

January 2018

Tasa de incidencia de mastitis clínica y susceptibilidad antibiótica de patógenos productores de mastitis en ganado lechero del norte de Antioquia, Colombia

Nicolás Ramírez Vásquez

Universidad de Antioquia, nicolas.ramirez@udea.edu.co

Jorge A. Fernández-Silva

Universidad de Antioquia, jorge.fernandez@udea.edu.co

Luis Guillermo Palacio

Universidad de Antioquia, guillermo.palacio@udea.edu.co

Follow this and additional works at: <https://ciencia.lasalle.edu.co/mv>

Citación recomendada

Ramírez Vásquez N, Fernández-Silva JA y Palacio LG. Tasa de incidencia de mastitis clínica y susceptibilidad antibiótica de patógenos productores de mastitis en ganado lechero del norte de Antioquia, Colombia. Rev Med Vet. 2018;(36): 75-87. doi: <https://doi.org/10.19052/mv.5173>

This Artículo de Investigación is brought to you for free and open access by the Revistas científicas at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Revista de Medicina Veterinaria by an authorized editor of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

Tasa de incidencia de mastitis clínica y susceptibilidad antibiótica de patógenos productores de mastitis en ganado lechero del norte de Antioquia, Colombia*

Nicolás Ramírez Vásquez¹ / Jorge A. Fernández-Silva² / Luis Guillermo Palacio³

* Este artículo se deriva del proyecto de investigación “Diagnóstico, control y prevención de los factores de riesgo asociados a la mastitis bovina en seis municipios de la Microcuenca Lechera del Altiplano Norte de Antioquia, Colombia”, contrato 104-2008*2526-3155, financiado por el Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, la Universidad de Antioquia, Colanta y la Federación de Asociaciones de Ganaderos de Antioquia.

1 Médico veterinario. MSc. Dr. Sci Anim. Línea Epidemiología y Salud Pública Veterinaria, Centauro, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

✉ nicolas.ramirez@udea.edu.co

2 Médico veterinario, MSP, Dr. en Medicina veterinaria. Línea Epidemiología y Salud Pública Veterinaria, Centauro, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

✉ jorge.fernandez@udea.edu.co

3 Médico veterinario. M. Epi Dr. Biol Línea Epidemiología y Salud Pública Veterinaria, Centauro, Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

✉ guillermo.palacio@udea.edu.co

Cómo citar este artículo: Ramírez Vásquez N, Fernández-Silva JA, Palacio LG. Tasa de incidencia de mastitis clínica y susceptibilidad antibiótica de patógenos productores de mastitis en ganado lechero del norte de Antioquia, Colombia. Rev Med Vet. 2018;(36):75-87. doi: <http://dx.doi.org/10.19052/mv.5173>

Resumen

Introducción: la mastitis se define como la inflamación de la glándula mamaria causante de grandes pérdidas económicas en hatos lecheros, lo que amerita su investigación. **Objetivo:** determinar la tasa de incidencia de mastitis clínica TIMC, la etiología asociada y la sensibilidad antibiótica de patógenos aislados de casos de mastitis en ganado lechero. **Materiales y métodos:** se siguieron 37 hatos por 12 meses para el diagnóstico de mastitis clínica (MC). A las muestras de leche de los casos de MC se les realizó cultivo bacteriológico y a estas, así como a los aislamientos de casos de mastitis subclínica de un estudio previo, se les efectuó prueba de susceptibilidad antibiótica. Para el análisis de la información se utilizó estadística descriptiva estándar. **Resultados:** TIMC fue de 13,8 casos por 100 vacas-año a riesgo. Se aislaron 188 patógenos totales de casos de MC, entre los cuales el *Streptococcus agalactiae*, el *Streptococcus pyogenes* y el *Corynebacterium* spp. fueron los más frecuentes, con 29,8; 11,7 y 5,9%, respectivamente. Se halló una alta sensibilidad de las bacterias contagiosas para los antibióticos cloxacilina y cefoperazone. **Conclusiones:** en el presente estudio se encontró una TIMC de 13,8 casos por 100 vacas-año a riesgo. Los patógenos más prevalentes identificados en casos de MC fueron contagiosos. Se encontró una alta sensibilidad de las bacterias contagiosas para la mayoría de los antibióticos β -lactámicos.

Palabras clave: bovinos, leche, mastitis, prueba de sensibilidad antibiótica, resistencia antimicrobiana, tasa de incidencia de mastitis clínica.

Incidence rate of clinical mastitis and antibiotic susceptibility of mastitis-producing pathogens in dairy cattle from Northern Antioquia, Colombia

Abstract

Introduction: Mastitis is defined as the inflammation of the mammary gland causing great economic losses in dairy herds, which merits investigation. **Objective:** To determine the incidence rate of clinical mastitis IRCM, associated etiology, and antibiotic sensitivity of pathogens isolated from cases of mastitis in dairy cattle. **Materials and methods:** 37 herds were followed during 12 months for clinical mastitis (CM) diagnosis. Milk samples from CM cases were bacteriologically cultured, which underwent, along with isolates from subclinical mastitis cases from a previous study, antibiotic susceptibility testing. For data analysis, standard descriptive statistics were used. **Results:** The

IRCM was 13.8 cases per 100 cows-year at risk. A total of 188 pathogens of CM cases were isolated, among which *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, and *Corynebacterium* spp. were the most frequent, with 29.8%, 11.7%, and 5.9%, respectively. A high susceptibility of contagious bacteria was found for cloxacillin and cefoperazone. *Conclusions:* The present study found an IRCM of 13.8 cases per 100 cows-year at risk. The most prevalent pathogens identified in cases of CM were contagious. A high sensitivity of contagious bacteria was found for most β -lactam antibiotics.

Keywords: cattle, milk, mastitis, antibiotic susceptibility test, antimicrobial resistance, incidence rate of clinical mastitis.

Taxa de incidência de mastite clínica e susceptibilidade antibiótica de patógenos produtores de mastite em gado leiteiro do norte de Antioquia, Colômbia

Resumo

Introdução: a mastite se define como a inflamação da glândula mamária causante de grandes perdas econômicas em rebanhos de gado leiteiro, o que justifica a sua pesquisa. *Objetivo:* determinar a taxa de incidências de mastite clínica TIMC, a etiologia associada e a sensibilidade antibiótica de patógenos isolados de casos de mastite em gado leiteiro. *Materiais e métodos:* seguiram-se 37 rebanhos bovinos durante 12 meses para o diagnóstico de mastite clínica (MC). Com as amostras de leite dos casos de MC realizou-se cultivo bacteriológico e a estas, assim como aos isolamentos de casos de mastite subclínica de um estudo prévio, efetuou-se prova de susceptibilidade antibiótica. Para a análise da informação se utilizou estatística descritiva padrão. *Resultados:* a TIMC foi de 13,8 casos por 100 vacas-ano a risco. Foram isolados 188 patógenos totais de casos de MC, entre os quais o *Streptococcus agalactiae*, o *Streptococcus pyogenes* e o *Corynebacterium* spp. foram os mais frequentes, com 29,8; 11,7 e 5,9%, respectivamente. Constatou-se uma alta sensibilidade das bactérias contagiosas para os antibióticos cloxacilina e cefoperazone. *Conclusões:* neste estudo evidenciou-se uma TIMC de 13,8 casos por 100 vacas-ano a risco. Os patógenos mais prevalentes identificados em casos de MC foram contagiosos. Encontrou-se uma alta sensibilidade das bactérias contagiosas para a maioria dos antibióticos β -lactâmicos.

