**RESISTENCIA ANTIBACTERIAL DE CEPAS AISLADAS DE MASTITIS BOVINA EN EL ESTADO DE HESSEN ALEMANIA Y EL ESTADO DE JALISCO MÉXICO**

Martha Alicia Castañeda Vazquez1, Hugo Castañeda Vazquez1, Erika Patricia Salas Castañeda1, Tobías Eisenberg², Wilfried Wolter², Carlos Bedolla Cedeño3

1Laboratorio de Mastitis y Diagnóstico Molecular, CUCBA Universidad de Guadalajara

2Instituto Estatal de Investigaciones de Hessen, Alemania

3Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo México

arcoiris2565@hotmail.com

**RESUMEN**

Entre los principales problemas que ocasiona graves pérdidas económicas a la industria lechera se encuentra la mastitis bovina, causada principalmente por bacterias patógenas. Actualmente, la multirresistencia de cepas bacterianas ha llegado a ser un fuerte problema para la salud pública internacional por la ineficiencia en el tratamiento y la transmisión de enfermedades zoonóticas.

El objetivo del estudio fue conocer la resistencia microbiana de cepas aisladas en el estado de Hessen Alemania y el estado de Jalisco México. Se obtuvieron un total de 419 muestras de leche de bovino con técnica aséptica y se determinó los géneros y especies bacterianas con el análisis de proteínas por Maldi-Toff Proteomica en el Instituto de Investigaciones de Hessen, Alemania, Se evaluaron un total de 419 muestras, determinando 8 familias, 13 géneros y 24 especies bacterianas, a los cuales se les realizó la prueba de susceptibilidad a los antibióticos con el Thermo Scientific Multiskan EX. Se observaron valores elevados de resistencia frente a amoxicilina, ampicilina, penicilina G, eritromicina, oxacilina y cefazolina en las cepas de la familia *Enterobacteriaceae,* así como resistencia marcada de Estafilococos coagulasa positivos a ampicilina y penicilina G y resistencia a la eritromicina de *Streptococcus* esculina positivos y negativos. Concluimos haciendo notar la importancia de analizar la resistencia a los antimicrobianos de uso habitual en cada especie bacteriana causante de mastitis en bovinos y así obtener resultados satisfactorios al tratamiento y disminuir la incidencia de enfermedades trasmisibles por la leche.

**1. INTRODUCCION**

Los antibióticos constituyen unos de los principales métodos terapéuticos utilizados en el control y erradicación de enfermedades infecciosas de origen bacteriano.

Las bacterias adquieren resistencia a antimicrobianos de una misma familia o con diferentes estructuras y mecanismos de acción. El uso indiscriminado de los fármacos ha inducido la aparición de microorganismos patógenos multiresistentes, ocasionando en algunos casos, fracaso en el tratamiento que puede llevar a la muerte del paciente (B. San Martin, 1991, 2001).

Se ha demostrado que cada vez son menos las barreras para la transferencia de genes de resistencia entre microorganismos patógenos, incluso entre bacterias de géneros y familias diferentes, así como también para la transferencia horizontal de bacterias resistentes de los animales al hombre y viceversa ([Heisig y col., 1995](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2002000200008&script=sci_arttext" \l "a16); [Molbak y col., 1999](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2002000200008&script=sci_arttext#a22)).

Entre los principales problemas que ocasionan graves pérdidas económicas a la industria lechera se encuentra la mastitis bovina. La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria que se produce como respuesta al daño causado principalmente por bacterias patógenas y sus toxinas, productos químicos, traumas, temperaturas extremas, etc.

Estas pérdidas se estiman en base a la disminución en la producción de leche (en vacas con mastitis clínica puede llegar a un 14%), deterioro en la calidad de la leche y sus subproductos, así como los costos relacionados por eliminación prematura de vacas con mastitis crónica y reemplazo de las mismas, costos de la terapia medicamentosa, honorarios de atención por médicos veterinarios y pérdidas por eliminación de leche contaminada con antimicrobianos u otros químicos por el tratamiento de la ubre.

Además de los altos costos financieros para el ganadero, la mastitis tiene una gran importancia en el valor higiénico de la leche y de sus subproductos debido a que algunos agentes causales de mastitis son patógenos en humanos, lo que favorece a la transmisión de enfermedades zoonóticas tales como Intoxicación alimentaria, Brucelosis, Listeriosis, tuberculosis intestinal, entre otras.

Así pues el consumidor exige que la leche provenga de animales sanos. (Calvinho 2005, Castañeda 2004).

Los agentes patógenos de la mastitis han sido clasificados en dos grandes grupos debido a sus diferentes propiedades:

Grupo 1: Agentes patógenos asociados a las vacas (Mastitis Infecciosa).

