



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

"EVALUACION DE UN AÑO SOBRE LA RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS DE MICROORGANISMOS PATOGENOS CAUSANTES DE MASTITIS, AISLADOS DE HATOS LECHEROS."

T E S I S
PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G O
P R E S E N T A :
ULISES ROJANO FLORES



Director: Dr. Marcelo Pérez Domínguez
Asesor: MVZ Juan José Enriquez Ocaña



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	Pág.
RESUMEN	
I. INTRODUCCION	1
I.1. Generalidades sobre Mastitis	1
I.2. Características de los Antibióticos Utilizados	6
I.2. 1. Penicilina	7
I.2. 2. Ampicilina	10
I.2. 3. Cloxacilina	11
I.2. 4. Carbencilina	11
I.2. 5. Cefalosporina	12
I.2. 6. Cefotaxima	14
I.2. 7. Estreptomina	15
I.2. 8. Kanamicina	17
I.2. 9. Gentamicina	18
I.2.10. Cloranfenicol	19
I.2.11. Tetraciclina	20
I.2.12. Eritromicina	22
I.2.13. Lincomicina	24
I.2.14. Colimicina	25
I.2.15. Furadantina	26
I.2.16. Acido Nalidíxico	27
I.2.17. Acido Oxolínico	28
I.2.18. Sulfametoxazol-Trimetroprim	28
I.3. Mecanismos de Resistencia a los Antibióticos	30

	Pág.
I.3.1. Mutación	31
I.3.2. Resistencia Mediada por Plásmidos .	32
II. OBJETIVOS	36
III. HIPOTESIS	36
IV. MATERIAL Y METODOS	37
IV.1. Selección de los Cuartos para la Muestra Estéril	37
IV.2. Toma de la Muestra Estéril	37
IV.3. Análisis Microbiológico	38
IV.4. Elaboración de Antibiogramas	39
IV.5. Análisis Estadístico	41
V. RESULTADOS Y DISCUSION	45
V. 1. Cuadros y Gráficas	50
VI. CONCLUSIONES	69
VII. LITERATURA CITADA	72

R E S U M E N

ROJANO FLORES ULISES. Evaluación de un año sobre la resistencia a antibióticos de microorganismos patógenos causantes de mastitis aislados de hatos lecheros (bajo la dirección - de Marcelo Pérez Domínguez y la asesoría de Juan José Enriquez Ocaña).

Debido al uso indiscriminado que se les ha dado a los antibióticos, se ha generado un fenómeno de adaptación ecológica de los microorganismos frente a la presión de selección representada por los antibióticos. El presente trabajo se realizó con el fin de evaluar el grado de resistencia a los antibióticos presentados por microorganismos patógenos aislados de vacas con problemas de mastitis. Se obtuvieron 896 aislamientos durante el año, resultando los microorganismos más frecuentes los estafilococos (50%), coliformes (13%) y *Bacillus cereus* (13%). En general, la mayor resistencia se presentó para antibióticos que son más comúnmente utilizados en tratamientos de mastitis como Estreptomicina, Lincomicina, Ampicilina y Penicilina. La menor resistencia fue para la Gentamicina, un antibiótico que está siendo recientemente - utilizado en tratamientos de mastitis. El problema es evi--

dente, por lo que se debe racionalizar el uso de los antibióticos y hacer énfasis, que cuando menos en lo que respecta a mastitis, los antibióticos son sólo auxiliares secundarios en su control.

I. INTRODUCCION.

I.1. Generalidades sobre Mastitis.

El término mastitis se define como la inflamación de la glándula mamaria (14), caracterizada por alteraciones patológicas del tejido glandular, modificaciones ffsico-químicas en la leche que hacen que ésta presente cambios de color y que exista la presencia de grumos y de un gran número de leucocitos (células somáticas) (48). Es producto de la reacción inflamatoria que puede ser causada por factores - tanto ffsicos y/o mecánicos como infecciosos, siendo éstos los más importantes, ya que son los que más pérdidas económicas causan y por lo tanto los que requieren de mayor atención (42).

Aunque la mastitis puede ser iniciada por el mal funcionamiento del equipo de ordeño, el 80% de los casos de - mastitis son originados por la invasión de germenes a la - ubre, los cuales encuentran un habitat normal en el medio ambiente en el que se encuentran las vacas lecheras (42). De esta manera los principales factores que favorecen al desarrollo de la mastitis son aquellos que permiten la dis

tribución de los microorganismos durante la ordeña o por la debilidad natural del conducto del pezón (4, 9). Una vez que estos patógenos entran en la glándula mamaria, y son capaces de sobrevivir, se multiplican en número suficiente para causar daño a la glándula (24).

Los microorganismos más comunes causantes de mastitis son: *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*, a los que le siguen *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus epidermidis* y *Streptococcus uberis*; coliformes principalmente *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*; agentes poco comunes como corinebacterias, pseudomonas, levaduras, nocardias, micoplasmas (4, 14, 24, 48) y *Bacillus cereus* (23, 48), aunque este último no se encuentra dentro de los microorganismos causantes de mastitis reconocido por el National Mastitis Council (47).

Las infecciones de la glándula mamaria en un hato lechero pueden provenir de tres fuentes:

- 1) Transferencia de una vaca infectada a una no infectada. Esta constituye la principal fuente de infección en un hato, en donde las mamilas de la máquina de ordeño, las manos del ordeñador y los materiales que se usan para el la-

vado de la ubre son los factores más importantes en la transferencia de microorganismos (4, 14, 44).

2) Contacto con microorganismos del medio ambiente: - cuando las camas de las vacas se encuentran en malas condiciones, las vacas se echan quedando las ubres en contacto directo con microorganismos que pueden producir mastitis (4, 44).

3) Introducción de microorganismos por animales de - reemplazo adquiridos en otros establos: muchas veces se adquieren animales enfermos con mastitis subclínica la cual no es detectada por el ganadero, y al momento de ser integrado este animal al ordeño, se puede transmitir la infección por factores expuestos en el punto número uno (44).

La mastitis puede ser la manifestación clínica de las - infecciones que podrían haber existido desde el momento del secado, o bien deberse a infecciones nuevamente establecidas, ya que la mastitis ocurre frecuentemente durante el período seco y las primeras semanas después de iniciarse la lactación (6). por eso se dice que el mejor momento para tratar casos de mastitis subclínica es el momento del secado (44).

El diagnóstico de la mastitis subclínica depende de - pruebas basadas en la cuantificación de células somáticas en leche (15, 48), siendo éste un importante y muy efectivo indicador del estado de salud de la glándula mamaria. El término de células somáticas de la leche (CSL) se refiere al - conjunto de células de diferente origen que se pueden encontrar en esa secreción. El tipo de células y su número van a variar dependiendo del estado fisiológico de la vaca y de la salud de la glándula mamaria, sin embargo, el aumento fisiológico en el número celular debido a la edad, será relativamente bajo, por lo que cualquier incremento en CSL relaciona dos con la edad es debido a la presencia de una infección y no debe considerarse normal (45).

Existen varios procedimientos para el diagnóstico de la mastitis subclínica que varían en sensibilidad, eficiencia y costo aunque en realidad sólo sean unos cuantos los que efectivamente sean recomendables como herramienta para un control de mastitis (43). Entre los métodos más conocidos y más usados para la cuantificación de CSL están la prueba de California, la prueba de mastitis Wisconsin y la prueba modificada de mas titis Wisconsin, la cual está basada en el principio de la - prueba de mastitis Wisconsin, diferenciándose en la lectura final, en donde la prueba modificada da la lectura en centí-

metros cúbicos y la original en milímetros (45). Estas pruebas utilizan como reactivo un detergente no-iónico (alquil sulfonato de sodio) que desintegra las células. Durante este proceso de desintegración, se forma un conglomerado de células que da una apariencia gelatinosa. Mientras mayor sea el número de células, más grande será esta especie de gelatina y se dará una calificación mayor (43).

La prueba modificada de mastitis Wisconsin es un método sencillo, económico y con una sensibilidad aceptable, y es recomendable en un programa para diagnóstico de mastitis subclínica (45), que constituye el mayor problema en ganado lechero y la que causa más grandes pérdidas económicas a los ganaderos (43), ya que si todas las mastitis infecciosas fueran clínicas permitiría al ganadero identificar a las vacas problema y tomar las medidas adecuadas, pero la severidad del daño causado en la glándula mamaria depende del tipo de patógeno y desafortunadamente la gran mayoría de las mastitis infecciosas son de tipo subclínico (42), como las causadas por estafilococos y estreptococos, que son las de mayor importancia económica (56).