Palavras chave: bovinos, leite, mastite, prova de sensibilidade antibiótica, resistência antimicrobiana, índice de incidência de mastite clínica.

INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina es la inflamación de la glándula mamaria, la cual es considerada la enfermedad infecciosa más común de la vaca especializada en producción de leche (1). Según el grupo de expertos A2 de la Federación Internacional de Lechería, la forma clínica de la mastitis se caracteriza por inflamación con calor, dolor,

rubor y aumento de tamaño de la glándula mamaria o cambios en la apariencia de la leche, o todos estos signos (2). Una forma de medir la frecuencia de la mastitis clínica (MC) en hatos lecheros es por medio del cálculo de la tasa de incidencia de mastitis clínica (TIMC), la cual se ha reportado de 14,4 casos por cada 100 vacas-año a riesgo (3), 41,95 casos por cada 100 vacas-año a riesgo (4) y 43,3 casos por cada 100 vacas-año a riesgo (5). Los

autores no encontraron estudios publicados que reportaran la TIMC en Colombia.

Se han registrado más de 200 microorganismos causantes de mastitis (6). Los microorganismos más frecuentes asociados a mastitis bovina se pueden dividir en cuatro categorías: contagiosos, ambientales, oportunistas y otros (7); entre estos, las dos primeras categorías son las más asociadas a mastitis infecciosa. Los principales patógenos contagiosos son el *Staphylococcus aureus* y el *Streptococcus agalactiae*, y este grupo de contagiosos incluye también las bacterias *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma bovis* (7) y al *Streptococcus dysgalactiae* (6,8), aunque este último es el único patógeno que tiene características de contagioso y de ambiental (9). Los patógenos ambientales más frecuentemente aislados de casos de mastitis incluyen *Streptococcus* spp., también conocidos como estreptococos ambientales (diferentes a *S. agalactiae*), y las bacterias coliformes (10). El ambiente de la vaca es el principal reservorio de los patógenos causantes de este tipo de mastitis de origen ambiental; se asocia usualmente con casos clínicos y es el tipo predominante de mastitis en hatos bien manejados con bajos conteos de células somáticas (11).

El panorama en relación con la etiología de la mastitis puede variar entre los países, lo cual puede deberse, entre otras razones, a factores de manejo diferentes entre ellos. Por ejemplo, con respecto a la prevalencia de patógenos específicos que consideran solo las muestras con cultivo positivo por cuarto, se ha reportado un 31; 27; 15; 14; 4,8 y 3,1 % de positividad a *S. aureus*, ECN, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *E. coli* y *Streptococcus* spp., respectivamente (12). En otro estudio efectuado en Israel se encontró que los casos clínicos de mastitis estuvieron asociados a bacterias coliformes (60,2%), a estreptococos ambientales (18,6%) y a estafilococo coagulasa negativo (ECN, 8,7%) (13). En un estudio efectuado con base en los reportes de los tratamientos de MC realizados por veterinarios, encontraron que *S. aureus* y *S. dysgalactiae* fueron las bacterias más prevalentes en vacas de primer parto (12). Otros investigadores aislaron microorganismos patógenos en el 61 % de las muestras con mayor prevalencia para *Corynebacterium* sp. (45,0%),

Staphylococcus sp. (29,6%) y *Streptococcus* sp. (14,6%) en ordeño manual; *Staphylococcus* sp. (36,4%), *Corynebacterium* sp. (27,6%), *Micrococcus* sp. (15,6%) y *Streptococcus* sp. (12,9%) en ordeño mecánico (14). En Colombia, el estudio más reciente reportó que los patógenos más frecuentemente aislados para mastitis subclínica fueron *S. agalactiae*, ECN y *Corynebacterium* sp., con un 34,4; 17,6 y 13,2%, respectivamente (15). En otros estudios, también sobre mastitis subclínica, las bacterias más frecuentemente aisladas fueron *S. agalactiae* y *S. aureus*, con un 35 a 45 % y 14 a 33 % (16,17) y *S. aureus* con un 29 % (18) de las infecciones, respectivamente.

La terapéutica con antibióticos se considera una herramienta importante en el control de la mastitis, y los programas de vigilancia de adquisición de resistencia a los antibióticos por parte de las bacterias son importantes para asegurar óptimos resultados en el uso de antimicrobianos y minimizar el riesgo de selección y diseminación de la resistencia (19). Son pocos los estudios publicados sobre la susceptibilidad de las bacterias aisladas de casos de mastitis bovina en lechería especializada en Colombia. Solo se encontraron tres estudios; uno de ellos reportó un 19,4 % de resistencia del *S. agalactiae* al antibiótico penicilina (20), mientras que otros autores (21,22) registraron un 100 % de sensibilidad. Dos de los trabajos encontraron alta frecuencia de resistencia a la penicilina por parte de la bacteria *S. aureus* (20,22).

Para ampliar el conocimiento sobre la mastitis bovina en Colombia se requieren estudios sobre la TIMC, los patógenos asociados a su presentación y estudios tendientes a actualizar la información sobre la susceptibilidad antibiótica de las bacterias aisladas de casos de mastitis bovina a los antibióticos. Esto con el fin de aportar información útil para el profesional médico veterinario y para el productor de leche, en aras de mejorar el estado de los hatos lecheros en relación con esta enfermedad.

El objetivo de este trabajo fue estimar la TIMC, determinar los patógenos involucrados en la presentación de MC y la susceptibilidad antibiótica de los patógenos asociados a mastitis clínica y subclínica, en vacas de ha-

tos lecheros de seis municipios de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Consideraciones éticas

Esta investigación fue aprobada por el Comité de ética para la experimentación animal de la Universidad de Antioquia, Colombia (Acta 48 del 12 de diciembre de 2008).

Hatos

Criterios de inclusión

En cada municipio los hatos fueron seleccionados teniendo en cuenta que tuviesen facilidades de acceso —tanto por distancia del casco urbano como por la existencia de vías carreteables—, que almacenaran la leche en tanque de enfriamiento, que contaran con una adecuada identificación de las vacas, y que su propietario o mayordomo facilitara sus animales para la correspondiente toma de muestras y se comprometiera a suministrar la información necesaria.

