



**UNIVERSIDAD MICHOACANA  
DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de Estafilococos aisladas  
de leche del bote de recepción de cabras con mastitis del municipio  
de Tanhuato Michoacán**

**TESIS**

**QUE PRESENTA:**

**Ismael Castillo Pineda**

Para obtener el título de:

**Médico Veterinario Zootecnista**

**Asesor: Maestro en Ciencias Biológicas.  
José Luis Carlos Bedolla Cedeño**

**Co-asesora: Química Fármaco Bióloga  
Rosalva Mejía Alfaro**

**Morelia, Michoacán. Febrero del 2015.**





# **UNIVERSIDAD MICHUACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO**

## **FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de Estafilococos aisladas  
de leche del bote de recepción de cabras con mastitis del municipio  
de Tanhuato Michoacán**

**TESIS**

**QUE PRESENTA:**

**PMVZ. Ismael Castillo Pineda**

**Para obtener el título de:**

**Médico Veterinario Zootecnista**

**Morelia, Michoacán. Febrero del 2015.**





La presente investigación titulada “Susceptibilidad antimicrobiana a cepas de Estafilococos aislados de leche del bote de recepción de cabras con mastitis del municipio de Tanhuato de Guerrero, Michoacán.”, forma parte del proyecto de investigación 14.10-2014. “Estudio sobre la susceptibilidad antimicrobiana de patógenos causantes de mastitis en el ganado caprino de Tanhuato y Yurecuaro Michoacán”, financiado por la Coordinación de la Investigación Científica de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.





## **Dedicatoria.**

A Mis Padres; Isidro Castillo Reyes y Elia Pineda Benítez, porque siempre me alentaron a seguir adelante y creyeron en mí a pesar de los obstáculos que el destino nos puso en este largo camino y a pesar de que parecía que caía, me sostuvieron con todas sus fuerzas.

A Todos Mis Hermanos, porque sin ellos y sin su apoyo, yo no sería nada, porque siempre me animaron a ver mas allá de las dificultades que había, y reiterarles, que mi sueño no acaba aquí, mi sueño, es regresarles un poco de lo mucho que ustedes me han dado.





## **Agradecimientos.**

A Dios, por darme esperanza, por darme salud y por darme paciencia y fuerzas para concluir mis estudios.

A Mis Padres, por haberme dado la vida y darme el ejemplo para hacer de mí una persona con buenos valores.

A Mi Esposa Lizbeth Mariano Mariano y a mis hijos Isidro Castillo Mariano y Oscar Castillo Mariano, por aguantar las carencias que pudieron haber vivido durante este tiempo, acompañarme en la travesía de conseguir este sueño y porque siempre estuvieron a mi lado cuando más los necesite.

A Mis hermanos, por su apoyo tanto económico, como moral, por inspirarme a seguir mi sueño y porque nunca me dejaron solo.

Gracias a mi asesor de tesis; José Luis Carlos Bedolla Cedeño, por los consejos que me dio, por su paciencia al asesorarme y por permitirme ser parte de su grupo de trabajo en la presente investigación.

Gracias a mi co-asesora de tesis; Rosalva Mejía Alfaro, por brindarme sus conocimientos para sacar adelante esta tesis.





## ÍNDICE

|   |           |
|---|-----------|
| <b>RESUMEN.....</b>   | <b>1</b>  |
| <b>ABSTRACT.....</b>  | <b>2</b>  |
| <b>1.- INTRODUCCIÓN.....</b>  | <b>3</b>  |
| <b>2.- GLÁNDULA MAMARIA DE LAS CABRAS. ....</b>   | <b>4</b>  |
| <b>3.- TIPOS DE MASTITIS. ....</b>  | <b>5</b>  |
| 3.1.- Mastitis clínica.....   | 6         |
| 3.2.- Mastitis subclínica. ....   | 7         |
| <b>4.- AGENTES ETIOLÓGICOS CAUSANTES DE MASTITIS CAPRINA. ....</b>  | <b>9</b>  |
| 4.1.- Estafilococos. ....   | 10        |
| 4.2.- <i>Staphylococcus aureus</i> . ....   | 11        |
| 4.3.- Estafilococos Coagulasa Negativos (ECN).....  | 14        |
| 4.3.1.- <i>Staphylococcus caprae</i> .....  | 15        |
| 4.3.2.- <i>Staphylococcus epidermidis</i> .....   | 15        |
| 4.3.3.- <i>Staphylococcus chromogenes</i> . ....  | 16        |
| <b>5.- FÁRMACOS UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DE LA MASTITIS CAPRINA.....</b>  | <b>17</b> |
| 5.1.- Aminoglucósidos. ....   | 17        |
| 5.2.- Cefalosporinas.....   | 18        |
| 5.3.- Fenicoles. ....   | 18        |
| 5.4.- Macrólidos. ....  | 19        |
| 5.5.- Penicilinas. ....   | 19        |
| 5.6.- Quinolonas. ....  | 20        |
| 5.7.- Sulfamidinas-Trimetoprim. ....  | 21        |
| 5.8.- Tetraciclinas. ....   | 21        |
| <b>6.- DESVENTAJAS DE LOS ANTIMICROBIANOS EN SALUD PÚBLICA.....</b>   | <b>22</b> |
| <b>7.- MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA. ....</b>   | <b>23</b> |
| 7.1.- Inactivación del antibiótico por enzimas. ....  | 24        |
| 7.2.- Modificaciones bacterianas que impiden la llegada del antibiótico al punto diana.....                           | 24        |
| 7.3.- Alteración por parte de la bacteria de su punto diana, impidiendo o dificultando la acción del antibiótico..... | 24        |
| <b>8.- PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA. ....</b>   | <b>25</b> |





|  |           |
|--|-----------|
| 8.1.- Pruebas de difusión en gel de agar o método de Kirby – Bauer. ....         | 25        |
| 8.2.- Pruebas de dilución o concentraciones inhibitorias mínimas (C.I.M.). ....  | 26        |
| 8.2.1.- Sensible.....  | 27        |
| 8.2.2.- Intermedio.....  | 27        |
| 8.2.3.- Resistente.....  | 27        |
| <b>9.- OBJETIVOS.....</b>  | <b>29</b> |
| 9.1.- General. ....  | 29        |
| 9.2.- Particular.....  | 29        |
| <b>10.- MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>  | <b>30</b> |
| 10.1.- Ubicación del área de estudio.....  | 30        |
| 10.2.- Periodo de tiempo.....  | 30        |
| 10.3.- Métodos.....  | 30        |
| 10.4.-Procesamiento de las muestras de leche y aislamiento de los patógenos..... | 31        |
| 10.5.- Sensibilidad y resistencia a los antibióticos.....                        | 32        |
| 10.6.- Análisis estadístico.....   | 33        |
| <b>11.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>  | <b>34</b> |
| <b>12.- CONCLUSIÓN.....</b>  | <b>37</b> |
| <b>13.- LITERATURA CITADA.....</b>   | <b>38</b> |

### ÍNDICE DE CUADROS.

**Cuadro 1. Interpretación del diámetro de las zonas de inhibición para patógenos de interés veterinario. .... .32**

**Cuadro 2. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, aislada de leche del bote de recepción de rebaños lecheros, en el municipio de Tanhuato, Michoacán..... .35**

**Cuadro 3. Susceptibilidad antimicrobiana de ECN, aislada de leche del bote de recepción de rebaños lecheros, en el municipio de Tanhuato, Michoacán. . . . 36**





### RESUMEN.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la susceptibilidad antimicrobiana de cepas de Estafilococos aislados de leche del bote de recepción de cabras del municipio de Tanhuato, Michoacán. El presente estudio se realizó del 25 de mayo del 2014 al 17 de diciembre del 2014, con duración de 206 días. La identificación de los Estafilococos se llevó a cabo a través de su morfología colonial, prueba de Catalasa, tinción Gram, prueba de Coagulasa, prueba de Manitol, Gelatina y Hemólisis. La prueba de susceptibilidad antimicrobiana se llevó a cabo a través del método de difusión en disco en agar Mueller-Hinton. Se aislaron Estafilococos en 29 rebaños del municipio de Tanhuato, Michoacán, de los cuales 21 corresponden a *Staphylococcus aureus* (72.41%), y 8 desarrollos (27.58%) a Estafilococos Coagulasa Negativos (ECN) (*Staphylococcus epidermidis*). Para el caso del *Staphylococcus aureus*, la mayor resistencia se observó frente a Penicilina, Sulfametoxazol, Ampicilina y Eritromicina con 42.9%, 38.1%, 38.1%, 38.1% respectivamente, seguido por un 23.9% a Gentamicina, 19.1% a Cefotaxima y Ceftazidima. En cuanto a la susceptibilidad se observa en un 90.4% a Cefalotina, Tetraciclina y a Cefuroxima, seguido por Pefloxacina y Doxiciclina con un 85.7%. En el caso de los ECN se observó mayor resistencia frente a Trimetropim con 50%, Doxiciclina con 37.5%, Eritromicina, Ampicilina y Gentamicina con un 25.0% cada una, mientras que los mas susceptibles para los ECN fueron Tetraciclina, Penicilina y Cefalotina con el 100%, y Pefloxacina, Cefotaxima, Cefuroxima, Ceftazidima con el 87.5%. Se concluye que los aislamientos de *S. aureus* y *S. Epidermidis* (ECN), provenientes de leche del bote de recepción, muestran diferentes patrones de resistencia a antimicrobianos, muy relacionadas en algunos casos con las pocas posibilidades de exponer a los animales en producción a terapias antimicrobianas, disminuyendo la presión de selección bacteriana.

**Palabras Clave:** Mastitis, *Staphylococcus aureus*, Resistencia antimicrobiana, Estafilococos Coagulasa Negativos (ECN).





