

Frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana del estafilococo coagulasa negativo aislado de mastitis bovina en fincas lecheras del Tolima, Colombia

María del Pilar Sánchez Bonilla¹ / Norma Patricia Gutiérrez Murillo²

Resumen

Objetivo: Determinar la presencia y susceptibilidad antimicrobiana del grupo estafilococo coagulasa negativo (ECN) en algunas fincas ganaderas de Tolima, Colombia. **Materiales y métodos:** Mediante la prueba de California para el diagnóstico de mastitis (CMT), se evaluaron 484 cuartos pertenecientes a 121 vacas de cinco fincas ganaderas de pequeña producción de una región del centro de Tolima. Las muestras positivas al CMT se cultivaron para aislamiento bacteriológico. A los ECN encontrados se les realizaron pruebas de susceptibilidad frente a los antibióticos. Los resultados se analizaron con estadística descriptiva. **Resultados:** 252 (52 %) cuartos no presentaron ningún tipo de reacción al CMT, ni signos clínicos de mastitis, por lo cual se consideraron libres de la enfermedad. De los cuartos, 73 (15 %) fueron positivos para CMT y cultivo bacteriológico. De estos se aislaron 36 cepas de ECN (7,4 % del total de cuartos); *S. aureus*-ECP, 28 (5,8 %); *Streptococcus* spp., 6 (1,2 %); *Escherichia coli*, 2 (0,4 %), y *Klebsiella pneumoniae*, 2 (0,2 %). La mastitis clínica y subclínica en el cuarto se presentó en 1,4 % y 13,6 %, respectivamente. En 5 (1,0 %) de los cuartos se encontró mastitis clínica causada por ECN y mastitis subclínica en 31 (6,4 %). El 61 % de las cepas de ECN fue resistente a penicilina, y el 58 %, a tetraciclina; el 97 % fue sensible a cefoperazona. **Conclusión:** El grupo ECN, considerado un emergente mundial de mastitis, es evidenciado con alta frecuencia en fincas ganaderas de Tolima, Colombia, lo que causa mastitis clínica y subclínica con variada respuesta a los antimicrobianos.

Palabras clave: estafilococo coagulasa negativo (ECN), mastitis clínica, mastitis subclínica, prueba California mastitis.

1 Bacterióloga y laboratorista clínica. MSc. Microbiología. Especialista en Laboratorio Clínico Veterinario. Profesora titular, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, Ibagué, Colombia. Grupo de investigación Impronta. ✉ maria.sanchez@campusucc.edu.co

2 Ingeniera industrial. Especialista en Gerencia de Talento Humano. MBA en Sistemas Integrados de Gestión. Profesora titular, Programa de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Cooperativa de Colombia, Ibagué, Colombia. Grupo de investigación Impronta. ✉ norma.gutierrez@campusucc.edu.co

Frequency and Antimicrobial Susceptibility of Coagulase-negative Staphylococci Isolated from Bovine Mastitis in Dairy Farms from Tolima, Colombia

Abstract

Objective: To determine the antimicrobial presence and susceptibility of the coagulase-negative staphylococci group (ECN, for its initials in Spanish) in some cattle farms from Tolima, Colombia. **Materials and methods:** Using the California test for the diagnosis of mastitis (CMT, for its initials in Spanish), 484 quarters belonging to 121 cows from five small production ranches from a region of central Tolima were evaluated. CMT positive samples were cultivated for bacterial isolation. The ECN found were tested for susceptibility to the antibiotics. The results were analyzed with descriptive statistics. **Results:** 252 (52%) quarters did not show any type of reaction to the CMT, nor did they show any clinical signs of mastitis, therefore they were considered free of the disease. From the quarters, 73 (15%) turned positive for CMT and bacteriological culture. From these, 36 strains of ECN were isolated

Cómo citar este artículo: Sánchez Bonilla MP, Gutiérrez Murillo NP. Frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana del estafilococo coagulasa negativo aislado de mastitis bovina en fincas lecheras del Tolima, Colombia. Rev Med Vet. 2015;(30):83-93.

(7.4% of the total of quarters); *S. aureus-ECP*, 28 (5.8%); *Streptococcus* spp., 6 (1.2%); *Escherichia coli*, 2 (0.4%), and *Klebsiella pneumoniae*, 2 (0.2%). The clinical and subclinical mastitis in the quarter occurred in 1.4% and 13.6%, respectively. In 5 (1.0%) of the quarters, clinical mastitis caused by ECN was found and subclinical mastitis in 31 (6.4%). 61% of the ECN strains were resistant to penicillin, and 58%, to tetracycline; 97% were sensitive to cefoperazone. **Conclusion:** The ECN group, considered a global emergent of mastitis, is evidenced with high frequency in ranches from Tolima, Colombia, causing clinical and subclinical mastitis with varied response to antimicrobials.