Grupo 2: Agentes patógenos asociados al medio ambiente (Mastitis Ambiental).

La gran mayoría de los casos de mastitis infecciosa, se debe a la penetración de microorganismos, generalmente bacterias (Scaramelli 2005), como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* (Castañeda 2004), estos se transmiten más fácilmente durante la ordeña por que el principal reservorio es la glándula infectada, en cambio, las infecciones por patógenos ambientales como *E. coli*, *Klebsiella spp*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Pseudomonas*, son más frecuentes en los períodos de interordeña, especialmente en animales estabulados, debido a que los pezones se contaminan ya sea por contacto directo con las heces, por contacto con descargas vaginales, camas contaminadas, o por la lactación (Kruze 1998).

Para seleccionar adecuadamente un antimicrobiano, el médico veterinario no sólo necesita conocer el agente etiológico involucrado, sino también su sensibilidad a los antibióticos. Dentro de los más utilizados en la mastitis, tanto en el ámbito internacional como nacional están los betalactámicos, cefalosporinas, tetraciclinas, macrólidos, aminoglucósidos y sulfonamidas ([Watts y col., 1995](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2002000200008&script=sci_arttext#a38)).

Existen numerosas publicaciones internacionales en el ámbito de la producción animal, incluyendo al ganado lechero, que señalan la existencia de multiresistencia bacteriana, por lo que el objetivo del estudio fue conocer la resistencia microbiana de cepas aisladas en el estado de Hessen Alemania y el estado de Jalisco México.

**2. MATERIAL Y METODOS**

Las muestras de leche se obtuvieron de vacas con mastitis clínica y subclínica, provenientes de rebaños lecheros en el estado de Hessen Alemania y el estado de Jalisco México. Las muestras fueron recolectadas asépticamente de cuartos mamarios individuales en tubos estériles desechables con tapa de rosca de 15 ml de capacidad, siguiendo las recomendaciones del [National Mastitis Council, USA (1990)](http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0301-732X2002000200008&script=sci_arttext#a27).

Para el aislamiento de los patógenos mamarios se siguieron normas internacionales estandarizadas, empleando agar sangre de borrego, y una vez inoculadas se mantuvieron en incubación a 37⁰C por 24 a 48hrs.

La identificación de los géneros y especies bacterianas se realizó con el análisis de proteínas por Maldi-Toff Proteomica en el Instituto Estatal de Investigaciones de Hessen, Alemania.

La deter­minación de la sensibilidad bacteriana a los antibióticos se realizó en el Instituto Estatal de Investigaciones de Hessen, Alemania, con el Thermo Scientific Multiskan EX, utilizando Ampicilina, Amoxicilina, Cefazoina, Cefoperazona, Cefquinom, Eritromicina, Kanamicina/Cefalexina, Oxacilina, Penicilina G y Pirlimicina.

**3. RESULTADOS**

Se evaluaron un total de 419 muestras, determinando 8 familias, 13 géneros y 24 especies bacterianas (cuadro 1).

La sensibilidad a los antibióticos en los patógenos aislados con mayor frecuencia como en las cepas de la familia *Enterobacteriacea,* mostró valores elevados de resistencia frente a ampicilina (55%), Penicilina G, Eritromicina, Oxacilina y Pirlimicina (todas con el 100% de resistencia).

En el caso del Género *Streptococcus,* se evidenció la sensibilidad en el 100% hacia Ampicilina, Amoxicilina, Cefazolina, Cefoperazona, Cefquinom y Kanamicina/Cefalexina y del 95.5% hacia Oxacilina y Penicilina G.

Con el género *Staphylococcus*, la resistencia hacia Amoxicilina y Penicilina G fue del 50.6% y del 49% sensibilidad hacia Ampicilina.

**4. CONCLUSIONES**

Concluimos haciendo notar la importancia de analizar la resistencia a los antimicrobianos de uso habitual en cada especie bacteriana causante de mastitis en bovinos y así obtener resultados satisfactorios al tratamiento, control de la enfermedad y así disminuir la incidencia de enfermedades trasmisibles por la leche.