### ABSTRACT.

The aim of this study was to determine the antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from milk of goats receiving pot Township Tanhuato, Michoacán. The present study was conducted from May 25, 2014 to December 17, 2014, lasting 206 days. Identification of Staphylococci was conducted through its colony morphology, Catalase test, Gram staining, Coagulase test, test Mannitol, Gelatin and Hemolysis. The antimicrobial susceptibility testing was performed through the disk diffusion method on Mueller-Hinton agar. Staphylococcus were isolated in 29 herds in the town of Tanhuato, Michoacán, of which 21 correspond to *Staphylococcus aureus* (72.41%) and 8 developments (27.58%) Coagulase Negative Staphylococci to (ECN) (*Staphylococcus epidermidis*). In the case of *Staphylococcus aureus* was observed increased resistance against Penicillin, Sulfamethoxazole, Ampicillin and Erythromycin with 42.9%, 38.1%, 38.1%, 38.1% respectively, followed by 23.9% to Gentamicin, 19.1% Cefotaxime and Cefuroxime. Regarding the susceptibility observed in 90.4% to Cephalothin, Tetracycline and Cefuroxime, Pefloxacin and followed by 85.7% Doxycycline. In the case of ECN greater resistance to Trimethoprim was observed with 50%, 37.5% Doxycycline, Erythromycin, Ampicillin and Gentamicin with 25.0% each, whereas the more susceptible for ECN were Tetracycline, Penicillin and Cephalothin with 100%, and Pefloxacin, Cefotaxime, Cefuroxime, Cefotaxime with 87.5%. It is concluded that the isolates of *S. aureus* and *S. epidermidis* (ECN), milk pot from reception, show different patterns of antimicrobial resistance, closely related in some cases with little chance of exposing animals in production to antimicrobial therapy, reducing bacterial selection pressure .

**Keywords:** Mastitis, *Staphylococcus aureus*, antimicrobial resistance, Coagulase Negative Staphylococci (ECN).





### 1.- INTRODUCCIÓN.

La mastitis es considerada una enfermedad altamente prevaleciente en el ganado lechero, y es una de las más importantes que afecta mundialmente la industria lechera pues ocasiona pérdidas económicas fuertes a todos los productores de leche en el mundo debido a la disminución de la calidad y cantidad de leche producida y un aumento en los costos de tratamiento y servicios veterinarios, y pérdida de animales (Bedolla, 2011).

La mastitis es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria y es comúnmente una consecuencia de una infección microbiana causada por patógenos que penetran a la glándula a través del canal del pezón (Lacasse, 2008).

La reacción inflamatoria es un mecanismo de protección que sirve para: eliminar a los microorganismos, neutralizar sus toxinas y ayudar a reparar al tejido productor de leche para que la glándula mamaria vuelva a funcionar normalmente. La eliminación completa de la mastitis de un hato es imposible, sin embargo se puede reducir el número de nuevas infecciones y disminuir la duración de las infecciones (Rodríguez, 2012).

La contaminación de la leche con diferentes fármacos como son los antibióticos, es una secuela frecuente posterior al tratamiento o prevención de enfermedades que afectan a los animales de producción. Existen pérdidas evidentes si se retiran de la ordeña de manera muy estricta y sin datos específicos a los animales tratados con fármacos (Aires *et al*, 2007).

Por otro lado, la consecuencia de permitir la distribución de esos productos para la población, puede acarrear serios problemas de salud. Un claro ejemplo es la presencia de residuos antibióticos en la leche que puede inducir alergias y resistencias bacterianas; a otro nivel puede afectar los procesos de industrialización de la misma. Aunado a esto el aspecto que más temor causa es la incertidumbre de que aún no se





sabe cuáles y qué tan graves efectos tendrán los residuos de tantos fármacos ingeridos de manera crónica (Aires *et al*, 2007).

La producción caprina depende de por lo menos 5 variables: genética, nutrición, sanidad, reproducción y canales de comercialización. La ponderación que se asigne a cada una de estas variables repercute en los ingresos (Bedolla, 2010 b).

En zonas áridas y semiáridas de México el sistema de producción gira sobre la práctica de pastoreo y el éxito o fracaso depende de la fuerza de trabajo que el productor dedique a esta actividad concomitante a la disponibilidad de la vegetación para la nutrición de los caprinos, sin embargo, la correcta manipulación del resto de las variables determinará la optimización del ingreso (Bedolla, 2010 b).

## 2.- GLÁNDULA MAMARIA DE LAS CABRAS.

La glándula mamaria, es el órgano que en todos los mamíferos produce leche para alimentar a las crías durante los primeros meses o semanas de vida. Dos glándulas de situación inguinal. Cada pezón con un solo conducto y la piel cubierta de finos pelos (Bedolla, 2010 a).

Estas glándulas exocrinas son glándulas sudoríparas dilatadas y modificadas. Los elementos primarios de una glándula mamaria son los alvéolos (estructuras tubulares huecas de unos cuantos milímetros de longitud) recubiertos por células epiteliales y rodeados por células mioepiteliales. Estos alvéolos se reúnen formando grupos llamados lóbulos y cada uno de estos lóbulos posee un ducto lactífero que drena en los orificios del pezón. En las células mioepiteliales, que pueden contraerse de forma similar a las musculares, la leche es impelida desde los alvéolos, a través de los





ductos lactíferos hacia el pezón, donde se almacena en engrosamientos (senos) de los ductos. A medida que la cría comienza a succionar se inicia el “reflejo hormonal de relajación” y la leche se segrega a la boca (Bedolla, 2010 a).

La glándula mamaria de la cabra difiere con respecto a la de la vaca en que a cada lado hay solo una teta, un sistema de cisterna y un conducto; puede decirse, en una palabra, que una mitad de la mama caprina equivale a un cuarto de la glándula de una vaca (Arbiza, 1986).

Cada mitad de la ubre está situada a los lados y delante de la bolsa inguinal correspondiente. El esfínter alrededor del conducto estriado no es muy potente, de modo que su cierre se debe sobre todo a presencia de tejido elástico (Agraz, 1984).

La forma de la glándula mamaria es variada, pero predominan tres tipos; la semejante a una pera, la cual es la más común, pues se ha detectado en el 80% de las cabras y cuya leche ordeñable se halla en ese mismo porcentaje en la cisterna y en el pezón; la forma oval, que presenta pezones voluminosos separados del tejido glandular, y por último, la forma globular, similar a la ubre de las ovejas; el volumen de la cisterna en estas es menor que en las anteriores (Frandsen y Spurgeon, 1995).

Su función es la producción y secreción de leche (Agraz, 1984), y pueden ser extirpadas en cualquier época de la vida sin que se presente ningún trastorno.

### 3.- TIPOS DE MASTITIS.

La mastitis es una reacción inflamatoria del parénquima de la glándula mamaria que puede ser de naturaleza infecciosa, traumática o tóxica. (Wellenberg *et al*, 2002). Es una enfermedad de alta incidencia en el ganado lechero, y es una de las





enfermedades más importantes que afectan a la industria lechera del mundo (Bedolla, 2004). Se ha reconocido, durante algún tiempo, como la enfermedad más costosa en los hatos lecheros (Menzies y Ramanoon, 2001).

### 3.1.- Mastitis clínica.

Este tipo de mastitis a diferencia de la forma subclínica, se caracteriza por anormalidades visibles en la ubre o glándula mamaria, con formación de nódulos o zonas de endurecimiento, y cambios en la apariencia de la leche, pudiendo contener flóculos, o material purulento y puede estar descolorida esta misma (Buxadé, 1996; Shearer y Harris, 1992; Menzies, 2000; Menzies y Ramanoon, 2001).

La mastitis clínica es una anormalidad fácilmente observada por los granjeros en cualquiera de los dos casos: la leche y/o la ubre. Es un problema que subsiste en muchos hatos lecheros (Bedolla, 2010 a).

Se caracteriza por la tumefacción o dolor en la ubre, enrojecimiento, la leche presenta una apariencia anormal y, en algunos casos, hay aumento de la temperatura rectal, letargo, anorexia e incluso la muerte. Además, las bacterias están presentes en la leche, el rendimiento es reducido, y su contenido está alterado considerablemente (Buxadé, 1996).

En los casos clínicos subagudos los síntomas incluyen solamente alteraciones mínimas en la leche y el medio afectado como son coágulos, descamaciones, o secreción descolorida. El medio también puede estar hinchado y sensible. Sin embargo, en los casos clínicos sobreagudos o mastitis gangrenosa, lleva incluso a la muerte del animal (Shearer y Harris, 1992; Buxadé, 1996).





La mastitis clínica es una enfermedad costosa en las granjas lecheras de los Estados Unidos, con una tasa promedio de incidencia lactacional de 14.2% de acuerdo a un análisis retrospectivo de 62 reportes realizados (Smith *et al*, 2001).

### 3.2.- Mastitis subclínica.

La mastitis subclínica es una inflamación que no se detecta clínicamente pero que afecta de manera adversa la producción (Menzies, 2000; Menzies y Ramanan, 2001). Suele persistir entre lactaciones y, sin embargo, pasa desapercibida para el ganadero ya que la única manifestación es el descenso de la producción láctea. Solamente puede ser perceptible por la medición del contenido de células somáticas (células epiteliales y blancas de la sangre) de la leche, por ello, este tipo de mastitis son las que producen mayores pérdidas económicas (Shearer y Harris, 1992; Buxadé, 1996).

La mastitis subclínica es definida como la presencia de un microorganismo en combinación con un conteo elevado de células somáticas de la leche. Un conteo elevado de células en la leche indica mastitis subclínica (Bedolla, 2004). Este tipo de mastitis no presenta cambios visibles en la leche o ubre. Se caracteriza por el reducido rendimiento de leche, composición alterada de la leche y la presencia de componentes inflamatorios y bacterias en la leche (Buxadé, 1996).

Esta forma de la enfermedad es importante por las siguientes razones:

- Es 15 a 40 veces más frecuente que la forma clínica.
- Es de larga duración.
- Es difícil de detectar.
- Reduce la producción de leche.





- Afecta la calidad de la leche.