Keywords: coagulase-negative staphylococci (ECN), clinical mastitis, subclinical mastitis, California mastitis test.

Frecuencia e susceptibilidad antimicrobiana do estafilococo coagulase negativo isolado de mastite bovina em fazendas produtoras de leite do Tolima, na Colômbia

Resumo

Objetivo: Determinar a presença e susceptibilidade antimicrobiana do grupo estafilococo coagulase negativo (ECN) em algumas fazendas de gado do Tolima, na Colômbia. **Materiais e métodos:** Mediante a prova de Califórnia para o diagnóstico de mastite (CMT), se avaliaram 484 quartos pertencentes a 121 vacas de cinco fazendas de gado de pequena produção de uma região do centro do Tolima. As amostras positivas ao CMT se cultivaram para isolamento bacteriológico. Aos ECN encontrados foram-lhes realizadas provas de susceptibilidade diante dos antibióticos. Os resultados se analisaram com estatística descritiva. **Resultados:** 252 (52%) quartos não apresentaram nenhum tipo de reação ao CMT, nem signos clínicos de mastite, razão pela qual foram considerados livres da doença. Dos quartos, 73 (15%) foram positivos para CMT e cultivo bacteriológico. Destes se isolaram 36 cepas de ECN (7,4% do total de quartos); *S. aureus-ECP*, 28 (5,8%); *Streptococcus* spp., 6 (1,2%); *Escherichia coli*, 2 (0,4%), e *Klebsiella pneumoniae*, 2 (0,2%). A mastite clínica e subclínica no quarto se apresentaram em 1,4% e 13,6%, respectivamente. Em 5 (1,0%) dos quartos se encontrou mastite clínica causada por ECN e mastite subclínica em 31 (6,4%). Em 61% das cepas de ECN foram resistentes à penicilina, e o 58%, à tetraciclina; o 97% foram sensíveis à cefoperazona. **Conclusão:** o grupo ECN, considerado um emergente mundial de mastite, é evidenciado com alta frequência em fazendas de gado do Tolima, na Colômbia, o que causa mastite clínica e subclínica com variada resposta aos antimicrobianos.

Palavras chave: estafilococo coagulase negativo (ECN), mastite clínica, mastite subclínica, prova Califórnia mastite.

INTRODUCCIÓN

La mastitis bovina es una enfermedad multifactorial que reduce la producción láctea, altera su calidad y descarta leche y costos por tratamientos, lo cual conlleva graves pérdidas económicas en las fincas y en la industria lechera, además del riesgo

para la salud humana (1). La clasificación generalmente aceptada como clínica o subclínica depende del grado de severidad de sus síntomas. La mastitis clínica se caracteriza por anomalías en la ubre o en la leche. La subclínica es la forma de enfermedad más prevalente, causa grandes pérdidas económicas y no puede ser detectada de forma visual (2).

En cuanto a la etiología, *Streptococcus agalactiae*, aunque tiene alta sensibilidad a los antibióticos, fue la causa principal de mastitis en la época preantibiótica, y lo sigue siendo aún en muchos hatos. El uso de antibióticos y la introducción de la máquina de ordeño hacia la mitad de la década de los sesenta disminuyó la prevalencia de *S. agalactiae*, con aumento de *Staphylococcus aureus*. Hacia los años ochenta con medidas de manejo en los sistemas de producción, con el uso de nuevos antibióticos y el descarte de vacas portadoras, se produjo una reducción considerable de *S. aureus* y un aumento de los estafilococos coagulasa negativos (ECN) (3).

Los ECN tradicionalmente han sido clasificados como patógenos menores ambientales (4). Para algunos autores disminuyen el riesgo de adquisición de una nueva infección intramamaria (IMI) con un patógeno mayor (5). Los ECN han llegado a ser las bacterias más comunes aisladas de mastitis bovina en los últimos años en muchos países, y por lo tanto se describen como patógenos emergentes de mastitis bovina (6-8). Las infecciones por ECN suelen ser leves o de tipo subclínico, aunque en algunas ocasiones pueden causar procesos más graves y persistentes, y provocar un aumento en el recuento de células somáticas y una disminución en la calidad y producción de la leche, debido al daño causado al tejido mamario (9).