**CUADRO 1. DISTRIBUCIÓN DE PATÓGENOS MAMARIOS AISLADOS DE MASTITIS BOVINA**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| FAMILIA | GENERO | ESPECIE | TOTAL | % |
| 1.*Streptococcaceae* | *Streptococcus* | *agalactiae* | 1 |  |
|  |  | *dysgalactiae* | 9 |  |
|  |  | *uberis* | 35 |  |
|  | *Lactococcus* | *garvieae* | 2 |  |
|  | *Streptococcus* esculina positivos | *sp* | 21 |  |
|  |  |  |  |  |
| 2*.Enterobacteriaceae* | *Citrobacter* | *Koseri* | 1 |  |
|  | *Enterobacter* | *cloacae* | 1 |  |
|  | *Escherichia* | *coli* | 12 |  |
|  | *Klebsiella* | *oxytoca* | 1 |  |
|  | *Klebsiella* | *pneumoniae* | 5 |  |
|  |  |  |  |  |
| 3- Costridiaceae | *Clostridum* | *perfringens* | 1 |  |
|  |  |  |  |  |
| 4-Corynebacteriaceae | *Corynebacterium* | *bovis* | 2 |  |
|  | *Corynebacterium* | *sp* | 1 |  |
|  |  |  |  |  |
| 5.Staphylococcaceae | *Staphylococcus* | Coagulasa negativo (penicilina positivo) | 96 |  |
|  | *Staphylococcus* | Coagulasa negativo (penicilina negativo) | 41 |  |
|  | *Staphylococcus* | Coagulasa negativo | 1 |  |
|  | *Staphylococcus* | *aureus* | 5 |  |
|  | *Staphylococcus* | *aureus*(penicilina negativo) | 116 |  |
|  | *Staphylococcus* | *aureus*(penicilina positivo) | 24 |  |
|  | *Staphylococcus* | *lentus*(penicilina positivo) | 2 |  |
|  | *Staphylococcus* | *simulans* | 1 |  |
|  | *Staphylococcus* | *simulans*(penicilina positivo) | 1 |  |
|  |  |  |  |  |
| *6- Enterococcaceae* | *Enterococcus* | *Faecalis* | *26* |  |
|  | *Enterococcus* | *faecium* | *6* |  |
|  | *Enterococcus* | *saccharolyticus* | *3* |  |
|  | *Enterococcus* | *sp* | *1* |  |
|  |  |  |  |  |
| *7-Pasteurellaceae* | *Pasteurella* | *multocida* | *1* |  |
|  |  |  |  |  |
| *8 Actinomycetaceae* | *Trueperella (Arcanobacterium )* | *pyogenes* | *3* |  |

**BIBLIOGRAFÍA**

1. Calvinho, L. F., Tirante, I.; Prevalencia de microorganismos patógenos de mastitis bovina y evolución del estado de salud de la glándula mamaria en Argentina en los últimos 25 años. *Revista FAVE* *sección ciencias veterinarias,* 2005, vol. 4, nº1, p. 29-40.
2. Castañeda, V. H., Wilfried, W., Kloppert, B. y Michael, Z. *Mastitis Bovina, Control Diagnostico y Tratamiento*. Editado por Universidad de Guadalajara. 1ª ed. Guadalajara Jalisco (México): Universidad de Guadalajara, 2004, ISBN 970270487-1.
3. Kruze, M. V.; La rutina de ordeño y su rol en los programas de control de mastitis bovina. *Arch. Med. Vet.* , 1998, vol. 30 nº 2, [consulta:10 junio 2009].
4. Heisig, P., B. Kratz, E. Halle, Y. Graser, M. Altwegg, W. Rabsch, J. P. Faber. 1995. Identification of DNA gyrase A mutations in ciprofloxacin-resistant isolates of *Salmonella* typhimurium from men and cattle in Germany. *Microb*. *Drug* *Res*. 1: 211-218.
5. Michael Zschöck, Amr El-Sayed, Nawara Eissa, Christoph Lämmler, Hugo Castañeda-Vazquez. Penicillin G and oxacillin resistance in *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine subclinical mastitis. *Vet. Méx., 42 (3)* 2011.
6. Molbak, K., D. L. Baggesen, F. M. Aarestrup. 1999. An outbreak of multidrugresistant, quinolone-resistant Salmonella enterica serotype thyphimurium DT104. *New* *Engl*. *J*. *Med*. 341: 1420-1425.
7. San Martin, B., C. Borie, L. Zurich. 1991. Estudio de resistencia bacteriana frente a diferentes antibióticos utilizados en mastitis clínica bovina. Monogr. Med. Vet. 13: 49-52
8. San Martin, B., H. Cañon, D. Iragüen, S. Espinoza, J. Lillo. 2001. Depletion study of trimethoprim and sulphadiazine in milk and its relationship with mastitis pathogenic bacteria strains minimum inhibitory concentrations (MICs) in dairy cows. J. Vet. Pharmacol. Ther. 24: 1-6.
9. Scaramelli, A., Zuleima, G. Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina. *Manual de Ganadería Doble Propósito. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Central de Venezuela, 2004, cap. 9, p. 328-334*
10. Watts, J. L., S. A. Salmon, R. S. Yancey, S. C. Nickerson, L. J. Weaver, C. Hoemberg, J. W. Pankey, L. K. Fox. 1995. Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from the mammary glands of dairy heifers. *J*. *Dairy* *Sci*. 78: 1637-1648.