También es importante porque constituye un reservorio de los microorganismos que conducen a la infección de otros animales dentro del rebaño (Shearer y Harris, 1992).

Cuando los signos no son visibles, la presencia de patógenos y las modificaciones citológicas de la leche traen como resultado una mastitis subclínica, por lo que las técnicas de laboratorio como la medición del conteo de células somáticas y el cultivo bacteriológico son necesarios para detectar inflamación e infección (Bedolla, 2010).

La mastitis, particularmente subclínica y crónica, es la más persistente y más común del grupo de enfermedades de importancia por la higiene de la leche en el ganado lechero. La mastitis subclínica ocurre frecuentemente, y puede conducir a grandes pérdidas económicas debido al reducido rendimiento de leche, y multas a causa de los elevados conteos de células somáticas presentes en los tanques de leche. En la práctica, los casos de mastitis subclínica con frecuencia no son detectados rápidamente, o pueden incluso no ser reconocidas por el ordeñador (Wellenberg *et al*, 2002).

Cuando los signos no son visibles, la presencia de patógenos y las modificaciones citológicas de la leche traen como resultado una mastitis subclínica (Djabri *et al*, 2002) por lo que las técnicas de laboratorio como la medición del conteo de células somáticas y el cultivo bacteriológico son necesarios para detectar inflamación e infección (Wellenberg *et al*, 2002).

El Contenido de Células Somáticas (CCS) se designa a células del propio organismo, que pasan a la leche procedente de la sangre y del tejido glandular. El Conteo de Células Somáticas en la leche nos permite conocer el estado funcional y salud de la glándula mamaria en periodo lactante debido a su estrecha relación con su composición de la leche (Wolter *et al*, 2004).

La leche de una ubre sana presenta pocas células somáticas, en este caso se trata de células de tejido epitelial y células inmunes, (neutrófilos pilimorfonucleares,





granulocitos, macrófagos, linfocitos) la importancia biológica de las células somáticas es que participan en la defensa de la ubre, cuando hay estímulos, por tacto o enfermedades de la glándula mamaria, aumenta considerablemente el número de células somáticas (Wolter *et al*, 2004).

#### 4.- AGENTES ETIOLÓGICOS CAUSANTES DE MASTITIS CAPRINA.

Los agentes etiológicos causantes de la mastitis caprina son numerosos, con diferente poder patógeno y diferentes mecanismos de penetración a la ubre en función de su hábitat, pudiéndose distinguir entre patógenos contagiosos o mamarios que son los que se transmiten de glándulas infectadas a glándulas sanas a través del ordeño, haciendo difícil su erradicación, y los patógenos ambientales, que viven habitualmente en camas, agua y estiércol como las enterobacterias y enterococos, que suelen penetrar a la ubre en los periodos entre ordeños, cuando el animal se echa y entra en contacto con el estiércol o la cama contaminada por lo que la transmisión en los periodos entre ordeños adquiere especial relevancia y las medidas de bioseguridad son básicas para su prevención y/o control (Clavijo *et al*, 2002).

Debido a lo anterior, un gran número de estos microorganismos han sido asociados con la mastitis subclínica y clínica en las cabras. Entre ellos están los estafilococos, tanto coagulasa positivos como coagulasa negativos, los estreptococos: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Pasteurella haemolytica*, *Escherichia coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Corynebacterium spp.*, *Bacillus spp.*, *Mycoplasmas* (*M. agalactiae*, *M. mycoides* y *M. capricolum*) y el virus de la artritis encefalitis caprina (Clavijo *et al*, 2002).





Un atributo común a casi todos ellos es la capacidad de colonizar el canal del pezón a través del cual tienen acceso a la glándula. Por lo que las técnicas de ordeño inadecuadas y la pobre higiene durante el mismo son factores que favorecen la infección (Pengov, 2001).

### 4.1.- Estafilococos.

Los estafilococos, son cocos Gram positivos (de 0.5 a 1.5 um de diámetro) que se presentan sueltos, en parejas, en pequeñas cadenas (de 3 a 4 células) y más característicamente en grupos irregulares en forma de racimos. Son anaerobios facultativos, catalasa positivos, generalmente oxidasa negativos, no esporulados, inmóviles y generalmente no forman cápsula o tienen una limitada formación cápsular. Son las bacterias más prevalentes en la cabra y comúnmente aislada en las mastitis subclínicas (Aires *et al*, 2007).

Los estafilococos, según produzcan o no la enzima coagulasa, se clasifican en dos grupos: Estafilococos Coagulasa Positivos (ECP) y Estafilococos Coagulasa Negativos (ECN). Existe una buena correlación entre la producción de coagulasa y la capacidad patógena de los estafilococos, de tal manera que, en general, se considera que los ECP son patógenos y que los ECN no lo son (Clavijo *et al*, 2002).

En el grupo de Estafilococos Coagulasa Positivos se incluyen al *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus aureus*. Estas especies producen procesos patológicos en los animales (Pengov, 2001).

En el grupo de los Estafilococos Coagulasa Negativos (ECN), se incluyen un numeroso grupo de especies que se caracterizan, como su nombre lo indica, por no producir coagulasa. Las especies que se presentan en los animales domésticos carecen de clumping factor, no producen ADNasa termoestable en que algunos





pueden mostrar actividad hemolítica, ésta suele aparecer lentamente y ser débil (Aires *et al*, 2007).

### 4.2.- *Staphylococcus aureus*.

El *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), es uno de los más importantes agentes etiológicos causante de mastitis contagiosa en cabras, vacas y ovejas. La especie aislada con mayor frecuencia en los casos clínicos y subclínicos y es de manera consistente una de las cuatro causas principales de infecciones nosocomiales, junto con *Escherichia coli*, *Enterococcus fecalis* y *Pseudomonaa aeruginosa* (Bergonier, 2003; Zeconni *et al*, 2006; Aires *et al*, 2007).

La prevalencia de infecciones intramamarias causadas por *S. aureus* en cabras va de 5.6 a 17% y entre 5 y 11% de los casos clínicos de mastitis en ovinos (Aires *et al*, 2007).

La mastitis causada por *S. aureus* es una de las infecciones más importantes que afecta tanto a la calidad como la cantidad de la producción de leche. En pocas palabras, es el patógeno más significativo que causa infecciones intramamarias en el ganado lechero en todo el mundo (Zadoks *et al*, 2000; Boerlin *et al*, 2003).

Vive dentro o fuera de la ubre, en la piel del pezón y puede causar tanto mastitis clínica como subclínica. Generalmente se desempeña de la misma forma que el *Streptococcus agalactiae* y es considerado el responsable del 30 al 40% de todas las infecciones. La infección tiende a producir cicatrices que resultan en casos de infección encerradas en la ubre que son difíciles de alcanzar por los antibióticos. Los sacos que se forman pueden romperse y abrirse a otras partes de la glándula más tarde (Bergonier, 2003).





Se transmite con gran facilidad entre los animales, de modo que en un rebaño libre de la infección la entrada de una cabra infectada se traduce en una rápida expansión de mastitis, sobre todo si no se realiza adecuadamente la detección y ordeño, aparte de animales infectados. Algunos autores indican que, en casi todos los rebaños infectados por este patógeno, son una, dos o como mucho tres cepas las responsables de todas las infecciones (Larsen *et al*, 2000; Joo *et al*, 2001).

El *S. aureus* es un germen ubicuo, capaz de contaminar diferentes superficies y se aísla fácilmente de la piel y mucosas de animales sanos, incluyendo los humanos. Sin embargo, en ganado caprino, aunque pueda ser considerado un “patógeno mayor” por el considerable aumento de los RCS que provoca, la experiencia nos indica que es un patógeno poco prevalente y con escasa capacidad para transmitirse entre cabras, puesto que en los rebaños en los que está presente apenas suele haber unos pocos animales infectados, a pesar de que la detección precoz de animales infectados, mediante RCS o CMT periódicos, y el orden de ordeño no son prácticas habituales (Contreras *et al*, 1995).

El *S. aureus*, puede producir una amplia gama de toxinas y enzimas extracelulares, de las cuales depende su virulencia y que pueden contribuir a la patogénesis de la mastitis (Takeuchi *et al*, 2001; Rainard *et al*, 2003; Vadillo *et al*, 2002).

Su hábitat natural es en la piel y en las membranas mucosas de los mamíferos (Vadillo *et al*, 2002) y es capaz de vivir en el interior de las células como los macrófagos, los PMN2 (leucocitos polimorfonucleares) y las células epiteliales, asimismo, es un organismo bastante resistente capaz de vivir fuera de la glándula mamaria en sitios como en los paños para secar la ubre, en las manos del ordeñador y en la piel de los pezones (Blowey y Edmondson, 1999).

A pesar de los mecanismos de defensa adecuados y la terapéutica antimicrobiana, este microorganismo tiene la capacidad de colonizar el epitelio y el canal del pezón (Almeida *et al*, 1996).





La máquina de ordeña, las toallas o las manos del ordeñador transmiten la bacteria de una glándula infectada a una sana. Mediante algunos de los factores de patogenicidad de la bacteria, son eliminados los mecanismos de defensa de la ubre, por ello este patógeno tiene presencia y se elimina en la leche por muy largo tiempo. Algunos de los cúmulos de las bacterias son rodeados por células inmunes en las células alveolares, si bien no se presenta una eliminación muy efectiva de las bacterias (Radostits *et al*, 2002).

Mediante la eliminación del tejido, especialmente la del epitelio alveolar, se presenta una proliferación más o menos fuerte del tejido de la ubre, de esta forma se hacen nódulos, los cuales contienen bacterias vivas que pueden posteriormente salir del medio afectado y empiezan nuevamente a eliminar bacterias, por lo que representa un peligro para los cuartos sanos no afectados (Radostits *et al*, 2002).

Las infecciones por *S. aureus*, un patógeno coagulasa positivo, difiere de otros estafilococos porque este es un patógeno contagioso que se disemina de cabra a cabra. Es el más común de los patógenos contagiosos en los hatos lecheros y contribuye en las pérdidas de leche, disminución de la calidad de la leche, y en las infecciones crónicas (Sears y McCarthy, 2003).