Muestra

La muestra estuvo compuesta por 37 hatos ubicados en seis municipios de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia: San Pedro de los Milagros, Santa Rosa de Osos, Donmatías, Belmira, San José de la Montaña y Entrerriós. Los hatos corresponden a una muestra seleccionada por conveniencia entre 3042 hatos registrados en los seis municipios, en los cuales se produce el 75 % de la leche y se encuentra el 70 % de las vacas de la zona (23). Los municipios se encuentran ubicados a una altura entre los 2200 y los 2581 m s. n. m. y tienen una temperatura promedio de 14,5 °C. De los 3042 hatos, 120 fueron invitados a participar en el estudio, 99 aceptaron, 21 declinaron la aceptación; se integró un grupo de estudio de 32 hatos para la muestra. La distribución de hatos por municipio fue proporcional al

número de hatos que tenía cada uno de ellos así: Belmira: 9 % (3 hatos), Donmatías: 11 % (3 hatos), Entrerriós: 19 % (6 hatos), San José: 5 % (2 hatos), San Pedro de los Milagros: 24 % (8 hatos) y Santa Rosa de Osos: 32 % (10 hatos). Cinco hatos tuvieron que ser reemplazados a lo largo del estudio por diferentes razones; los reemplazos se seleccionaron de la lista de elegibles de granjas con características similares. La información del tiempo en el cual participaron los hatos reemplazados también fue analizada, por lo que al final se analizó información procedente de 37 hatos.

Protocolo de visita y toma muestras

Los casos de MC se detectaron en visitas mensuales que se efectuaron durante 12 meses, en el periodo comprendido entre el 1 de julio de 2009 y el 30 de junio de 2010, o cuando el productor informó telefónicamente al proyecto sobre su ocurrencia durante ese periodo. La toma de muestras de leche fue realizada siempre por un médico veterinario del estudio, quien tomó la muestra posterior al reporte del caso por el propietario o por el encargado del ordeño. A los cuartos que presentaron MC se les desinfectó la punta del pezón con torundas de algodón empapadas en alcohol al 70 %; se tomaron muestras de leche (5 ml aproximadamente). Las muestras de leche se transportaron refrigeradas al laboratorio en neveras a 4 °C y se mantuvieron refrigeradas hasta que se efectuó el cultivo en las 24 horas siguientes.

Cultivo bacteriológico

Las muestras se cultivaron usando métodos de laboratorio estándar descritos (15). La presencia de tres o más especies de bacterias en el cultivo se consideró como contaminación. Por ello, estas muestras se descartaron para este estudio (9).

Prueba de sensibilidad antimicrobiana in vitro

Como se mencionó anteriormente, para la realización de estas pruebas se tomaron los aislamientos de mastitis subclínica de un estudio previo (15) y aislamientos provenientes de los casos de MC del presente estudio.

El número de aislamientos analizados varió de acuerdo con la especie de bacteria y con el antibiótico usado. Este número osciló entre los 959 para la cloxacilina en el caso de la bacteria *S. agalactiae* y los 2 para la cefalexina en el caso de la bacteria *Klebsiella* spp. La determinación de susceptibilidad antibiótica de las bacterias se efectuó por la técnica de difusión en gel de agar por disco o prueba de Kirby-Bauer (24). Los aislamientos fueron clasificados como sensible (S), intermedio (I) y resistente (R), según la medida del diámetro de la zona de inhibición para lo cual se tomaron los lineamientos del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, por su sigla en inglés) (25). Se emplearon sensidiscos de los siguientes antibióticos: cloxacilina (5 µg), espiramicina (100 µg), penicilina G (10 UI), lincomicina (2 µg), ampicilina (10 µg), cefoperazona (75 µg), amoxicilina (10 µg), cefalexina (30 µg) y trimetoprima-sulfametoxazol (25 µg).

Definición de caso

Un cuarto con MC se definió como aquel que presentaba la leche visiblemente anormal y/o tenía los signos generales de inflamación (2). Una vaca con MC se definió como aquella que presentaba al menos un cuarto con MC. Un cuarto se consideró como infectado cuando presentaba MC y se aislaron uno o dos patógenos de la muestra respectiva.

Análisis estadístico

La información se almacenó en hojas de Excel y luego se exportó al software estadístico Stata® 12.0 (26). Los datos se examinaron para detectar entradas erróneas y cuando se detectó algún dato improbable fue removido. El análisis de los datos se efectuó mediante estadística descriptiva usando métodos estándar. Se calculó la prevalencia de MC por cuarto. Para el cálculo de la TIMC, se definieron los días a riesgo por vaca según lo propuesto por otros autores (4), en donde un caso de mastitis se definió como un reporte de vaca con MC o una serie de reportes separados cada uno por un mínimo de 14 días. Cuando se reportó un caso de MC en una vaca, después de transcurridos al menos 14 días de un caso previo en esa misma

vaca, se definió como el inicio de un nuevo caso de mastitis. Las vacas no se consideraron a riesgo de presentar un nuevo caso de mastitis cuando estaban enfermas de esta o por 14 días después del último reporte de mastitis. Para el efecto, se empleó la fórmula: (# eventos nuevos de mastitis/número total de vacas-días a riesgo) × 365 × 100 (4). El número de días a riesgo de presentar un nuevo caso de mastitis se calculó para cada animal de manera individual durante el periodo comprendido entre el 1 de julio de 2009 y el 30 de junio de 2010. Los hatos que no reportaron casos de MC durante el periodo fueron retirados de la muestra para el cálculo de la TIMC.

RESULTADOS

Características generales de la muestra

El 80 % de las vacas de la muestra fueron de la raza holstein y el 20 % de otras razas o cruces. El promedio de edad fue de $5,7 \pm 2,3$ años la producción de leche promedio fue de $17,8 \pm 6,32$ L/vaca/d. El 43 % de las fincas tenían entre 1 y 25 animales, el 49 % entre 26 y 75 y el 8 % más de 76 animales. El 26 % de las vacas tenían un parto, el 19 % dos, el 17 % tres y el 37 % cuatro o más. El 30,3 % de las vacas estaban en el primer tercio de lactancia (0-100), el 30,5 % en el segundo (101-200), el 24,5 % en el tercero (201-300) y el 14,7 % presentaban más de 300 días en lactancia.

Tasa de incidencia de mastitis clínica y etiología de la mastitis

En total se efectuaron 257 observaciones (casos) de MC en cuarto. La TIMC en el periodo de estudio fue de 13,8 casos por 100 vacas-año a riesgo. Si bien se reportaron 257 casos de MC, solo se pudo efectuar cultivo en 180 de ellos dado que en los otros casos ya se habían efectuado tratamiento cuando el médico veterinario pudo efectuar la visita respectiva para tomar la muestra. Se obtuvo un total de 180 resultados de cultivos procedentes de muestras de cuartos con MC; en 50 (27,7 %) de ellos no hubo aislamiento, mientras que en 130 (72,2 %) se obtuvo aislamiento. En estos últimos se aislaron dos

patógenos en ocho de los casos. Los patógenos más frecuentemente aislados entre los 138 aislamientos obtenidos fueron el *S. agalactiae* seguido por el *S. pyogenes* y por el *Corynebacterium* spp., con un 40,6; 15,9% y 8,0%, respectivamente (tabla 1).