En el diagnóstico de rutina de mastitis, los ECN son considerados un grupo uniforme, aunque en realidad está conformado por más de 50 especies y subespecies, de las cuales unas 15 han sido aisladas de muestras de leche en mastitis bovina, lo que dificulta su control (6). Por su complejidad y alto costo en su diferenciación, el National Mastitis Council los clasifica para su diagnóstico y tratamiento como ECN novobiocino sensibles (v. g. *S. epidermidis*) y ECN novobiocino resistentes (v. g. *S. sciuri*); estos últimos no requieren tratamiento por presentar curaciones

espontáneas (10). A pesar de la emergencia de ECN como patógeno, el conocimiento de su virulencia y los mecanismos asociados son limitados (11). Hasta el momento, los mecanismos patogénicos de ECN son expresados por dos parámetros: su invasividad (habilidad de permear barreras protectoras para adherirse a las células del huésped y formar biopelículas) y su toxicidad (capacidad de producir enzimas y toxinas, que incluyen hemolisinas y proteasas) (11,12).

En Argentina se realizó un estudio de susceptibilidad en el que se encontró su alto grado de resistencia a varios antibióticos (13). En Brasil se examinaron cepas que mostraron alta resistencia a la penicilina (93,5%), seguido por sulfonamidas (88,9%). Todas las cepas en este estudio mostraron resistencia a por lo menos uno de los antimicrobianos probados (14). En años recientes se ha incrementado el número de ECN productores de β -lactamasas y resistentes a metilina, portadores del gen MecA resistente a todos los grupos de antibióticos β -lactámicos (15). Se considera que el ECN actúa como reservorio de genes de resistencia para *S. aureus* (16); también ha aparecido como principal causa de mastitis en pequeños rumiantes (17). En Brasil el 20,3% de cepas causantes de mastitis en ovinos presentaron resistencia múltiple (18).

En cuanto a su especiación, un estudio realizado en Polonia determinó las proporciones de especies de ECN en mastitis clínica en un 23,3%, y subclínica en un 76,7%. Causando mastitis clínica y subclínica se aislaron cuatro especies de ECN: *S. xylosus*, *S. chromogenes*, *S. haemoliticus* y *S. sciuri*; la especie aislada más común en vacas con mastitis clínica fue *S. xylosus*, mientras *S. chromogenes* fue la más prevalente en mastitis subclínica. Tres especies de ECN (*S. warneri*, *S. hominis* y *S. saprophyticus*) causaron solo mastitis subclínica (19).

Es importante el rol de ECN como patógeno emergente en infecciones intrahospitalarias en humanos. El *S. epidermidis* ha sido identificado como la principal causa de infección nosocomial, en especial en pacientes con factores predisponentes como implantes o catéteres (20); en ellos causa aproximadamente el 30% de todas las infecciones del torrente sanguíneo (21). *S. saprophyticus* se ha aislado a menudo en pacientes con endocarditis o infecciones urinarias (21).

Dos especies de ECN emergen como patógenos zoonóticos potenciales: *S. lugdunensis* y *S. schleiferi*. La primera ha sido asociada con enfermedades humanas, sobre todo con infecciones en piel y endocarditis, pero recientemente se ha descrito como un patógeno animal. *S. schleiferi* ha sido asociada con infecciones en piel de perros y gatos, pero en la actualidad ha sido descrito como un patógeno humano (22).

Por estas razones, el objetivo del presente estudio fue determinar la presencia y susceptibilidad antimicrobiana del grupo patógeno emergente ECN en fincas ganaderas de una región del Tolima, Colombia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Lugar de estudio

Las muestras que se utilizaron en la investigación fueron tomadas de la totalidad de vacas de fincas asociadas a la Federación de Ganaderos del Tolima, con un promedio de 25 vacas por finca, la mayoría de raza Normando, con una producción diaria aproximada de seis litros de leche, con sistema de producción de doble propósito en el corregimiento de Anaime.

Este corregimiento se encuentra localizado en el municipio tolimense de Cajamarca, ubicado a 1814

msnm, coordenadas 4° 26' 27" N, 75° 25' 40" W, entre los ríos Anaime y Bermellón, con un clima templado y una temperatura media de 18 °C, en el día, ya que al anochecer la temperatura baja aproximadamente hasta los 8 °C. A Cajamarca se le conoce como “la despensa agrícola de Colombia”, gracias a la rica producción agropecuaria del cañón de Anaime (23).