Al *S. aureus*, que es considerado el patógeno más importante causante de mastitis en la mayoría de los rebaños caprinos, generalmente también se le ha asociado con la mastitis gangreno gaseosa, la cual se presenta a consecuencia de una mastitis en la que hay trombosis de vasos mamarios, habiendo infarto o hiperemia pasiva local aguda en la ubre. Que es una secuela de la mastitis aguda como consecuencia de un traumatismo de la ubre o del ectima contagioso (Agraz, 1984).

En los casos especialmente graves de la infección puede progresar a una gangrena, la cual se caracteriza por la presencia de una secreción acuosa, de color rojo oscuro, que puede ir acompañada de burbujas de gas resultante de una infección secundaria con la formación de los organismos de gas por lo que la muerte puede ser inmediata o





puede ocurrir después de varios días si no se implanta un tratamiento rápido y eficaz (Agraz, 1984; Arbiza, 1986).

### 4.3.- Estafilococos Coagulasa Negativos (ECN).

Los estafilococos más involucrados en las mastitis subclínicas caprinas son los estafilococos coagulasa negativos, que si bien son menos patógenos que *S. aureus*, también pueden producir mastitis subclínicas persistentes e incluso mamitis clínicas, así como producir enterotoxinas termoestables (Contreras *et al*, 1985).

El carácter oportunista de los ECN se manifiesta en que su prevalencia aumenta ante las deficiencias en los sistemas de ordeño mecánico o de higiene del ordeño, principalmente la ausencia o uso incorrecto del baño de pezones tras el ordeño y esa deberá ser la principal atención del veterinario clínico ante la notificación de un elevado diagnóstico de mastitis por ECN (Contreras *et al*, 1985).

Los ECN son los organismos más prevalentes (en un 25 a 93% de las infecciones intramamarias) en la piel de la ubre, en el interior del canal del pezón, y en las glándula mamaria de las cabras lecheras. Varias especies de ECN son comúnmente detectadas en la leche de cabra y pueden causar frecuentemente infecciones subclínicas persistentes por varios meses, incluso durante el periodo seco. En contraste, en la lactancia de las hembras, los ECN han sido considerados patógenos menores de mastitis (Poutrel, 1984; East y Birnie, 1987; Bergonier *et al*, 2003).

Entre los ECN, el *Staphylococcus caprae*, es la especie más prevalente, seguida por el *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus chromogenes*, y el *Staphylococcus simulans*. El *Staphylococcus epidermidis* es el ECN asociado normalmente con elevados valores en el conteo de células somáticas (Deinhofer y Pernthaner, 1995; Contreras *et al*, 1999; Menzies y Ramanoon, 2001).





### 4.3.1.- *Staphylococcus caprae*.

Son muchas las especies de ECN que afectan al ganado caprino, provocando infecciones subclínicas persistentes con diferente grado de inflamación de la glándula, aunque el *Staphylococcus caprae* (*S. caprae*) es una de las más detectadas. Este patógeno, mayoritariamente asociado al ganado caprino desde su descripción, ha sido causa ocasional de mastitis clínicas y, frecuentemente, responsable de infecciones subclínicas persistentes en la cabra con ausencia de incremento de la respuesta celular (Poutrel *et al*, 1984; Contreras *et al*, 1995, Sánchez *et al*, 1998).

A pesar de la aparente especificidad de *S. caprae*, también ha sido aislado en las mastitis subclínicas ovinas determinando reacciones celulares detectables en la leche (Gonzalo *et al*, 1998; Pengov, 2001). Cabe señalar que *S. caprae* es un agente que se debe vigilar de cerca al haberse detectado en infecciones humanas, y parece que cada vez con más frecuencia, sobre todo en infecciones óseas y articulares relacionadas con intervenciones hospitalarias e inmunosupresión (Pengov, 2001).

### 4.3.2.- *Staphylococcus epidermidis*.

El *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) ha sido demostrado que eleva más los niveles en el conteo de células somáticas en las glándulas no infectadas y en las glándulas infectadas con otras especies de ECN, aunque la diferencia es poca (Menzies y Ramanan, 2001).

Durante años el *S. epidermidis* y otros Estafilococos Coagulasa Negativos se han aislado de la sangre de pacientes humanos hospitalizados, por lo que recientemente se ha demostrado que los Estafilococos Coagulasa Negativos pueden causar infecciones nosocomiales del torrente sanguíneo (Raad *et al*, 1998).





En Argentina, en un estudio realizado sobre tipificación de ECN de muestras de leche provenientes de mastitis clínica y subclínica, se encontró que el *S. epidermidis* resultó ser el patógeno más importante (Saran y Chaffer, 2000).

### 4.3.3.- *Staphylococcus chromogenes*.

El *Staphylococcus chromogenes* (*S. chromogenes*) es considerado un patógeno secundario de la mastitis bovina; sin embargo, muchos estudios recientes, han mostrado la importancia que ha adquirido en la infección de la glándula mamaria bovina. El *S. chromogenes* puede causar infecciones más severas que, en promedio, puede causar otra especie de estafilococos (Devriese *et al*, 2002), debido a que producen niveles altos de la enzima proteasa, por lo que se considera que es más virulento que otras especies de ECN (Zhang y Maddox, 2000).

En un estudio realizado por Zhang y Maddox, (2000); se encontró que no había ninguna diferencia significativa en los parámetros de inflamación entre una infección por *S. aureus* y una infección ocasionada por *S. chromogenes*, el cual es una especie que prevalece en las mastitis subclínicas, con un impacto bien establecido en el conteo de células somáticas (Devriese *et al*, 2002; Pengov, 2001).

Los *S. chromogenes* pueden colonizar la parte distal del canal del pezón en las hembras en lactación si no se utiliza sellador (Sears y McCarthy, 2003).





## 5.- FÁRMACOS UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DE LA MASTITIS CAPRINA.

Los antimicrobianos son sustancias producidas por fermentación de microorganismos o en forma sintética y que se utilizan para curar infecciones bacterianas, favorecen la recuperación de los animales enfermos y alivian el sufrimiento y las lesiones asociados con la enfermedad (Sumano y Ocampo, 1997).

El tratamiento de los animales con antibióticos debe tener una adecuada relación costo-beneficio, un claro ejemplo es el tratamiento de todas las glándulas mamarias de todas las vacas que finalizan lactación. Si bien existe una gran variedad de medidas de control de la enfermedad, la terapia con antibióticos desempeña un papel determinante en la eliminación de la mastitis bovina. La mayoría de las drogas antimicrobianas utilizadas son  $\beta$ -lactámicos, aminoglucósidos y macrólidos). La respuesta a estos antibióticos varía según el agente etiológico (Patiño, 2008; Pellegrino *et al*, 2011).

### 5.1.- Aminoglucósidos.

Se denominan así, por estar formados por aminoazúcares unidos por enlaces glucosídicos. Estos son captados activamente por la bacteria mediante un proceso que requiere condiciones aeróbicas. La resistencia bacteriana a estos antimicrobianos se desarrolla rápidamente y se produce como resultado de la modificación enzimática del fármaco en varios lugares. Un microorganismo resistente a un aminoglucósido puede ser todavía sensible a otro del mismo grupo. Tienen una rápida absorción por la vía intramuscular y subcutánea. Estos se distribuyen en los líquidos extracelulares, pero tienen una escasa acumulación en el líquido cefalorraquídeo. Se inactivan rápidamente en altas concentraciones de pus. Los de mayor uso son la Gentamicina,





Estreptomicina y Dihidroestreptomicina (derivado sintético de la estreptomicina) (Patiño, 2008).

### 5.2.- Cefalosporinas.

Este grupo está estrechamente relacionado con las penicilinas y tiene un núcleo 7-amino-cefalosporánico, siendo similar a su modo de acción, disposición fisiológica y toxicidad. Tienen una resistencia superior a la inactivación por las enzimas B-lactamasas producidas por los estafilococos. Inhiben la formación de la pared celular (Patiño, 2008).

Las cefalosporinas son antibióticos B-lactámicos bactericidas que tienen un efecto inhibitorio de la síntesis del mucopéptido de la pared celular, dando lugar a esferoplastos sin permeabilidad selectiva que se destruyen. Aunque no se sabe exactamente como sucede, se ha reconocido que las cefalosporinas se unen dentro de la pared y membrana celulares de la bacteria a varias enzimas denominadas Proteínas Fijadoras de Penicilinas (PEF) las cuales están asociadas las enzimas carboxipeptidasa y transpeptidasa responsables de la polimerización de los nucleótidos Park, unidades estructurales de la pared bacteriana constituida por ácido murámico (azúcar) y aminoácidos (alanina principalmente) (Sumano y Ocampo, 1997).

### 5.3.- Fenicoles.

Son compuestos bacteriostáticos de amplio espectro y presentan acción contra bacilos Gram-positivos y Gram-negativos. Actúa interfiriendo con la síntesis proteica mediante





el bloqueo de la síntesis en el ribosoma. Se combina competitivamente con la subunidad ribosómica 50S, bloqueando la entrada de aminoácidos en la cadena peptídica en desarrollo. La conjugación del cloranfenicol tiene lugar en el hígado y la eliminación es principalmente por vía urinaria. Actualmente la utilización del cloranfenicol está limitada en México y otras partes del mundo debido a los casos de reacciones tóxicas, provocando particularmente discrasias sanguíneas en humanos. Este compuesto inhibe el metabolismo microsomal del fármaco en el hígado y por lo tanto prolonga los efectos de otros fármacos, que normalmente son eliminados del organismo por oxidación. (Patiño, 2008).