La mastitis puede ocurrir en todas las especies de mamíferos, pero la de mayor importancia es sin duda la de la vaca

lechera (4, 14), siendo ésta una de las enfermedades que más afectan a la industria lechera, al grado de ocasionar pérdidas anuales de 7000 millones de pesos. En los Estados Unidos, se ha estimado que los daños ocasionados por la mastitis, ascienden a los 400 millones de dólares anuales y que cada productor tiene que destinar 1000 dólares de sus ganancias para controlar esta enfermedad (53). Estas cifras comprenden las pérdidas producidas por animales enfermos que son desechados prematuramente, baja en la producción de leche (se estima que en México se deja de producir entre un 10 y un 15% de leche por mastitis) (9), por el lacteo eliminado o desechado por no resultar apto para el consumo humano y el gasto que representa la compra de medicamentos para ser utilizados en los tratamientos de esta enfermedad, incrementando los costos de producción de manera dramática (49).

I.2. Características de los Antibióticos Utilizados.

Desde el descubrimiento original de la penicilina por Alexander Fleming, en 1928, se han descubierto numerosos antibióticos y se han aplicado a la clínica (5), llegando a ser una herramienta muy útil en la terapéutica antibacteriana, combatiendo enfermedades infecciosas agudas que constituyan

una de las principales causas de mortalidad de las poblaciones humana y animal (18).

Para conservar su eficacia, se requiere pleno conocimiento de todos los antibióticos que puedan emplearse para contrarrestar las infecciones causadas por bacterias y hongos (5). Este conocimiento debe de comprender desde su actividad, toxicidad, especificidad, modo de aplicación, comportamiento (local y dentro del organismo), modo y tiempo de eliminación (27).

1.2.1. Penicilina.

Fleming (1928) descubrió que una sustancia secreta da por el hongo *Penicillium notatum* inhibía crecimiento bacteriano *in vitro*, pero no fue hasta una década después que H. W. Florey la utilizó como agente sistémico. A partir de la década de los cuarenta, la penicilina se usó extensivamente iniciando así la llamada "época de oro de la quimioterapia" (18). Aunque muchos agentes antimicrobianos se han producido desde que se conoció la penicilina, todavía es un antibiótico de primer orden muy usado, y cada año se producen nuevos derivados del núcleo básico de la penicilina. Muchos de ellos

poseen ventajas únicas, de modo que los miembros de este grupo de antibióticos, son actualmente las drogas de elección para gran número de enfermedades infecciosas (20).

El efecto de la penicilina sobre la bacteria es evitando la regeneración y formación de la pared celular, especialmente de las que se están dividiendo. El antibiótico inhibe la síntesis del peptoglicano afectando los sistemas enzimáticos correspondientes haciendo que el microorganismo se haga osmóticamente sensible y permita la entrada de líquido y estalle (31). La penicilina es más activa contra bacterias Gram positivas que contra las Gram negativas. La diferencia de susceptibilidad depende de las diferencias químicas en la composición de la pared celular, la cual determina la penetración y la combinación de los medicamentos o la resistencia a la ruptura (34). La penicilina es un antibiótico de bajo espectro y de acción bactericida (5).

La resistencia a la penicilina puede adquirirse por cualquier mecanismo (mutación, conjugación, transducción, etc.). El tipo más común de resistencia es el logrado por la producción de enzimas (beta-lactamasa), que des-

truyen a la droga, sin embargo, hay bacterias resistentes que no destruyen a la penicilina. Su mecanismo no se conoce todavfa (al parecer se debe a la baja afinidad de la penicilina sobre la membrana citoplásmica). Y obviamente las bacterias que no tienen pared bacteriana (generalmente Gram negativas) son resistentes a la penicilina (1, 18, 34).

La penicilina administrada por vfa oral se absorbe poco (34), además de que el pH ácido del estómago tiende a destruirla (18). Después de la administración intramuscular o subcutánea se produce una absorción rápida de las sales sódicas (14, 18, 34). Una vez que es absorbida, se distribuye ampliamente en todos los tejidos del organismo animal (34). Se distribuye en bajas concentraciones en los líquidos articulares, pleurales, pericardiales y oculares, observándose mayores concentraciones en líquido peritoneal. En la sangre, hfgado, bilis, piel, semen e intestino, se pueden encontrar niveles elevados de penicilina y obviamente en el riñón las concentraciones son muy elevadas (18). El antibiótico se elimina principalmente por riñón, pero una pequeña parte por la bilis y otras vías, como la saliva y la leche (14, 20, 34).

Posee menor toxicidad que cualquier otro antibiótico, la mayor parte de las reacciones adversas están relacionadas con reacciones de hipersensibilidad (5, 14, 34).

I.2.2. Ampicilina.

Es una penicilina semisintética de amplio espectro y de acción bactericida (5). El mecanismo de acción de esta droga es la misma descrita para la penicilina (31). Es destruida por la beta-lactamasa de bacterias Gram positivas y Gram negativas (1, 14, 20).

La ampicilina es estable en medio ácido y se absorbe bien después de la administración oral, así como por vía intramuscular (20). Se secreta en forma activa en el moco lubricante del sistema respiratorio (18), se excreta principalmente por vía renal en la orina, también se excreta en cantidades apreciables en las heces (20). Las reacciones adversas son generalmente hipersensibilidad (5) y puede causar trastornos digestivos cuando se administra por vía oral (14).

I.2.3. Cloxacilina.

Es una penicilina semisintética de acción bactericida y de espectro antibacteriano bajo (5), el mecanismo de acción es el mismo de las penicilinas (18). Es generalmente estable frente a la penicilinasa (5, 14). Los microorganismos pueden hacerse resistentes en forma gradual y la resistencia cruzada a todas las penicilinas penicilinasa resistentes es total (2). Pueden ser administradas por vía oral debido a su estabilidad en medio ácido, por vía parenteral (18) y en infusiones intramamarias se usan mucho para el tratamiento de mastitis (14, 18). Se absorbe rápidamente, pero en forma incompleta por vía oral, mientras que por vía parenteral se alcanzan concentraciones plasmáticas adecuadas. Se excreta rápidamente por riñón y también hay significativa eliminación hepática de estos agentes por la bilis (20). Presenta reacciones de hipersensibilidad - (5).

I.2.4. Carbencilina.

Es una penicilina semisintética de amplio espectro antibacteriano y de acción bactericida que puede tener un lugar valioso en la terapéutica de las infecciones -

graves por bacilos gram negativos (5). El mecanismo de acción es el mismo de las penicilinas (31). Es susceptible a la penicilinasa y al pH ácido (14, 18). No se absorbe en el tracto gastrointestinal, por lo que debe administrarse por vía parenteral. La distribución es similar a la de las otras penicilinas. Se excreta principalmente por los túbulos renales. Además de causar reacciones de hipersensibilidad puede interferir en la función de las plaquetas causando hemorragias por agregación anormal de las mismas (20).

1.2.4. Cefalosporina.

Fue aislada del hongo *Cephalosporium acremonium*, en 1948 por Brotzu, en el mar, cerca de una boca de desagüe de aguas servidas en la costa de Cerdeña (20). Es un antibiótico de amplio espectro y de acción bactericida (5, 14).

Las cefalosporinas interfieren con las síntesis de procesos de formación de la pared celular bacteriana, produciendo una acumulación de nucleótidos relacionados con el ácido murámico, que son precursores de la pared celular (14, 18, 31). Las cefalosporinas han sido al--

ternativas útiles de las penicilinas para pacientes - alérgicos a estas últimas (20).

La resistencia a las cefalosporinas puede tener relación con la incapacidad del antibiótico para penetrar hasta su sitio de acción o para interactuar con su blanco efector normal. Las bacterias son capaces de producir enzimas beta-lactamasa (cefalosporinasas) que pueden romper el anillo beta-lactámico e inactivar estos antibióticos (1, 20, 31).

Se absorben mejor por vía intramuscular o intravenosa. Se distribuyen ampliamente en los tejidos y líquidos corporales. Cruzan fácilmente la placenta. Se excretan principalmente por filtración glomerular y secreción tubular (20, 34).

Se pueden presentar reacciones adversas, tales como: anafilaxia, broncoespasmo y urticaria, también se les han implicado como agentes potencialmente nefrotóxicos, aunque son mucho menos tóxicos para el riñón que los aminoglucósidos (20).

I.2.6. Cefotaxima.

A pesar del notable valor terapéutico que tenían las primeras cefalosporinas, algunas bacterias patógenas Gram negativas eran insensibles a las mismas. Nuevos cambios en los grupos enlazados al anillo beta-lactámico han dado lugar a la segunda y tercera generación de cefalosporinas, a la que pertenece la cefotaxima - (1). Una cefalosporina semisintética desarrollada por Pousell-VCLAF, de Francia y Hoeschst Aktiengesellschaft, de Alemania del Este (49).

Es un antibiótico de amplio espectro, que ha mostrado una gran estabilidad en presencia de la enzima - beta-lactamasa y una gran actividad contra bacterias - Gram positivas y Gram negativas patógenas aisladas de casos clínicos (49), como *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilys influenzae* ambos beta-lactamasa positivos (2), *Staphylococcus aureus* y algunas enterobacterias (17), como *Escherichia coli* aislada de vacas con mastitis, - lo que sugiere la posibilidad de desarrollar tratamientos locales en base a esta droga en contra de mastitis causada por coliformes (35).