Aspectos éticos

La toma de la muestra se realizó durante el ordeño de la mañana y en esta no se practicaron procedimientos experimentales; por esta razón no se solicitó aval de un comité de ética. El estudio contó con el consentimiento informado para la toma de las muestras. Esta toma fue realizada por estudiantes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Cooperativa de Colombia, sede Ibagué, quienes recibieron el acompañamiento de un profesor y el entrenamiento previo por parte de la Federación de Ganaderos del Tolima, para que la realización del procedimiento de la prueba CMT, conservación y envío de muestras al laboratorio cumplieran los parámetros establecidos por el National Mastitis Council (24).

Prueba de CMT

A la leche proveniente de 484 cuartos en producción se les realizó la prueba California. Para cultivo bacteriológico se tomaron muestras de leche de 20 ml de cada caso clínico y de todos los cuartos que presentaron al CMT un resultado mayor o igual a trazas. Una vez las muestras de leche fueron obtenidas, se refrigeraron y antes de las 24 horas (24) se transportaron hasta el Laboratorio de Diagnóstico de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Cooperativa de Colombia, sede Ibagué, para ser cultivadas en el menor tiempo.

Cultivo microbiológico

Las muestras fueron inoculadas mediante la técnica de siembra por superficie con asa calibrada (0,01 ml) en los medios agar sangre y agar Mac-Conkey. Se incubaron entre 24 y 48 h a 37 °C en condiciones aeróbicas. A los aislados se les realizó estudio de las colonias y coloración de Gram para evaluación morfológica. A los cocos grampositivos se les practicó la prueba de la catalasa para diferenciar *Streptococcus* de *Staphylococcus*. La prueba de coagulasa en tubo fue usada para diferenciar *S. aureus* y otros estafilococos coagulasa positiva (ECP) de los ECN. Los cocos grampositivos, la mayoría con característica de crecimiento en gota de rocío en el agar sangre y catalasa negativos, fueron identificados como *Streptococcus* spp. A las colonias gramnegativas se les practicó las pruebas de Indol, rojo de Metilo, Voges Proskauer, citrato de Simmons y TSI. Posteriormente, a los crecimientos de ECN se les realizó la prueba de susceptibilidad a antibióticos utilizando trimetoprim-sulfametoxazol (25 µg), penicilina G (10 UI), cefoperazona (75 µg), estreptomina (10 µg), tetraciclina (30 µg) y eritromicina (15 µg). Los cultivos fueron clasificados como sensibles (S), de sensibilidad intermedia (I) y resistentes (R), sobre la base del diámetro de la zona de inhibición. Además de la novobiocina (5 µg) para su clasificación como novobiocino-sensibles o novobiocino-resistentes, estas pruebas se realizaron mediante el método de difusión en agar Müller-Hinton, según las normas del Clinical and Laboratory Standards Institute (25).

DISEÑO METODOLÓGICO

Mediante un muestreo no probabilístico de conveniencia y por medio de un estudio transversal se seleccionaron cinco sistemas productivos lecheros.

Delimitación de la población y de la muestra

La muestra utilizada fueron 121 vacas de las cuales se tomaron muestras por cuarto para un total de 484.

Fase de recolección de datos

Las bacterias fueron obtenidas mediante el cultivo de la leche de los cuartos positivos al CMT.

Fase de análisis de datos

Debido al carácter cualitativo de las variables de este estudio, el análisis de los resultados se realizó mediante estadística descriptiva utilizando el software estadístico SPSS. Las variables que se establecieron fueron: la identificación de las pruebas positivas al CMT, las bacterias presentes en la leche de las vacas y la susceptibilidad o resistencia de ECN a la novobiocina y otros antibióticos.

RESULTADOS

En total se evaluaron por medio de la prueba CMT 484 cuartos de 121 vacas de ordeño procedentes de la totalidad de cinco fincas, de las cuales 63 (52,2%) vacas no presentaron en ninguno de sus cuartos ni signos clínicos ni reacción al CMT, y por eso se consideraron libres de la enfermedad; 13 (10,7%) presentaron CMT trazas, sin signos clínicos y sin crecimiento bacteriológico, por eso también fueron consideradas libres de mastitis.

Por otra parte, se presentó mastitis en 43 vacas (35,5%). La mastitis clínica se presentó en siete (5,8%) vacas procedentes de una misma finca, diagnosticadas con CMT positivo de una cruz en adelante, manifestaciones clínicas consistentes en pezones enrojecidos, anomalías en la leche y posterior aislamiento bacteriológico. Las otras 36

(29,7%) vacas presentaron reacción positiva al CMT y crecimiento bacteriológico sin signos clínicos, por lo cual fueron catalogadas con mastitis subclínica. En la tabla 1 se presenta la relación entre número de vacas, tipo de mastitis y microorganismos.

