue observacional transversal analítico, ya que las pruebas diagnósticas se realizaron a todas las vacas de los hatos que fueron elegidos al azar; el investigador no ejerció influencia sobre las variables puesto que la infección por mastitis se debió dar por causas naturales y/o manejo del ganadero. Las pruebas de diagnóstico y la toma de muestras solo se realizaron en una ocasión y se evaluaron tres variables de interés, la identificación de agentes patógenos, el perfil de susceptibilidad antibiótica y la frecuencia de mastitis clínica y subclínica en establos lecheros.

### **3. Población objetivo y tamaño de muestra. –**

En el estudio se incluyeron 171 vacas en lactación de raza Brown Swiss pertenecientes a 14 establos, el número de animales por establo osciló entre 5 a 22 vacas, con una media de 12 animales por establo. Se analizó al total de animales pertenecientes a cada uno de los 14 establos, el número de muestras por cada establo se puede revisar en el Anexo 4.

### **4. Criterios de inclusión y exclusión. -**

En el estudio se incluyeron vacas de la raza Brown Swiss en etapa de lactación con una alimentación al pastoreo, ubicadas en establos de la provincia de Melgar, cuyos ganaderos hayan firmado el consentimiento informado. El factor de exclusión fue animales que tuvieron tratamiento antimicrobiano en los últimos 30 días, o lactoinducción, dado que no hubo animales con esas características, no se excluyó ninguna vaca.

### **5. Recolección de data. –**

Se recolectó información de cada establo sobre las características de la rutina de ordeño, máquina de ordeño, sala de ordeño, y se registró el resultado de CMT y fondo negro de cada animal.

#### **a. Ficha de datos. –**

La ficha de datos se llenó durante la rutina de ordeño mientras se realizaba la prueba de fondo negro y CMT, el detalle de la ficha y datos tomados figuran en el Anexo 9.

## **6. Diagnóstico de mastitis. –**

El diagnóstico de la mastitis clínica y subclínica, la toma de muestras y la recolección de datos del establo se realizaron simultáneamente a la rutina de ordeño. Se analizaron aproximadamente 6 hatos por día (tres por la mañana y tres por la tarde) dependientes de su cercanía geográfica dando un total de 14 establos.

### **a. Diagnóstico de mastitis clínica. -**

Se realizó a través de la prueba de fondo negro a todas las vacas incluidas en el estudio al momento de realizar el despunte en la rutina de ordeño. Brevemente, se empleó una taza de fondo negro sobre la cual se dejó caer los dos primeros chorros de leche (aproximadamente 2.5 ml de leche) para evaluar las características físicas de leche como el color, la viscosidad, presencia de grumos, coágulos y secreciones fibrosas (Bedolla *et al.*, 2007). Al realizar esta prueba no se modificó el método de higiene ni la rutina de ordeño del establo.

### **b. Diagnóstico de mastitis subclínica. -**

Se realizó a través de la prueba de CMT a todas las vacas en etapa de producción que resultaron negativas a la prueba de fondo negro, tampoco se realizaron modificaciones a la rutina de ordeño o los métodos de higiene empleados hasta ese momento. La prueba de CMT se realizó después de la higiene de la ubre, despunte y evaluación de fondo negro (Roesch *et al.*, 2007). La prueba de CMT se realizó siguiendo las indicaciones del fabricante del reactivo CMT que se utilizó (Mastitest® CMT, Agrovvetmarket, Perú). Los

resultados de la prueba se clasificaron de acuerdo con lo reportado por Fernández *et al.* (2012) y Roesch *et al.*, (2007) en cero (negativo), trazas (viscosidad reversible), una cruz (ligeramente espeso), dos cruces (gel) y tres cruces (grumo muy viscoso), (Anexo 1).

## **7. Recolección de muestras. -**

Se tomaron muestras de leche de vacas con mastitis clínica y de vacas con mastitis subclínica que presentaron resultados iguales o mayores a dos cruces (2+) en el CMT, (Gómez-Quispe, 2015).

La toma de muestra se inició con la limpieza de los pezones y secado con papel toalla, a continuación, la punta del pezón fue desinfectada firmemente con una gasa embebida en alcohol al 70%, una por cada pezón, y se utilizaron guantes descartables por cada vaca.

En la toma de muestra, por cada vaca con mastitis se colectó la leche de todos sus cuartos mamarios, es decir que no se consideró el número de cuartos infectados por vaca, sino solo el diagnóstico final de mastitis, por ello, se tomaron aproximadamente 3.75ml de leche de cada cuarto, y estas se mezclaron en un solo tubo cónico estéril de 15 ml. Posteriormente, cada tubo cónico fue hisopado, para trasladar la muestra a un tubo de transporte con medio Stuart, estos tubos se reservaron en un cooler con gel pack que permitió mantener la temperatura a  $7^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$  para ser enviados al laboratorio antes de las 72 horas post colecta, por esta razón, los establos fueron agrupados según su cercanía geográfica.



El procedimiento de la toma de muestra, transporte y tipo de medio de transporte se validaron en un piloto previo al inicio del presente estudio por la tesista.

### **Procesamiento de muestra. -**

#### **a. Identificación de agentes patógenos. –**

En primera instancia para el aislamiento de cepas, la primera siembra de los hisopos con medio Stuart se realizó en placas divididas con agar sangre (Himedia, India) y agar Mac Conkey (Himedia, India), mediante la técnica de “agotamiento”, estas placas se incubaron por 24 - 48 horas a 37° C de temperatura en atmósfera aerobia y se repitió el proceso para cada muestra.

Transcurrido el periodo de la incubación, se realizó la evaluación macroscópica de las colonias para su diferenciación en color, morfología y hemólisis.

A continuación, se procedió con la evaluación microscópica, para ello se realizó la tinción Gram a fin de definir la morfología celular, distribución (en racimos, cadenas u otros) y determinar la organización del peptidoglicano de la pared celular, así se observaron teñidas de color morado las positivas y de color rosado las negativas. Simultáneamente de acuerdo con su morfología se distinguió entre cocos, bacilos, etc.

En la siguiente fase se realizó la prueba de catalasa para diferenciar los estafilococos y micrococos catalasa positivos de los estreptococos y enterococos que son catalasa

negativos, ésta prueba detecta la presencia de enzimas del citocromo – c – oxidasa, donde los positivos presentan burbujas y los negativos su ausencia.

A las cepas sospechosas de estafilococos o micrococos se les realizó la prueba de sensibilidad a la bacitracina (disco 0.04 unidades) donde los estafilococos son resistentes y los micrococos sensibles con un halo igual o mayor a 10mm, de este resultado a los estafilococos hallados se les realizó una resiembra en agar manitol, para diferenciar a los *S. aureus* de otros estafilococos, ya que este tiene la peculiaridad de fermentar el manitol salado formando colonias amarillas y presentar un halo dorado a las 24 horas de incubación. También se les realizó la prueba de acetoina o Voges – Proskauer para diferenciar las especies de *S. aureus* acetoina positiva de otros estafilococos, análogamente al grupo de cepas negativas a la prueba de manitol y acetoina, se les realizó la prueba de sensibilidad a la polimixina b, donde los *S. intermedius* son sensibles y los *S. hyicus* resistentes (también se usó esta prueba para corroborar los sospechosos a *S. aureus* ya que estos resultan ser resistentes al antibiótico) de acuerdo a las características fenotípicas de los estafilococos definidas por Procop (2017).

Finalmente se realizó la prueba de coagulasa a todos los estafilococos para determinar la patogenicidad de las cepas.

Simultáneamente al grupo de cocos gran positivos sospechosos a estreptococos y enterococos, se les realizó la prueba de bilis esculina para diferenciar los estreptococos que son bilis esculina negativos (a excepción del grupo D) de los enterococos y estreptococos del grupo D que son bilis esculina positivos, para resolver la excepción del Grupo D de los estreptococos, se realizó la prueba de tolerancia a la sal donde se usó

caldo BHI con ClNa al 6.5%, donde los enterococos resultan positivos y los estreptococos del grupo D son negativos (*S. bovis* y *S. equinus*).

Por otro lado, a los estreptococos que resultaron bilis esculina negativos se les realizó la prueba de manitol donde resultan positivos (si fermentan el manitol salado y forman colonias) los *S. uberis* y *S. parauberis* a diferencia de los *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. equi* y *S. pyogenes* que resultan negativos. Finalmente, para los patógenos con identidad sospechosa no confirmada se realizó la prueba de API 20 – STREP.

El algoritmo de las pruebas de identificación mencionadas se encuentra en el Anexo 2, las cuales fueron revisadas del libro de “Diagnostico Microbiológico” de Procop (2017). Las cepas controles que se utilizaron para las pruebas fueron ATCC 29213 *S. aureus* y ATCC 25922 *E. coli*, que fueron control positivo y negativo según la prueba a contrastar.

#### **b. Antibiograma. -**

Previamente al antibiograma, se realizó una resiembra de todas las cepas identificadas en agar TSA para obtener cepas en fase exponencial de 24 horas, para evitar alteraciones en los resultados del antibiograma.

Los antibiogramas se realizaron por el método de Kirby Bauer (Procop, 2017), en placas con 20ml de agar Müller Hinton (Himedia, India) que hayan pasado la prueba de calidad. Por otro lado, de las placas resembradas en agar TSA, se extrajo una colonia y se homogeneizó en 2 ml de agua destilada en un tubo de ensayo, con ayuda de un espectrofotómetro se llevó a una turbidez de 0.5 en la escala de McFarland, con longitud de onda de 600 nm y densidad óptica de 0.08 a 0.12 UA (Unidad de Absorbancia) y se

realizó la conversión con la tabla de Mcfarland a  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml, a continuación, cerca al mechero, se embebió un hisopo estéril en la solución del tubo de ensayo para proceder a realizar la siembra en césped sobre el agar Müller-Hinton y procedió a colocar los discos antibióticos de ceftriaxona (30 ug), neomicina (30ug), ceftiofur (30 ug), ceftazidima (30 ug), amoxicilina (20 ug) con ácido clavulánico (10 ug), gentamicina (30 ug), penicilina g (10 U), enrofloxacin (5 ug), oxitetraciclina (30 ug), estreptomycin (10 ug), sulfatrimetropin (25 ug), cefalexina (30ug) y florfenicol (30ug), se dispuso de dos placas Petri para evitar la superposición de los halos al momento de medir e interpretar la sensibilidad al antibiótico. Finalmente, se dejaron en la incubadora por 18 horas a 36°C en atmósfera aerobia y este procedimiento se repitió para cada una de las cepas.

Transcurrido ese lapso se verificó que la bacteria haya crecido homogéneamente en toda la placa sin contaminación, y se procedió a medir los halos de inhibición de crecimiento en unidades de milímetros “mm”. Por otro lado, la validación de calidad de los discos antibióticos se realizó con la cepa control ATCC 25922 *Escherichia coli* de acuerdo a la “Zona de diámetro para el control de calidad” del VET01S (CLSI, 2023).

Posteriormente, para la interpretación de la resistencia antibiótica de las cepas de campo se utilizaron los puntos de corte en la zona de diámetro del halo, establecido en el VET01S, VET04, VET06, M100 y el EUCAST (CLSI, 2020; EUCAST; 2023), se puede visualizar un resumen en el Anexo 3. Finalmente, de esta manera se determinó si la bacteria es resistente, intermedia o susceptible a cada antibiótico.

## **8. Plan de análisis de datos. -**

El análisis de datos se realizó utilizando estadística descriptiva, en Microsoft Excel 2019 donde la variable independiente fue la identificación de agentes patógenos y las variables dependientes fueron el perfil de susceptibilidad antibiótica y la frecuencia de mastitis clínica y subclínica en establos lecheros. El cálculo de la frecuencia de mastitis clínica y subclínica se realizó aplicando la siguiente fórmula (García- Sánchez, 2018):

Frecuencia = (Número de animales positivos / Número de animales muestreados) x 100

## **9. Consideraciones éticas. –**

El proyecto fue sometido al Comité Institucional de Ética para el uso de Animales de la UPCH de quién se obtuvo su aprobación y constancia 034 -07-22, con número de inscripción 207933 del SIDISI. La presente investigación no presentó conflicto de intereses entre sus participantes y solo se realizó en establos cuyos ganaderos aceptaron participar firmando el consentimiento informado. Los ganaderos recibieron el reporte de resultados inmediatos de las pruebas de fondo negro y CMT; y al finalizar las pruebas de laboratorio también recibieron un reporte de antibiograma de las muestras de su hato.

## **10. Financiamiento. –**

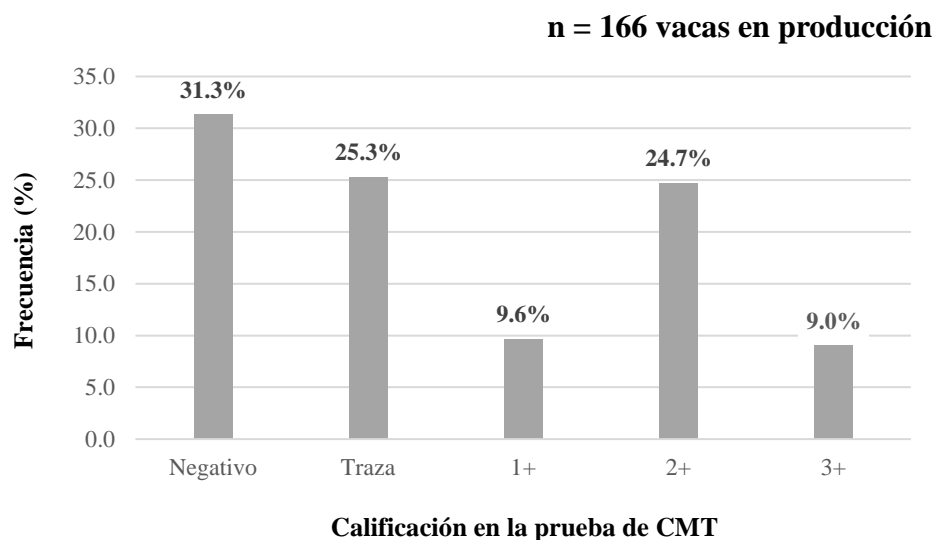
Este estudio fue financiado parcialmente por el proyecto “Información genómica de ganado vacuno bajo diferentes condiciones climáticas del Perú”.