### 5.4.- Macrólidos.

Este grupo de componentes antimicrobianos posee un gran anillo lactónico. Son activos contra la mayoría de los microorganismos Gram-positivos. La mayoría de los Macrólidos son bacteriostáticos, pero en altas concentraciones y contra determinadas bacterias pueden ser bactericidas. Su modo de acción es por interferencia con la síntesis proteica por alteración de los ribosomas bacterianos (Sumano y Ocampo, 1997).

### 5.5.- Penicilinas.

Se distribuyen en los líquidos extracelulares, incluyendo las articulaciones, los líquidos de las heridas, la glándula mamaria y el feto en el animal gestante. Sin embargo, cuando se administra parenteralmente no alcanza el líquido cefalorraquídeo ni el ojo. En general presenta eficacia para la mayoría de las bacterias Gram-positivas como los estafilococos. Su mecanismo de acción interfiere con la síntesis de la pared celular





bacteriana, siendo por tanto bactericida, es decir, interfiere con la síntesis de los polipéptidos necesarios para la pared celular y presenta su eficacia máxima contra las bacterias en rápido crecimiento. Presenta poco efecto contra las bacterias maduras que no están en división. Determinadas cepas de las bacterias estafilocócicas producen una penicilinas (B-lactamasa), que transforma la penicilina en ácido peniciloico inactivo. Este grupo de compuestos no son inactivados por la sangre, el pus, los autolisados tisulares, ni por un gran número de bacterias. En algunos casos se pueden observar reacciones de hipersensibilidad que van desde urticaria y prurito hasta anafilaxia aguda (Sumano y Ocampo, 1997).

### 5.6.- Quinolonas.

Son el grupo farmacológico de mayor desarrollo en la actualidad. Se distinguen tres generaciones con potencia antibacteriana y rasgos farmacológicos progresivamente mayores. Las bacterias resistentes a las Quinolonas aparecen en clínica como resultado de la terapia con estos agentes. Su efecto citotóxico depende de que penetren a través de la membrana bacteriana y alcancen su diana celular (DNA girasa o topoisomerasa IV) para inducir la muerte de la bacteria. En principio, las resistencias a las quinolonas puede deberse a mutaciones que afecten cualquier paso de este proceso. Así, los mecanismos de resistencia bacteriana a las Quinolonas pueden agruparse en tres categorías: a) Resistencia de tipo cromosómico que dan lugar a mutaciones en segmentos definidos de los genes que codifican la DNA girasa (especialmente en la subunidad A y la topoisomerasa IV, dando lugar a las QRDR (regiones-determinantes-de resistencia-a Quinolonas); b) Resistencia por alteraciones en la membrana externa bacteriana que disminuyen la presión intracelular del fármaco. Estas modificaciones se originan en alteraciones de los genes que codifican los canales de las purinas, lo que impide la entrada del quimioterápico en la bacteria; c) Resistencias basadas en la expulsión del antibacteriano desde el medio intracelular al





extracelular por acción de transportadores endógenos activos (Sumano y Ocampo, 1997; Patiño, 2008).

### 5.7.- Sulfamidinas-Trimetoprim.

Las sulfonamidas son ácidos débiles y moderadamente solubles. Actúan interfiriendo con la síntesis de ácido fólico a partir de ácido paraminobenzoico (PABA). Dado que las sulfonamidas actúan de esta forma, los gérmenes que pueden utilizar el ácido fólico transformado son insensibles. Ya que la síntesis de ácido fólico es necesaria para un rango amplio de bacterias, las sulfonamidas tienen un amplio espectro de acción. Su espectro incluye a bacterias Gram-positivas y Gram-negativas. La frecuente utilización previa de sulfonamidas ha dado lugar a muchos gérmenes resistentes. Para evitar la resistencia se ha utilizado exitosamente la incorporación de trimetoprim, que actúa sinérgicamente con la sulfonamida bloqueando la síntesis de ácido fólico, por tanto esta asociación es eficaz contra un amplio rango de gérmenes. También aumenta la potencia utilizando mezclas múltiples (generalmente 3) de sulfonamidas las cuales ya se encuentran disponibles comercialmente (Sumano y Ocampo, 1997; Patiño, 2008).

### 5.8.- Tetraciclinas.

Tienen el espectro más amplio que todos los antibióticos y actúa bien contra los cocos Gram-positivos. Actúan interfiriendo la síntesis proteica en la unidad ribosómica 30S, y en menor grado interfieren con la fosforilación oxidativa, con la oxidación de la glucosa y con permeabilidad de la membrana celular. Este grupo se distribuye ampliamente, atraviesan la placenta y alcanza el líquido cefalorraquídeo (Patiño, 2008).





### 6.- DESVENTAJAS DE LOS ANTIMICROBIANOS EN SALUD PÚBLICA.

Cada vez son más las pruebas científicas que relacionan la administración de antimicrobianos a los animales destinados al consumo y el desarrollo de resistencia de los agentes patógenos comunes (Patiño, 2008).

La resistencia de las bacterias a los antibióticos es un problema que tiene consecuencias para la salud animal y humana cuando los agentes patógenos se introducen en la cadena alimentaria. Grupos de expertos científicos tanto del Instituto de Medicina, la Sociedad Americana de Microbiología y la Organización Mundial de la Salud han expresado preocupación acerca del incremento global de las resistencias (Patiño, 2008).

En la pérdida de sensibilidad a un antibiótico intervienen varios factores. Las dos fuerzas principales son la prevalencia de genes de resistencia (que determinan proteínas que protegen a las bacterias de los efectos de los fármacos) y la difusión del uso de antibióticos. Si la flora bacteriana de una comunidad carece de genes que confieren resistencia contra un antibiótico, éste podrá eliminar con éxito toda la infección, pero si en la flora existen genes de resistencia y la comunidad hace uso persistente de un antibiótico, las bacterias que escapen a la erradicación por ese fármaco harán acto de presencia y proliferarán y además la resistencia puede propagarse a lugares distantes (Patiño, 2008).

Los antibióticos si bien son necesarios para el control de las infecciones bacterianas, pueden tener efectos indeseables sobre la ecología microbiana. Pudiendo producir cambios en las proporciones de las bacterias sensibles/resistentes a los antibióticos, tanto en el individuo sometido al tratamiento como en el medio y la comunidad en general (Ruiz *et al*, 2001).

La contaminación de la leche con diferentes fármacos como son antibióticos, antisépticos, promotores del crecimiento, etc., es una secuela frecuente posterior al





tratamiento o prevención de enfermedades que afectan a los animales de producción. Existen pérdidas evidentes si se retiran de la ordeña de manera muy estricta y sin datos específicos a los animales tratados con fármacos (Patiño, 2008).

Por otro lado, la consecuencia de permitir la distribución de esos productos para la población, puede acarrear serios problemas de salud. Un claro ejemplo es la presencia de residuos antibióticos en la leche, puede inducir alergias y resistencias bacterianas; a otro nivel puede afectar los procesos de industrialización de la misma. Aunado a esto el aspecto que más temor causa es la incertidumbre de que aun no se sabe cuáles y qué tan graves efectos tendrán los residuos de tantos fármacos ingeridos de manera crónica. Por ejemplo, se ha estimado que la presentación de anemia aplásica en humanos se puede inducir con tan solo 1 ppm de cloranfenicol presente en productos de origen animal (Patiño, 2008).

## 7.- MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANA.

Las bacterias, por su variada capacidad de adaptación, pueden desarrollar mecanismos de resistencia frente a los antibióticos. Existe una resistencia natural o intrínseca en las bacterias si carecen de diana para un antibiótico (como la falta de pared en el *Mycoplasma* en relación con los betalactámicos (Daza, 1998).

La resistencia adquirida es importante desde un punto de vista clínico debido a la modificación de la carga genética de la bacteria y puede aparecer por mutación cromosómica o por mecanismos de transferencia genética. La primera puede ir seguida de la selección de las mutantes resistentes, pero la resistencia transmisible es la más importante, estando mediada por plásmidos, transposones o integrones, que pueden pasar de una bacteria a otra (Daza, 1998).





Los mecanismos de resistencia de las bacterias son fundamentalmente tres:

### **7.1.- Inactivación del antibiótico por enzimas.**

La bacteria produce enzimas que inactivan al antibiótico; las más importantes son las betalactamasas y muchas bacterias son capaces de producirlas. En los gram positivos suelen ser plasmídicas, inducibles y extracelulares y en las Gram negativas de origen plasmídico o por transposones, constitutivas y periplásmicas. También hay enzimas modificantes de aminoglucósidos y aunque no es éste su principal mecanismo de resistencia, también el cloranfenicol, las tetraciclinas y los macrólidos pueden ser inactivados por enzimas (Daza, 1998).

### **7.2.- Modificaciones bacterianas que impiden la llegada del antibiótico al punto diana.**

Las bacterias producen mutaciones en las porinas de la pared que impiden la entrada de ciertos antibióticos (betalactámicos) o alteran los sistemas de transporte (aminoglucósidos en los anaerobios). En otras ocasiones pueden provocar la salida del antibiótico por un mecanismo de expulsión activa, impidiendo que se acumule en cantidad suficiente para que actúe eficazmente (Daza, 1998).

### **7.3.- Alteración por parte de la bacteria de su punto diana, impidiendo o dificultando la acción del antibiótico.**

Aquí se pueden mencionar las alteraciones a nivel del ADN girasa (resistencia de quinolonas), del ARNr 23S (macrólidos) de las enzimas PBPs (proteínas fijadoras de penicilina) necesarias para la formación de la pared celular (resistencia a betalactámicos) (Daza, 1998).





Una misma bacteria puede desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado por distintos mecanismos de diversas especies bacterianas, todo lo cual complica sobremanera el estudio de las resistencias de las bacterias a los distintos antimicrobianos (Daza, 1998).

### 8.- PRUEBAS DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA.

Los clínicos en cualquiera de las áreas de la salud, dependen ampliamente de los datos microbiológicos de laboratorio para el tratamiento de sus pacientes. Por esto la importancia de las pruebas de sensibilidad a antibióticos, ya que proveen una información valiosa para las decisiones terapéuticas; y deben ser realizados en condiciones óptimas para su eficiente interpretación (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999).