En relación con la mastitis por cuarto, 252 (52%) no presentaron ningún tipo de reacción al CMT, ni signos clínicos de mastitis, por lo cual se consideraron libres de la enfermedad; 90 (18,6%) de los 484 examinados presentaron reacción al CMT desde trazas en adelante. De estos, en 15 (16,7%) no crecieron microorganismos y en 2 (2,2%) presencia de contaminantes; 73 (15%) cuartos fueron positivos para CMT y cultivo bacteriológico. De estos se aislaron 36 cepas de ECN (7,4% del total de cuartos), *S. aureus*-ECP 28 (5,8%), *Streptococcus* spp. 6 (1,2%), *Escherichia coli* 2 (0,4%) y *Klebsiella pneumo-*

niae 2 (0,2%). La mastitis clínica y subclínica en el cuarto se presentó en 1,4 y 13,6% respectivamente. En 5 (1,0%) de los cuartos se encontró mastitis clínica causada por ECN, y mastitis subclínica en 31 (6,4%).

De las 73 cepas halladas, 36 (49,3%) fueron ECN y 37 (50,7%) correspondieron a otros microorganismos, en los que 31 (86,1%) de estas ECN causaron mastitis subclínicas y 5 (13,9%) mastitis clínica.

El 77, el 87 y el 97% de las cepas de ECN fueron sensibles a estreptomycin, trimetoprim/sulfametoxazole y cefoperazona respectivamente; el 58% presentó resistencia a la tetraciclina y el 61%, a la penicilina G (tabla 2). En cuanto a la clasificación de ECN según su comportamiento frente a la novobiocina como sensibles o resistentes, presentaron una proporción de 52 y 48% respectivamente (tabla 2).

Tabla 1. Relación entre número de vacas, tipo de mastitis y microorganismos

Finca	n.º vacas	Clínica (vacas)	Subclínica (vacas)	n.º cepas	ECN	<i>S. aureus</i> -ECP	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>
1	24	-	12	29	15	7	5	-	2
2	24	-	7	9	0	9		-	-
3	23	-	11	15	11	3	1	-	-
4	30	-	6	9	2	7		-	-
5	20	7		11	8	2		1	-
Total	121	7	36	73	36	28	6	1	2

Tabla 2. Sensibilidad y resistencia de los ECN frente a los antimicrobianos

Agente	Antibiótico													
	Eritromicina (15 µg)		Estreptomicina (10 µg)		Trimetropin sulfam (25 µg)		Cefoperazone (75 µg)		Tetraciclina (30 µg)		Penicilina G (10 UI)		Novobiocina (5 µg)*	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
ECN	13	18	7	24	4	27	1	30	18	13	19	12	15	16

* Se utilizó para clasificación de los *Staphylococcus coagulasa* negativa.

En la tabla 3 se presenta la susceptibilidad antimicrobiana de cada grupo novobiocino-sensible

y novobiocino-resistente frente a los antibióticos.

Tabla 3. Sensibilidad (S) y resistencia (R) de los ECN novobiocino-resistentes y novobiocino-sensibles frente a los antibióticos (en porcentajes)

Novobiocino	Eritromicina (15 µg)		Penicilina G (10 UI)		Cefoperazone (75 µg)		Estreptomina (10 µg)		Trimetropinsulfa (25 µg/)		Tetraciclina (30 µg)	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
R	69	31	54	46	8	92	23	77	15	85	46	54
S	17	83	50	50	0	100	22	78	11	89	53	47

DISCUSIÓN

Según la Organización Mundial de la Salud, una enfermedad emergente es aquella que ha aparecido en una población por primera vez, o que puede haber existido anteriormente, pero que va aumentando con rapidez en incidencia o rango geográfico (26). A partir de este concepto, los ECN han llegado a ser los más comunes aislados de mastitis bovina en los últimos años en muchos países, y por lo tanto se describen como patógenos emergentes de mastitis bovina. En las fincas de Anaime, Tolima, los ECN también mostraron la más alta frecuencia como causantes de mastitis clínica y subclínica.

Este estudio tiene varias fortalezas y limitaciones. En retrospectiva cinco fincas no fueron el número óptimo para la evaluación de prevalencia, por eso solo se habla de frecuencia. Sin embargo, en esta región no se había realizado ningún estudio en cuanto a la dinámica de la mastitis. En el estudio los ECN se agruparon según lineamientos del National Mastitis Council, como novobiocino sensibles y novobiocino resistentes, pero no se realizó especiación del grupo. Es importante resaltar que la región de Anaime está doblemente certificada por el Instituto Colombiano Agropecuario como una región libre de brucelosis y tuberculosis, y como es considerada “despensa agrícola de Colombia”, el estudio es de suma importancia para el comité de ganaderos del país.