## RESULTADOS

### 1. Resultados de la prueba de CMT en una población de 166 vacas en producción.

El estudio incluyó 171 animales en total, de los cuales 5 resultaron positivos a la prueba de fondo negro para mastitis clínica y los 166 restantes pasaron a la prueba de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica si lo tuvieran. En la figura 1, se puede observar los porcentajes obtenidos para cada una de las calificaciones resultantes de la prueba de CMT en las 166 vacas que en primera instancia resultaron negativas a la prueba de fondo negro. Se encontró que el 43.4% (72/166) tuvieron una calificación en la prueba de CMT igual o mayor a una cruz y la mayor frecuencia se observó en la calificación de dos cruces con 24.7 % (41/166). (Figura 1)

**FIGURA 1.** *Frecuencia (%) de las calificaciones de la prueba de CMT de vacas en producción láctea en Melgar, Puno.*



## **2. Principales patógenos bacterianos causantes de la mastitis subclínica en vacas Brown Swiss en establos de Melgar, Puno**

En el estudio fueron incluidas 14 ganaderías de crianza de vacunos Brown Swiss para producción lechera, en las que se evaluó el total de las vacas en lactación existentes en cada una de las mismas, haciendo un total de 171 vacas en lactación. En 12 de las 14 ganaderías que fueron visitadas se encontraron en total 72 casos de mastitis subclínica (16 vacas con 1 cruz, 41 vacas con 2 cruces y 15 vacas con 3 cruces), valorada a través de la prueba de CMT, definiendo una frecuencia de mastitis subclínica de 42.1% (72/171) en Melgar, Puno. Se tomaron muestras de todas las vacas con una calificación igual o mayor a 2 cruces en la prueba de CMT (56 vacas); sin embargo, al momento de realizar el cultivo no se observó crecimiento bacteriano en 12 muestras y sí hubo crecimiento en los 44 restantes, las cuales luego de realizar el cultivo microbiológico dieron origen a 55 cepas donde *S. aureus*, *S. intermedius* y *S. hyicus* fueron los más frecuentes. *S. aureus* se presentó en 11 de los 12 establos que presentaron mastitis subclínica, mientras que en 3 establos fue el único agente causal. A su vez *S. intermedius* se aisló en 8 establos y *S. hyicus* en 6 establos. (Tabla 1)

**TABLA 1. Frecuencia (%) de patógenos bacterianos de mastitis subclínica en vacas Brown Swiss según los establos muestreados en Melgar, Puno. (n° = 55 cepas)**

ESTABLOS MUESTREADOS*	PATÓGENOS BACTERIANOS CAUSANTES DE MASTITIS SUBCLÍNICA					TOTAL DE CEPAS
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Staphylococcus hyicus</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>	<i>Streptococcus uberis</i>	
Establo 2	5	-	-	-	-	5
Establo 3	3	4	1	1	-	9
Establo 4	5	1	1	-	-	7
Establo 5	2	-	-	-	-	2
Establo 6	3	2	-	-	-	5
Establo 7	1	2	-	-	-	3
Establo 9	1	-	-	-	-	1
Establo 10	2	1	1	-	-	4
Establo 11	-	1	-	-	-	1
Establo 12	1	1	1	2	-	5
Establo 13	2	-	2	-	-	4
Establo 14	4	1	1	1	2	9
<b>Total (cepas)</b>	<b>29</b>	<b>13</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>55</b>
%	52.7%	23.6%	12.7%	7.3%	3.6%	100%

\*Establos 1 y 8 no presentaron casos de mastitis subclínica.



### 3. Principales patógenos bacterianos causantes de mastitis clínica en vacas Brown Swiss en establos de Melgar, Puno

Los casos de mastitis clínica se diagnosticaron a través de la prueba de fondo negro, se llegaron a encontrar en total 5 casos de mastitis clínica en 4 de los 14 establos, definiendo una frecuencia de mastitis clínica de 2.9% (5/171), la leche de las 5 vacas fue muestreada y luego de realizar el cultivo microbiológico se pudieron apreciar 8 cepas, donde *S. aureus* fue el más frecuente. Por otro lado, *S. aureus* se aisló en 3 de los 4 establos con mastitis clínica, mientras que solo en un establo se reportó la presencia de *S. aureus*, *S. intermedius* y *S. hyicus* en simultáneo. (Tabla 2)

**TABLA 2. Frecuencia (%) de patógenos bacterianos de mastitis clínica en vacas Brown Swiss según los establos muestreados en Melgar, Puno. (n = 8 cepas)**

ESTABLOS MUESTREADOS*	PATÓGENOS BACTERIANOS CAUSANTES DE MASTITIS CLÍNICA			TOTAL DE CEPAS
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus intermedius</i>	<i>Staphylococcus hyicus</i>	
Establo 3	-	1	-	<b>1</b>
Establo 4	1	1	1	<b>3</b>
Establo 12	2	-	1	<b>3</b>
Establo 14	1	-	-	<b>1</b>
<b>Total (Cepas)</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>8</b>
<b>%</b>	50	25	25	100%

\*Establos 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 y 13 no presentaron casos de mastitis clínica.

**4. Estafilococos Coagulasa Positiva (ECP) y Estafilococos Coagulasa Negativa (ECN) en aislados de *S. aureus*, *S. intermedius* y *S. hyicus***

Los aislados de *S. aureus*, *S. intermedius* y *S. hyicus*, fueron 57 cepas en total (49 de mastitis subclínica y 8 de mastitis clínica), estas se clasificaron según su resultado a la prueba de coagulasa. Donde resaltó *S. intermedius* con la mayor frecuencia de ECN.

**TABLA 3. Estafilococos Coagulasa Positiva (%) y Estafilococos Coagulasa Negativa (%) en aislados de mastitis bovina (n = 57)**

CEPAS	PRUEBA DE COAGULASA			
	ECP <sup>a</sup>		ECN <sup>b</sup>	
	N°	%	N°	%
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=33)	29	88	4	12
<i>Staphylococcus intermedius</i> (n=15)	5	33	10	67
<i>Staphylococcus hyicus</i> (n =9)	6	67	3	33
<b>TOTAL</b>	40	70	17	30

<sup>a</sup> Estafilococos Coagulasa Positiva

<sup>b</sup> Estafilococos Coagulasa Negativa

## **5. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de los aislados**

En los antibiogramas realizados a las 63 cepas en total de mastitis clínica (8 cepas) y subclínica (55 cepas), se observó que tres de los once antibióticos evaluados fueron los que tuvieron las mayores tasas de resistencia, estos fueron, la neomicina con 32.3%, la oxitetraciclina con 25.3% y la penicilina g con el 17.1% de resistencia, y no se observó resistencia para la gentamicina, florfenicol, sulfatrimetropin y estreptomina, Tabla 4. Un mayor detalle de los test de resistencia antimicrobiana figura en la tabla 5 para mastitis subclínica y en la tabla 6 para mastitis clínica.

**TABLA 4. Resistencia antibiótica (%) de *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *Staphylococcus sp.* y *S. uberis* de mastitis clínica y subclínica bovina (N = 63 cepas)**

ANTIBIOTICOS	CEPAS										RESISTENCIA GENERAL	
	<i>S. aureus</i>		<i>S. intermedius</i>		<i>S. hyicus</i>		<i>Staphylococcus sp.</i>		<i>S. uberis</i>		R	
	N = 33		N = 15		N = 9		N = 4		N = 2		R	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Neomicina	27	38	10	25.6	9	34.6	4	30.8	1	11.1	51	<b>32.3</b>
Penicilina g	12	16.9	8	20.5	4	15.4	1	7.7	2	22.2	27	<b>17.1</b>
Oxitetraciclina	16	22.5	14	35.9	5	19.2	3	23.1	2	22.2	40	<b>25.3</b>
Cefalexina	2	2.8	4	10.3	2	7.7	2	15.4	1	11.1	11	<b>7</b>
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	2	2.8	-	-	2	7.7	1	7.7	2	22.2	7	<b>4.4</b>
Ceftriaxona	9	12.7	2	5.1	3	11.5	1	7.7	1	11.1	16	<b>10.1</b>
Enrofloxacin	1	1.4	-	-	-	-	-	-	-	-	1	<b>0.6</b>
Ceftiofur	1	1.4	-	-	1	3.8	1	7.7	-	-	3	<b>1.9</b>
Gentamicina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Florfenicol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ceftazidima	1	1.4	1	2.6	-	-	-	-	-	-	2	<b>1.3</b>
Sulfatrimetropim	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Estreptomicina	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>TOTAL</b>	71	100	39	100	26	100	13	100	9	100	<b>158</b>	<b>100</b>

\*N: Total del número de cepas aisladas; \*\*n: número de cepas resistentes a un antibiótico; TOTAL: Número de resistencias encontradas de todos los antibióticos.

**TABLA 5. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de cepas aisladas de mastitis subclínica (N = 55 cepas).**

ANTIBIÓTICOS	CEPAS																				RESISTENCIA RESPECTO AL ANTIBIÓTICO																		
	<i>S. aureus</i> (*N=29)						<i>S. intermedius</i> (N=13)						<i>S. hyicus</i> (N=7)						<i>Staphylococcus sp.</i> (N=4)						<i>S. uberis</i> (N=2)						R			I			S		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S						
**n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%						
Neomicina	24	41	1	5	4	1	8	24	-	-	5	4	7	30	-	-	-	-	4	31	-	-	-	1	11	-	1	6	44	32	1	3	10	2					
Penicilina g	9	15	-	-	20	7	7	21	-	-	6	5	4	17	-	-	3	5	1	8	-	-	3	8	2	22	-	-	-	23	17	-	-	32	6				
Oxitetraciclina	12	20	9	41	8	3	12	36	-	-	1	1	4	17	2	40	1	2	3	23	-	-	1	3	2	22	-	-	-	33	24	11	32	11	2				
Cefalexina	1	2	-	-	28	9	3	9	-	-	10	8	2	9	-	-	5	8	2	15	-	-	2	5	1	11	-	-	1	6	9	7	-	-	46	8			
Amoxicilina + Ac.*	1	2	-	-	28	9	-	-	-	-	13	10	2	9	-	-	5	8	1	8	-	-	3	8	2	22	-	-	-	6	4	-	-	49	9				
Ceftriaxona	9	15	1	5	19	6	2	6	-	-	11	8	3	13	1	20	3	5	1	8	-	-	3	8	1	11	-	-	1	6	16	12	2	6	37	7			
Enrofloxacina	1	2	1	5	27	9	-	-	-	-	13	10	-	-	-	-	7	11	-	-	-	-	4	11	-	-	-	-	2	12	1	1	1	3	53	10			
Ceftiofur	1	2	2	9	26	9	-	-	2	33	11	8	1	4	-	-	6	10	1	8	-	-	3	8	-	-	-	-	2	12	3	2	4	12	48	9			
Gentamicina	-	-	2	9	27	9	-	-	1	17	12	9	-	-	-	-	7	11	-	-	-	-	4	11	-	-	-	-	2	12	-	-	3	9	52	10			
Florfenicol	-	-	2	9	27	9	-	-	1	17	12	9	-	-	-	-	7	11	-	-	-	-	4	11	-	-	-	-	2	12	-	-	3	9	52	10			
Ceftazidima	1	2	3	14	25	8	1	3	1	17	11	8	-	-	2	40	5	8	-	-	-	-	4	11	-	-	-	-	2	12	2	1	6	18	47	9			
Sulfatrimetropim	-	-	-	-	29	10	-	-	1	17	12	9	-	-	-	-	7	11	-	-	1	100	3	8	-	-	-	-	2	12	-	-	2	6	53	10			
Estreptomina	-	-	1	5	28	9	-	-	-	-	13	10	-	-	-	-	7	11	-	-	-	-	4	11	-	-	-	-	2	12	-	-	1	3	54	10			
<b>TOTAL</b>	59	100	22	100	296	100	33	100	6	100	130	100	23	100	5	100	63	100	13	100	1	100	38	100	9	100	-	-	17	100	137	100	34	100	544	100			

\*N: Total del número de cepas aisladas; \*\*n: número de cepas resistentes a un antibiótico; TOTAL: Número de resistencias encontradas de todos los antibióticos.

TABLA 6. Perfil de susceptibilidad antimicrobiana de cepas aisladas de mastitis clínica (N = 8 cepas).

ANTIBIOTICOS	CEPAS															RESISTENCIA RESPECTO AL ANTIBIOTICO								
	<i>S. aureus</i> (N=4)					<i>S. intermedius</i> (N=2)					<i>S. hyicus</i> (N=2)					R		I		S				
	R		I		S		R		I		S		R		I		S							
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%						
Neomicina	3	25	-	-	1	3	2	33	-	-	-	-	2	67	-	-	-	-	7	33	-	-	1	1
Penicilina g	3	25	-	-	1	3	1	17	-	-	1	5	-	-	-	-	2	10	4	19	-	-	4	5
Oxitetraciclina	4	33	-	-	-	-	2	33	-	-	-	-	1	33	1	50	-	-	7	33	1	25	-	-
Cefalexina	1	8	-	-	3	8	1	17	-	-	1	5	-	-	-	-	2	10	2	10	-	-	6	8
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	1	8	-	-	3	8	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	2	10	1	5	-	-	7	9
Ceftriaxona	-	-	-	-	4	11	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	8	10
Enrofloxacin	-	-	-	-	4	11	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	8	10
Ceftiofur	-	-	-	-	4	11	-	-	-	-	2	10	-	-	1	50	1	5	-	-	1	25	7	9
Gentamicina	-	-	1	50	3	8	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	2	10	-	-	1	25	7	9
Florfenicol	-	-	-	-	4	11	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	8	10
Ceftazidima	-	-	1	50	3	8	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	2	10	-	-	1	25	7	9
Sulfatrimetropim	-	-	-	-	4	11	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	8	10
Estreptomina	-	-	-	-	4	11	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	2	10	-	-	-	-	8	10
<b>TOTAL</b>	12	100	2	100	38	100	6	100	-	-	20	100	3	100	2	100	21	100	21	100	4	100	79	100

\*N: Total del número de cepas aisladas; \*\*n: número de cepas resistentes a un antibiótico; TOTAL: Número de resistencias encontradas de todos los antibióticos.