La cefotaxima es modificada por un proceso de desacetilación por enzimas de los mamíferos que se producen en vivo produciendo un metabolito, la ceftizoxima que ha mostrado tener también un espectro antimicrobiano amplio *in vitro* y gran estabilidad en presencia de la beta-lactamasa (21, 55). Además de tener una vida mayor a la cefotaxima (55). Estos compuestos exhiben una baja toxicidad, lo que puede ser de gran uso en la clínica (21).

Aunque estos compuestos han desarrollado un avance considerable en la quimioterapia bacteriana, indican que esta solución sea meramente provisional (1), ya que se ha aislado una beta-lactamasa de *Bacteroides fragilis* que presenta actividad hidrolítica contra la cefotaxima (25, 41).

I.2.7. Estreptomina.

Fue obtenido de *Streptomyces griseus* por Waksman y sus colaboradores en 1944 (34). Es un antibiótico de amplio espectro y de actividad bactericida (5).

Este antibiótico se fija a un receptor específico sobre la subunidad 30S del ribosoma bacteriano (34), pro

duciendo una acción directa sobre los ribosomas inhibiendo la síntesis protéica y disminuyendo la exactitud de la transmisión de los códigos genéticos. Sobre todo evita la polimerización de los aminoácidos, lo que provoca la muerte de la bacteria (18, 31, 34).

Se desarrolla resistencia rápidamente hacia este antibiótico (5), debido a la falta de penetración del antibiótico, baja afinidad de la droga por el ribosoma bacteriano, o por una mutación que altere el sitio de unión del medicamento (34), también se debe a la adquisición de un plásmido asociado a la elaboración de enzimas que inactivan a la droga por acetilación, adenilación o fosforilación (12).

La estreptomycinina se absorbe poco por el tracto entérico, por vía parenteral se absorbe bien y rápido. Penetra bien en los líquidos corporales y extracelulares. Atraviesa la barrera placentaria sobre todo en estadios finales de preñez. Las concentraciones mayores se encuentran en el hígado, músculo y tiroides. La excreción del antibiótico es por filtración glomerular (18).

Los efectos adversos que se presentan son afecciones de los mecanismos vestibulares y auditivos, y nefrotoxicidad (18, 20).

I.2.8. Kanamicina.

Un antibiótico producido por *Streptomyces kanamyceticus*, fue producido y aislado por primera vez por Umezawa y colaboradores, en el Instituto Nacional de la Salud del Japón, en 1957 (34).

Es un antibiótico de amplio espectro y de acción bactericida (5), que actúa inhibiendo la síntesis de proteínas, produciendo una interrupción en la transmisión de los códigos genéticos, a nivel de la subunidad ribosómica 30S (18, 31).

Las bacterias producen principalmente resistencia a la kanamicina por plásmidos, los cuales son transmitidos por conjugación (18, 34).

La kanamicina se absorbe por vía intramuscular, no así por vía oral. Difunde bien hacia todos los líquidos, excepto al líquido cefalorraquídeo (18). Se excre

ta principalmente por los glomérulos y en menor proporción por los tubos (34). Es ototóxico y nefrotóxico (18).

I.2.9. Gentamicina.

Es un antibiótico que se obtiene de *Micromonospora purpurea*, el cual es hidrosoluble y termoestable, resistente a varios niveles de pH (18, 20). Es de amplio espectro y de acción bactericida (5).

Actúa inhibiendo la síntesis de proteínas, teniendo su efecto directo sobre el ribosoma bacteriano, disminuyendo la fidelidad de la traducción del código genético (20, 31, 34).

La resistencia al medicamento se debe a enzimas que inactivan al medicamento por fosforilación y adición (20). Algunas bacterias resistentes al medicamento parecen tener proteínas ribosómicas alteradas (34).

El antibiótico se absorbe bien cuando es aplicado por vía intramuscular e intravenosa, no así cuando se -

aplica por vía oral. Las concentraciones en tejidos y secreciones son bajas, concentraciones altas se encuentran únicamente en corteza renal, factores que contribuyen a la nefrotoxicidad. Se excreta casi totalmente por filtración glomerular. Los efectos indeseables incluyen náuseas, vómitos, erupciones cutáneas. Los efectos mas serios son la ototoxicidad y la nefrotoxicidad.

I.2.10. Cloranfenicol.

Es un antibiótico muy estable producido por *Streptomyces venezuelae*, de amplio espectro y de actividad bacteriostática (5).

El cloranfenicol actúa principalmente ligándose a la subunidad ribosomal 50S, impidiendo que el extremo que contiene aminoácidos del aminoacil RNA_t se una a uno de sus sitios de unión en el ribosoma, inhibiendo la síntesis de proteínas (20, 31, 34).

La resistencia al cloranfenicol es mediada por plásmidos que codifican la enzima acetil transferasa que inactiva la droga utilizando la acetilcoenzima A como

dador del grupo acetilo. Los derivados acetilados no se unen a los ribosomas (12). También se inactiva con las enzimas que reducen el grupo nitro e hidrolizan la unión amida (20).

El cloranfenicol se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal, distribuyéndose bien en los líquidos corporales incluyendo el líquido cefalorraquídeo. Se excreta rápidamente por la orina, encontrándose también presencia del antibiótico en leche (20).

Las reacciones adversas más graves son la anemia - aplástica e hipoplástica, después de ésta se puede presentar leucemia. Además inhibe el desarrollo adecuado de las células nerviosas, lo que lo hace el antibiótico más peligroso para los humanos (34).

1.2.11. Tetraciclina.

Este antibiótico se puede obtener del hongo *Streptomyces rimosus* o sintéticamente a partir de la clortetraciclina. La tetraciclina posee una amplia gama de actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, que se superpone a la de muchas otras drogas (20). Su acción es bactericida (5).

La tetraciclina actúa inhibiendo la síntesis de proteínas ligándose específicamente a las subunidades 30S de los ribosomas, impidiendo el acceso al aminoacil RNA_t al sitio aceptor de complejo RNA_m-ribosoma, evitando la adición de aminoácidos a la cadena peptídica en crecimiento (10, 31, 34).

La resistencia a las tetraciclinas está mediada por un plásmido y las bacterias se hacen resistentes sólo después de su exposición a la droga. Los plásmidos que imparten resistencia contienen información genética para numerosas proteínas que parecen afectar al transporte de la droga al interior de la célula (20, 31). Los mutantes resistentes muestran permeabilidad disminuida y no concentran tetraciclina en sus células (34).

La tetraciclina se absorbe por el tracto gastrointestinal, el estómago posee mayor capacidad para asimilar estos antibióticos sobre todo en periodos de ayuno, pero la presencia de la leche o de sus subproductos inhiben su absorción al igual que las geles de aluminio calcio y magnesio (18). Todas las tetraciclinas se concentran en el hígado y se secretan por medio de la bi-

lis. La penetración de la tetraciclina en casi todos los líquidos y tejidos es excelente (20). En realidad las tetraciclinas difunden bien hacia el cerebro, saliva, semen y atraviesan la barrera placentaria, así como los líquidos pleurales, seminal prostático y en la leche de bovino en óptima producción. También se almacenan en las células reticuloendoteliales del hígado, bazo, médula osea, hueso, dentina y esmalte de los dientes que todavía no erupcionan (18, 20). Se excreta - principalmente por riñón sobre todo por vía glomerular y en una proporción mínima se excreta en las heces (18, 34).

La tetraciclina causa depresión de la flora intestinal (5), irritación gastrointestinal donde puede haber dolor, molestias abdominales, náuseas y vómitos - (20).

I.2.12. Eritromicina.

Fue descubierta por Mc Guire en 1952 y colaboradores, en productos metabólicos de una cepa de *Streptomyces erythreus*, obtenida originalmente de una muestra de suelo (20).

Este antibiótico es un macrólido que se combina con las subunidades ribosomales 50S, bloqueando o disminuyendo la capacidad de unión del RNA_t-fenilalanina con los complejos ribosomales, evitando la polimerización de la fenilalanina hacia los sistemas ácidos poliurídicos de los ribosomas y las enzimas produciendo así una inhibición de la síntesis de proteínas (18, 31, 34). Es de espectro antibacteriano bajo (5). Puede ser bactericida o bacteriostático dependiendo de la naturaleza del microorganismo y de la concentración del antibiótico (18).

Algunos microorganismos se vuelven resistentes a la droga debido a cambios mutacionales en componentes de la subunidad ribosomal ocasionando que el antibiótico no se ligue a esta droga (21, 31, 34).

Sólo se absorbe cuando es administrada por vía intramuscular y se difunde rápidamente (18). Se distribuye por los líquidos intracelulares y la actividad antibacteriana puede lograrse prácticamente en todas partes excepto en el cerebro y líquido cefalorraquídeo. La eritromicina es uno de los pocos antibióticos que penetran en el líquido prostático (20). Es rápidamente

concentrada por el hígado y eliminada en la bilis en grandes concentraciones (34).