En la actual investigación, el ECN constituyó el 49,3 % de todos los microorganismos aislados

de cuartos afectados por mastitis, lo cual lo convierte en el principal agente causante de esta enfermedad. En Colombia, este es el primer estudio que revela una frecuencia de aislamiento tan alta. Sin embargo, son varios los registros en el país en los que ECN fue el segundo patógeno aislado de cuartos con mastitis subclínica: en el altiplano cundi-boyacense, con una frecuencia de 11,75 % después de *Staphylococcus aureus* (29,09 %) (27); en el altiplano del norte de Antioquia de 17,6 % después de *Streptococcus agalactiae* (34 %) (28); en el oriente antioqueño 23 % luego de *Streptococcus dysgalactiae* (29,5 %) (29). Todas estas investigaciones usaron la prueba de California como herramienta diagnóstica; algunos usaron además recuento de células somáticas (RCS) (28,29).

Son frecuentes los países que en los últimos años registran en sus regiones ECN como principal agente causante de mastitis. En Guanajato, México, fue el principalmente identificado de mastitis bovina con una frecuencia de 42 % (30). En rebaños lecheros de Río Grande del Sur, Brasil, la prevalencia de mastitis bovina fue descrita en grupos de acuerdo con el perfil epidemiológico: bacterias ambientales, contagiosas y otras. Predominaron los ambientales y dentro de estos los ECN en una proporción de 53,8 % (31). En la región de Lublin, Polonia, y en el área urbana y periurbana de Kampala, Uganda, se encontró como principal agente aislado de cultivos bacteriológicos de leches de cuartos con mastitis con una frecuencia de

aislamiento de 44,8 y 54 % (19-32), siendo todos estos datos similares a lo encontrado en este estudio. En Tehran, Irán, y Brandenburgo, Alemania, el ECN fue el principal aislado de cuartos con mastitis, a pesar de que la proporción fue menor: 20,5 y 9,1 %, respectivamente (33,34).

La literatura refiere que el ECN causa mastitis leves y por lo general de tipo subclínico. Esto concuerda con lo encontrado en esta investigación, en la cual la proporción cepas de ECN en mastitis clínica y subclínica en el cuarto fue 13,9 y 86,1 %, y las manifestaciones clínicas consistieron en todos los casos en anormalidades en la leche y en algunos, además, pezones enrojecidos; estos valores se pueden relacionar con el estudio en Lublin de 23,3 y 76,7 %, respectivamente (19). Sin embargo, en un estudio en Helsinki, Finlandia, casi la mitad de los casos (49 %) de mastitis causadas por ECN fue de tipo clínico, aunque en el 72 % de estos casos el único signo fue el cambio en la apariencia de la leche (35).

En cuanto al patrón de comportamiento frente a antibióticos, los presentes hallazgos son comparables con el estudio realizado en Colombia por Trujillo en el oriente de Antioquia (29). En ambos estudios se encuentra una alta sensibilidad a cefoperazona (92 % en este estudio en Anaimé, Tolima, y 97 % en el oriente de Antioquia) y una gran resistencia a la penicilina G, de 62 y 69 % respectivamente (ambos estudios realizados con la técnica de difusión en disco). Los datos que coinciden con investigaciones en otros países. En Finlandia se observó una resistencia del 100 % a cefalotín; allí la penicilina fue el antibiótico al que se le presentó mayor resistencia. A pesar de que el porcentaje fue de 32 %, los autores consideran una resistencia relativamente alta al compararla con otros países nórdicos (35). En Karnataka, India, un estudio muestra una alta sensibilidad a ceftriaxone (83,88 %) y

una alta resistencia a la penicilina (76,77 %) (36). En esta investigación, la tetraciclina fue el otro antibiótico al que se le presentó resistencia en más de la mitad de los aislados (58 %), contrario a registros en los que se muestra una alta sensibilidad (37). Además, en este estudio se presenta variada susceptibilidad de ECN a los antimicrobianos. A diferencia de esto, en un estudio en Ribeirão Preto Brasil, las cepas de ECN presentan un alto grado de resistencia a la mayoría de los antibióticos probados. La resistencia a la penicilina, al igual que en los presentes hallazgos, fue la más frecuente, pero mucho más alta (93,5 %), seguida por sulfonamida (88,9 %), novobiocina (88,6 %) y ampicilina (85,3 %) (14).