Sensibilidad antimicrobiana *in vitro*

Un alto porcentaje de los aislamientos de la bacteria *S. agalactiae* presentó sensibilidad cuando se usó el grupo farmacológico β -lactámico —cloxacilina (87,6%), penicilina (85,3%), ampicilina (91,8%) y amoxicilina (96%)—, así como con el antibiótico cefoperazone (98,4%), pero no cuando se empleó la cefalexina (45,4%). Se observó resistencia de esta bacteria a la lincomicina (50,7%), espiramicina (33,7%), trimetoprim sulfá (27%) y penicilina (14,7%).

En relación con las otras especies de estreptococos, se observó un comportamiento similar al observado para el *S. agalactiae*, específicamente en lo relacionado con la sensibilidad a los β -lactámicos a excepción del *S. uberis*,

el cual mostró una menor sensibilidad a los antibióticos cloxacilina (74,1%) y penicilina (74,1%), y tanto esta bacteria como el *S. pyogenes* mostraron una mayor sensibilidad al trimetoprim-sulfá (84,6% y (89,7%), respectivamente, en comparación con el *S. agalactiae*. Se observó un patrón similar de resistencia al presentado por la bacteria *S. agalactiae* para las otras especies de estreptococos. El *S. pyogenes* y el *S. dysgalactiae* presentaron menor resistencia a la espiramicina 11,6 y 18,3%, respectivamente. El *S. uberis* mostró mayor resistencia a la penicilina 25,9% (tabla 2).

En el caso de los ECP, las bacterias *S. aureus* y *S. intermedius* presentaron un alto porcentaje de aislamientos sensibles a los antibióticos cloxacilina (95,4 y 96,5%), cefoperazone (98 y 88,6%) y trimetoprim-sulfá (98 y 98,6%). Adicionalmente, el *S. aureus* presentó alto porcentaje de sensibilidad a la cefalexina (81,3%). Es de resaltar el alto porcentaje de resistencia de *S. aureus* y *S. intermedius* a la penicilina (38,8 y 74,3%), y de estas mismas bacterias a la ampicilina (35,5 y 75,5%) (tabla 3).

Tabla 1. Patógenos aislados de 130 muestras de leche positivas a cultivos procedentes de cuartos con mastitis clínica en vacas lecheras del altiplano norte de Antioquia, Colombia

| Patógeno | n.º de aislamientos | Porcentaje |
|-----------------------------|---------------------|------------|
| <i>S. agalactiae</i> | 56 | 40,6 |
| <i>S. pyogenes</i> | 22 | 15,9 |
| <i>Corynebacterium</i> spp. | 11 | 8,0 |
| <i>S. dysgalactiae</i> | 8 | 5,8 |
| <i>S. intermedius</i> | 8 | 5,8 |
| <i>E. coli</i> | 8 | 5,8 |
| <i>S. aureus</i> | 7 | 5,1 |
| <i>S. uberis</i> | 6 | 4,3 |
| <i>S. epidermidis</i> | 4 | 2,9 |
| <i>S. haemolyticus</i> | 4 | 2,9 |
| Otros ^a | 3 | 2,2 |
| <i>Candida</i> spp. | 1 | 0,7 |
| Total | 138 | 100,0 |

^a Este grupo comprende las bacterias *Geotrichum* spp., *Trichosporum* spp., *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens*.

Tabla 2. Resultados de las pruebas de susceptibilidad antibiótica de los aislamientos del género *Streptococcus* procedentes de cuartos afectados con mastitis clínica y subclínica de vacas del altiplano norte de Antioquia, Colombia

| Bacteria | Resultado | Penic | Ampi | Amoxa | Cloxa | Cefale | Cefope | Lincom | Espir | Tri-sul |
|------------------------|--------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <i>S. agalactiae</i> | S (%) | 817 (85,3) | 879 (91,8) | 921 (96,0) | 840 (87,6) | 186 (45,4) | 554 (98,4) | 138 (48,9) | 176 (65,9) | 287 (72,5) |
| | I (%) | 0 | 0 | 0 | 2 (0,2) | 10 (2,4) | 0 | 1 (0,4) | 1 (0,4) | 2 (0,5) |
| | R (%) | 141 (14,7) | 79 (8,2) | 38 (4,0) | 117 (12,2) | 214 (52,2) | 9 (1,6) | 143 (50,7) | 90 (33,7) | 107 (27,0) |
| | Total | 958 | 958 | 959 | 959 | 410 | 563 | 282 | 267 | 396 |
| <i>S. pyogenes</i> | S (%) | 310(87,6) | 324(91,5) | 336(94,9) | 323(91,2) | 154(74,0) | 149(98,7) | 47(45,6) | 38(88,4) | 182(89,7) |
| | I (%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 2,0(1,0) | 0 | 1,0(0,0) | 0 | 0 |
| | R (%) | 44(12,4) | 30(8,5) | 18(5,1) | 31(8,8) | 52(25) | 2(1,3) | 55(53,4) | 5(11,6) | 21(10,3) |
| | Total | 354 | 354 | 354 | 354 | 208 | 151 | 103 | 43 | 203 |
| <i>S. dysgalactiae</i> | S (%) | 101(87,1) | 107(92,2) | 115(98,3) | 109(93,2) | 25(61,0) | 73(97,3) | 7(41,2) | 49(81,7) | 29(70,7) |
| | I (%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1,0 (1,3) | 0 | 0 | 0 |
| | R (%) | 15(12,9) | 9(7,8) | 2,0(1,7) | 8(6,8) | 16(39,0) | 1,0(1,3) | 10(58,8) | 11(18,3) | 12(29,3) |
| | Total | 116 | 116 | 117 | 117 | 41 | 75 | 17 | 60 | 41 |
| <i>S. uberis</i> | S (%) | 60(74,1) | 72(90,0) | 79(97,5) | 60(74,1) | 11(78,6) | 64(94,1) | 13(36,1) | 23(71,9) | 11(84,6) |
| | I | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | R (%) | 21(25,9) | 8(10,0) | 2(2,5) | 21(25,9) | 3(21,4) | 4(5,9) | 23(63,9) | 9(28,1) | 2(15,4) |
| | Total | 81 | 80 | 81 | 81 | 14 | 68 | 36 | 32 | 13 |

S = sensible; I = intermedio; R = resistente.

Penic = penicilina; Ampic = ampicilina; Amoxa = amoxicilina; Cloxa = cloxacilina; Cefale = cefalexina; Cefope = cefoperazona; Lincom = lincomicina; Espir = espiramicina; Tri-sul = trimetoprima-sulfametoxazol.