La eritromicina rara vez causa efectos indeseables serios. Entre las reacciones alérgicas se presentan fiebre, eosinofilia y erupciones cutáneas. La hepatitis colostática es el efecto secundario más notable (20).

I.2.13. Lincomicina.

Este antibiótico es producido por un actinomiceto *Streptomyces linconensis*, es de bajo espectro antibacteriano y de acción bacteriostática (5).

Actúa inhibiendo la síntesis de proteínas, uniéndose a la subunidad ribosomal 50S (20, 31, 34). La resistencia a la droga está mediada por mutaciones a nivel ribosomal, que hace que el medicamento no se una al ribosoma (20). Presenta resistencia cruzada con la eritromicina (18).

Después de la administración parenteral, se distribuye bien por todos los tejidos incluyendo la glándula

mamaria y la placenta. No atraviesa la barrera cerebral, sólo en casos de inflamación llega a alcanzar a pasar. Penetra tejido oseó. Se elimina principalmente por la bilis y la orina (18).

Los efectos colaterales comunes son diarrea, náuseas y erupciones cutáneas (14).

I.2.14. Colimicina.

Es producida por *Bacillus colistinus*. Presenta actividad principalmente contra bacterias Gram negativas (34), su acción es bactericida (5). Es un agente de acción superficial que contiene grupos lipofílicos y lipofóbicos separados dentro de la molécula, los cuales interactúan fuertemente con los fosfolípidos y penetran en la membrana bacteriana, cuya estructura deterioran. La permeabilidad de la membrana cambia inmediatamente al contacto con la droga (20), destruyendo las propiedades osmóticas de ésta, permitiendo el escape de macromoléculas (34) y afectan sistemas enzimáticos vitales que se encuentran en la membrana (31).

La resistencia al medicamento se debe principalmente a la impermeabilidad de estructuras internas de la -

pared celular o la escasa fijación de la droga (34).

Los efectos secundarios que se presentan son proteinuria y daño renal (5).

I.2.15. Furadantina.

Es un polvo amarillo, amargo con ligero olor característico muy poco soluble al alcohol y agua (18), es un derivado sintético del nitrofurano, de amplio espectro y de acción bactericida (5). Actúa inhibiendo numerosas enzimas bacterianas, pero la base de su actividad antimicrobiana y especificidad no se conoce. Las bacterias que son susceptibles a la droga raramente se hacen resistentes durante el tratamiento (20). No se han encontrado resistencia diseminada por plásmidos (12).

Se absorbe rápida y completamente en el sistema digestivo. El 40% de la dosis administrada es excretada en la orina sin sufrir cambio alguno y el resto es catabolizado en el organismo animal. La orina ácida favorece su acción y en cambio la orina alcalina disminuye su actividad antimicrobiana (18).

Los efectos desfavorables más comunes son náuseas, vómitos y diarrea (14), ocasionalmente hay reacciones de hipersensibilidad y trastornos neurológicos, raramente produce anemia megaloblástica (20).

I.2.16. Acido Nalidíxico.

Derivado sintético útil en el tratamiento de infecciones urinarias causadas por bacterias Gram negativas, de bajo espectro y de acción bactericida (5). Actúa inhibiendo la síntesis de ADN y puede inhibir en forma parcial la síntesis de ARN (18, 20, 31). La resistencia a la droga se produce durante el tratamiento (18), pero la misma no parece ser transferida por plásmidos (12).

Después de la administración oral se absorbe bien encontrándose concentraciones altas de ácido nalidíxico y su metabolito activo (ácido hidroxinalidíxico) en la orina, teniendo una rápida excreción renal (20).

Generalmente es bien tolerado, pero puede haber náuseas, vómitos y dolor abdominal, así como reacciones alérgicas, anemia y, en tratamientos prolongados, afeciones al sistema nervioso (20, 34).

I.2.17. Acido Oxolínico.

Esta droga es muy semejante al ácido nalidíxico en estructura, mecanismo de acción, espectro de actividad microbiana y puede demostrarse resistencia cruzada entre los dos agentes (20, 34).

El ácido oxolínico es de dos a cuatro veces más potente que el ácido nalidíxico *in vitro*. Las reacciones adversas también son similares, aunque el ácido oxolínico ha producido mayor toxicidad en el sistema nervioso central incluyendo inquietud, insomnio, mareos, cefalea y náuseas (20).

I.2.18. Sulfametoxazol-Trimetroprim.

La introducción de esta combinación sinérgica constituye un proceso importante en el desarrollo de agentes antimicrobianos clínicamente efectivos. La actividad antimicrobiana de la combinación resulta de sus acciones sobre dos pasos de la vía enzimática para la síntesis de ácido fólico (20).

El sulfametoxazol interfiere en la asimilación del ácido paraaminobenzoico (PABA) por competición (el PABA

es indispensable para síntesis de ácido fólico). El trimetoprim inhibe a la enzima dehidrofolato reductasa (que interviene en la formación de ácido fólico). Ambos impiden que la bacteria continúe sus procesos vitales y su reproducción al no poder sintetizar ácido fólico, de esta manera al disminuir la capacidad de proliferación infecciosa de la bacteria, ésta es susceptible a ser fagocitada por el sistema reticuloendotelial del huésped (18, 34).

La frecuencia del desarrollo de resistencia bacteriana al sulfametoxazol-trimetoprim es menor que para cualquiera de ellos por sí solo, porque los microorganismos que han adquirido a uno de los componentes puede ser igualmente destruidos por el otro (20). Microorganismos resistentes al sulfametoxazol y/o al trimetoprim pueden surgir por mutación o por la adquisición de plásmidos multiresistentes que pueden transferirse a otros microorganismos por conjugación (12). Las bacterias que asimilan ácido fólico del medio para llevar a cabo sus procesos vitales no son susceptibles a la combinación (18, 34).

El trimetoprim se absorbe y se distribuye más rápido que el sulfametoxazol, el volumen de distribución es unas seis veces mayor. La droga entra fácilmente al líquido cefalorraquídeo y al esputo. Altas concentraciones de cada componente de la mezcla se encuentran en bilis. La secreción es por la orina (20).

Las principales reacciones secundarias son náuseas, vómito (34) y afecciones de la piel como erupciones. -
Tratamientos prolongados pueden producir anemia (20).

I.3. Mecanismos de Resistencia a los Antibióticos.

Debido al uso incorrecto e indiscriminado que se les ha dado a los antibióticos y otros agentes quimioterapéuticos, tanto en medicina humana como veterinaria sin el respaldo de laboratorio que confirmen su efectividad *in vitro*, además de la venta que se hace de los mismos sin restricciones, sin el amparo de una prescripción médica, y la familiar automedicación por parte de los dueños de los animales enfermos, ha hecho cada vez más evidente el problema que representa para la salud pública la resistencia bacteriana a los quimioterapéuticos (37). El problema se agrava, ya que en la práctica común dentro de las explotaciones pecuarias, se utilizan anti-

bióticos como promotores de crecimiento (22) o para mejorar la eficiencia en la producción de carne, leche y huevos (32), ejerciendo una presión de selección que ha favorecido al predominio de cepas patógenas resistentes (12, 13). Y esto se ve en los animales que han recibido dietas suplementadas con antibióticos, con mayor frecuencia suelen portar cepas resistentes y aún servir como reservorios de patógenos resistentes a los antibióticos, que pueden producir infecciones a otros animales o a los humanos (8, 22, 26).

Las bacterias pueden adquirir resistencia a agentes quimioterapéuticos gracias a los mecanismos de mutación y adquisición de plásmidos que codifican para la resistencia (30).

I.3.1. Mutación.

La mutación puede definirse como el evento que da lugar a cambios hereditarios del genotipo, no debido a la incorporación del material genético exógeno. Los cambios son producidos al azar y aparecen espontáneamente en una población heterogénea. Generalmente se transmite por herencia (29). Como resultado de este cambio en la información genética se puede producir una gran variedad de manifestaciones fenotípicas, según el gen o los genes que hayan sido afectados; una de estas mani-

festaciones puede ser la resistencia de la cepa mutada a algún antibiótico (22), como resultado de la alteración del sistema de transporte requerido para introducir la droga a la célula bacteriana o cambios en receptores estructurales del antibiótico (12, 18).

I.3.2. Resistencia mediada por plásmidos.