## **6. Actividades durante la rutina de ordeño en los 14 establos del estudio.**

De manera adicional se observaron algunas características del manejo y las instalaciones durante la rutina ordeño, donde las actividades más frecuentes fueron el uso de una toalla comunal, es decir una toalla para limpiar los pezones de todas las vacas en producción, en el 100% de los establos, y el no uso del presellador ni el sellador en el 92% y 78.6% de los establos respectivamente, entre otras prácticas que se muestran a continuación. (Tabla 7)

**TABLA 7. Frecuencia de actividades (%) en la rutina de ordeño que se observaron en 14 establos lecheros en Melgar, Puno.**

<b>ACTIVIDADES EN LA RUTINA DE ORDEÑO</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
<b>Tipo de sala de ordeño</b>		
Provisional	6	42.9
Fija	4	28.6
No tiene	4	28.6
<b>Ingreso de animales a sala de ordeño</b>		
Sin orden (indistinto por N° de parto o salud)	14	100.0
En orden	-	-
<b>Uso de presellador</b>		
No	13	92.9
Si	1	7.1
<b>Uso de toalla comunal</b>		
Si	14	100
No	-	-
<b>Enjuagan la toalla</b>		
Si	8	57.1
No	6	42.9
<b>Secan el pezón</b>		
No	8	57.1
Si	6	42.9
<b>Realizan despunte</b>		
Si	7	50.0
No	7	50.0
<b>Uso de sellador</b>		
No	11	78.6
Si	3	21.4



## DISCUSIÓN

En el presente estudio se evidenció una frecuencia de mastitis subclínica de 42.1%, acorde a otros estudios como el de Mamani (2014) realizado en Puno con una prevalencia de 40.4% en la provincia de Cupi y 47% en la provincia de Melgar (Sánchez, 2021), estudios que señalan su alta prevalencia probablemente por efecto de una alta presencia de patógenos contagiosos como lo es *S. aureus*, asociado a una mala praxis en la rutina de ordeño.

En cuanto a mastitis clínica se encontró una frecuencia de 2.9 %, la cual fue mucho menor a lo reportado por otros autores, tal como Armenteros *et al.*, (2017), quién encontró un 12.1%, esto puede deberse a que en el presente estudio no se encontraron otros patógenos ambientales aparte de *S. uberis*, quien es una bacteria que induce principalmente la mastitis clínica bovina (Bedolla *et al.*, 2007).

Si bien la mastitis bovina puede ser causada tanto por patógenos ambientales como *E. coli*, *Klepsiella spp.*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Enterococcus spp.* también puede ser causada por patógenos contagiosos como *S. aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium spp.* y *Micoplasma spp.* (Bedolla *et al.*, 2007), en este estudio no se encontraron otras especies de patógenos ambientales probablemente debido al tipo de ganadería extensiva que se maneja en Melgar, Puno.

De acuerdo con el contexto del estudio, es importante señalar que se estudiaron hatos ubicados a 4 000 m.s.n.m. criados al pastoreo, es decir en campo abierto, en este tipo de crianza extensiva no existe el hacinamiento puesto que los animales se alimentan

pastando en pradera y la dinámica consiste en trasladarlas de un campo a otro conforme se van terminando el forraje. Por lo que la contaminación de los pezones a causa del contacto con excretas es inferior a la de una crianza intensiva, esto podría disminuir la frecuencia de infecciones de mastitis por patógenos ambientales, es posible que por ello no se encontraron varias de estas especies en este estudio.

En cuanto a la mastitis subclínica, la alta frecuencia que se encontró puede deberse a algunas prácticas de manejo y salud inadecuadas durante la rutina de ordeño que se observaron durante la visita a los hatos lecheros, Tabla 7, que se explicará líneas abajo.

Respecto a la patogenicidad de los estafilococos encontrados, *S. aureus*, *S. intermedius* y *S. hyicus* presentaron resultados de ECN y ECP en el test de coagulasa, Tabla 3. Cabe resaltar que las pruebas de identificación que se realizaron en este estudio fue a nivel fenotípico, por tanto; permitieron aproximar la identificación de los estafilococos como el *S. aureus* a través de diferentes pruebas como la tinción gram, catalasa, prueba de acetoina, cultivo en agar manitol, resistencia a la bacitracina y polimixina B, Anexo 2 (Procop, 2017), y se recomienda realizar pruebas confirmatorias de identificación a nivel molecular como PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa), (Zadoks,2009), acorde a lo señalado por otros autores que identificaron *S. aureus* coagulasa negativo en sus aislados (Vandenesch *et al.*, 1993; Akineden *et al.*, 2010; Shahmohammadi *et al.*, 2019).

El interés de diferenciar los estafilococos como ECP y ECN es para determinar su patogenicidad. Es importante señalar esta característica debido a que los negativos por lo general se consideran “menos patógenos”; sin embargo, reportes actuales los indican como potenciales patógenos. Mientras los positivos presentan un comportamiento

coagulante que los hace más agresivos, este es un factor de virulencia enzimático del *S. aureus* como mecanismo de defensa frente a las células fagocíticas del hospedero, ya que como la enzima coagulasa promueve la conversión de fibrinógeno a fibrina, los patógenos se cubren de esta fibrina dificultando su fagocitosis y opsonización (Procop, 2017).

En cuanto a *S. aureus*, se encontraron ECP y ECN en una misma muestra, este fenómeno se encontró en 2 casos, uno de mastitis clínica y el otro en mastitis subclínica, por lo que su presencia sería indiferente en el tipo de presentación de la mastitis. Procop (2017) menciona que los *S. aureus* con factor de coagulación negativa pertenecen a los *S. aureus* subespecie *anaerobius*.

Respecto a *S. intermedius*, por el comportamiento coagulasa variable que mostró en este estudio, se puede considerar que desarrollan infecciones menos severas y mastitis subclínica mayormente. Sin embargo, también tuvo una alta frecuencia en mastitis clínica, por lo que nos hace pensar que los responsables de estas infecciones serían los *S. intermedius* CP, puesto que son considerados ECP según la literatura (Procop, 2017). Cabe considerar que Procop (2017) reporta de origen canino a los *S. intermedius*, pero no se menciona sobre *S. intermedius* aislados de mastitis bovina. Por lo que podríamos plantear hipotéticamente las provenientes de mastitis bovina tienen una característica coagulasa variable, más acorde a los resultados de este estudio.

Ha razón de que se observó la presencia de cepas ECN en *S. aureus*, *S. intermedius* y *S. hyicus*, se recomienda utilizar el test de coagulasa para determinar la patogenicidad de los estafilococos mas no como una prueba de identificación, ya que el comportamiento coagulante de estas bacterias fue variable, y sus resultados tienen mayor relevancia en el

desarrollo de su patogenia. Cabe destacar que *S. hyicus* es reportado como coagulasa variable de acuerdo con Procop (2017). Sin embargo, diferentes autores lo reportan en sus estudios o bien como ECP o ECN.

En cuanto a su patogenia, no está claramente definida, diferentes autores reportan a los ECN como oportunistas (Bonifaz y Conlago, 2016), o parte de la flora microbiana (Calderón, y Rodríguez, 2008), que esta hasta cierto punto ha sido la realidad de estos patógenos ya que se han clasificado como “patógenos menores” por distintos autores (Trujillo *et al.*, 2010), o más cerca a la actualidad, como patógenos emergentes en mastitis bovina (Pyörälä y Taponen, 2009; Björk *et al.*, 2014; El-Jakee *et al.*, 2013; Hosseinzadeh y Dastmalchi, 2014).

Por lo que acorde a todos estos autores y el presente estudio, se puede plantear que, en cuanto a su comportamiento patógeno de los ECN, pueden persistir en la glándula mamaria pese a su origen como parte de la flora epitelial de la ubre, y por esta razón incrementarían el recuento de células somáticas en la leche. Consecuentemente, por su comportamiento oportunista probablemente aprovechen infecciones por *S. aureus*, para incrementar su población, manteniendo las infecciones de mastitis en una presentación subclínica, debido a que invaden el nicho de los *S. aureus* impidiendo su sobrepoblación, es decir, mantiene un equilibrio poblacional bacteriano lo cual evita que las infecciones por *S. aureus* lleguen a ser más agresivas y muestren signos clínicos. En tal sentido, *S. hyicus* y los ECN se muestran como flora bacteriana en la piel de la ubre e infecciosos en la glándula mamaria, se puede estimar que dependientes de la presencia de *S. aureus*. Sin embargo, en este estudio se encontraron casos con únicamente *S. intermedius* tanto para mastitis clínica y subclínica, por lo que su presentación sería independiente de *S. aureus*

o más persistente. Otros autores señalan que algunos ECN y *S. aureus* compiten por el mismo nicho y nutrientes, y por esta razón los ECN estarían inhibiendo la virulencia de los *S. aureus* para reducir su población (Chin *et al.*, 2021) estos ECN podrían estar generando una línea de defensa contra patógenos más agresivos como lo es *S. aureus* (Bier *et al.*, 2021) así como también otros autores señalan que las características patógenas de los *S. aureus* como sus factores de virulencia y regulación pueden influir en los ECN al convivir en un mismo nicho (Grazul *et al.*, 2023).

En cuanto a la persistencia de los ECN, puede deberse al peculiar mecanismo de formar una biopelícula que les permite adherirse a superficies metálicas, máquinas de ordeño y las manos del ordeñador, esta característica les estaría facilitando persistir y propagarse (El-Jakee, 2013) entre fómites y animales, desarrollando un comportamiento de patógeno contagioso de la mastitis bovina (Thorberg, 2000; Thorberg, 2009).

Estas hipótesis podrían ser inquietudes para que futuras investigaciones revelen cuál es el verdadero comportamiento patógeno de estos agentes y como lo menciona Björk, podría variar de acuerdo con cada especie patógena (Björk *et al.*, 2014). Además, que su presencia a nivel mundial es reportada por diferentes autores (Roberson *et al.*, 1994; Osteras *et al.*, 1999; Ramírez *et al.*, 2001; Rodríguez 2006; Tenhagen *et al.*, 2006), quienes muestran que los patógenos menores tienen mayor prevalencia que *S. aureus* y otros patógenos mayores, acorde a nuestro estudio.

En este estudio se identificó una alta frecuencia de *S. intermedius* y *S. hyicus*, bacterias poco frecuentemente aisladas en reportes peruanos de mastitis bovina sino más bien en infecciones piógenas caninas en el caso de *S. intermedius* (Cox *et al.*, 1984, Medleau *et*

*al.*, 1986; Noble *et al.*, 1992) e infecciones cutáneas (dermatitis exudativa) en producción porcina en el caso de *S. hyicus*. Si bien estos patógenos tienen una mayor relevancia en enfermedades de otras especies, en este estudio, se mostrará que tienen una mayor presencia en la mastitis bovina de lo que se ha considerado hasta el momento en Perú.

Respecto a la **frecuencia de agentes patógenos aislados en mastitis clínica**, en este estudio fue de *S. aureus* 50%, *S. hyicus* 25% y *S. intermedius* 25% (Tabla 2), estos hallazgos son similares a estudios pasados como actuales, al respecto, Roberson *et al.*, (1996), en su estudio de prevalencia de ECP diferentes a *S. aureus* en mastitis bovina, aisló 487 cepas, de las cuales reportó que el 82.1% fueron *S. aureus*, 17.7% *S. hyicus* y 0.2% fueron *S. intermedius* (Roberson *et al.*, 1996), comparado con nuestros resultados podemos ver que la frecuencia de *S. aureus* ha ido disminuyendo y simultáneamente se ha incrementado la frecuencia de *S. hyicus* y *S. intermedius*, sobre todo este último, que en contraste a lo que Roberson (1996) concluyó en ese entonces, mencionando que *S. intermedius* no parece ser un patógeno de mastitis importante, debido a su baja prevalencia, estudios más actuales como el de Ramírez *et al.*, (2018) realizado en Colombia, reportó a *S. intermedius* con 5.8% de prevalencia y *S. aureus* con 5.1% de prevalencia en mastitis clínica de un estudio de 138 cultivos, Ramírez (2018) evidenció que *S. intermedius* incluso tiene una mayor prevalencia que *S. aureus* por lo que su importancia en mastitis clínica bovina ahora es de mayor relevancia.

En cuanto a *S. hyicus*, también fue identificado en varios estudios extranjeros de mastitis bovina, Watts y Owens (1989) en USA, reportaron una frecuencia del 11% de *S. hyicus* en 1948 cuartos de 487 animales con mastitis bovina, en su estudio se consideró a *S. hyicus* como ECN, y concluyó que *S. hyicus* es el estafilococo predominante de los

coagulasa negativa en mastitis bovina (Watts, 1989). Por otro lado, estudios más actuales como el de Sampimon *et al.*, (2009) en Países bajos, Holanda, reportó a *S. hyicus* y otras 13 especies de ECN, en su estudio se consideró a *S. hyicus* como ECN, donde tuvo una frecuencia de 1.9% en 4220 cuartos mamarios (Sampimon *et al.*, 2009), Sampimon menciona en contraste a Watts que la predominancia de *S. hyicus* puede deberse a métodos erróneos y porque *S. chromogenes* todavía se identificaba como *S. hyicus* en esa época, sin embargo, estudios más actuales como el de Birhanu (2017) y Bhandari (2021), en mastitis subclínica, reportan a *S. hyicus* como uno de los principales patógenos en mastitis bovina (Birhanu, 2017; Bhandari, 2021).