CONCLUSIONES

Los hallazgos de esta investigación revelan una alta frecuencia de mastitis causada por ECN. Este grupo de microorganismos ha sido considerado un patógeno menor por muchos años; sin embargo, su importancia debe ser reconsiderada, ya que en muchos países es el agente más comúnmente encontrado que causa mastitis. Quizá porque la proporción de ECN es alta en las muestras obtenidas de los animales con mastitis subclínica o mastitis clínicas leves, en países como Colombia, donde los mayores problemas de salud de la ubre tradicionalmente se han relacionado con los llamados patógenos mayores, las infecciones por ECN pueden ser ignoradas. Los resultados en este estudio indican también que el ECN aislado de fincas ganaderas de Anaimé, Tolima, exhiben un alto grado de resistencia a penicilina y tetraciclina, antibióticos ampliamente usados en la región.

El conocimiento sobre las especies de ECN involucradas en la mastitis bovina es todavía muy limitado. Este trabajo se puede considerar una base para posteriores investigaciones sobre su especiación.

Es necesario contar con métodos de diagnóstico fiables y accesibles que permitan su registro de rutina en los laboratorios, ya no por grupo sino por especie, y determinar los factores predisponentes para la mastitis por ECN en el rebaño y en las vacas, lo cual puede contribuir a diseñar estrategias eficaces para su prevención.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Cooperativa de Colombia, por su apoyo a través del Comité Nacional de Investigación (Conadi), que hizo posible la realización de este estudio; al Dr. Iván Posada, por su colaboración; a la Federación de Ganaderos del Tolima, especialmente al Dr. Gustavo Barragán y a la funcionaria Claudia Marcela Torres; a Yolanda Vergara, Luisa Prieto, Nelson Quintero y Daniel Camargo, futuros médicos veterinarios, quienes participaron en la ejecución de este proyecto, y a los adultos y niños en las fincas que hicieron tan agradable este trabajo.

REFERENCIAS

1. Amritha G, Kulkarni, Kaliwal BB. Bovine mastitis: a review. *IJSR*. 2013;4(5):543-8.
2. National Mastitis Council. Glossary of mastitis. Terms from the NMC publication Current concepts of bovine mastitis [internet]. 2014 [citado 2014 jul 20]. Disponible en: <http://www.nmconline.org/documents.html%20>
3. Saran A, Shaffer M. Mastitis y calidad de la leche. Buenos Aires: Intermédica; 2000.
4. Canadian Bovine Mastitis and Milk Quality Research Network (CBMQRN) [internet] 2015 [citado 2015 ene 27]. Disponible en: http://www.medvet.umontreal.ca/reseau_mammite/en/page.php?p=23&tm=h&niv=2
5. Reyher KK, Haine D, Dohoo R, Revie CW. Examining the effect of intramammary infections with minor mastitis pathogens on the acquisition of new intramammary infections with major mastitis pathogens—A systematic review and meta-analysis. *J Dairy Sci*. 2012;95(11):6483-502.
6. Py Pyörälä S, Taponen S. Coagulase-negative staphylococci-emerging mastitis pathogens. *Vet Microbiol*. 2009;134(1-2):3-8.
7. Hosseinzadeh S, Dastmalchi SH. Staphylococcal species associated with bovine mastitis in the North West of Iran: emerging of coagulase-negative staphylococci. *IJVSM*. 2014;2(1):27-34.
8. El-Jakee JK, Aref NE, Gomaa AM, El-Hariri MD, Galal HM, Omar SA, Samir A. Emerging of coagulase negative staphylococci as a cause of mastitis in dairy animals: An environmental hazard. *IJVSM*. 2013;1(2):74-8.
9. Taponen S, Simojoki H, Haveri M, Larsen HD, Pyörälä S. Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. *Vet Microbiol*. 2006;115(1-3):199-207.
10. Nickerson SC. Annual Meeting Proceedings: Coagulase-Negative Staphylococcus. Council NM, editor. Nashville; 2002.
11. Tremblay Y, Lamarche D, Chever P, Haine D, Messier S, Jacques M. Characterization of the ability of coagulase-negative staphylococci isolated from the milk of Canadian farms to form biofilms. *J Dairy Sci*. 2013;96(1):234-46.
12. Bochniarz M, Wawron W. Haemolytic and proteolytic activity of coagulase-negative staphylococci isolated from mastitis cows. *Pol J Vet Sci*. 2012;15(1):61-5.
13. Gentilini E, Denamiel G, Betancor A, Rebuelto M, Rodrigez Fermepin M, De Torrest RA. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. *J Dairy Sci*. 2002;85(8):1913-7.
14. Machado TRO, Correa MG, Marin JM. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative Staphylococci isolated from mastitic cattle in Brazil. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2008;60(1):278-82.