Tabla 3. Resultados de las pruebas de susceptibilidad antibiótica de los aislamientos de estafilococo coagulasa positivo a varios antibióticos en muestras procedentes de cuartos afectados con mastitis clínica y subclínica de vacas del altiplano norte de Antioquia, Colombia

| Bacteria | Resultado | Penic | Ampi | Amoxa | Cloxa | Cefale | Cefope | Lincom | Espir | Tri-sul |
|-----------------------|--------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----------|------------|
| <i>S. aureus</i> | S (%) | 212 (60,9) | 225 (64,5) | 266 (76,0) | 333 (95,4) | 126 (81,3) | 195 (98,0) | 74 (63,8) | 60 (74,1) | 148 (98,0) |
| | I (%) | 1 (0,3) | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 3 (1,5) | 2 (1,7) | 1 (1,2) | 0,0 |
| | R (%) | 135 (38,8) | 124 (35,5) | 84 (24,0) | 16 (4,6) | 29 (18,7) | 1 (0,5) | 40 (34,5) | 20 (24,7) | 3 (2,0) |
| | Total | 348 | 349 | 350 | 349 | 155 | 199 | 116 | 81 | 151 |
| <i>S. intermedius</i> | S (%) | 36 (25,0) | 35 (24,5) | 63 (43,8) | 139 (96,5) | 55 (74,3) | 62 (88,6) | 22 (56,4) | 17 (53,1) | 73 (98,6) |
| | I (%) | 1 (0,7) | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 0,0 | 1 (1,4) | 0,0 | 0,0 | 0,0 |
| | R (%) | 107 (74,3) | 108 (75,5) | 81 (56,3) | 5 (3,5) | 19 (25,7) | 7 (10,0) | 17 (43,6) | 15 (46,9) | 1 (1,4) |
| | Total | 144 | 143 | 144 | 144 | 74 | 70 | 39 | 32 | 74 |

S = sensible; I = intermedio; R = resistente.

Penic = penicilina; Ampic = ampicilina; Amoxa = amoxicilina; Cloxa = cloxacilina; Cefale = cefalexina; Cefope = cefoperazona; Lincom = lincomicina; Espir = espiramicina; Tri-sul = trimetoprima-sulfametoxazol.

En el grupo de las bacterias ECN (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus* y *S. saprofiticus*) se encontró alto porcentaje de sensibilidad para el *S. epidermidis* cuando se usaron los antibióticos cloxacilina (93,5%), cefoperazone (100%), amoxicilina (80,6%), cefalexina (82,1%) y trimetoprima-sulfa (93,9%). En el caso del *S. haemolyticus* se encontró alto porcentaje de sensibilidad cuando se usaron los antibióticos cloxacilina (94,9%), cefoperazone (97,6%), amoxicilina (84,7%) y trimetoprima-sulfa (88,2%). En el caso del *S. saprofiticus* se encontró alto porcentaje de sensibilidad cuando se usaron los antibióticos cloxacilina, espiramicina, penicilina, ampicilina, cefoperazone y amoxicilina (100%). Para el *S. epidermidis* se observó alto porcentaje de resistencia a los antibióticos penicilina (55,4%), lincomicina (53,1%) y

ampicilina (48,2%). El *S. haemolyticus* presentó resistencia a los antibióticos penicilina (61%), lincomicina (77,8%) y ampicilina (52,5%). El *S. saprofiticus* solo presentó resistencia a la lincomicina (100%) (tabla 4).

Con respecto a las bacterias gramnegativas, *E. coli* mostró alta sensibilidad al antibiótico cefoperazone (98%) y moderada a los antibióticos neomicina (59%), ampicilina (70%), amoxicilina (67%) y trimetoprima-sulfa (55%), y resistencia a la espiramicina, lincomicina, cefalexina y trimetoprima sulfa con 74, 92, 69 y 45%, respectivamente. Si bien se efectuaron pruebas de sensibilidad para las bacterias de los géneros *Klebsiella* spp. y *Enterobacter*, spp. el número de estas fue muy pequeño. Estos resultados se muestran en la tabla 5.

Tabla 4. Resultados de la prueba de susceptibilidad antibiótica de los aislamientos de estafilococo coagulasa negativo (ECN) en muestras procedentes de cuartos afectados con mastitis clínica y subclínica de vacas del altiplano norte de Antioquia, Colombia

| Bacteria | Resultado | Penic | Ampi | Amoxa | Cloxa | Cefale | Cefope | Lincom | Espir | Tri-sul |
|------------------------|--------------|------------|------------|------------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|-----------|
| <i>S. epidermidis</i> | S (%) | 62 (44,6) | 72 (51,8) | 112 (80,6) | 130 (93,5) | 55 (82,1) | 73 (100,0) | 15 (46,9) | 26 (65,0) | 62(93,9) |
| | I (%) | (0,0) | 0,0 | 0,0 | (0,0) | 1 (1,5) | 0,0 | (0,0) | 1 (2,5) | 0,0 |
| | R (%) | 77 (55,4) | 67 (48,2) | 27 (19,4) | 9 (6,5) | 11 (16,4) | 0 (0,0) | 17 (53,1) | 13 (32,5) | 4 (6,1) |
| | Total | 139 | 139 | 139 | 139 | 67 | 73 | 32 | 40 | 66 |
| <i>S. haemolyticus</i> | S (%) | 23 (39,0) | 28 (47,5) | 50 (84,7) | 56(94,9) | 14 (77,8) | 41 (97,6) | 2 (22,2) | 25 (78,1) | 15 (88,2) |
| | I (%) | (0,0) | 0,0 | 0,0 | (0,0) | 0,0 | 0,0 | (0,0) | (0,0) | 0,0 |
| | R (%) | 36 (61,0) | 31 (52,5) | 9 (15,3) | 3 (5,1) | 4 (22,2) | 1 (2,4) | 7 (77,8) | 7 (21,9) | 2 (11,8) |
| | Total | 59 | 59 | 59 | 59 | 18 | 42 | 9 | 32 | 17 |
| <i>S. saprofiticus</i> | S (%) | 6 (100,0) | 6 (100,0) | 6 (100,0) | 6 (100,0) | NE | 6 (100,0) | 0 (0,0) | 5 (100,0) | NE |
| | I (%) | (0,0) | 0,0 | 0,0 | (0,0) | NE | 0,0 | (0,0) | 0 (0,0) | NE |
| | R (%) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | NE | 0 (0,0) | 1 (100,0) | 0 (0,0) | NE |
| | Total | 6 | 6 | 6 | 6 | NE | 6 | 1 | 5 | NE |

S = sensible; I = intermedio; R = resistente.

Penic = penicilina; Ampic = ampicilina; Amoxa = amoxicilina; Cloxa = cloxacilina; Cefale = cefalexina; Cefope = cefoperazone; Lincom = lincomicina; Espir = espiramicina; Tri-sul = trimetoprima-sulfametoxazol; NE = no estimado.