Algunas de éstas son las siguientes:

#### 8.1.- Pruebas de difusión en gel de agar o método de Kirby – Bauer.

Este método consiste en el cultivo de los agentes patógenos en medios apropiados para su crecimiento, en el cual se colocan antibióticos en discos que dependiendo de la concentración del antibiótico en este y de la sensibilidad del microorganismo al antimicrobiano, da como resultado zonas donde el crecimiento bacteriano es inhibido





luego de varias horas de incubación (National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1999). Este método da como resultado datos cualitativos ordinales (sensible, intermedio y resistente), dichos resultados son la conclusión de varias consideraciones como la especie de microorganismo, la clase de antibiótico, concentración del antibiótico en el disco, el halo de inhibición del crecimiento (medido en mm) (Bauer *et al*, 1996).

### 8.2.- Pruebas de dilución o concentraciones inhibitorias mínimas (C.I.M.).

La determinación de las Concentraciones Inhibitorias Mínimas (C.I.M.), para los patógenos específicos, provee datos, que conjuntamente con los parámetros farmacocinéticos de los agentes antibacteriales en el animal, permiten predecir la eficacia “in vivo” del compuesto en el tratamiento de una enfermedad específica. Aunque existen regímenes terapéuticos para muchos agentes antibacteriales utilizados en el tratamiento de infecciones intramamarias, la sensibilidad del germen puede variar de tal manera que es necesario replantear el esquema terapéutico; de acuerdo al patrón de sensibilidades desarrollado, y para esto las C.I.M. permiten a los veterinarios monitorear la sensibilidad antimicrobial de las cepas en los rebaños lecheros (Watts *et al*, 1995).

La selección de los antimicrobianos se hace teniendo en cuenta el microorganismo a evaluar y los diferentes grupos farmacológicos que serian de primera elección para la terapéutica (de acuerdo con el espectro) y los resultados de los C.I.M. que se reportan con criterios de interpretación definidos como: sensible, intermedio y resistente (Watts *et al*, 1995).





### 8.2.1.- Sensible.

Esta categoría aplica a las infecciones por cepas que pueden ser apropiadamente tratadas con dosis de antibióticos recomendadas para ese tipo de infección y especie infectada.

### 8.2.2.- Intermedio.

Ésta categoría incluye aislamientos bacteriales, evaluados con agentes antibacterianos, cuyas C.I.M. se aproximan a los niveles alcanzables en tejidos y sangre, y para los que la tasa de respuesta puede ser más baja que los de las cepas sensibles. La categoría intermedia implica aplicabilidad clínica en los sitios corporales en donde la droga es fisiológicamente concentrada (por ejemplo, Quinolonas y B-lactámicos en orina) o cuando altas dosis de la droga pueden ser usadas (por ejemplo B-lactámicos).

### 8.2.3.- Resistente.

Las cepas no son inhibidas por las concentraciones sistémicas usualmente alcanzables de un agente con régimen terapéutico normal y/o fallas atribuibles a mecanismos de resistencias (por ejemplo B-lactamasa) y cuya eficacia clínica no es confiable en estudios terapéuticos (National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1999).





## Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de Estafilococos.

---

La determinación de las Concentraciones Inhibitorias Mínimas es una prueba con mejor poder predictivo de la eficacia “in vivo” que las pruebas de difusión en gel de agar (Salomon *et al*, 1998).

Considerando pues lo anteriormente expuesto, el tratamiento de las mastitis caprina con antibióticos, es una práctica que debe hacerse con criterios profesionales debido a que son muchos los factores que intervienen no sólo para una eficiente terapéutica, sino también para la prevención en la generación de resistencia bacteriana y la presencia de residuos de antibióticos en leche, problemas que competen no sólo a la salud animal sino también a la salud humana. Por tales motivos el desarrollo de un programa de control efectivo requiere un extenso conocimiento de la epidemiología de la mastitis caprina, incluyendo la evaluación de la susceptibilidad a los antibióticos de los microorganismos aislados de la glándula mamaria, así como programas de prevención (Ruiz *et al*, 2001).





## **9.- OBJETIVOS.**

### **9.1.- General.**

Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de cepas de Estafilococos aislados de leche del bote de recepción de cabras del municipio de Tanhuato, Michoacán.

### **9.2.- Particular.**

Evaluar la resistencia antimicrobiana de las cepas de *Estafilococos aureus* aislados de leche del bote de recepción de cabras del municipio de Tanhuato, Michoacán.





## **10.- MATERIAL Y MÉTODOS.**

### **10.1.- Ubicación del área de estudio.**

La población objetivo fueron 49 unidades de producción a pequeña escala las cuales están ubicadas en el Municipio de Tanhuato de Guerrero, Michoacán, el cual se localiza al noroeste del estado de Michoacán, en las coordenadas 20°17' de latitud norte y 102°20' de longitud oeste, a una altura de 1,560 metros sobre el nivel del mar. Su distancia a la capital del estado es de 172 km. Su superficie es de 226.23 Km<sup>2</sup> y representa el 0.38 por ciento del total del Estado. Su clima es templado con lluvias en verano. Tiene una precipitación pluvial anual de 700 milímetros con temperaturas que oscilan entre 2.5° en invierno, hasta los 40.0° centígrados en verano (INEGI, 2002).

### **10.2.- Periodo de tiempo.**

El presente estudio se realizó en las fechas comprendidas del 25 de mayo del 2014 al 17 de diciembre del 2014, con duración de 206 días.

### **10.3.- Métodos.**

Al inicio el estudio comprendió la realización de un diagnóstico de la prevalencia de mastitis clínica y subclínica a través de un estudio observacional transversal, enseguida se llevó a cabo el aislamiento y caracterización de los agentes patógenos





(Estafilococos) causantes de la mastitis caprina en los rebaños lecheros en estudio; posteriormente se realizó un estudio longitudinal prospectivo, procesamiento de las muestras y realización de un antibiograma a través de la prueba de Muller-Hinton para determinar la susceptibilidad o resistencia de los agentes patógenos aislados.

El número de unidades de muestreo ( $n=49$  rebaños) se calculó con un modelo aleatorio con distribución proporcional en función de la caracterización del sistema de lechería a pequeña escala mediante componentes principales y conglomerados (Sánchez *et al*, 2004), partiendo de una prevalencia esperada de 84% de hatos con al menos una cabra con mastitis clínica y de 65% con mastitis subclínica, precisión del 10% y nivel de confianza de 95% (Raad *et al*, 1998). El muestreo al interior de los rebaños fue por conglomerado, es decir se tomó una muestra de leche del bote de recepción de cada unidad de producción.

Enseguida, se continuó con la toma de muestras de leche utilizando para ello tubos de ensayo esterilizados con tapón hermético en los cuales previamente se anotó la identificación necesaria del estable. El tubo de ensayo fue colocado inclinado para evitar la entrada de suciedad. La toma de muestra se hizo directamente de los tanques de almacenamiento de leche. El tubo de muestra se llenó con los dos tercios como máximo. Finalmente se colocaron los tubos con la muestra en una gradilla puesta en una hielera cerrada herméticamente para posteriormente ser transportadas al laboratorio de bacteriología de la USAD (Unidad de Servicios Auxiliares para el Diagnóstico) de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia para su refrigeración a 4°C y posteriormente para su procesamiento (Wolter *et al*, 2004).

### 10.4.-Procesamiento de las muestras de leche y aislamiento de los patógenos.

El procesamiento de las muestras de leche obtenidas se realizó el día del muestreo o al día siguiente. Las muestras fueron sembradas en Agar 110 estafilococos (Bioxon) y





## Susceptibilidad antimicrobiana de cepas de Estafilococos.

Agar sangre con azida (Bioxon). Enseguida, las placas de agar se incubaron a 37°C y se examinaron después de 24 y 48 horas. Los aislamientos fueron identificados a través de su morfología colonial, la tinción de Gram, la prueba de Catalasa, la prueba de Coagulasa, así como la prueba de Manitol y Gelatina.

### 10.5.- Sensibilidad y resistencia a los antibióticos.

Para las pruebas de sensibilidad y resistencia a los antimicrobianos por el método de difusión con disco, se utilizaron Multidiscos para bacterias Gram positivas (Bio-Rad) en medio Muller-Hinton según instrucciones del fabricante.

**Cuadro 1. Interpretación del diámetro de las zonas de inhibición para patógenos de interés veterinario.**

| Agente antimicrobiano            | Concentración | Zona de inhibición (mm) |            |            |
|----------------------------------|---------------|-------------------------|------------|------------|
|                                  |               | Sensible                | Intermedio | Resistente |
| Ampicilina (AM)                  | 10 µg         | ≥ 29                    | -          | ≤ 28       |
| Cefalotina (CF)                  | 30 µg         | ≥ 13                    | 11-12      | ≤ 10       |
| Cefotaxima (CTX)                 | 30 µg         | ≥ 13                    | 11-12      | ≤ 10       |
| Ceftazidima (CAZ)                | 30 µg         | ≥ 13                    | 11-12      | ≤ 10       |
| Cefuroxima (CXM)                 | 30 µg         | ≥ 13                    | 11-12      | ≤ 10       |
| Dicloxacilina (DC)               | 1 µg          | ≥ 13                    | 11-12      | ≤ 10       |
| Eritromicina (E)                 | 15 µg         | ≥ 29                    | -          | ≤ 28       |
| Gentamicina (GE)                 | 10 µg         | ≥ 29                    | -          | ≤ 28       |
| Pefloxacina (PEF)                | 5 µg          | ≥ 29                    | -          | ≤ 28       |
| Penicilina (PE)                  | 10 UI         | ≥ 29                    | -          | ≤ 28       |
| Tetraciclina (TE)                | 30 µg         | ≥ 29                    | -          | ≤ 28       |
| Trimetropim-Sulfametoxazol (SXT) | 25 µg         | ≥ 16                    | 11-15      | ≤ 10       |

\* Diámetros del halo de inhibición según BIO RAD (recomendaciones de la FDA y CLSI), 2012.