15. Bochniarz M, Wawron W, Szczubial M. Resistance to methicillin of coagulase-negative staphylococci (CNS) isolated from bovine mastitis. *Pol J Vet Sci.* 2013;16(4):687-92.
16. Tulinski P, Fluit AC, Wagenaar JA, Mevius D et al. Methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci on pig farms as a reservoir of heterogeneous staphylococcal cassette chromosome mec elements. *Appl Environ Microbiol.* 2012;78(2):299-304.
17. Olechnowicz J, Jaśkowski JM. Mastitis in small ruminants. *Med Weter.* 2014;70(2):67-72.
18. Libera D, Blagitz MG, Souza SN, Batista CF, Azeido MR, Benites NR, et al. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from meat-producing ewes with mastitis. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2010;62(6):1499-502.
19. Bochniarz M, Wawron W, Szczubiał M. Coagulase-negative staphylococci (CNS) as an aetiological factor of mastitis in cows. *Pol J Vet Sci.* 2013;16(3):487-92.
20. von Eiff C, Peters G, Heilmann C. Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis.* 2002;2(11):677-85.
21. Piette A, Verschraegen G. Role of coagulase-negative staphylococci in human disease. *Vet Microbiol.* 2009;134(1-2):45-54.
22. Meghan FD, Cain CL, Brazil AM, Rankin SC. Two coagulase-negative staphylococci emerging as potential zoonotic pathogens: wolves in sheep's clothing? *Front Microbiol.* 2013;4:123.
23. Alcaldía de Cajamarca. Presentación [internet]. 2013. [citado 2013 nov 15]. Disponible en: <http://www.cajamarca-tolima.gov.co/presentacion.shtml>.
24. National Mastitis Council. Global Milk Quality. Procedures for Collecting Milk Samples. [internet]. 2014 [citado 2014 ago 21]. Disponible en: <http://www.nmconline.org/sampling.htm>
25. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Document M100-S18. 8a ed. Wayne, PA: CLSI, 2007;27(1).
26. World Health Organization (WHO). Health Topics [internet]. 2015 [citado 2015 ene 25]. Disponible en http://www.who.int/topics/emerging_diseases/en/
27. Calderon 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 Pecu.* 2008;21(4):582-9.
28. 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.
29. Trujillo CM, Gallego AF, Ramírez N, Palacio LG. Prevalencia de mastitis en siete hatos lecheros del oriente antioqueño. *Rev Colomb Cienc Pecu.* 2011;24(1):11-8.
30. León MF, Barboza JE, Lechuga AA, Valencia M, Aguayo D, Cedillo C, et al. Molecular detection and sensitivity to antibiotics and bacteriocins of pathogens isolated from bovine mastitis in family dairy herds of central Mexico. *BioMed Res Int.* 2015;(2015):1-9 ID 615153.
31. San Santiago-Neto W, Machado G, Paim DS, de Campos Th, Brito M, Cardoso M, Corbellini LG. Relação da idade na presença de bactérias resistentes a antimicrobianos em rebanhos leiteiros no Rio Grande do Sul. *Pesq Vet Bras.* 2014;34(7):613-20.
32. Abrahmsén M, Persson Y, Mbabazi KB, Båge R. Prevalence of subclinical mastitis in dairy farms in urban and peri-urban areas of Kampala, Uganda. *Trop Anim Health Prod.* 2014;46(1):99-105.
33. Ataee O, Hovareshti P, Bolourchi M, Niasari-Naslaji A, Barin A. Prevalence and antimicrobial susceptibilities of coagulase-negative Staphylococci isolated from mammary secretions in pregnant Holstein heifers. *IJVR, U Shiraz.* 2007;8(3):270-74.
34. Tenhagen BA, Köster G, Wallmann J, Heuwieser W. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J Dairy Sci.* 2006;89(7):2542-51.

35. Pitkälä A, Haveri M, Pyörälä S, Myllys V, Honkanen-Buzalski T. Bovine mastitis in Finland 2001—prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J Dairy Sci.* 2004;87(8):2433-41.
36. Kaliwal BB, Sadashiv SO, Kurjogi MM, Sanakal RD. Prevalence and antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis. *Veterinary World.* 2011;4(4):158-61.
37. Medeiros E, Mota RA, Santos MV, Freitas M, Pinheiro JW, Teles JA. Perfil de sensibilidade microbiana in vitro de linhagens de *Staphylococcus* spp. isoladas de vacas com mastite subclínica. *Pesq Vet Bras.* 2009;29(7):569-74.