Como se puede evidenciar, la prevalencia tanto de *S. intermedius* como de *S. hyicus* se ha ido incrementando con el tiempo, en diferentes países. Los reportes donde identificaron los *Staphylococcus* diferentes a *S. aureus* nos muestran este fenómeno, que si bien antes fueron considerados “menores” o parte de la flora, hoy en día son patógenos causales de la mastitis bovina, actualizando lo que Roberson en 1996 concluyó que “*S. hyicus* inducen las infecciones intramamarias crónicas de bajo grado y *S. intermedius* no parece ser un patógeno de mastitis importante” en el presente estudio y de acuerdo con los autores mencionados, *S. hyicus* y *S. intermedius*, son patógenos importantes causantes de la mastitis clínica bovina.

Respecto a la **frecuencia de agentes patógenos aislados en mastitis subclínica**, en este estudio fue de 52.7% de *Staphylococcus aureus*, el 23.6% de *Staphylococcus intermedius*, el 12.7% de *Staphylococcus hyicus*, 7.3% de *Staphylococcus sp.* y el 3.6% de *Streptococcus uberis* (Tabla 1). Estos son patógenos esperados en mastitis bovina, de acuerdo con diferentes reportes, como el de Hodges *et al.*, (1984) realizado en Nueva

Zelanda, identificó 900 especies de estafilococos de muestras de leche bovina de mastitis clínica y subclínica, donde del grupo de ECP, 810 especies fueron *S. aureus* y 21 fueron *S. intermedius* y de los 65 que resultaron ECN, 20 fueron *S. hyicus* (Hodges *et al.*, 1984).

Estudios más actuales continúan reportando a estos patógenos en mastitis subclínica, como el que realizó Birhanu *et al.*, (2017) en África, Etiopía, donde reportó una alta prevalencia de *S. aureus* con 44,95%, *S. intermedius* con 22%, *S. hyicus* con 9,2% de un total de 262 vacas (Birhanu, *et al.*, 2017), los porcentajes del presente estudio resultaron muy similares y en la misma progresión, a diferencia del estudio de Pedrozo *et al.*, (2021), realizado en Paraguay, quien reportó una prevalencia de 2.5% de *S. intermedius* y 2.5% de *S. hyicus*, de un total de 286 cepas, en su estudio consideró a ambos como ECP (Pedrozo, *et al.*, 2021), este estudio determinó una menor prevalencia en comparación a nuestro estudio y el de Birhanu *et al.*, (2017); sin embargo, son patógenos que están presentes como agentes causales de la mastitis bovina que se han mantenido en el tiempo.

Estudios como el de Hodges *et al.*, (1984) contribuyen al seguimiento de la evolución de la patogenicidad y prevalencia de estos microorganismos. Bhandari *et al.*, (2017), menciona que, si bien los agentes causantes de la mastitis subclínica varían entre países y estudios, los patógenos comúnmente aislados fueron *S. aureus*, *S. intermedius* y *S. hyicus*, entre otros (Bhandari *et al.*, 2021).

En cuanto a *S. intermedius*, ya se ha reportado en países latinos. En Cuba, Insua *et al.*, (2020) reportó como uno de los patógenos más frecuentes en mastitis bovina subclínica a *S. aureus* con 15.8% y a *S. intermedius* con una prevalencia de 1.8% en un estudio de 311 vacas, mucho menor comparado al presente estudio. En su estudio también se



determinó una prevalencia de 9.3% de ECN (Insua *et al.*, 2020), dentro de estos ECN podría encontrarse *S. hyicus*. Como este, diferentes estudios agrupan sus aislados en ECP y ECN sin llegar a identificarlos hasta especie (Sivadon *et al.*, 2004), esto puede generar un vacío en la investigación ya que se le da mayor importancia al reporte de *S. aureus* (Heikens *et al.*, 2005), por su predominancia en generar mastitis bovina, y el resto de los estafilococos se reportan como *Staphylococcus* spp. donde posiblemente se encuentren *S. intermedius* y *S. hyicus*. Como lo demuestra el estudio de Calderón (2008) en Colombia quien reportó ECP diferentes a *S. aureus* con una prevalencia de 4.04% y ECN con 11.75% (Calderón y Rodríguez, 2008) y años posteriores los mismos autores reportaron la prevalencia de *S. intermedius* y *S. hyicus* en mastitis bovina (Calderón *et al.*, 2011).

Diferentes estudios corroboran la oportunidad de investigación en el género Estafilococos causantes de mastitis, por ejemplo, en Cuba se reportó una prevalencia de *S. aureus* de 19.2%, *Staphylococcus* sp. 7%, ECN 5.7% en 142 animales, en un estudio de prevalencia de mastitis clínica y subclínica (Armenteros *et al.*, 2017). Otro estudio, reportó como los patógenos más frecuentes para mastitis clínica y subclínica bovina a los ECN con 24.2% de prevalencia en un tamaño de muestra de 383 vacas, donde también menciona que hasta el momento en Cuba no se había reportado la preponderancia de estos patógenos sobre *S. aureus* quien tuvo 11.8% (Ruíz *et al.*, 2012). En Colombia se reportaron resultados similares, donde los ECN tuvieron una prevalencia de 14.6% mientras que *S. aureus* un 13% en una población de 112 vacas (Ramírez *et al.*, 2001).

Estos estudios revelan una alta prevalencia de *S. intermedius*, *S. hyicus* y los ECN, que de acuerdo al presente estudio y los autores mencionados son agentes patógenos de importancia en la mastitis subclínica bovina que han pasado desapercibidos en la etiqueta

de “*Staphylococcus spp.*” por lo que su frecuencia ha ido ascendiendo y hoy merecen una mayor atención (Sol, 2002) para definir su patogenia, prevalencia y resistencia antimicrobiana.

En cuanto a *S. uberis*, en este estudio se encontró una frecuencia de 3.6%. Este es un agente causal común de mastitis bovina, sin embargo, es de importancia reportar que su prevalencia ha ido en aumento a lo largo del tiempo (Stempler, 2022). En Colombia se reportó una prevalencia de 5.74% de *S. uberis* en un total de 2854 vacas, también reportaron a *S. aureus* con 29.09% (Calderón y Rodríguez, 2008), resultados similares a nuestro estudio, otro estudio del autor de años posteriores, reportó 3.6% de prevalencia de *S. uberis* en un estudio de 1065 vacas, acorde también al presente estudio, sin embargo, aisló *S. aureus* con 87.56%, *S. intermedius* con 1.23% y *S. hyicus* con 0.3 %, en vacas de doble propósito (Calderón *et al.*, 2011), esta frecuencia de los *S. intermedius* y *S. hyicus* respecto a *S. uberis* discrepan notablemente con el presente estudio ya que aquí se encontró una mayor frecuencia de estos estafilococos sobre los *S. uberis*. Sin embargo, otro estudio en Colombia realizado a 290 vacas reportó una frecuencia de 1.9% de *S. uberis*, 8.3% de *S. intermedius* y 10.3% de *S. aureus* con (Trujillo *et al.*, 2010), notamos que la frecuencia de *S. uberis* es menor comparado a *S. intermedius* y *S. aureus*, en concordancia a nuestros resultados. Similarmente, en otro estudio en Colombia, se reportó una prevalencia de 2.33% de *S. uberis*, 3.11 % de *S. intermedius* y 2.72% de *S. aureus*, (Ramírez *et al.*, 2018), concordamos que los estafilococos tienen una mayor prevalencia que los estreptococos, sin embargo, en cuanto a las proporciones individuales no coincidimos.

Por otro lado, en cuando a la resistencia antibiótica, la elección de los antibióticos y sus concentraciones fueron en base a los diferentes estudios de resistencia antimicrobiana de mastitis bovina reportados en distintos países, la Critically Important Antimicrobials List - CIA List (OMS, 2019) de donde se consideraron los antibióticos de uso en animales de producción como tratamiento de la mastitis bovina, la “Norma Sanitaria que establece los límites máximos de residuos (LMR) de medicamentos veterinarios en alimentos de consumo humano” de donde se consideraron los antibióticos recomendados para ganado bovino que tuvieran como vía de eliminación la leche (MINSA, 2016) y los antibióticos recomendados por la “Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)” para mastitis bovina (CLSI, 2020), también se tomó en cuenta los antibióticos para mastitis bovina disponibles en el mercado peruano (Andresen, 2001).

Con ese panorama se realizó el presente estudio y la resistencia antimicrobiana que se encontró respecto al total de aislados entre mastitis clínica y subclínica fue la siguiente (Tabla 4), uno de los antibióticos con mayor resistencia fue la **neomicina** con un 32.3% de resistencia, un estudio similar en Cuba reportó un 97% de resistencia a este antibiótico o 3% de sensibilidad según su estudio (Armenteros *et al.*, 2017). Para la **oxitetraciclina** encontramos una alta resistencia de 25.3%, resultados similares a otros estudios donde se reportó un 28.5% de resistencia, en Colombia (Cruz *et al.*, 2007), en otros países reportaron una mayor resistencia como en Cuba de 40% (Armenteros *et al.*, 2017) y en India de 52.78% (Akhoon *et al.*, 2012). El tercer antibiótico con mayor resistencia respecto al total de cepas que hallamos fue la **penicilina g**, con 17.1% de resistencia, estudios de diferentes países reportaron incluso una mayor resistencia, tal como se reportó en Colombia con el 42% (Cruz *et al.*, 2007) y en Cuba el 97% (Armenteros *et al.*, 2017). En este estudio las cepas de *S. aureus* presentaron una resistencia de 16.9% a este

antibiótico, similar a otros estudios (cave recalcar que en estos estudios no indicaron que tipo de penicilina usaron), en Venezuela un 12.4% (Valero-Leal, 2010), en Argentina un 22.2% (Pellegrino *et al.*, 2011), en Colombia 38.8% (Ramírez *et al.*, 2018), otro estudio en Argentina 48,4% (Russi *et al.*, 2008) y en Perú 52% (Quispe *et al.*, 2021). Vemos respecto a los reportes que la penicilina en general tiene una resistencia variable frente a *S. aureus* de 12.4% a 52%, un comportamiento a considerar en los tratamientos con este antibiótico. Respecto a *S. intermedius* encontramos una resistencia de 20.5%, resistencia mayor a la de *S. aureus*, siendo ambos ECP; otro estudio en Colombia, incluso reportó una mayor resistencia, 74.3% de resistencia a la penicilina para *S. intermedius*. En cuanto a *S. uberis* encontramos una resistencia de 22.2% en este estudio, acorde a otro reporte de 25.9% de resistencia para *S. uberis* (Ramírez *et al.*, 2018), y otro estudio también en Colombia reportó un 63.1% de resistencia para *Streptococcus spp.* (Cruz *et al.*, 2007).

Para la **ceftriaxona** se encontró una resistencia de 10.1% en general, en cuanto a *S. aureus* se evidenció una resistencia de 12.7%, sin embargo, otro estudio realizado en Turquía reportó una resistencia del 100% o 0% de susceptibilidad (Kurt *et al.*, 2021).

Para la **cefalexina** encontramos una resistencia en general de 7%, bastante baja comparado a otros estudios que reportaron una resistencia de 42.3% en Cuba (Ruiz *et al.*, 2012), 46% en Colombia (Cruz *et al.*, 2007) y 55% en Cuba (Armenteros *et al.*, 2017). Respecto a *S. aureus* encontramos una resistencia del 2.8%, otro estudio de Perú realizado en Ayacucho reportó inclusive una resistencia del 0% (Quispe *et al.*, 2021), sin embargo, en Colombia reportaron un 18.7% de resistencia para esta cepa (Ramírez *et al.*, 2018), mostrando una resistencia variable según los reportes. En cuanto a *S. intermerdius*, encontramos una resistencia del 10.3%, mucho mayor a la resistencia encontrada en *S.*

*aureus*, en Colombia incluso reportaron una resistencia de 25.7% para *S. intermedius*, en ese estudio la resistencia de *S. intermedius* también fue mayor a la de *S. aureus* (Ramírez *et al.*, 2018). Respecto a *S. uberis* fue de 11.1% de resistencia, otro estudio reportó una mayor resistencia, de 21.4% (Ramírez *et al.*, 2018).

Para la **amoxicilina con ácido clavulánico** encontramos una resistencia general de 4.4%, otros estudios reportaron una resistencia para amoxicilina sola, de 22.22% en la India (Akhoon *et al.*, 2012), para *S. aureus* se encontró una resistencia del 2.8% en contraste a otro estudio de Turquía que reportó un 100% de resistencia (Kurt *et al.*, 2021), y en Colombia un 24% (Ramírez *et al.*, 2018). En cuanto a *S. intermedius* se encontró en este estudio una resistencia del 0% a diferencia de otro estudio donde reportaron un 56.3% de resistencia para esta bacteria (Ramírez *et al.*, 2018). Para *S. uberis* reportamos una resistencia de 22.2% a diferencia de otro estudio con 80% resistencia (Kurt *et al.*, 2021).

Para **enrofloxacina** encontramos una resistencia general de 0.6%, sin embargo, otros estudios mostraron una mayor resistencia, de 25% en India (Akhoon *et al.*, 2012), y 30% en Cuba (Armenteros *et al.*, 2017). En cuanto a *S. aureus* encontramos 1.4% de resistencia similar a un estudio en Argentina que reportó un 0% de resistencia para esta bacteria (Russi *et al.*, 2008), en Venezuela también reportaron una baja resistencia de 8.6% (Valero – Leal *et al.*, 2010), a diferencia de otro estudio en Turquía que reportó una resistencia de 95% (Kurt *et al.*, 2021). Para *S. uberis* evidenciamos una resistencia de 0%, a diferencia de otro estudio que reportó un 80% de resistencia (Kurt *et al.*, 2021). En cuanto a *S. intermedius*, *S. hyicus* y *Staphylococcus sp.*, no se encontró resistencia, por lo que sería recomendable el uso de enrofloxacina en la mastitis causada por estos patógenos.