Para dichas bacterias se evaluaron los antimicrobianos presentes en el Cuadro 1. Las bacterias se incubaron a 37°C por 24 horas y los aislamientos se clasificaron en resistentes, intermedios, o susceptibles.

### 10.6.- Análisis estadístico.

Las variables a analizar son:

- Bacterias aisladas de las muestras de leche del bote de recepción de cabras.
- Sensibilidad antibiótica.
- Resistencia antimicrobiana.

Se realizó una distribución porcentual de las bacterias aisladas, para poder separar los grupos de bacterias que son significativamente más frecuentes.





## 11.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

De los 49 rebaños lecheros a los cuales se les tomaron muestras de leche de cabra del bote de recepción, se aislaron Estafilococos en 29 de los mismos en el municipio de Tanhuato de Guerrero, Michoacán, de los cuales 21 corresponden a *Staphylococcus aureus* (72.41%), y 8 desarrollos mas (27.58%) a Estafilococos Coagulasa Negativos (ECN) (*Staphylococcus epidermidis*).

Dichos resultados coinciden con lo planteado por Bedolla (2011) y Ayala (2009), los cuales reportaron al *Staphylococcus aureus* y a los ECN como los principales agentes etiológicos causantes de mastitis tanto subclínica como clínica, en las diferentes especies ganaderas destinadas a la producción de leche.

Así mismo de las 21 cepas de *Staphylococcus aureus* que se aislaron, el 100% de ellas presente una resistencia múltiple, es decir fueron resistentes a los 12 antimicrobianos probados, donde la mayor importancia es económica, que no solo estriba en la pérdida de leche, erogación en medicamentos, pérdida parcial y total de animales, problemas digestivos en la recría, disminución en el rendimiento de la leche, menor vida de anaquel en los productos (Ayala, 2009).

El cuadro 2 muestra los porcentajes de susceptibilidad y resistencia de *S. aureus* frente a los 12 antimicrobianos probados, en el cual la mayor resistencia se observó frente a Penicilina, Sulfametoxazol, Ampicilina y Eritromicina con 42.9%, 38.1%, 38.1%, 38.1% respectivamente, seguido por un 23.9% de resistencia a Gentamicina, 19.1% a Cefotaxima y Ceftazidima. En cuanto a la susceptibilidad se observa en un 90.4% a Cefalotina, Tetraciclina y a Cefuroxima, seguido por Pefloxacina y Doxiciclina con un 85.7%.





**Cuadro 2. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*, aislada de leche del bote de recepción de rebaños lecheros, en el municipio de Tanhuato, Michoacán.**

| <i>Staphylococcus aureus</i> (n=21) |    |      |   |   |   |      |
|-------------------------------------|----|------|---|---|---|------|
| Antibiótico                         | S  |      | I |   | R |      |
|                                     | n  | %    | n | % | n | %    |
| Penicilina                          | 12 | 57.1 | 0 | 0 | 9 | 42.9 |
| Trimetropim- Sulfametoxazol         | 13 | 61.9 | 0 | 0 | 8 | 38.1 |
| Ampicilina                          | 13 | 61.9 | 0 | 0 | 8 | 38.1 |
| Eritromicina                        | 13 | 61.9 | 0 | 0 | 8 | 38.1 |
| Cefotaxima                          | 17 | 80.9 | 0 | 0 | 4 | 19.1 |
| Gentamicina                         | 16 | 76.1 | 0 | 0 | 5 | 23.9 |
| Tetraciclina                        | 19 | 90.4 | 0 | 0 | 2 | 9.6  |
| Doxiciclina                         | 18 | 85.7 | 0 | 0 | 3 | 14.3 |
| Cefuroxima                          | 19 | 90.4 | 0 | 0 | 2 | 9.6  |
| Pefloxacina                         | 18 | 85.7 | 0 | 0 | 3 | 14.3 |
| Cefalotina                          | 19 | 90.4 | 0 | 0 | 2 | 9.6  |
| Ceftazidima                         | 17 | 80.9 | 0 | 0 | 4 | 19.1 |

Fuente. Investigación directa. 2014-2015.

Estos resultados se encuentran por debajo de lo reportado por Estrada (2013), quien reporto que las cepas de *S. aureus* en leche de tanque de recepción son resistentes en un 100%, 81.8% y 72.7% frente a Eritromicina, ampicilina y penicilina respectivamente. Pero, se encuentra por encima de lo reportado por Peles *et al*, (2007) en un estudio realizado en Hungría, quienes encontraron en cepas de *S. aureus* aisladas en leche de tanque un 20% de resistencia para penicilina.

Por otra parte la resistencia de las 8 cepas de Estafilococos Coagulasa Negativos (ECN) aislados (Cuadro 3), se observa que el 100% de estas fueron resistentes y susceptibles a la vez a los 12 antimicrobianos probados. Lo anterior concuerda con lo encontrado por Faria *et al*, (2005) que reporta que todos los aislamientos (51) fueron susceptibles a los 12 antimicrobianos probados.





**Cuadro 3. Susceptibilidad antimicrobiana de ECN, aislada de leche del bote de recepción de rebaños lecheros, en el municipio de Tanhuato, Michoacán.**

| Antibiótico                 | ECN (n=8) |      |   |   |   |      |
|-----------------------------|-----------|------|---|---|---|------|
|                             | S         |      | I |   | R |      |
|                             | n         | %    | n | % | n | %    |
| Trimetropim- Sulfametoxazol | 4         | 50.0 | 0 | 0 | 4 | 50.0 |
| Doxiciclina                 | 5         | 62.5 | 0 | 0 | 3 | 37.5 |
| Eritromicina                | 6         | 75.0 | 0 | 0 | 2 | 25.0 |
| Ampicilina                  | 6         | 75.0 | 0 | 0 | 2 | 25.0 |
| Cefotaxima                  | 7         | 87.5 | 0 | 0 | 1 | 12.5 |
| Cefuroxima                  | 7         | 87.5 | 0 | 0 | 1 | 12.5 |
| Pefloxacina                 | 7         | 87.5 | 0 | 0 | 1 | 12.5 |
| Gentamicina                 | 6         | 75.0 | 0 | 0 | 2 | 25.0 |
| Cefalotina                  | 8         | 100  | 0 | 0 | 0 | 0    |
| Penicilina                  | 8         | 100  | 0 | 0 | 0 | 0    |
| Ceftazidima                 | 7         | 87.5 | 0 | 0 | 1 | 12.5 |
| Tetraciclina                | 8         | 100  | 0 | 0 | 0 | 0    |

Fuente. Investigación directa. 2014-2015.

En el cuadro 3 se muestran los resultados de la prueba de sensibilidad de los ECN frente a los antimicrobianos probados. La mayor resistencia de los ECN se observó frente a Trimetropim con 50% y Doxiciclina con 37.5%, situación opuesta a la presentada por Estrada (2013), en el cual su estudio arrojó que la mayor resistencia se presenta para Eritromicina con 85.7% y Penicilina con 76.2%.

También se observó resistencia frente a Eritromicina, Ampicilina y Gentamicina con un 25.0% cada una, mientras que los más susceptibles para los ECN fueron Tetraciclina, Penicilina y Cefalotina con el 100%, y Pefloxacina, Cefotaxima, Cefuroxima, Ceftazidima con el 87.5%. Faria *et al*, 2005, describe que a estos antibióticos son sensibles la mayoría de los ECN in vitro.





## 12.- CONCLUSIÓN.

Se concluye que los aislamientos de *S. aureus* y *S. Epidermidis* (ECN), provenientes de leche del bote de recepción de cabras del municipio de Tanhuato, Michoacán, muestran diferentes patrones de resistencia a antimicrobianos, muy relacionadas en algunos casos con las pocas posibilidades de exponer a los animales en producción a terapias antimicrobianas, disminuyendo la presión de selección bacteriana.

Además con respecto a otros estudios, los resultados obtenidos difieren en cuanto a la resistencia de ciertos antimicrobianos, al presentar el *S. aureus* mayor resistencia para Penicilina, Sulfametoxazol, Ampicilina y Eritromicina, con valores que van por debajo de lo reportado por otros autores y para *S. epidermidis* los antimicrobianos con mayor resistencia fueron Trimetropim y Doxiciclina.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, se sugiere que a nivel nacional deberían implementarse, en un corto plazo, líneas de trabajo orientadas al control y disminución de la resistencia bacteriana, controlando el uso y distribución de estos fármacos y estableciendo una red de vigilancia permanente de la resistencia antimicrobiana en medicina veterinaria.





### 13.- LITERATURA CITADA.

Agraz, G. A. A. 1984. Caprinotecnia 3. Limusa. México. 2948-2964 pp.

Arbiza, A. S. 1986. Producción de Caprinos AGT EDITOR, S.A. 628/630 pp.

Aires, de S. M., Parente, C. E. S. R., Vieira, da M. O, Bonna, I. C. F., Silva D. A., Lencastre, H. 2007. Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolates from Buffalo, Bovine, Ovine, and Caprine Milk Samples Collected in Rio de Janeiro State, Brazil. Applied and environmental microbiology. 73(12): 3845-3849 pp.

Almeida, R. A., Matthews, K. R. E. Cifrian, A. J. Guidry, y Oliver, S. P. 1996. *Staphylococcus aureus* invasion of bovine mammary epithelial cells. J. Dairy Sci. 79:121-126 pp.

Ayala, M. A. 2009. Determinación de las bacterias más frecuentes causantes de mastitis subclínicas y sensibilidad ante antibióticos en cabras criollas del Municipio de Santa Apolonia, Chimaltenango. Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia. Universidad De San Carlos De Guatemala. Ciudad de Guatemala, Guatemala.

Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherrisj, C. 1996. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. American Journal Clinical Pathology. 45: 493 – 496 pp.