Los plásmidos son moléculas circulares de ADN extracromosómica, de existencia autónoma en el citoplasma (15). La presencia de un plásmido generalmente se reconoce por la expresión fenotípica, que puede ser de una muy variada naturaleza: síntesis de toxinas, degradación de pesticidas, resistencia a quimioterapéuticos (16), iones de metales pesados como el mercurio y plomo (15, 52), virulencia y características metabólicas (22). El número de antibióticos contra los cuales un plásmido puede codificar resistencia es variable, se han descrito plásmidos con siete u ocho marcadores diferentes (18, 22). Los genes de resistencia generalmente codifican para enzimas inactivadoras de los antibióticos como la beta-lactamasa, acetilasa, fosfotransferasa, etc. (18). Los genes que codifican estas enzimas se encuentran en fragmentos especializados de ADN llamados transposones, susceptibles de translocarse en el mismo

plásmido, del plásmido al cromosoma, del plásmido a otro plásmido, que puede ser entre diferentes géneros de bacterias (12, 22, 38). Muchos de los genes que codifican resistencia son inestables y pueden perderse rápidamente en ausencia de antibiótico, pero hay bacterias que los mantienen por generaciones sin necesidad de estar en presencia de antibióticos (12). Los cromosomas y los plásmidos pueden ser transferidos de una bacteria a otra mediante tres mecanismos: transformación, conjugación y transducción (11).

1. Transformación: Una célula bacteriana receptora puede ser genéticamente transformada por adición de pequeños fragmentos de ADN exógeno procedente de otra cepa. Este efecto es debido a la incorporación de uno o más de los genes de otra especie donadora, en el cromosoma de la célula recipientaria alterando su genotipo (28).

2. Conjugación: Es una transferencia unilateral de material genético entre bacterias del mismo o de diferentes géneros (1), en donde una célula resistente actúa como célula macho y transmite la información genética de este fenotipo a una célula bacteriana que actúa

como hembra mediante apareamiento celular. El contacto entre las dos células se lleva gracias a un puente constituido por una estructura filamentososa de la célula macho llamada "pelo sexual" o "pilli" (13, 18, 22).

3. Transducción: Es un proceso de transferencia de genes en las bacterias mediatizada por bacteriófagos (11). Una pequeña porción de ADN de la célula bacteriana infectada por virus, se incorpora a las moléculas de ADN de la progenie del virus. Cuando las partículas del virus progenie infectan a otra célula, los genes provenientes de la célula huésped original pueden incorporarse al cromosoma de la nueva célula huésped (28).

Independientemente del mecanismo utilizado para la transferencia de plásmidos, el hecho es que son potencialmente transferibles y su transferencia es un proceso "infeccioso" entre bacterias, por lo que constituye un problema de salud pública (18), porque es capaz de desarmar completamente al médico frente a la infección (31).

Frecuentemente aparecen reportes en relación a la resistencia a los antibióticos de cepas bacterianas patógenas y la problemática que ésta presenta en el tratamiento de enfermedades infecciosas (39, 54). Lo que implica un grave problema porque de no hacer nada por resolver esta situación, en unos cuantos años más se alcanzarán niveles de resistencia alarmantes.

Por lo tanto, es importante evaluar qué grado de resistencia prevalece en estos momentos entre las bacterias que causan mastitis en el ganado lechero para tener elementos de juicio y poder tomar decisiones si es necesario.

II. OBJETIVOS.

a) Establecer la frecuencia de aparición y grado de importancia de los microorganismos causantes de mastitis aislados durante un año.

b) Evaluar los niveles de resistencia de los patógenos a los antibióticos.

c) Establecer si existe dependencia de los niveles de resistencia sobre los sitios de acción de los antibióticos.

III. HIPOTESIS.

a) Los estafilococos y estreptococos son los patógenos más frecuentes.

b) Hay resistencia a los antibióticos de mayor uso en Medicina Veterinaria por parte de los microorganismos causantes de mastitis.

IV. MATERIAL Y METODOS.

IV.1. Selección de los Cuartos para la Toma de Muestra Esteril.

Los muestreos se realizaron en siete establos ubicados en el Valle de México.

Se tomaron muestras de leche de las vacas de estos ranchos y se analizaron por medio de la prueba modificada de mastitis Wisconsin (43). A las vacas que presentaron niveles mayores de 2500×10^3 cel/ml se les tomaron nuevamente muestras, pero esta vez fue por cuarto, logrando identificar los cuartos que tuvieron estos niveles celulares, utilizando la misma prueba. Estos cuartos fueron seleccionados para toma de muestra estéril.

IV.2. Toma de la Muestra Esteril para el Análisis Microbiológico.

1. Se limpiaron los cuartos a muestrear, dejándolos perfectamente bien secos.

2. Se eliminaron los primeros chorros de leche, antes de ser ordeñadas las vacas.

3. Con torundas con alcohol etílico al 70%, se desinfectaron los meatos de los pezones.

4. En tubos de ensaye con tapón de rosca estériles, con capacidad de 15 ml, se vertió un chorro de leche, ordeñando el pezón con la mínima presión posible. Después de tomar la muestra el tubo se tapó inmediatamente.

5. Las muestras se mantuvieron a 4°C hasta antes de su análisis, tiempo que no fue mayor a 24 horas.

IV.3. Análisis Microbiológico (Aislamiento e Identificación de Patógenos).

1. Las muestras de leche se sembraron en agar sangre y se incubaron a 37°C de 24 a 48 horas.

2. A los microorganismos aislados se les hicieron tinciones de Gram.

3. De acuerdo a la morfología de las colonias, hemólisis y tinción de Gram, se realizaron las pruebas bioquímicas (ver diagrama No. 1), hasta llegar a la identificación de los patógenos hasta género y especie (7, 10, 36, 46).

IV.4. Elaboración de Antibiogramas.

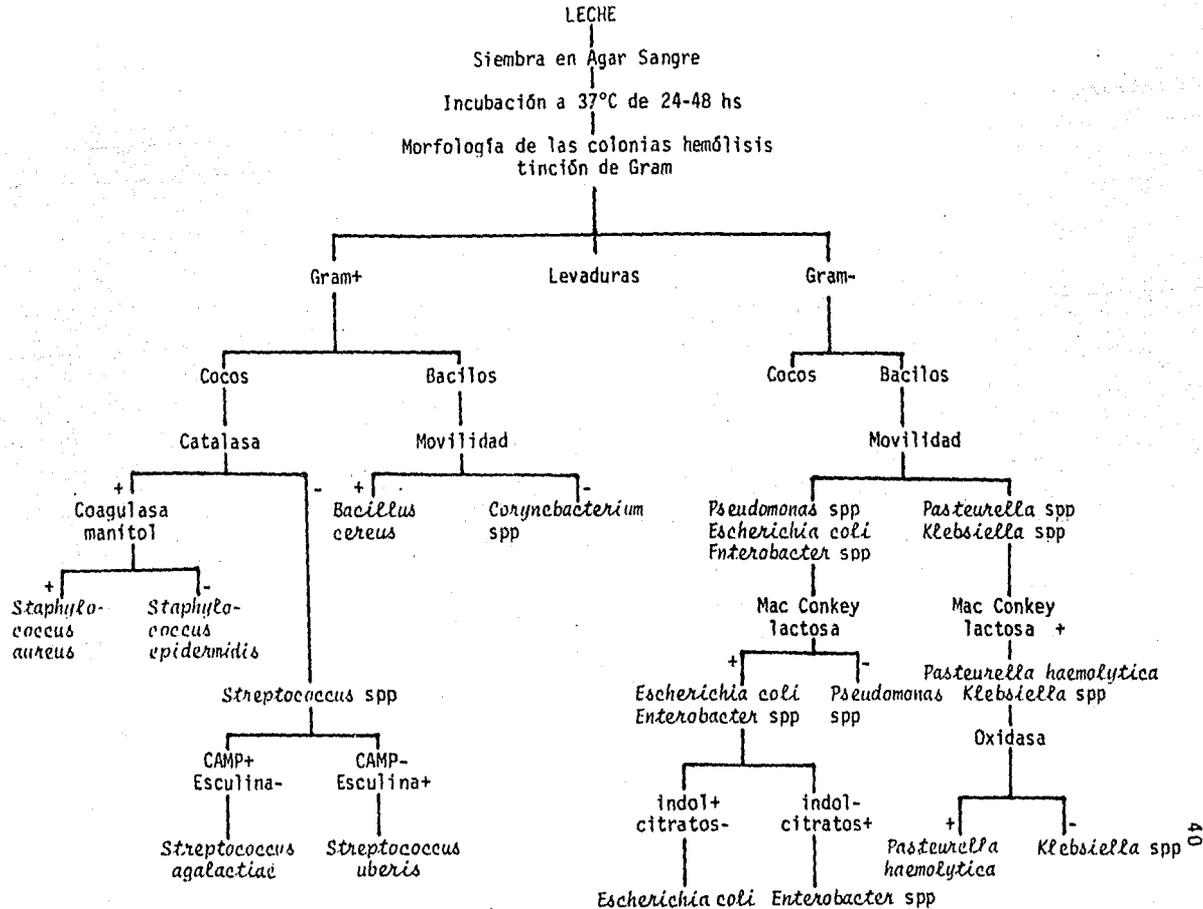
1. Se tomaron de cuatro a cinco colonias en solución salina estéril hasta obtener una densidad comparable al estandar que corresponde a la mitad del tubo #1 de Mac Farland (33), que a menudo se denomina estandar 0.5 de Mac Farland, el cual corresponde aproximadamente 10^8 microorganismos por mililitro.