Para **gentamicina, florfenicol, sulfatrimetropin y estreptomycin** no se evidenciaron resistencia, por ello estos antibióticos se recomendarían para el posible tratamiento de la mastitis por su alta sensibilidad, otros estudios, sin embargo, reportaron una mayor resistencia para **gentamicina**, 19.45% (Akhoon *et al.*, 2012), 28.5% (Cruz *et al.*, 2007), 30.1% (Ruiz *et al.*, 2012), 60% (Armenteros *et al.*, 2017). Sin embargo, respecto a *S. aureus* otros estudios respaldan nuestros hallazgos con 0% de resistencia en Argentina (Pellegrino *et al.*, 2011), 0% en Venezuela (Valero-Leal, 2010) y 2.1% en Argentina (Russi *et al.*, 2008). En cuanto a **florfenicol** respecto a *S. aureus* otro estudio respalda la resistencia nula (Russi *et al.*, 2008), contrario a ello, otro estudio reportó un 60% de resistencia (Kurt *et al.*, 2021) y para *S. uberis* reportó un 50% de resistencia (Kurt *et al.*, 2021). En el caso de **sulfatrimetropin** otros estudios reportaron una mayor resistencia de 51.7% en Cuba (Ruiz *et al.*, 2012) y 60% en Colombia (Cruz *et al.*, 2007). Sin embargo, en cuanto a *S. aureus* varios autores coinciden con nuestros hallazgos, así reportaron un 0% en Venezuela (Valero- Leal *et al.*, 2010), 0% en Perú (Quispe *et al.*, 2021) y 2% en Colombia (Ramírez *et al.*, 2018), sin embargo, un estudio en Turquía reportó un 95% de resistencia (Kurt *et al.*, 2021). Para *S. intermedius* otro estudio obtuvo resultados similares a los nuestros con 1.4% de resistencia y para *S. uberis* reportaron un 15.4% de resistencia (Ramírez *et al.*, 2018) y 100% de resistencia de *S. uberis* (Kurt *et al.*, 2021) en contraste a este estudio. Por último, para **estreptomycin** otros estudios reportaron un rango variable de resistencia respecto a *S. aureus*, desde 4.9% (Valero- Leal *et al.*, 2010), 20.6% (Pellegrino *et al.*, 2011), 83.3% (Cruz *et al.*, 2007) y 100% (Kurt *et al.*, 2021). Respecto a *S. intermedius* reportaron similarmente a nuestro resultado, 1.4% (Ramírez *et al.*, 2018). En cuanto a *S. uberis* reportaron un 100% de resistencia (Kurt *et al.*, 2021) y para *Streptococcus* spp. un 73.6% (Cruz *et al.*, 2007).

Así mismo, en este estudio se encontraron cepas sospechosas de multirresistencia, es decir resistentes a 3 o más antibióticos de diferentes familias antibióticas (Shitandi *et al.*, 2004). *S. aureus* ya ha presentado multirresistencia en diferentes estudios (Aslantas *et al.*, 2006). Esta característica es provocada por mutaciones genómicas en las bacterias como adaptación a medios con presencia persistente de antibióticos (Valero-Leal *et al.*, 2010), además estos genes pueden compartirse con otras bacterias durante la transducción y conjugación bacteriana (Werckenthin *et al.*, 2001).

De acuerdo al estudio de Werckenthin, quien estudió la resistencia de *S. aureus*, *S. intermedius* y *S. hyicus* de origen animal, ilustra que la resistencia de los gram positivos frente a los aminoglucósidos, como la **neomicina** que se utilizó en este estudio y tuvo alta resistencia, se debe a las fosfotransferasas o el acetiladenil (nucleotidil) principalmente, que inactivan los antibióticos generando la resistencia, los genes de resistencia se asocian a plásmidos y transposones, por ejemplo, el gen ant (4') se encuentra en el plásmido Pub110 quien atribuye la resistencia a la neomicina. Además, encontró transferencia conjugativa entre *S. aureus*, *S. intermedius* y *S. hyicus* (Werckenthin *et al.*, 2001). El segundo antibiótico con mayor resistencia fue la **oxitetraciclina**, esta resistencia de los estafilococos frente a las tetraciclinas, se puede deber a 4 genes tet de las clases K, L, M y O, quienes se ubican en plásmidos que atribuyen esta resistencia, los genes tetK y tetL inhibe la acumulación intracelular del antibiótico (exportándolos) mediante proteínas de eflujo, los genes tetM y tetO generan proteínas protectoras de ribosomas bacterianos, estos fueron aislados en *S. intermedius* (Werckenthin *et al.*, 2001). El tercer antibiótico con mayor resistencia fue la **penicilina g**, la resistencia de los estafilococos frente a la penicilina puede deberse a la producción de enzimas betalactamasas, como la PC1 de *S. aureus*, estas enzimas hidrolizan el enlace amida del anillo betalactámico de la penicilina,

inactivándolo antes de la unión con su sitio blanco, así evita la inhibición de la síntesis de la pared celular (Babic *et al.*, 2026; Valero-Leal *et al.*, 2010). En el presente estudio, no se realizó la identificación de genes de resistencia antibiótica, pero son un punto de referencia en la investigación.

De acuerdo a Werckenthin (2001), se puede presumir que la resistencia que hoy presenta *S. intermedius* y *S. hyicus*. podría deberse a las mutaciones que ha ido presentando *S. aureus* a lo largo del tiempo, que por no ser tratado adecuadamente ha provocado que bacterias con menor grado de patogenicidad ahora presenten una mayor resistencia antibiótica (Grenne *et al.*, 1992). Esto explicaría por qué la prevalencia y resistencia antimicrobiana de estas tres bacterias ha ido creciendo en el tiempo.

En consecuencia, los antibióticos se han vuelto inservibles para el tratamiento, como en el caso de la **penicilina g**, de acuerdo con lo que mencionan varios autores, no sería recomendable su uso como tratamiento para mastitis bovina por su alta resistencia, contrario a lo que recomienda el CLSI, donde indican penicilina g para el tratamiento de mastitis por *S. uberis* y a ceftiofur para mastitis por *S. aureus* y *S. uberis*.

Hoy en día se ha evidenciado que la terapéutica veterinaria tiene una mayor relevancia en la salud humana, como bien lo argumenta el enfoque “Una Salud” de la Organización Panamericana de la Salud (OPS). En la localidad, donde se desarrolló este estudio, la terapéutica consiste en administrar fármacos antibióticos de amplio espectro, sin embargo, se podría optar por un tratamiento más específico al conocer los agentes patógenos más frecuentes de mastitis en la zona, disminuyendo así el uso indiscriminado de antibióticos y sus residuos en la leche (Philpot y Nickerson, 2000). Esta última



práctica, la administración de antibióticos de forma empírica o sin prescripción, podría estar dando lugar a la Resistencia Antimicrobiana (RAM) en las provincias del país, como Puno.

La RAM se produce al administrar tratamientos inespecíficos al tratar infecciones microbianas, por ejemplo, la elección inadecuada del fármaco, una dosis deficiente, una duración de tratamiento deficiente, como promotores de crecimiento o como preventivos en animales que se encuentran sanos (OPS, 2023). También, cuando no se respeta su periodo de retiro ni el límite máximo de residuos permitido (MINSA, 2016).

Estas malas prácticas sin la supervisión de un médico veterinario hacen que el tratamiento sea ineficiente, y los microorganismos causantes de la infección mal tratada, se tornen multirresistentes (Shitandi *et al.*, 2004). Lo cual pone en riesgo la eficacia de los antimicrobianos, genera infecciones persistentes, incrementa el riesgo de propagación y amenaza la salud pública global. No solo amenaza la salud animal, sino también la salud humana y ambiental (OPS/OMS, 2023).

La OPS menciona que los veterinarios, por su rol sobre todo a nivel agropecuario, destacan en el enfoque “Una Salud” puesto que la producción animal es un vértice fundamental, por el impacto que significa la salud animal en la salud humana, su salud se relaciona de múltiples formas (OMS/OPS, 2023), por ejemplo, por consumo de alimentos de origen animal, como lo es la leche (Escobar *et al.*, 2020). En este sentido el rol de los veterinarios es crucial para combatir la RAM desde la prevención de las enfermedades, diagnóstico, así como en el tratamiento, periodo de retiro farmacológico y el uso de

antibióticos autorizados. A través de sus buenas prácticas fomentan el uso adecuado de antimicrobianos y solo bajo prescripción (Aslantas *et al.*, 2006).

Durante el desarrollo del estudio, se pudieron observar algunas prácticas de manejo inadecuadas durante la rutina de ordeño, estas podrían ser el origen de la alta frecuencia de patógenos y su resistencia antimicrobiana encontrada.

Una de ellas, fue el orden de ingreso de las vacas a sala de ordeño, este se realizaba de forma aleatoria, sin diferenciar vacas sanas de vacas con mastitis, en consecuencia, la pezonera podría haber cumplido el rol de diseminador de la mastitis.

Otras actividades, que se observaron y que tienen un efecto negativo son la falta de uso de presellador, la importancia de esta solución antiséptica es porque ayuda a limpiar, desinfectar los pezones y disminuye la colonización de bacterias en la pezonera (Andresen, 2001). Otra actividad fue el uso de una única toalla embebida en agua común para retirar la tierra y/o materia orgánica de los pezones de todas las vacas, práctica conocida como uso de la “toalla comunal”, esto incrementa el contagio de mastitis entre vacas, ya que la carga bacteriana de una vaca con mastitis es compartida con todo el hato, si bien no se ha realizado aún el despunte para abrir el canal del pezón, próximamente la carga bacteriana que se encuentra en la piel estará en contacto con la pezonera durante la fricción del ordeño logrando contaminar el canal del pezón y la leche (Kruze, 1998; Bickett-Weddle, 2005).

Continuando la rutina de ordeño solo en 42.9% de los hatos se secaban los pezones de las vacas antes de colocar la pezonera, esta actividad evita en primer lugar que los

microorganismos migren hacia el canal del pezón ya que no hay un medio que facilite su traslado, como el agua, en segundo lugar, permite un mejor agarre de la pezonera al pezón, ya que así no se resbala fácilmente, el desprendimiento o caída de la pezonera trae consecuencias que afectan tanto a la calidad de la leche como la salud de la ubre, puesto que la pezonera al desprenderse continúa succionando, esta absorbe todo contaminante que se encuentre en el suelo o aire trasladándolo al tanque de leche. Simultáneamente, la pezonera pierde el vacío por la entrada de aire, como consecuencia al recolocarla esta genera un “golpe” o reflujo de leche para recuperar el vacío, este reflujo de leche de la tubería hacia el pezón contamina el canal del pezón, o bien con la leche de otros pezones que pueden tener mastitis o bien con la carga bacteriana de la pezonera al haber tocado otras superficies.

El despunte se realizó en la mitad de los hatos, su importancia radica en estimular la apertura del esfínter mamario, estimular la bajada de la leche y disminuir la incomodidad durante la succión de la pezonera, puesto que se observó que las vacas no pateaban o se alejan de la pezonera en los hatos que realizaban esta actividad. Además, elimina la carga bacteriana que se puede encontrar en el canal del pezón.

Luego de colocar las pezoneras se dio inicio al ordeño, la mayoría de las maquinas ordeñadoras no contaba con un panel digital, esto les ha dificultado a los ganaderos llevar el registro de producción de cada vaca, el 42.9% contó con una sala de ordeño provisional, es decir, una máquina de ordeño transportable, que en algunos casos era trasladada al recinto de los animales, y en otros habían adaptado una sala con parantes y techo de plástico cerca a los recintos, a donde trasladaban la máquina y los animales. Por otro lado, solo el 28.6 % contó con una sala de ordeño fija, a base de concreto con diseño de espina

de pescado o tándem. Mientras que el 28.6% realizó ordeño manual, o bien en campo abierto o en el recinto de las vacas. Esta actividad, podría traer contaminación cruzada de la leche a causa de los fómites, además como mencionan Valero-Leal y Tikofsky la contaminación cruzada durante el proceso de elaboración de productos significa una vía de transmisión de genes de resistencia (Tikofsky *et al.*, 2003; Valero-Leal *et al.*, 2010).

De acuerdo al presente estudio, se puede decir que las prácticas de manejo inadecuadas durante la rutina de ordeño pueden ser el origen de alta frecuencia de mastitis clínica y subclínica, que al ser una enfermedad mal tratada provoca la persistencia de agentes patógenos que se traducen en altas frecuencias y alta resistencia antimicrobiana. Es por esta razón, la importancia de conocer los patógenos más frecuentes a nivel poblacional.

## CONCLUSIONES

- La frecuencia de mastitis bovina clínica fue de 2.9% (5/171) de vacas, y la subclínica fue de 42.1% (72/171) de vacas, en establos lecheros de raza Brown Swiss, en Melgar, Puno.
- Los patógenos más frecuentes de mastitis subclínica fueron *S. aureus* con 52.7%, *S. intermedius* con 23.6% y *S. hyicus* con 12.7%, a su vez en mastitis clínica tuvieron una frecuencia de *S. aureus* con 50%, *S. intermedius* con 25% y *S. hyicus* con 25%.
- Los antibióticos, neomicina, oxitetraciclina y penicilina g presentaron alta resistencia in vitro de 32.3%, 17.1% y 25.3% respectivamente, mientras que gentamicina, florfenicol, sulfatrimetropin y estreptomicina no presentaron resistencias, por ello se podrían considerar para el tratamiento de la mastitis clínica y subclínica.
- Se observó una inadecuada rutina de ordeño en los establos visitados durante la ejecución del estudio en Melgar, Puno.