Tabla 5. Resultados de la prueba de susceptibilidad antibiótica de los aislamientos de *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. y *Enterobacter* spp. en muestras procedentes de cuartos afectados con mastitis clínica y subclínica de vacas del altiplano norte de Antioquia, Colombia

| Bacteria | Resultado | Ampi | Amoxa | Cefale | Cefope | Lincom | Espir | Tri-sul | Neomi |
|--------------------------|--------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <i>E. coli</i> | S (%) | 44 (70) | 42 (67) | 4 (31) | 62 (98) | 4 (8) | 8 (26) | 6 (55) | 37 (59) |
| | I (%) | 0 | 2 (3) | 0,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 (3) |
| | R (%) | 19 (30) | 19 (30) | 9 (69) | 1 (2) | 48 (92) | 23 (74) | 5 (45) | 24 (38) |
| | Total | 63 | 63 | 13 | 63 | 52 | 31 | 11 | 63 |
| <i>Klebsiella</i> spp. | S (%) | 2 (40) | 2 (40) | 2 (100) | 5 (100) | 5 (100) | NE | NE | 3 (60) |
| | I (%) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | NE | NE | 0 |
| | R (%) | 3 (60) | 3 (60) | 0 (0) | 0 (0) | 0 (0) | NE | NE | 2 (40) |
| | Total | 5 | 5 | 2 | 5 | 5 | NE | NE | 5 |
| <i>Enterobacter</i> spp. | S (%) | 7 (88) | 7 (88) | 1 (14) | NE | NE | NE | NE | 2 (29) |
| | I (%) | 0 | 0 | 0 | NE | NE | NE | NE | 0 |
| | R (%) | 1 (13) | 1 (13) | 5 (71) | NE | NE | NE | NE | 5 (71) |
| | Total | 8 | 8 | 6 | NE | NE | NE | NE | 7 |

S = sensible; I = intermedio; R = resistente.

Ampi = ampicilina; Amoxa = amoxicilina; Cefale = cefalexina; Cefope = cefoperazona; Lincom = lincomicina; Espir = espiramicina; Tri-sul = trimetoprima-sulfametoxazol; Neomi = neomicina; NE = no estimado.

DISCUSIÓN

No se encontraron datos de estudios sobre TIMC efectuados en Colombia con los cuales comparar los hallazgos de este trabajo. Al revisar los estudios internacionales, se encontró que los resultados de TIMC de este estudio concuerdan con un reporte efectuado en Uruguay en el cual encontraron 14,4 casos por cada 100 vacas-año a riesgo en un año de seguimiento (3), y se consideraron bajos al compararlos con los 41,95 casos por cada 100 vacas-año a riesgo reportado en Dinamarca (4) y con los 43,3 casos por cada 100 vacas-año a riesgo reportado en Tanzania (27). Sin embargo, se debe tomar con precaución la comparación de estos hallazgos con los registrados en estudios efectuados en otros países, debido a que la TIMC está asociada a factores tales como el clima, la raza, la producción y el manejo (3).

La TIMC hallada en los hatos estudiados se considera baja, lo cual se pudo deber en parte a una subnotificación de los casos, debido al temor de los productores a desmejorar el prestigio de sus hatos si revelaban el nú-

mero real de eventos. El reporte incompleto de casos de mastitis por los productores de leche se debe a que algunos de ellos son apáticos a los asuntos relacionados con el control de la enfermedad o les falta tiempo para mantener registros completos (4).

En general, hubo un predominio en la frecuencia de aislamiento de las bacterias contagiosas sobre las ambientales. Es de resaltar la alta frecuencia encontrada de la bacteria *S. agalactiae*, la cual se transmite principalmente durante el ordeño (28), ya que se puede encontrar en superficies que hayan tenido contacto reciente con leche contaminada, como el equipo de ordeño y las manos del ordeñador (7) y las malas condiciones de higiene durante la rutina de ordeño favorecen su presentación (6). Las características de manejo de los hatos del estudio fueron descritas previamente por los autores (23); en estas se identificó que el lavado de manos del ordeñador antes del ordeño, el presellado, el sellado y el lavado de los pezones era efectuado por el 18,8; 40,6; 78,1 y el 21,9%, respectivamente. Por lo tanto, la alta prevalencia de la bacteria *S. agalactiae* podría estar asociada a las

deficiencias en la higiene diagnosticadas previamente en los hatos de la zona. La prevalencia de *S. agalactiae* estuvo acorde con lo reportado en otro estudio efectuado en la sabana de Bogotá (17), en el que esta bacteria fue más prevalente en el ordeño manual y presentó el mayor porcentaje de infección con respecto al mecánico con 61,7 y 50 %, respectivamente (16). El *S. agalactiae* también fue el patógeno más frecuentemente aislado en casos de mastitis subclínica en un estudio efectuado en esta misma zona (15), y en estudios previos sobre mastitis subclínica reportados para San Pedro de los Milagros y la sabana de Bogotá con 47 y 44,9 %, respectivamente (17,20). En contraste, en un estudio efectuado en el altiplano cundiboyacense se encontró una prevalencia para el *S. agalactiae* en casos de mastitis subclínica solo del 6,84 % (18) y del 6,4 % en un estudio efectuado en hatos lecheros del oriente de Antioquia (21).

Para evaluar la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos, se utilizó la prueba de difusión en gel de agar, debido a su facilidad de ejecución, bajo costo, repetitividad interlaboratorio y a la flexibilidad en el tipo y número de antibióticos que pueden ser analizados (29). Es de anotar que los resultados de interpretación de la susceptibilidad a los antibióticos usados por el método de difusión en gel de agar tienen como parámetros de referencia datos de farmacocinética plasmática en humanos, la cual es extrapolada a los animales domésticos. Si bien estos datos sirven de referencia para el trabajo en medicina veterinaria, se pueden presentar variaciones entre las especies humana y bovina. En resumen, para el caso específico de la interpretación de estos resultados es importante que el médico veterinario tenga consideraciones específicas de la farmacocinética de los antibióticos en los vacunos, y más aún en el compartimiento específico de la glándula mamaria.

En el presente estudio se observó que el 14,7 % de los aislamientos de *S. agalactiae* fueron resistentes a la penicilina, resultado un poco menor al 19,4 % encontrado en otro estudio efectuado en la zona (20) y que contrasta con el 100 % de sensibilidad reportado por otros trabajos efectuados en Colombia (21,22). Los reportes de cepas de bacterias *S. agalactiae* resistentes a los antibió-

ticos β -lactámicos son escasos. Un estudio efectuado en Nueva York reportó cepas de *S. agalactiae* multirresistentes a antibióticos del grupo de los β -lactámicos (30). También llama la atención el hallazgo de un porcentaje importante de aislamientos de *S. agalactiae* resistentes a antibióticos como espiramicina (33,7 %), lincomicina (50,7 %) y cefalexina (52,2 %), lo cual concuerda con lo hallado por Gao et al. (31), quienes reportaron resistencias en aislamientos de *S. agalactiae* a la eritromicina, antibiótico del grupo de los macrólidos como la espiramicina, e identificaron también multirresistencia a los antibióticos gentamicina, amikacina y tetraciclina. Si bien el porcentaje de aislamientos de *S. agalactiae* resistente a los antibióticos β -lactámicos es relativamente bajo, es preocupante dado que se podría estar perdiendo una opción terapéutica muy importante en el control de esta bacteria, debido a que la penicilina es el antibiótico de primera elección en casos de mastitis bovina (28).