2. Se saturó un isopo de algodón estéril en la suspensión de microorganismos, removiendo el exceso de la suspensión, exprimiendo el isopo en la pared del tubo.

3. Con el isopo se inculó homogéneamente la superficie del medio de cultivo (Agar-Müller-Hinton pH 7) y se dejó cinco minutos a que el inóculo secase.

4. Con unas pinzas estériles se colocaron los multidis-

DIAGRAMA 1. DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA IDENTIFICACION DE PATOGENOS DE LA GLANDULA MAMARIA.



cos* (Gram positivo o Gram negativo de acuerdo al patógeno), sobre la superficie del medio inoculado, asegurando que éstos se mantuvieran después de que se voltearan las cajas Petri.

5. Se incubaron a 37° C durante 18 horas.

6. Se midieron los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento. Considerando sólo los resistentes, de acuerdo a los cuadros 1 y 2 (tomados del instructivo de usos del laboratorio productor de los multidiscos).

Todos los procedimientos anteriores se hicieron mes con mes hasta completar un año.

IV.5. Análisis Estadístico.

El análisis estadístico de los resultados se hizo mediante tablas de contingencia y el análisis de varianza de dos - clasificaciones por grados de Friedman.

*Laboratorios Bigaux Diagnóstica, S.A.

CUADRO 1. MULTIDISCOS GRAM POSITIVOS

ANTIBIOTICO	CONCENTRACION	RESISTENTE (mm)	INTERMEDIO (mm)	SENSIBLE (mm)
Cefotaxima	30 mcg	14	15-22	23
Ampicilina	10 mcg	20	21-28	29
Cefalosporina	30 mcg	14	15-17	18
Cloxacilina	1.0 mcg	10	11-12	13
Eritromicina	15 mcg	13	14-17	18
Gentamicina	10 mcg	12	13-14	15
Lincomicina	2 mcg	14	15-16	17
Kanamicina	30 mcg	13	14-17	18
Penicilina*	10 U	20	21-28	29
Penicilina	10 U	11	12-21	22
Estreptomicina	10 mcg	11	12-14	15
Tetraciclina	30 mcg	14	15-18	19
Sulfametoxazol- Trimetroprim	25 mcg	10	11-15	16

*Cuando se prueba con estafilococos.

CUADRO 2. MULTIDISCOS GRAM NEGATIVOS

ANTIBIOTICOS	CONCENTRACION (mcg)	RESISTENTE (mm)	INTERMEDIO (mm)	SENSIBLE (mm)
Ampicilina	10	11	12-13	14
Cefalosporina	30	14	15-17	18
Cloranfenicol	30	12	13-17	18
Ac. Nalidixico	30	13	14-18	19
Carbencilina	50	17	18-22	23
Carbencilina*	50	12	13-14	15
Furadantina	300	14	15-16	17
Gentamicina	10	12	13-14	15
Cefotaxima	30	14	15-22	23
Ac. Oxolfinico	10	18	---	19
Colimicina	10	8	9-10	11
Tetraciclina	30	14	15-18	19
Sulfametoxazol- Trimetoprim	25	10	11-15	16

*Cuando se prueba con *Pseudomonas*.

Las tablas de contingencia proporcionan información acerca de la existencia de dependencia o independencia hacia las variables de los resultados obtenidos, bajo criterio de chi cuadrada (51). Dando valores de $p < 0.05$ para la no dependencia y $p \geq 0.05$ para la dependencia.

El análisis de varianza de dos clasificaciones por grados de Friedman, el cual consiste en ordenar por grados, de mayor a menor, determinando la diferencia significativa de los totales de rango ($p \leq 0.05$). La prueba se basa en la siguiente ecuación.

$$\chi_r^2 = \frac{12}{NK(K+1)} \sum_{j=1}^k (R_j)^2 - 3N(K+1)$$

En donde:

N = número de hileras

K = número de columnas

R_j = suma de rangos en la columna j

\sum_j^k = sumatoria de los cuadrados de las sumas de los rangos en todas las k condiciones.

El 12 y el 3 son constantes que no tienen nada que ver con el tamaño del experimento.

La prueba está distribuida aproximadamente como chi cuadrada con grados de libertad = $k - 1$ (50).

V. RESULTADOS Y DISCUSION.

Como se puede observar en el Cuadro 4 y en la Gráfica 4, las bacterias Gram positivas fueron más frecuentes que las bacterias Gram negativas y las levaduras. En la Gráfica 1 se muestra que *Staphylococcus aureus* fue el patógeno con mayor incidencia en el año, seguido de *Staphylococcus epidermidis*. *Streptococcus agalactiae* no fue tan frecuente como se esperaba, debido quizá a que es un patógeno fácil de erradicar (4, 14, 44). *Bacillus cereus* fue el tercer patógeno más frecuente, lo que es un tanto sorprendente, ya que es considerado como un patógeno poco frecuente como causante de mastitis (23, 48).

La Gráfica 5 representa los meses en los que hubo mayor presencia de patógenos y la aparición mensual de patógenos por grupo, en donde se puede ver que en febrero, marzo, abril, mayo y septiembre hubo mayor número de patógenos.

En cuanto a la importancia *Staphylococcus aureus* se -
mostró como el patógeno más importante, pero se presentaron
cambios como se puede observar en el Cuadro 5, en donde se
determinó como agentes más importantes causantes de mastitis
a *Escherichia coli* y las levaduras, que *Bacillus cereus*, -
siendo que el porcentaje de aparición de este último fue ma-
yor que el de los dos anteriores. Esto fue posible, ya que
Bacillus cereus no se presentó en dos meses y en otros fue
muy escaso, teniendo su mayor frecuencia en unos cuantos me-
ses como se observa en el Cuadro 3 (que muestra el número de
apariciones por mes y por año de cada uno de los patógenos
aislados), en cambio *Escherichia coli* se presentó durante to-
dos los meses del año y las levaduras sólo en un mes no se
presentaron, por lo que se considera entonces, más importan-
te la constancia con que el patógeno se esté presentando, -
que en la cantidad con que se presente, porque implica un ma-
yor problema un patógeno que no se puede eliminar y se esté
presentando mes con mes a otro que se presente en gran canti-
dad en un mes, pero que al mes siguiente no se encuentre.
El mismo caso se observó con las levaduras y *Corynebacterium*
spp., *Enterobacter* spp. y *Streptococcus uberis* y el caso más
claro *Klebsiella* spp. y *Streptococcus* spp.

Las tablas de contingencia dieron una $p = 0.00001$ por lo que no se encontró dependencia al tiempo como un factor que influya a la presentación de mastitis por un determinado patógeno, sino que las presentaciones de mastitis por alguno de estos patógenos se debe a factores que les permitan su introducción a la glándula y produzcan la infección, como los que son en muchos casos descuidos o defectos que se tengan en la rutina del ordeño. Sin embargo, en las Gráficas 2 y 3 se muestran las apariciones por mes de cada patógeno aislado.

El Cuadro 6 y la Gráfica 6 representan los porcentajes de resistencia a los antibióticos de bacterias Gram positivas, pero las tablas de contingencia mostraron que entre las bacterias Gram positivas se presentaron diferentes resistencias a los antibióticos ($p = 1.47 \times 10^{-11}$) por lo que se hicieron las evaluaciones de las resistencias por cada bacteria Gram positiva (Cuadro 7).

Staphylococcus aureus presentó mayor resistencia a la estreptomina, ampicilina, cloxacilina, lincomicina y penicilina, y menor resistencia a la gentamicina.

Staphylococcus epidermidis presentó mayor resistencia a la estreptomina, cloxacilina, ampicilina y lincomicina, y menor resistencia a la gentamicina.

Bacillus cereus presentó mayor resistencia a la lincomicina y ampicilina, y la menor resistencia a la gentamicina.

Streptococcus agalactiae presentó mayor resistencia a la combinación sulfametoxazol-trimetoprim y menor resistencia a la cefalosporina.

Streptococcus uberis presentó mayor resistencia a la cloxacilina, estreptomina, ampicilina, lincomicina, sulfametoxazol-trimetoprim y cefotaxima, y menor resistencia a la gentamicina.

Corynebacterium spp. y *Streptococcus* spp. no mostraron diferencias significativas.

En el Cuadro 8 se muestran los porcentajes de resistencia a los antibióticos por cada bacteria Gram negativa. Debido a que las tablas de contingencia mostraron que las bac-

terias Gram negativas presentaron las mismas resistencias a los antibióticos ($p = 0.999$) se evaluaron por grupo.

Las bacterias Gram negativas presentaron mayor resistencia a la ampicilina, tetraciclina y cefalosporina, y menor resistencia a la gentamicina (Cuadro 9 y Gráfica 7).

Se hicieron antibiogramas a las levaduras aunque generalmente no se les hacen, debido a que éstas aparecen como causantes de mastitis después de tratamientos prolongados con antibióticos (4, 23, 48). El Cuadro 10 y la Gráfica 8 muestra que las levaduras presentaron mayor resistencia a la lincomicina, ampicilina, sulfametoxazol-trimetoprim y estreptomicina, y menor resistencia a la gentamicina.