## RECOMENDACIONES

- Establecer una adecuada rutina de ordeño, que involucre el orden de ordeño (de acuerdo con el estado de salud de las vacas), el despunte, el uso de preselladores, selladores, toallas individuales en el aseo de los pezones y realizar la limpieza de la tubería de la máquina de ordeño al terminar cada faena.
- Realizar la prueba de CMT cada 15 días mínimamente y contar con un veterinario para el diagnóstico y tratamiento de la mastitis bovina, de este modo llevar un control de la salud de la ubre por cada vaca.
- Realizar la identificación de los patógenos a nivel de especie empleando pruebas confirmatorias como el PCR, mientras que al test de coagulasa utilizarlo solo para determinar la patogenicidad. También investigar sobre la patogenicidad y epidemiología de *S. intermedius* y *S. hyicus* en la mastitis bovina.
- Utilizar y/o elaborar pruebas rápidas y confiables que faciliten el diagnóstico de estos patógenos en los hatos lecheros.
- Considerar el uso de vacunas para el control en hatos con mastitis persistente.


## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Akhoun, Z., Peer F., Sofi, K. 2023. Study on in vitro sensitivity of bacterial cultures from clinical mastitic milk to few anti-bacterial agents. Indian Journal of Animal Research. 46(4): 404 - 406. Extraído de: <https://www.arccjournals.com/journal/indian-journal-of-animal-research/ARCC490>
2. Akineden, Ö., Hassan, A., Schneider, E., Usleber, E. 2010. A coagulase negative variant of *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis milk. Journal of Dairy Research, 78(01), 38–42. doi:10.1017/s0022029910000774
3. Andresen H. 2001. Mastitis: prevención y Control. Rev. Inv Vet Perú. 12(2): 55-64. Extraído de: Mastitis: prevención y Control (scielo.org.pe)
4. Armenteros, M., Ponce, P., Capdevila, J., Zaldívar, V., y Hernández, R. 2017. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras de primer parto y patrón de sensibilidad de las bacterias aisladas en una lechería especializada. Rev. Salud Anim. 28: 8 – 12 pp. Extraído de: [https://www.engormix.com/lecheria/mastitis-infecciones-ubre/prevalencia-mastitis-vacas-lecheras\\_a40265/](https://www.engormix.com/lecheria/mastitis-infecciones-ubre/prevalencia-mastitis-vacas-lecheras_a40265/)
5. Aslantas, Ö. Öztürk, F. Çelebi, A. Açıık, L. Ergün, Y. 2006. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from subclinic bovine mastitis by protein patterns, antibiotic resistance and plasmid profile. Ankara Üniv. Vet. Derg. 53: 47-51. Extraído de: [https://www.researchgate.net/publication/237781274\\_Characterization\\_of\\_Staphylococcus\\_aureus\\_strains\\_isolated\\_from\\_subclinic\\_bovine\\_mastitis\\_by\\_protein\\_patterns\\_antibiotic\\_resistance\\_and\\_plasmid\\_profile](https://www.researchgate.net/publication/237781274_Characterization_of_Staphylococcus_aureus_strains_isolated_from_subclinic_bovine_mastitis_by_protein_patterns_antibiotic_resistance_and_plasmid_profile)
6. Babic, M., Hujer, A., Bonomo, R. 2006. What's new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. Drug Resist. Updat. 9: 142-156. doi:10.1016/j.drup.2006.05.005

7. Bedolla C., Castañeda V., Wolter W. 2007. Métodos de detección de la mastitis bovina. REDVET 8: 3-17p.
8. Bedolla C. 2017. Etiología de la mastitis bovina. Entorno Ganadero 80, BM Editores. 7p.
9. Bickett-Weddle, D. (Marzo 2005). *Dairy Biological Risk Management*. The Center for Food Security Public Health. Extraído de Microsoft Word - DairyBRMDocumentMarch2005b.doc (iastate.edu).
10. Bhandari, S., Subedi, D., Tiwari, B., Shrestha, P., Shah, S., Al- Mustafa, A. 2021. Prevalencia y factores de riesgo de *Escherichia coli* multirresistente aislada de mastitis subclínica en la región occidental de Chitwan en Nepal. *Journal of Dairy Science*. 104: 12765-12772pp. <https://doi.org/10.3168/jds.2020-19480>.
11. Bier K, Schitteck B. 2021. Beneficial effects of coagulase-negative *Staphylococci* on *Staphylococcus aureus* skin colonization. *Exp Dermatol*. Oct;30(10):1442-1452. doi: 10.1111/exd.14381. Epub 2021 May 24. PMID: 33960019.
12. Birhanu, M., Leta, S., Mamo, G., Tesfaye, S. 2017. Prevalence of bovine subclinical mastitis and isolation of its major causes in Bishoftu Town, Ethiopia. *BMC Research Notes*. 10(1). doi:10.1186/s13104-017-3100-0
13. Björk S, Båge R, Kanyima B, André S, Nassuna-Musoke M, Owiny D, Persson Y. 2014. Characterization of coagulase negative staphylococci from cases of subclinical mastitis in dairy cattle in Kampala, Uganda. *Ir Vet J* 67:12. doi: 10.1186/2046-0481-67-12
14. Bonifaz, N., Conlago, F. 2016. Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en



- paquiestancia, Ecuador. *Revista de Ciencias de la Vida*. 24 (2): 43 – 57 pp. DOI: <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.04>
15. Bonilla, M., Gutiérrez, N., Posada, I. 2018. Prevalencia de mastitis bovina en el Cañón de Anaime, región lechera de Colombia, incluyendo etiología y resistencia antimicrobiana. *Rev. investig. vet. Perú*. 29(1). Extraído de: <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14084>
16. Calderón A., Rodríguez V. 2008. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). *Rev Colomb Cienc Pecu*. 21:582-589.
17. Calderón R, Rodríguez, V., Arrieta, G., Máttar, S. 2011. Prevalencia de mastitis bovina en sistemas de doble propósito en Montería (Colombia): etiología y susceptibilidad antibacteriana. *Rev Colom Cienc Pecu*. 24 (1): 19-28. Extraído de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-06902011000100004&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0120-06902011000100004&script=sci_arttext)
18. Camacho M. 2018. Prevalencia de mastitis subclínica mediante la prueba California Mastitis Test en ganado criollo lechero distrito de Imaza. Setiembre - Diciembre 2017. Tesis de Medicina Veterinaria. Lambayeque: Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. 77p.
19. Chin D, Goncheva M., Flannagan R., Deecker S., Guariglia-Oropeza V., Ensminger A., Heinrichs D. 2021. Coagulase-negative staphylococci release a purine analog that inhibits *Staphylococcus aureus* virulence. *Nat Commun*. Mar 25;12(1):1887. doi: 10.1038/s41467-021-22175-3. PMID: 33767207; PMCID: PMC7994395.
20. Cruz, A., Estepa, C., Hernández, J., Sanabria, J. 2007. Identificación de bacterias causantes de mastitis bovina y su resistencia ante algunos antibacterianos. *Rev.*

- U.D.C.A Act. & Div. Cient. 10 (1): 81-91. Extraído de:  
<https://revistas.udca.edu.co/index.php/ruadc/article/view/569/487>
21. Condori A. 2017. Prevalencia y factores de riesgo de mastitis subclínica en vacunos Brown Swiss del distrito de UMACHIRI - MELGAR. Tesis de medicina veterinaria y zootecnia. Puno: Universidad Nacional del Altiplano - Puno. 88p.
22. Congreso de la Republica. 2012. Ley N° 30031. Declaran provincia de Melgar como capital ganadera del Perú. Extraído de:  Con gran expectativa inició la feria ganadera expo Melgar 2022 en la ciudad de Ayaviri. - Noticias - Municipalidad Provincial de Melgar - Plataforma del Estado Peruano ([www.gob.pe](http://www.gob.pe))
23. Cox, H., Hoskins J., Roy, A., Newman, S., Luther D. 1984. Antimicrobial susceptibility of coagulase-positive staphylococci isolated from Louisiana dogs. Am. J. Vet. Res. 45: 2039- 2042 pp. Extraído de:  
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6497102/>
24. De Haas, Y., Barkema, H., & Veerkamp, R. (2002). The effect of pathogenspecific clinical mastitis on the lactation curve for somatic cell count [El efecto de la patogenia de la mastitis clínica en la curva de lactancia para el recuento de células somáticas]. J Dairy Sci 85: 1314-1323. [https://doi: 10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74196-9](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74196-9)
25. El-Jakee JK, Aref NE, Gomaa AM, El-Hariri MD, Galal HM, Omar SA, Samir A. 2013. Emerging of coagulase negative staphylococci as a cause of mastitis in dairy animals: an environmental hazard. Int J Vet Sci Med 1(2):74-78. doi: 10.1016/j.ijvsm.2013.-05.006
26. Escobar, F., Ferro, F., Rocha, N., & Leon, A. 2020. Seminario Internacional “resistencia a antibióticos”: Amenaza global a la salud pública - Universidad Nacional del Altiplano, Puno Perú. Revista de Investigaciones Altoandinas, 22(1), 7-24. <https://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.529>. Extraído de:

- [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2313-29572020000100007](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2313-29572020000100007)
27. Escobedo, I. 1998. Prevalencia de Mastitis Subclínica por recuento de Células Somáticas en hatos lecheros Brown Swiss de Puno y Juliaca. Tesis FMVZUNA-Puno.
  28. FAO. 2022. Resistencia a los antimicrobianos. Animal Health. FAO. República Democrática Popular Lao. <https://doi.org/10.4060/cb9344es>.
  29. Fernández, O., Trujillo, J., Peña, J., Cerquera, J., Granja, Y. 2012. Mastitis bovina: Generalidades y métodos de diagnóstico. REDVET. 13(11): 1- 11 pp. Extraído de: [https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infecciosas/bovinos\\_leche/78-mastitis.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/78-mastitis.pdf)
  30. García-Sánchez F., Sánchez-Santana T., López-Vigoa O., Benítez- Álvarez M. 2018. Prevalencia de mastitis subclínica y microorganismos asociados a esta. PAYFO 41: 35-40p.
  31. García C. 2012. Resistencia antibiótica en el Perú y América Latina. Acta med. Peruana. 29: 2.
  32. Gómez-Quispe O., Santivañez-Ballón C., Arauco-Villar F., Espezua-Flores O., Manrique-Meza J. 2015. Criterios de Interpretación para California Mastitis Test en el Diagnóstico de Mastitis Subclínica en Bovinos. Rev Inv Vet Perú. 26: 86-95.
  33. Green M., Bradley A., Newtonb H., & Browne W. (2006). Seasonal variation of bulk milk somatic cell counts in UK dairy herds. [Variación estacional de los recuentos de células somáticas en leche a granel en hatos lecheros de Reino Unido]. Prev Vet Med 74: 293-308. <https://doi: 10.1016/j.prevetmed.2005.12.005>

34. Greene R.T., Schwarz S., Small antibiotic resistance plasmids in *Staphylococcus intermedius*. 1992. *Zentralbl Bakteriol.* 276: 380-389 pp. Extraído de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1576407/>
35. Grazul M, Balcerczak E, Sienkiewicz M. 2023. Analysis of the Presence of the Virulence and Regulation Genes from *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) in Coagulase Negative Staphylococci and the Influence of the Staphylococcal Cross-Talk on Their Functions. *Int J Environ Res Public Health.* 20(6):5155. doi: 10.3390/ijerph20065155. PMID: 36982064; PMCID: PMC10049693.
36. Harmon R. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. [Fisiología de la mastitis y factores que afectan los recuentos de las células somáticas]. *Dairy Sci* 77: 2103-2112. [https://doi: 10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77153-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8)
37. Heikens, E., Fler, A., Paauw, A., Florijn, A., Fluit A. 2005. Comparison of Genotypic and Phenotypic Methods for Species-Level Identification of Clinical Isolates of Coagulase-Negative Staphylococci. *J.Clin. Microbiol.* 43(5): 2286 – 2290. doi:10.1128/jcm.43.5.2286-2290.2005
38. Hodges, R., Jones, Y., Holland, J. 1984. Characterisation of staphylococci associated with clinical and subclinical bovine mastitis. *New Zealand Veterinary Journal.* 32(9): 141–145. doi:10.1080/00480169.1984.35099
39. Hosseinzadeh S, Dastmalchi SH. 2014. Staphylococcal species associated with bovine mastitis in the North West of Iran: emerging of coagulase-negative staphylococci. *Int J Vet Sci Med* 2(1): 27-34. doi: 10.1016/j.ijvsm.2014.02.001 <https://core.ac.uk/download/pdf/82180788.pdf>
40. Insua, A., León-Gómez, D., Pérez-García, N., Ruiz-Gil, C., Kent, A., Álvarez-Herrera, I. 2020. Comportamiento de la mastitis bovina en hatos lecheros del sector campesino de la provincia Villa Clara, Cuba. *Revista de Salud Animal*, 42(3).

- Extraído de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2020000300007#f3](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2020000300007#f3)
41. Kruze, J. 1998. La rutina de ordeño y su rol en los programas de control de mastitis bovina. Arch. Med. Vet. 30(2) 07 – 16p. Extraído de: <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X1998000200001>
42. Kurt, S., Eski, F. 2021. Pathogen isolation and antibiogram analysis in dairy cows with clinical mastitis in Adana region, Turkey. Etlik Vet Mikrobiyol Derg, 2021; 32 (1): 20-26 doi: <https://doi.org/10.35864/evmd.906990>
43. Mamani R. 2014. Prevalencia y factores de riesgo de mastitis subclínica en vacunos Brown Swiss del distrito de Cupi - Melgar. Tesis de medicina veterinaria y zootecnia. Puno: Universidad Nacional del Altiplano - Puno. 56p.
44. Medleau L., Long R., Brown J., Miller W., Frequency and antimicrobial susceptibility of Staphylococcus species isolated from canine pyodermas. 1986. Am. J. Vet. Res. 47: 229-231 pp. Extraído de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3954195/>
45. MINAGRI. 2017. Estudio de la ganadería lechera en el Perú. Análisis de su estructura, dinámica y propuestas de desarrollo. MINAGRI 1: 84p.
46. Ministerio de Salud (MINSa). 2016. Resolución Ministerial N° 372- 2016. Norma Sanitaria que establece los límites Máximos de Residuos (LMR) de medicamentos veterinarios en alimentos de consumo humano. Extraído de: [http://www.digesa.minsa.gob.pe/NormasLegales/Normas/RM\\_372-2016-MINSA.pdf](http://www.digesa.minsa.gob.pe/NormasLegales/Normas/RM_372-2016-MINSA.pdf)
47. Moriano C., Gómez J., Gómez-Urviola N. 2020. Prevalencia de mastitis subclínica en bovinos criollos (*Bos taurus*) en el distrito de Pacobamba, Andahuaylas, Apurímac, Perú. AICA 15: 42-46.