Ambas bacterias ECP (*S. aureus* y *S. intermedius*) mostraron resistencia a las penicilinas β -lactamasas sensibles (penicilina y ampicilina), y el *S. intermedius* también lo hizo a la amoxicilina. Esta resistencia de los ECP a los antibióticos β -lactámicos podría explicarse por la producción de β -lactamasa, el cual es el mecanismo de resistencia más común en los estafilococos (19). Alta frecuencia de resistencia a la penicilina ha sido reportada en otros estudios en bacterias procedentes de cuartos con mastitis (20,22,32). Para el caso de unos pocos aislamientos de *S. aureus* resistentes a los antibióticos β -lactámicos obtenidos en este estudio, el hallazgo podría asociarse a la presencia de algunas cepas del grupo del *S. aureus* resistente a meticilina (SARM), los cuales deben considerarse resistentes a todas las penicilinas, cefalosporinas, cefemas y otros β -lactámicos. Sin embargo, existen pocos reportes de SARM en este grupo de animales y en su leche (33-36).

Las bacterias ECN, específicamente *S. epidermidis* y *S. haemolyticus*, mostraron alta resistencia a los antibióticos lincomicina, penicilina y ampicilina. Estos resultados están en concordancia con lo encontrado por otros autores, quienes reportaron una resistencia del 66,7 % para las bacterias ECN a los antibióticos ampicilina y

penicilina (22) y un 75 % de resistencia de las bacterias ECN a la penicilina (20).

En relación con las bacterias gramnegativas, se pudo obtener un número importante de pruebas de sensibilidad a los antibióticos para la bacteria *E. coli*, esto dado que la frecuencia de aislamiento de *Klebsiella spp.* y *Enterobacter spp.* fue muy baja. Se observó para *E. coli* alta sensibilidad a los antibióticos de amplio espectro como cefoperazone, y también, aunque en menor grado, a los β -lactámicos a ampicilina y amoxicilina. De acuerdo con Petri (37), el cefoperazone es una cefalosporina de tercera generación de amplio espectro de buena acción contra bacterias gramnegativas. Sin embargo, otros autores han registrado el 5,9 % de resistencia de *E. coli* a la ampicilina en muestras provenientes de casos de mastitis subclínica (19). Sobre este último aspecto, el hallazgo de algunos aislamientos de *E. coli* resistentes al grupo de antibiótico betalactámicos analizados (ampicilina, amoxicilina, cefalexina, cefoperazona) hace sospechar de la producción de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) en algunos de estos aislamientos. Sin embargo, debido a que ese no era el objetivo del presente estudio, a estos aislamientos no se les confirmó si efectivamente eran productores de BLEE. La producción de BLEE por bacterias reduce la eficacia de un amplio rango de antibióticos betalactámicos como cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos (38), y se ha documentado que los animales productores de alimentos son importantes reservorios de Enterobacteriaceae productora de BLEE (39). *E. coli* multiresistente ha sido aislada de leche bovina en varios estudios previos (40-46), lo que demanda muchos más estudios para establecer la importancia de este fenómeno en el ámbito nacional.

CONCLUSIONES

En el presente estudio se encontró una TIMC de 13,8 casos por 100 vacas-año a riesgo. Los patógenos más prevalentes identificados en casos de MC fueron contagiosos. Se encontró una alta sensibilidad de las bacterias contagiosas para la mayoría de los antibióticos β -lactámicos.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos al Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural de Colombia, a la Universidad de Antioquia, a Colanta y a la Federación de Asociaciones de Ganaderos de Antioquia. También agradecen a la Estrategia de Sostenibilidad Centauro CODI 2013-2014, de la Universidad de Antioquia.

REFERENCIAS

1. De Pinho Manzi M, Nóbrega DB, Faccioli PY, Troncarelli MZ, Menozzi BD, Langoni H. Relationship between teat-end condition, udder cleanliness and bovine subclinical mastitis. *Res Vet Sci.* 2012;93(1):430-4. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.05.010>
2. Griffin, TK, Morant SV, Dodd FH. Bovine mastitis. Definition and guidelines for diagnosis. En: *Bulletin of the International Dairy Federation.* Bruselas: International Dairy Federation; 1987. p. 3-4.
3. Giannechini R, Concha C, Rivero R, Delucci I, Moreno J. Occurrence of clinical and sub-clinical mastitis in dairy herds in the West Littoral Region in Uruguay. *Acta Vet Scand.* 2002;43(4):221-30. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-43-221>
4. Bartlett PC, Agger JF, Houe H, Lawson LG. Incidence of clinical mastitis in Danish dairy cattle and screening for non-reporting in a passively collected national surveillance system. *Prev Vet Med.* 2001;48(2):73-83. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(00\)00192-6](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00192-6)
5. Kivaria FM, Noordhuizen JP, Msami HM. Risk factors associated with the incidence rate of clinical mastitis in smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. *Vet J.* 2007;173(3):623-9. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.01.009>
6. Blowey R. *Mastitis control in dairy herds.* Winslow, UK: Farming Press Books; 1995.
7. Philpot N, Nickerson S. *Mastitis: counter attack.* Nickerson S, Philpot N, editores. Illinois: Babson Bros; 1991. p. 29-33.
8. Fox LK, Gay JM. Contagious mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1993;9(3):475-87. [https://doi.org/10.1016/S0749-0720\(15\)30615-0](https://doi.org/10.1016/S0749-0720(15)30615-0)