Bedolla, C. C. 2004. Métodos de detección de la mastitis bovina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Mimeo. 8 pp.

Bedolla, C. C. 2010a. Glándula mamaria de la cabra. Mimeo.FMVZ-UMSNH.18 pp.

Bedolla, C. C. 2010b. Etiología de la mastitis caprina. Mimeo. FMVZ-UMSNH. 34 pp.

Bedolla, G. E. A. 2011. Resistencia antibiótica de *Staphylococcus aureus* aislados de leche de vacas con mastitis de Tétraro, Michoacán. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán.

Bergonier, D. 2003. Mastitis of dairy small ruminants.Vet. Res. 34(5) 689 – 716 pp.

Blowey, R. y Edmonson, P. 1999. Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche. Acribia. Zaragoza. 208 pp.

Boerlin, P., Kuhnert, P., Hussy, D., Schaellibaum, P. 2003. Methods for identification for *Staphylococcus aureus* isolates in case of bovine mastitis. Journal of Clinical Microbiology. 41(2):767 a 771 pp.





Buxadé, C. C. 1996. Zootecnia. Bases de producción animal. Tomo IX. Producción Caprina. Mundi-Prensa. Madrid. 323-325 (336) pp.

Clavijo, A. M., Meléndez, B., Clavijo, M. L., Godoy, A. y Santander, J. 2002. Efecto del sistema de explotación sobre la aparición de mastitis caprina en dos fincas del estado Falcón, sus agentes etiológicos y la resistencia a antimicrobianos. Zootecnia Tropical., 20(3):383-395 pp.

Contreras, A., Corrales, J. C., Sierra, D., Marco, J. 1995. Prevalence and aetiology of non-clinical intramammary infection in murciano-granadina goats. Small Ruminants Research, 17, 71-78 pp.

Daza, P. R. M. 1998. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. 59-67 pp.

Deinhofer, M. y Pernthaner, A. 1995. *Staphylococcus* spp. as mastitis-related pathogens in goat milk. Veterinary Microbiology, 43, 161-166 pp.

Devriese, I. A., Baelea, M., Venechoutteb, A., Haesebroucka, M. F. 2002. Identification and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus chromogenes* isolates from intramammary infections of dairy cows. Vet Microbiol. 87: 1775-182 pp.





Djabri, B., Barielle, N., Beaudreau, F., Seegers, H. 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Vet. Res.* 33: 335-357 pp.

East, N. E. y Birnie, E. F. 1987. Disease of the udder, in: Symposium on sheep and goat medicine, *Vet. Clin. North Am. (Large Anim. Pract.)* 5: 591-600 pp.

Estrada, E. F. 2013. Susceptibilidad antimicrobiana de Estafilococos aislados de leche del bote de recepción, del ganado lechero en el municipio de Tarimbaro, Michoacán. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán.

Frandsen, R. y Spurgeon, D. 1995. Anatomía y Fisiología de los Animales Domésticos 5ª ed. editorial interamericana 560 pp.

Faría, R. J. F., Valero-Leal, K., D'Pool, G., García, A., Allara, M. 2005. Sensibilidad a los agentes antimicrobianos de algunos patógenos mastitogénicos aislados de leche de cuartos de bovinos mestizos doble propósito. *Rev. Científica. FCV-Luz. Maracaibo.* 15 (3): 227-234 pp.

Gonzalo, C., Ariznabarreta, A., Tardáguila, J. A., San Primitivo, F. 1998. Factores infecciosos de variación del recuento celular en la leche de oveja. *Ovis*, 56, 27- 34 pp.





INEGI. (Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática). 2002. Anuario Estadístico del Estado de Michoacán. Censo General de Población y Vivienda.

Joo, Y. S., Fox, L. K., Davis, W. C., Bohach, G. A., Park, Y. K. 2001. *Staphylococcus aureus* associated with intramammary glands of cows: genotyping to distinguish different strains among herds. *Veterinary Microbiology*, 80 (2), 131-138 pp.

Lacasse, P. 2008. Mammary tissue damage during bovine mastitis: causes and control. *J. Anim. Sci.* 86:57–65 pp.

Larsen, H. D., Sloth, K. H., Elsberg, C., Enevoldsen, C., Pedersen, L. H., Eriksen, N. H. R., Aarestrup, F. M., Jensen, N. E. 2000. The dynamics of *Staphylococcus aureus* intramammary infection in nine danish dairy herds. *Veterinary Microbiology*, 71, 89-101 pp.

Menzies, P. I. 2000. Mastitis of sheep - Overview of recent literature. Proceedings of the 6th Great Lakes, Dairy Sheep Symposium. November 2-4, Guelph, Ontario, Canada. 10 pp.

Menzies, P. I. y Ramanoon, S. Z. 2001. Mastitis of sheep and goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*. 17(2):333-358 pp.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). 1999. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Ninth Informational Supplement. M100-S9. 19 (1): 104 pp.





Patiño, S. N. 2008. Resistencia a antimicrobianos del *Staphylococcus aureus* en vacas lecheras con mastitis subclínica de tres municipios del estado de Michoacán. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Michoacán. 37 pp.

Pellegrino, M. S., Frola, I. D., Odierno, L. M., Bogni, C. I. 2011. Mastitis Bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche (Bovine Mastitis: Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* strains isolated from milk). Revista electrónica de Veterinaria. Volumen 12 N° 7.1-14 pp.

Pengov, A. 2001. The role of coagulase-negative *staphylococcus spp.* and associated somatic cell counts in the ovine mammary gland. Journal of Dairy Science, 84, 572–574 pp.

Poutrel, B. 1984. Udder infection of goats by coagulase-negative staphylococci. Vet. Microbiol. 9:13 pp.

Raad, I., Amin, A. y Kenmeth, R. 1998. *Staphylococcus epidermidis*: Emerging Resistance and Need for Alternative. 26 (May):1182-1185 pp.

Radostits, O. M., Gay, C. C., Blood, D. C. y Hinchcliff, K. W. 2002. Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino. 9a ed. Vol. 1. McGraw–Hill Interamericana. Madrid, España, pp. 711-718 pp.





Rainard, P., Corrales, C., Bere, M., Cochard, Th., Poutrel, B. 2003. Leucotoxisactivies of the *Staphylococcus aureus* strains isolates in cows, sheep and goats whit mastitis: importance of Lukm/Lukf-pv- Leucotoxis. Laboratory Diagnostic Clinic Immunology. 10(2); 272-277 pp.

Rodríguez, C. J. F. 2012. Revisión sobre mastitis en Ganado bovino causa y efectos en la salud animal y pública. Servicio profesional de licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Morelia, Michoacán, México. 7-26 pp.

Ruiz, J. D., Ramírez, N. F., Arroyave, O. 2001. Determinación de concentraciones inhibitorias mínimas a algunos antibióticos de las bacterias aisladas de glándula mamaria bovina en San Pedro de los Milagros, Antioquia. Rev Col Cienc Pec Vol. 14(2): 143-154 pp.

Salomon, S. A., Watts, J. L., Aarestrup, F. M. 1998. Minimum inhibitory concentrations for selected antimicrobial agents organisms isolated from the mammary glands of dairy heifers in New Zealand and Denmark. Journal Dairy Science. 81: 570 -578 pp.

Sánchez, A., Corrales, J. C., Marco, J., Contreras, A. 1998. Aplicación del recuento de células somáticas para el control de las mamitis caprinas. en: "Mamitis caprina II". Ovis, 54, 37-51 pp.





Saran A. y M. Chaffer. 2000. Mastitis y calidad de leche. Inter-Médica. Buenos Aires. 208 pp.

Sears, P. M., Kate K. McCarthy, D. V. D. 2003. Management and treatment of Staphylococcal mastitis. Vet Clin Food Anim 19. 177-185 pp.

Shearer J. K. y Harris, B. 1992. Mastitis in Dairy Goats. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Gainesville FL. 7 pp.

Smith, G. W., Peter D., Morin, D. E. 2001. Ability of hematologic and serum biochemical variables to differentiate Gram-negative and Gram-positive mastitis. J VetIntern Med. 15: 394-400 pp.

Sumano, L. H. S., y Ocampo, C. L. 1997. Farmacología Veterinaria, 2<sup>a</sup> Ed, McGraw-Hill Interamericana, México, pp. 95-189 pp.

Takeuchi, S., Maeda, T., Hashimoto, N., Imaizumi, K., Kaidoh, T., Hayakawa, Y. 2001. Variation of the agr locus in *Staphylococcus aureus* isolates from cows with mastitis. Vet microbiol. 79:267-274 pp.

Vadillo, S., Píriz, S. Mateos, E. 2002. Manual de Microbiología Veterinaria. Ed. McGraw-Hill-Interamericana. España.





Watts, J. L., Salmon, S. A. y Yancey, J. R. 1995. Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from the mammary glands of dairy heifers. *Journal Dairy Science*. 78 (7): 1637 – 1648 pp.

Wellenberg, G. J., Van der Poel, W. H. M. Van Oirschot, J. T. 2002. Viral infections and bovine mastitis: a review. *Veterinary Microbiology*. Article 236 pp.

Wolter, W., Castañeda, H., Kloppert, B., Zschöck, M. 2004. Mastitis bovina. Prevención diagnóstico y tratamiento. Editorial Universitaria. Universidad de Guadalajara. México. 146 pp.

Zadoks, R. N. 2002. Molecular and mathematical epidemiology of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus uberis* mastitis in dairy herds. Dissertation Utrecht University, Faculty of Veterinary Medicine: 2-3, 23-26 pp.

Zecconi, A., Cesaris, L., Liandris, E., Dapra, V., Piccinini, R. 2006. Role of several *Staphylococcus aureus* virulence factors on the inflammatory response in bovine mammary gland. *Microbial Pathogenesis*. 1-7 pp.

Zhang, S. y Maddox, C. W. 2000. Cytotoxic Activity of Coagulase- Negative Staphylococci in Bovine Mastitis. *Infection and Immunity*. 68:1102-1108 pp.