En el Cuadro 11 se observan las resistencias de las bacterias Gram positivas a los antibióticos agrupados por mecanismos de acción, en donde las tablas de contingencia mostraron que las resistencias a los antibióticos de las Gram positivas no dependían de los mecanismos de acción de los antibióticos ($p = 2.69 \times 10^3$) mientras que en las Gram negativas si hubo dependencia de las resistencias obtenidas sobre los mecanismos de acción de los antibióticos ($p = 0.9816$). Esto se debe a que el mayor número de resistencias fue para los

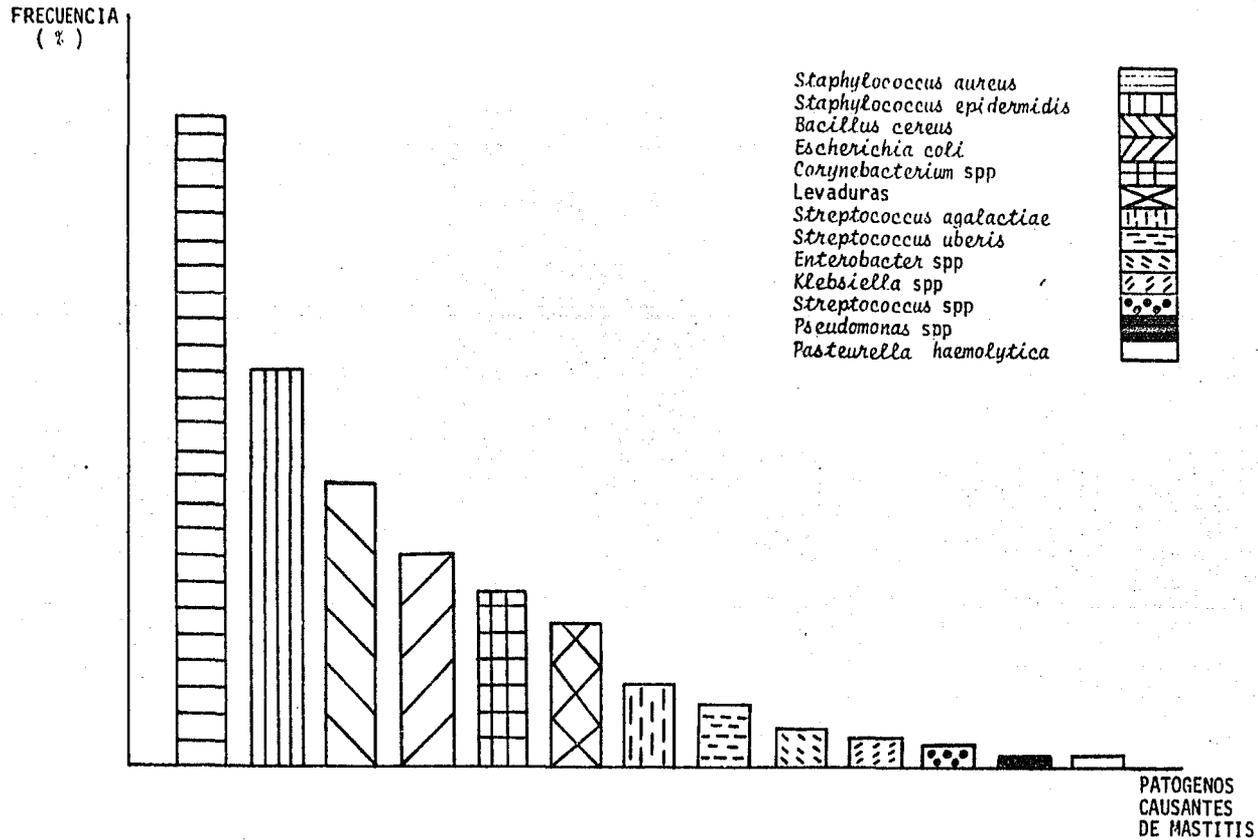
antibióticos que actúan inhibiendo la síntesis de pared celular (Cuadro 12).

V.1. Cuadro y Gráficas.

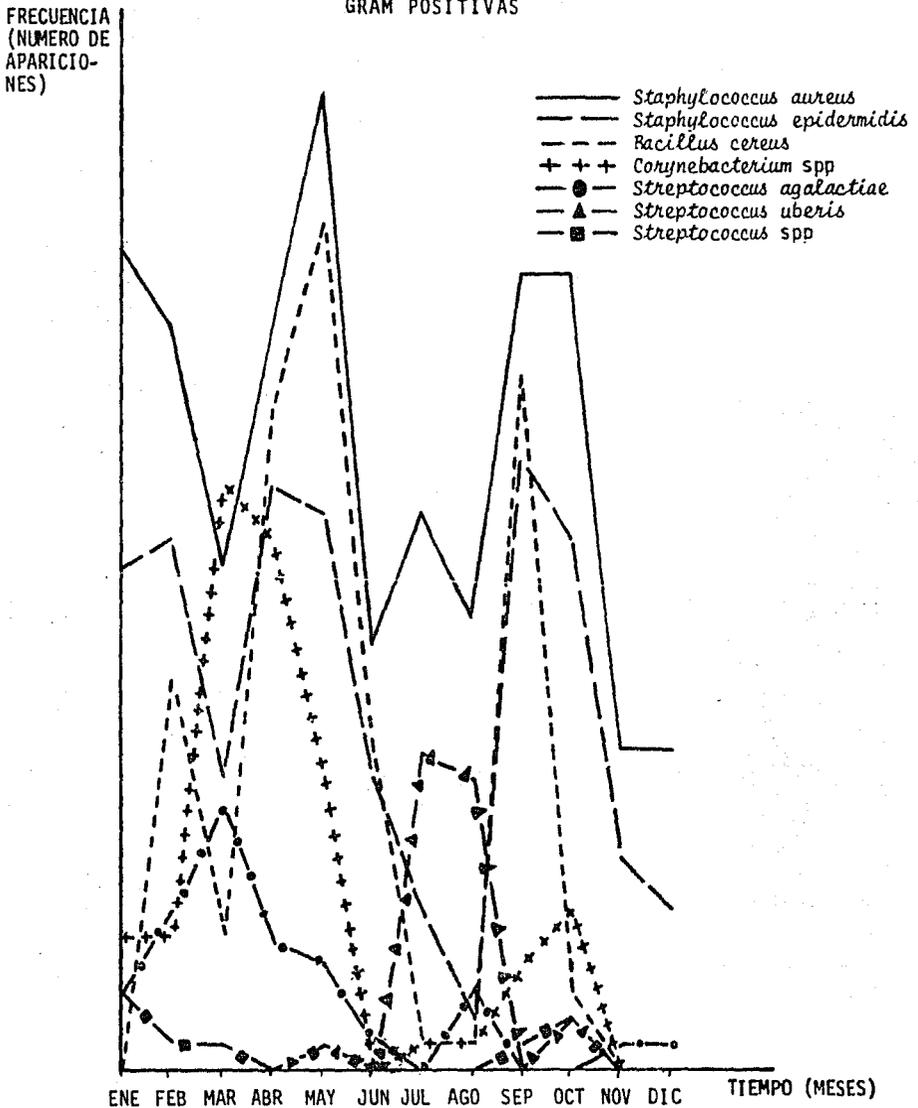
CUADRO 3. FRECUENCIA DE APARICION DE MICROORGANISMOS PATOGENOS CAUSANTES DE MASTITIS DURANTE EL AÑO.

PATOGENOS	ENE #	FEB #	MAR #	ABR #	MAY #	JUN #	JUL #	AGO #	SEP #	OCT #	NOV #	DIC #	TOTAL # (%)
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	31	28	19	28	37	16	21	17	30	30	10	10	277 (30.91)
2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	19	20	11	22	21	11	6	2	23	20	8	6	169 (18.86)
3. <i>Bacillus cerus</i>	0	15	5	25	32	12	1	1	26	3	0	0	120 (13.40)
4. <i>Escherichia coli</i>	6	4	6	9	12	2	13	9	13	4	5	7	90 (10.04)
5. <i>Corynebacterium spp</i>	5	5	22	20	11	0	1	1	4	6	0	0	75 (8.37)
6. Levaduras	3	9	17	10	4	3	6	1	5	1	0	2	61 (6.81)
7. <i>Streptococcus agalactiae</i>	3	6	10	5	4	1	0	3	0	0	1	1	34 (3.80)
8. <i>Streptococcus uberis</i>	0	0	0	0	1	0	12	11	0	2	0	0	26 (2.90)
9. <i>Enterobacter spp</i>	1	1	3	0	0	0	3	3	4	1	0	0	16 (1.79)
10. <i>Klebsiella spp</i>	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	13 (1.45)
11. <i>Streptococci spp</i>	3	1	1	0	1	0	0	0	1	2	0	0	9 (1.00)
12. <i>Pseudomonas spp</i>	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3 (0.33)
13. <i>Listeurella haemolytica</i>	1	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	4 (0.33)
TOTAL POR MES	74	89	94	119	123	45	66	61	106	69	24	26	896

GRAFICA 1. PORCENTAJE DE APARICION DE LOS DIFERENTES PATOGENOS CAUSANTES DE MASTITIS BOVINA EN EL AÑO.