48. Noble W., Kent L. 1992. Antibiotic resistance in *Staphylococcus intermedius* isolated from cases of pyoderma in the dog. *Vet. Dermatol.* 3: 71-74 pp. Extraído de: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-3164.1992.tb00147.x>
49. Organización Mundial de la Salud (OMS). 2019. Lista OMS de antimicrobianos de importancia crítica para la medicina Humana (Lista OMS de AIC). 13 de Noviembre del 2023. Extraído de: <file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/WHO-NMH-FOS-FZD-19.1-spa%20LISTA%20DE%20ANTIBIOTICOS%20CRITICOS.pdf>
50. Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2023. Resistencia a los antimicrobianos. 13 de Noviembre del 2023. Extraído de: <https://www.paho.org/es/temas/resistencia-antimicrobianos>
51. Organización Panamericana de la Salud (OPS), Organización Mundial de la Salud (OMS). 2023. Resistencia Antimicrobiana en la Producción Animal. 13 de Noviembre del 2023. Extraído de: <https://www.paho.org/es/panaftosa/resistencia-antimicrobiana-produccion-animal>
52. Ortiz Z., Vera A. 2006. Recuento de células somáticas en hatos lecheros de diferente nivel tecnológico en Arequipa. *Rev Inv Vet, Perú* 17: 104-107.
53. Osteras, O., Martin, S., Edge, V. 1999. Possible risk factors associated with penicillin resistant strains of *Staphylococcus aureus* from bovine subclinical mastitis in early lactation. *J Dairy Sci.* 2: 927-938 pp.
54. Paqui E. 2011. Prevalencia e identificación de agentes bacterianos causales de mastitis subclínica bovina en la microcuenca Allpachaka - 3500 msnm. - Ayacucho - 2008. Tesis de medicina veterinaria. Ayacucho: Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga. 77p.

55. Pedrozo, P., Torres, Ñ., López, R., Alonso, V., Valiente, O. 2021. Prevalencia de microorganismos y perfil de resistencia antimicrobiana en bovinos lecheros de Paraguay. *Rev. Vet.* 32 (1). <http://dx.doi.org/10.30972/vet.3215629>  
Extraído de: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1669-68402021000100025](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1669-68402021000100025)
56. Pellegrino, M., Frola, I., Odierno, L., Bogni, C. 2011. Mastitis Bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche. *REDVET.* 12 (7): 1 – 14 pp. Extraído de: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63622567006.pdf>
57. Philpot W, Nickerson S. 2000. Ganando la lucha contra la mastitis. Naperville: Wesfalia Surge. 192 p.
58. Pyörälä S, Taponen S. 2009. Coagulase- negative staphylococci-emerging mastitis pathogens. *Vet Microbiol* 34: 3- 8. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.09.015
59. Pinazo, M. 1986 Prevalencia de Mastitis bovina en el área programa I de la microrregión Melgar. Tesis FMVZ – Puno.
60. Procop, G. W. (2017). Koneman. Diagnóstico microbiológico (7th ed.). Burlington: Jones & Bartlett Learning, LLC. Retrieved from [https://ebookcentral.proquest.com/lib/\[SITE\\_ID\]/detail.action?docID=6331744](https://ebookcentral.proquest.com/lib/[SITE_ID]/detail.action?docID=6331744)
61. Quispe, R., Peña, G., Andía, V. 2021. Resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* aislados de leche de vacas con mastitis. *Rev. Vet.* 32: 79-83 pp. <http://dx.doi.org/10.30972/vet.3215640>. Extraído de: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1669-68402021000100079#f5](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1669-68402021000100079#f5)

62. Ramírez, N., Gaviria, G., Arroyave, O., Sierra, B., Benjumea, J. 2001. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Rev Col Cienc Pec* Vol. 14: 76- 87 pp. Extraído de: file:///C:/Users/USUARIO/Downloads/Dialnet-PrevalenciaDeMastitisEnVacasLecherasLactantesEnEIM-3243763.pdf
63. Ramírez, N., Fernández-Silva, J., & Palacio, L. 2018. Tasa de incidencia de mastitis clínica y susceptibilidad antibiótica de patógenos productores de mastitis en ganado lechero del norte de Antioquia, Colombia\*. *Rev. Med. Veterinario* (36): 75-87. <https://doi.org/10.19052/mv.5173>  
[http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-93542018000100075](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-93542018000100075)
64. Roberson, J., Fox, L., Hancock, D., Gay J. 1994. Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. *J. Dairy Sci.* 77: 3354-3364 pp.
65. Roberson, J., Fox, L., Hancock, D., Gay, J., Besser, T. 1996. Prevalence of coagulase-positive staphylococci, other than *Staphylococcus aureus*, in bovine mastitis. *Am J Vet Res.* 57(1): 54-8 pp. Extraído de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8720238/>
66. Rodríguez G. 2006. Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto económico en algunos hatos de la Sabana de Bogota, Colombia. *Rev Med Vet.* 12: 35-5 pp.
67. Roesch, M., G Doherr, M., Schären, W., Schällibaum, M., & Blum, J. (2007). Subclinical mastitis in dairy cows in Swiss organic and conventional production systems. [Mastitis subclínica en vacas lecheras en sistemas de producción orgánicos y convencionales suizos]. *Journal of Dairy Research*, 74(1), 86-92. <https://doi:10.1017/S002202990600210X>



68. Russi, N., Bantar, C., Calvinho, L. 2008. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* causante de mastitis bovina en hatos lecheros argentinos. Revista Argentina de Microbiología. 40: 116 – 119 pp. Extraído de: <http://www.scielo.org.ar/pdf/ram/v40n2/v40n2a11.pdf>
69. Ruiz, A., Gonzáles, D., Peña, J. 2012. Situación de la mastitis bovina en Cuba. REDVET. 13 (12): 1- 12. Extraído de: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63625154001.pdf>
70. Sánchez, D., Mamani, G. 2021. Mastitis subclínica bovina y factores de riesgo ambientales en pequeños productores de ganado lechero criado en alta montaña. [Tesis para obtener el grado de Médico Veterinario] Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
71. Santivañez-Ballón C., Gómez-Quispe O., Cárdenas-Villanueva Á., Escobedo-Enríquez M., Bustinza-Cardenas R., Peña-Sánchez J. 2013. Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos. ISSN. 7: 92-104.
72. Sampimon, O., Barkema, H., Berends, I., Sol, J., & Lam, T. 2009. Prevalence and herd-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in Dutch dairy herds. Veterinary Microbiology, 134(1-2), 37–44. doi:10.1016/j.vetmic.2008.09.010  
10.1016/j.vetmic.2008.09.010  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378113508003623>
73. Saran A., Chaffer M. 2000. Mastitis y Calidad de Leche. Buenos Aires. Edit. Intermedica. 9-61p.
74. Schreiner, D., & Ruegg, P. (2003). Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. [Relación entre puntajes de higiene de ubre y patas y mastitis

- subclínica]. *J Dairy Sci* 86: 3460-3465. [https://doi:10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73950-2](https://doi:10.3168/jds.S0022-0302(03)73950-2)
75. Schukken, Y., Gonzalez, R., Tikofsky, L., Schulte, H., Santisteban, C., Welcome, F., Bennett, G., Zurakowski, M., Zadoks, R. 2009. CNS mastitis: Nothing to worry about? *Veterinary Microbiology*, 134(1-2), 9–14. doi:10.1016/j.vetmic.2008.09.014 <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378113508003581>
76. Shahmohammadi, S., Sheikh, A., Shahin, M., Mir I. 2019. Evaluation of Antibiotic Susceptibility Pattern and Distribution of coa Genes in Coagulase-negative *S. aureus* from Ahvaz, Iran. *Infect Disord Drug Targets*; 19(4):383-387. doi: 10.2174/1871526518666180816101629. PMID: 30113003.
77. Shitandi, A. Sternesjö, Å. 2004. Prevalence of multidrug resistant *Staphylococcus aureus* in milk from large and small scale producers in Kenya. ***J. Dairy Sci.*** 87: 4145-4149. Extraído de:<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030204735572>
78. Sivadon, V., Rottman, M., Quincampoix, J., Avettand, V., Chaverot, S., De Mazancourt, P., Trieu-Cuot, P., Gaillard, J. 2004. Use of sodA sequencing for the identification of clinical isolates of coagulase-negative staphylococci. *Clinical Microbiology and Infection*. 10(10), 939–942. doi:10.1111/j.1469-0691.2004.00939.x
79. Skrypeck R., Wojtkowski J., Fahr R. (2004). Factors affecting somatic cell count in cow bulk tank milk - a case study from Poland. [Factores que afectan el recuento de células somáticas en la leche de vaca de tanque a granel - un estudio de caso de Polonia]. *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 51(3): 127-131. [https://doi: 10.1111/j.1439-0442.2004.00611.x](https://doi:10.1111/j.1439-0442.2004.00611.x)

80. Sol, J. 2002. Cure of *Staphylococcus aureus* mastitis in Dutch dairy cows. Ph.D. Thesis. Utrecht University, Utrecht, The Netherlands. doi:10.1016/j.vetmic.2008.09.010
81. Sordillo, L. M. (2018). Mammary Gland Immunobiology and Resistance to Mastitis. [Inmunología de la glándula mamaria y resistencia a la mastitis]. *Vet Clin Food Anim* 34 (2018) 507–523. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.07.005>
82. Tenhagen, B., Köster, G., Wallman, J., Heuwieser, W. 2006. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J Dairy Sci.* 89:2542-2551 pp.
83. Thorberg, B., & Brändström, B. 2000. Evaluation of Two Commercial Systems and a New Identification Scheme Based on Solid Substrates for Identifying Coagulase-Negative Staphylococci from Bovine Mastitis. *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 47(9), 683–691. doi:10.1046/j.1439-0450.2000.00399.x
84. Thorberg, B., Danielsson-Tham, M., Emanuelson, U., & Persson Waller, K. 2009. Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. *J Dairy Sci*, 92(10), 4962–4970. doi:10.3168/jds.2009-2184  
[www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030209708276](http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022030209708276)
85. Tikofsky, L. Barlow, J. Santisteban, C. Schukken, Y. 2003. A comparison of antimicrobial susceptibility patterns for *Staphylococcus aureus* in organic and conventional dairy herds. *Microb. Drug Resist.* 9: S39-S45.
86. Trujillo, C., Gallego, A., Ramírez, N., Palacio, L. 2010. Prevalencia de mastitis en siete hatos lecheros del oriente antioqueño. *Rev Colomb Cienc Pecu.* 24:11-18.  
Extraído de: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v24n1/v24n1a03.pdf>
87. Valero-Leal, K., Olivares, Y., Perozo, A., Valbuena, E., Boscán, L., Colina, G., & Briñez, W. (2010). Susceptibilidad a los agentes antimicrobianos en cepas de

- Staphylococcus aureus* aisladas en leche de bovinos con mastitis subclínica y leche de tanque. Rev. cient. 20(4), 367-376. Extraído de: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-22592010000400006&lng=es&tlng=es](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592010000400006&lng=es&tlng=es).
88. Velasquez C., Vega Jaime. 2012. Calidad de la leche y mastitis subclínica en establos de la provincia de Huaura, Lima. Rev. Inv Vet Perú. 23: 65-71.
89. Vandenesch, F., Bes, M., Lebeau, C., Greenland, T., Brun, Y., Etienne, J., Kibbler, C. 1993. Coagulase negative *Staphylococcus aureus*. The Lancet, 342(8877), 995–996. doi:10.1016/0140-6736(93)92045-u
90. Watts, J., & Owens, W. 1989. Prevalence of staphylococcal species in four dairy herds. Research in Veterinary Science. Volume 46: 1-4. ISSN 0034-5288. [https://doi.org/10.1016/S0034-5288\(18\)31107](https://doi.org/10.1016/S0034-5288(18)31107)  
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S003452881831107X>
91. Wellenberg G., Van W., Van J. 2002. Viral infections and bovine mastitis: A review. [Infecciones virales y mastitis bovina: un.a revisión] Vet Microbiol 88(1): 27-45. [https://doi: 10.1016/s0378-1135\(02\)00098-6](https://doi:10.1016/s0378-1135(02)00098-6).
92. Werckenthin, Ch. Cardoso, M. Martel, J. Schwarz, S. 2001. Antimicrobial resistance in staphylococci from animals with reference to bovine *Staphylococcus aureus*, porcine *Staphylococcus hyicus*, and canine *Staphylococcus intermedius*. Vet. Res. 32: 341-362 pp. Extraído de: <https://www.vetres.org/articles/vetres/pdf/2001/03/v1307.pdf>
93. Zadoks, R., & Watts, J. 2009. Species identification of coagulase-negative staphylococci: Genotyping is superior to phenotyping. Veterinary Microbiology, 134(1-2), 20–28. doi:10.1016/j.vetmic.2008.09.012