9. National Mastitis Council. Laboratory handbook on bovine mastitis. Revised edition. Madison: National Mastitis Council; 1999. p. 1-11; 31-9.
10. Oliver SP. Frequency of isolation of environmental mastitis-causing pathogens and incidence of new intramammary infection during the nonlactating period. *Am J Vet Res.* 1988;49(11):1789-93.
11. Archbald L. Reproductive diseases. En: Anderson DE, Ring D, editores. *Current veterinary therapy food animal practice.* St. Louis, MO: Saunders; 1999. p. 563-8.
12. Persson K, Bengtsson B, Lindberg A, Nyman A, Ericsson Unnerstad H. Incidence of mastitis and bacterial findings at clinical mastitis in Swedish primiparous cows-Influence of breed and stage of lactation. *Vet Microbiol.* 2009;134(1-2):89-94. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.004>
13. Shpigel NY, Winkler M, Ziv G, Saran A. Clinical, bacteriological and epidemiological aspects of clinical mastitis in Israeli dairy herds. *Prev Vet Med.* 1998;35(1):1-9. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(98\)00052-X](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(98)00052-X)
14. Ruiz AK, Ponce P, Gomes G, Mota RA, Sampaio E, Lucena ER, Benone S. Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. *Rev Salud Anim.* 2011;33(1):57-64.
15. Ramírez NF, Keefe G, Dohoo I, Sánchez J, Arroyave O, Cerón J, et al. Herd- and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. *J Dairy Sci.* 2014;97(7):4141-50. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6815>
16. Rodríguez G, Contreras D, Ordóñez M. Caracterización de la mastitis bovina en el Valle de Ubaté. *Rev Med Vet (Bogotá).* 2002;2(4):57-66.
17. Rodríguez G. Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto económico en algunos hatos de la Sabana de Bogotá, Colombia. *Rev Med Vet (Bogotá).* 2006;(12):35-55. <https://doi.org/10.19052/mv.2052>
18. Calderón A, Rodríguez V. Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). *Rev Colomb Cienc Pecua.* 2008;21(4):582-9.
19. Persson K, Aspán A, Nyman A, Persson Y, Anderson UG. CNS species and antimicrobial resistance in clinical and subclinical bovine mastitis. *Vet Microbiol.* 2011;152(1-2):112-6. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.04.006>
20. Ramírez N, Gaviria G, Arroyave O, Sierra B. Prevalencia de mastitis en vacas lecheras lactantes en el municipio de San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Rev Colomb Cienc Pecua.* 2001;14(1):76-87.
21. Trujillo C, Gallego A, Ramírez N, Palacio L. Prevalence of mastitis in dairy herds in Eastern Antioquia. *Rev Colomb Cienc Pecua.* 2011;24(1):11-8.
22. Ruiz D, Ramírez N, Arroyave O. Determinación de concentraciones inhibitorias mínimas a algunos antibióticos de las bacterias aisladas de glándula mamaria bovina en San Pedro de los Milagros, Antioquia. *Rev Colomb Cienc Pecua.* 2001;14(2):143-54.
23. Ramírez N, Cerón J, Jaramillo M, Palacio Luis, Arroyave O. Diagnóstico de mastitis en el Norte de Antioquia. En: VII Seminario Internacional Competitividad en carne y leche. Colanta; 2010. p. 69-78.
24. Bauer AW, Kirby WM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966;45(4):493-6.
25. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests.* 2006.
26. StataCorp. 2011. *Stata Statistical Software.* Release 12. StataCorp LP, College Station, TX.
27. Kivaria FM, Noordhuizen J, Nielen M. Interpretation of California mastitis test scores using *Staphylococcus aureus* culture results for screening of subclinical mastitis in low yielding smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. *Prev Vet Med.* 2007;78(3-4):274-85. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.10.011>
28. Pyörälä S. Staphylococcal and Streptococcal mastitis. En: Sandholm M, editor. *The bovine udder and mastitis.* Universidad de Helsinki; 1995. p. 143-148.
29. Rubin JE. Antimicrobial susceptibility testing and interpretation of results. En: Giguère S, Prescott J, Dowling P, editores. *Antimicrobial therapy in veterinary medicine.* Nueva Jersey: John Wiley & Sons; 2006. p. 11-20.

30. Berghash SR, Davidson JN, Armstrong JC, Dunny GM. Effects of antibiotic treatment of nonlactating dairy cows on antibiotic resistance patterns of bovine mastitis pathogens. *Antimicrob Agents Chemother* 1983;24(5):771-6. <https://doi.org/10.1128/AAC.24.5.771>
31. Gao J, Yu F-Q, Luo L-P, He J-Z, Hou R-G, Zhang H-Q, et al. Antibiotic resistance of *Streptococcus agalactiae* from cows with mastitis. *Vet J*. 2012;194(3):423-4. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.04.020>
32. Gao J, Ferreri M, Yu F, Liu X, Chen L, Su J, Han B. Molecular types and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis in a single herd in China. *Vet J*. 2012;192(3):550-2. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.08.030>
33. Türkyılmaz S, Tekbiyık S, Oryasin E, Bozdoğan B. Molecular epidemiology and antimicrobial resistance mechanisms of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine milk. *Zoonoses Public Health*. 2010;57(3):197-203. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01257.x>
34. Fessler A, Scott C, Kadlec K, Ehrlich R, Monecke S, Schwarz S. Characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from cases of bovine mastitis. *J Antimicrob Chemother*. 2010;65(4):619-25. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq021>
35. Spohr M, Rau J, Friedrich A, Klittich G, Fetsch A, Guerra B, et al. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in three dairy herds in Southwest Germany. *Zoonoses Public Health*. 2011;58(4):252-61. <https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2010.01344.x>
36. Kreausukon K, Fetsch A, Kraushaar B, Alt K, Müller K, Krömker V, et al. Prevalence, antimicrobial resistance, and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from bulk tank milk of dairy herds. *J Dairy Sci*. 2012;95(8):4382-8.
37. Petri W. Antimicrobianos, penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos β -lactámicos. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. México: McGraw-Hill; 2001. p. 1207-36.
38. Bush K. Proliferation and significance of clinically relevant β -lactamases. *Ann N Y Acad Sci*. 2013;1277:84-90. <https://doi.org/10.1111/nyas.12023>
39. Carattoli A. Animal reservoirs for extended spectrum beta-lactamase producers. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(supl. 1):117-23. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01851.x>
40. Saini V, McClure J, Léger D, Keefe G, Scholl D, Morck D, Barkema H. Antimicrobial resistance profiles of common mastitis pathogens on Canadian dairy farms. *J Dairy Sci*. 2012;95(8):4319-32. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5373>
41. Dahmen S, Métayer V, Gay E, Madec JY, Haenni M. Characterization of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-carrying plasmids and clones of Enterobacteriaceae causing cattle mastitis in France. *Vet Microbiol*. 2013;162(2-4):793-9.
42. Ghatak S, Singha A, Sen A, Guha C, Ahuja A, Bhattacharjee U, et al. Detection of New Delhi metallo-beta-lactamase and extended-spectrum beta-lactamase genes in *Escherichia coli* isolated from mastitic milk samples. *Transbound Emerg Dis*. 2013;60(5):385-9. <https://doi.org/10.1111/tbed.12119>
43. Metzger S, Hogan J. Short communication: antimicrobial susceptibility and frequency of resistance genes in *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis. *J Dairy Sci*. 2013;96(5):3044-9. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-6402>
44. Liu Y, Liu G, Liu W, Liu Y, Ali T, Chen W, et al. Phylogenetic group, virulence factors and antimicrobial resistance of *Escherichia coli* associated with bovine mastitis. *Res in Microbiol*. 2014;165(4):273-7. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2014.03.007>
45. Timofte D, Maciua IE, Evans NJ, Williams H, Wattret A, Fick JC, Williams NJ. Detection and molecular characterization of *Escherichia coli* CTX-M-15 and *Klebsiella pneumoniae* SHV-12 β -lactamases from bovine mastitis isolates in the United Kingdom. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(2):789-94. <https://doi.org/10.1128/AAC.00752-13>
46. Odenthal S, Akineden Ö, Usleber E. Extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae in bulk tank milk from German dairy farms. *Int J Food Microbiol*. 2016;238:72-8. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2016.08.036>