## ANEXOS

### **Anexo 1: Interpretación de los resultados de la prueba de California de Mastitis**

*(CMT), tomado del estudio de Fernández (2012) sobre “Mastitis bovina:*

*Generalidades y métodos de diagnóstico”.*

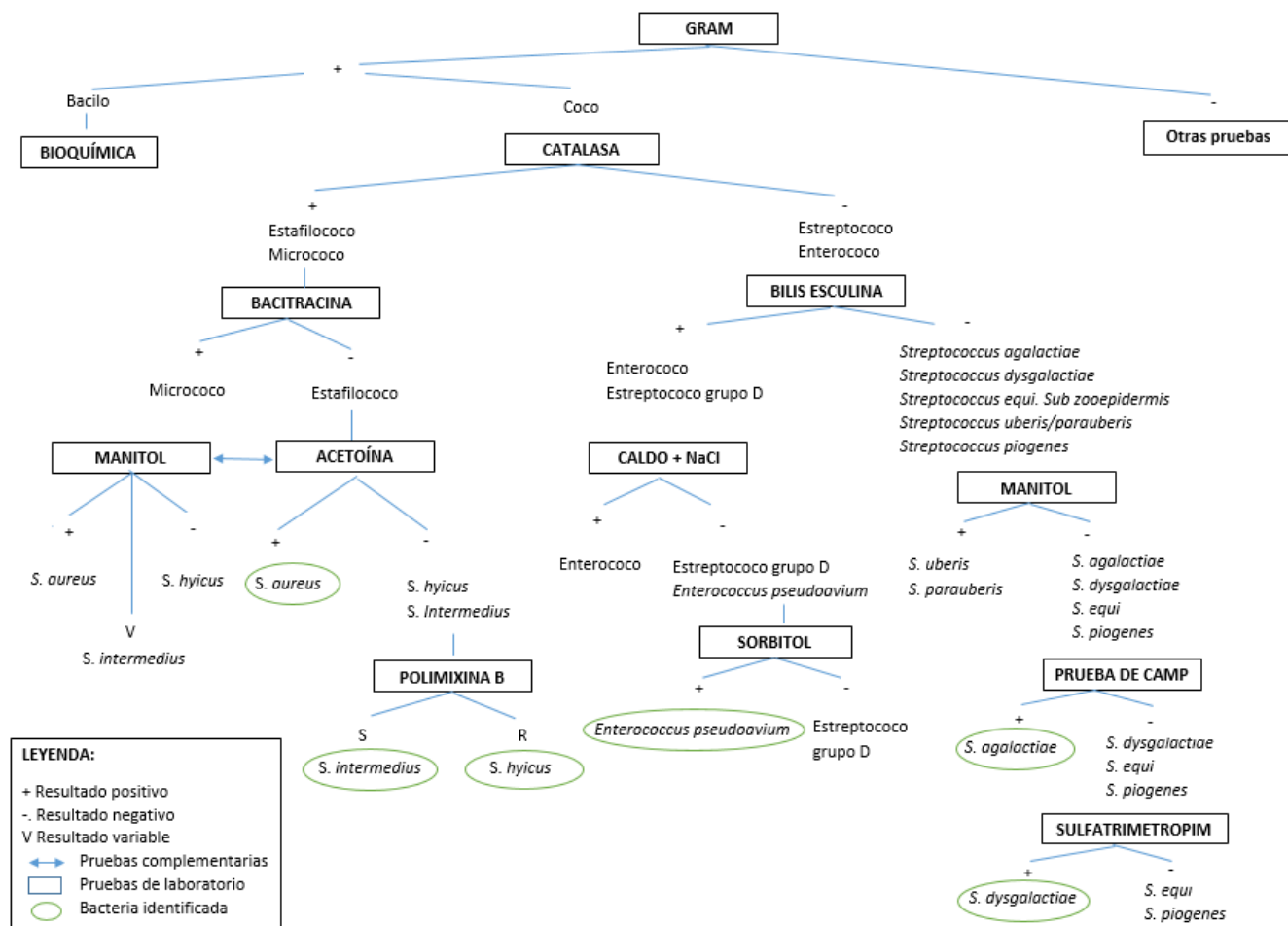
<b>INTERPRETACIÓN DEL CMT</b>			
<b>Score</b>	<b>Significado</b>	<b>Descripción de reacción</b>	<b>Interpretación (RCS /ml)</b>
N	Negativo	La mezcla permanece en estado líquido y homogéneo	0 – 200 000
T	Trazas	La viscosidad observada por primera vez tiende a desaparecer, la reacción es reversible.	150 000 – 500 000
1 cruz (+1)	Ligeramente positivo	La mezcla se espesa, pero no hay formación de gel en el medio de la paleta, la viscosidad tiende a persistir, la mezcla cae poco a poco a verterla.	400 000 – 1 500 000
2 cruces (2+)	Positivo	Se forma gel en el centro de la paleta durante la homogenización, se observa viscosa y se rompe al momento de verterla, puede dejar un poco de líquido en el pocillo.	800 000 – 5 000 000
3cruces (3+)	Muy positivo	Se forma gel en el fondo de la paleta y se adhiere al pocillo y al verterlo se cae en bloque sin dejar líquido en el pocillo	>5 000 000

*\*CMT: Test de Mastitis California*

*\* RCS: Recuento de células somáticas*

*Tomado de: Fernández (2012)*

**Anexo 2: Algoritmo de pruebas de identificación de agentes patógenos frecuentes de mastitis bovina, información recopilada de Procop (2017), en el libro de Diagnóstico microbiológico (Elaboración propia).**



**Anexo 3: Información recopilada del VET01S, VET04, VET06, M100 y el EUCAST, para la medición de halos de resistencia antibiótica de los Estafilococos, Streptococos, Enterococos y Enterobacterias. (Elaboración propia)**

Concentración	Antibióticos	Halos de resistencia (mm) para discos de difusión antibiótica											
		ESTAFILOCOCOS			ESTREPTOCOCOS			ENTEROCOCOS			ENTEROBACTERIAS		
		S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
30ug	Cefalexina	>22											
30ug	Oxitetraciclina	>26	15-25	<15									
25ug	Sulfatrimetropim	>16	11-15	<10	>19	16-18	<15			>16	11-15	<10	
10ug	Estreptomina	>15	14-12	<11	>14		<14	>14	<14	>15	12-14	<11	
30ug	Ceftazidima	>21	18-20	<17						>21	18-20	<17	
30ug	Ceftriaxona	>24			>24			>24		>23	20-22	<19	
5ug	Enrofloxacina	>23	17-22	<16									
30ug	Ceftiofur	>21	18-20	<17									
30ug	Amoxicilina 20 + Ac. Clavulánico 10	>20	-	<19				>10	<8	>18	14-17	<13	
30ug	Neomicina	>14											
10ug	Gentamicina	>15	13-14	<12						>15	13-14	<12	
10U	Penicilina	>29	-	<28	>20			>24					
30ug	Florfenicol	>18	13-17	<12						>18	13-17	<12	

**Anexo 4: Número de muestras tomadas por cada establo, en la realización de este estudio.**

<b>GRANJAS</b>	<b>n° ANIMALES</b>	<b>n° MUESTRAS</b>
1	10	0
2	21	5
3	16	7
4	19	7
5	9	2
6	5	3
7	8	3
8	3	0
9	8	1
10	9	4
11	18	10
12	8	3
13	15	2
14	22	14
<b>TOTAL</b>	<b>171</b>	<b>61</b>

**Anexo 5. Frecuencia (%) de patógenos bacterianos de mastitis subclínica en vacas**

*Brown Swiss (n° = 55 cepas).*

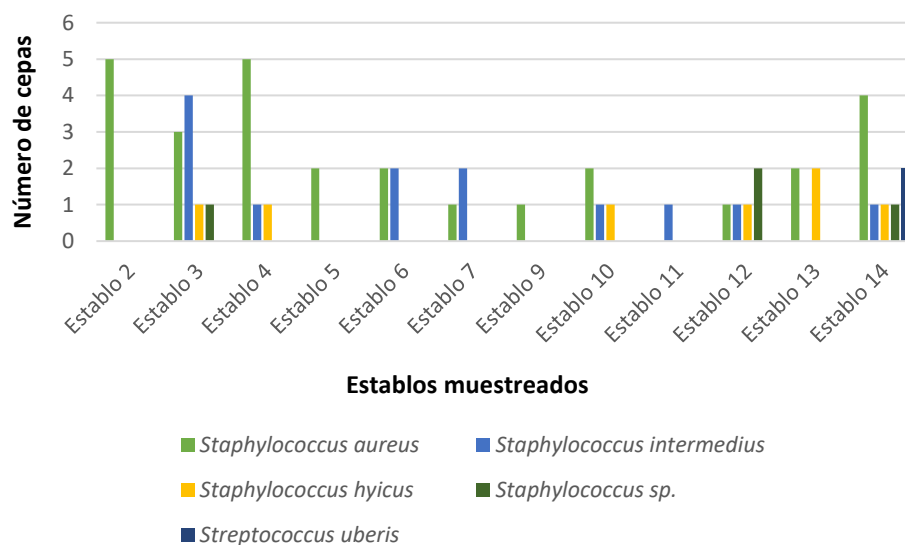
<b>BACTERIAS</b>	<b>n° CEPAS</b>	<b>%</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	52.7
<i>Staphylococcus intermedius</i>	13	23.6
<i>Staphylococcus hyicus</i>	7	12.7
<i>Staphylococcus sp.</i>	4	7.3
<i>Streptococcus uberis</i>	2	3.6
<b>TOTAL</b>	<b>55</b>	<b>100%</b>



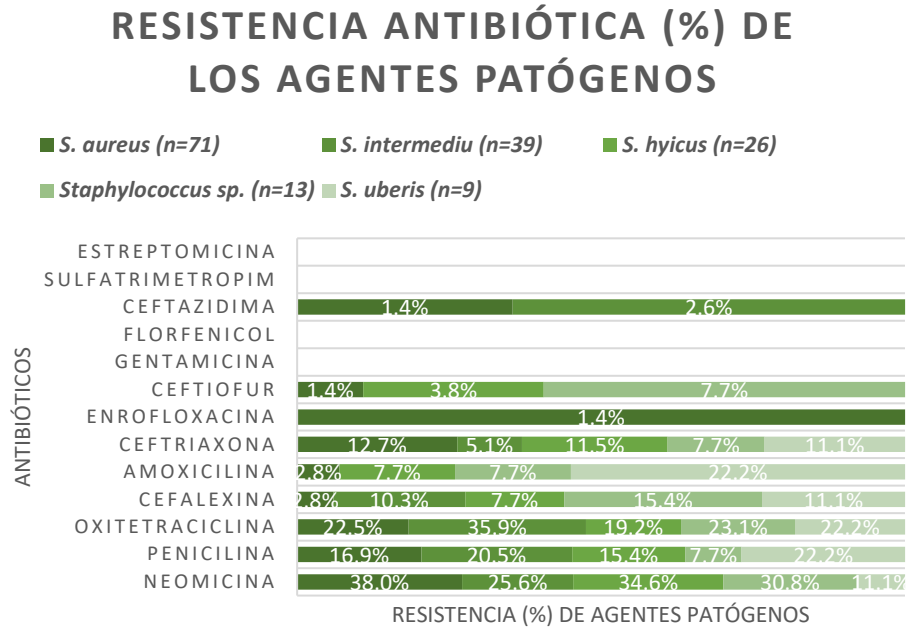
**Anexo 6. Frecuencia (%) de patógenos bacterianos de mastitis clínica en vacas  
Brown Swiss (n = 8 cepas)**

<b>BACTERIAS</b>	<b>n° CEPAS</b>	<b>%</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	50
<i>Staphylococcus intermedius</i>	2	25
<i>Staphylococcus hyicus</i>	2	25
<i>Staphylococcus sp.</i>	-	-
<i>Streptococcus uberis</i>	-	-
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100%</b>


**Anexo 7. Presencia de patógenos bacterianos aislados de mastitis subclínica según la  
ganadería visitada en Melgar, Puno.**



**Anexo 8. Resistencia antibiótica (%) de *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *Staphylococcus sp.* y *S. uberis* aislados de muestras de mastitis clínica y subclínica bovina. (n= número de resistencias encontradas respecto a todos los antibióticos)**



**Anexo 9: Instrumento de ficha de datos de los establos y animales que participaron en el estudio.**



UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA  
 Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Proyecto: "Frecuencia de patógenos bacterianos y de resistencia antibiótica en mastitis bovina de ganado Brown Swiss al pastoreo en Melgar, Puno"

Establo						Código				Fecha				Orden	
Código de vaca							Nombre								
Tipo de sala de ordeño															
Sala de ordeño		Provisional		Fijo		Ordeño manual									
Rutina de ordeño															
Pre sellador		Toalla individual		Toalla comunal											
Enjuaga la toalla		Seca los pezones		Despunte		Sellador									
Otros															
Antecedentes	Mastitis	Sí	No	Fecha	Dato										
	Otro				Tratamiento	Sí	No								
Observaciones															
Examen de Ubre	Cuartos mamarios														
	Anterior							Posterior							
	Izquierdo			Derecho				Izquierdo			Derecho				
Aspecto															
Temperatura															
Score suciedad															
Prueba fondo negro															
CMT															
Muestra															
Observaciones															

**Anexo 10. Instrumento de invitación a la investigación dirigido a los ganaderos de  
Melgar, Puno.**

24 de junio, versión 1



INVESTIGACIÓN

## MASTITIS EN GANADO VACUNO

MELGAR - PUNO

**Se parte de este estudio y contribuyamos al avance de la medicina veterinaria**

La Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, lo invita a participar en el estudio sobre mastitis en ganado vacuno, en el que se realizará el descarte de mastitis y como resultado podrá realizar un mejor manejo y tratamiento en sus animales.



**Descarte**

Realizaremos juntos la prueba de CMT y tondo negro que ayudará a diagnosticar las vacas enfermas...



**Asesoría**

Tomaremos muestras juntos para enviarlas al laboratorio y con los resultados podrás realizar un mejor tratamiento de tu ganado.



**Ayúdanos ...**

Con la correcta identificación de tus animales, con tus registros de producción de leche y registros de servicios y nacimientos.



UNIVERSIDAD PERUANA  
CAYETANO HEREDIA

**¡Contamos con tu participación!**

**Anexo 11. Algoritmo de la metodología del estudio, el estudio se realizó en dos fases, la fase 1 se realizó en Melgar, Puno, en 14 hatos de producción lechera donde se realizaron las pruebas de fondo negro, CMT y toma de muestras. La fase 2 se realizó en Lima, en el laboratorio de Nutrición e inocuidad Alimentaria de FAVEZ-UPCH, donde se llevó a cabo la identificación de los agentes patógenos, su resistencia antibiótica y análisis de datos.**