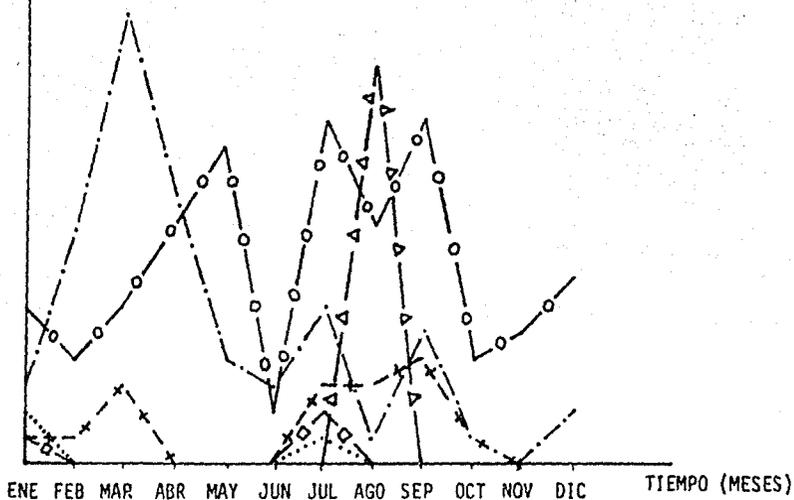
GRAFICA 2. FRECUENCIA DE APARICION DE BACTERIAS
GRAM POSITIVAS



GRAFICA 3. FRECUENCIA DE APARICION DE BACTERIAS
GRAM NEGATIVAS Y LEVADURAS.

FRECUENCIA
(NUMERO DE
APARICIONES)

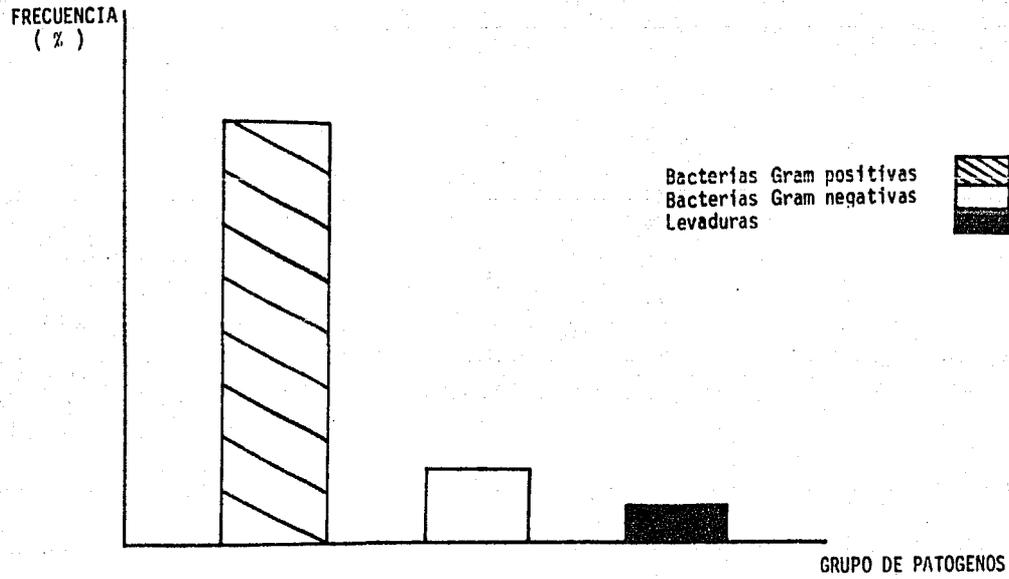
- *Escherichia coli*
- .-.- Levaduras
- +— *Enterobacter spp*
- △— *Klebsiella spp*
- *Pseudomonas spp*
- *Pasteurella haemolytica*



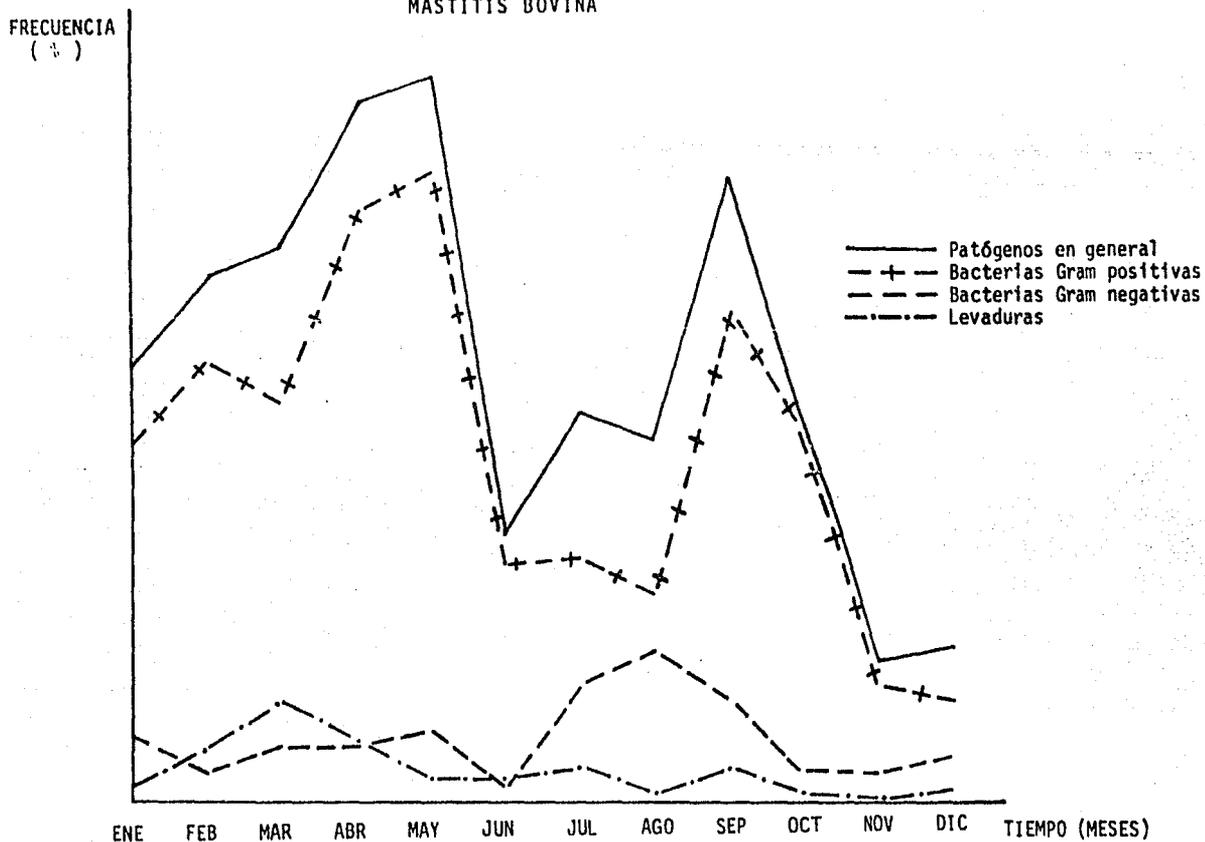
CUADRO 4. FRECUENCIA DE APARICION POR GRUPOS DE MICROORGANISMOS
EN EL AÑO.

PATOGENOS	ENE # (%)	FEB # (%)	MAR # (%)	ABR # (%)	MAY # (%)	JUN # (%)	JUL # (%)	AGO # (%)	SEP # (%)	OCT # (%)	NOV # (%)	DIC # (%)	TOTAL # (%)
Bacterias Gram positivas	61 (6.81)	75 (8.37)	68 (7.59)	100 (11.16)	107 (11.94)	40 (4.46)	41 (4.58)	35 (3.91)	84 (9.38)	63 (7.03)	19 (2.12)	17 (1.90)	710 (79.24)
Bacterias Gram negativas	10 (1.12)	5 (0.56)	9 (1.00)	9 (1.00)	12 (1.34)	2 (0.22)	19 (2.12)	25 (2.80)	17 (1.90)	5 (0.56)	5 (0.56)	7 (0.78)	125 (13.95)
Levaduras	3 (0.33)	9 (1.00)	17 (1.90)	10 (1.12)	4 (0.45)	3 (0.33)	6 (0.67)	1 (0.11)	5 (0.56)	1 (0.11)	0 (0.00)	2 (0.22)	61 (6.81)
TOTAL POR MES %	74 (9.26)	89 (9.93)	94 (10.49)	119 (13.28)	123 (13.73)	45 (5.02)	66 (7.37)	61 (6.81)	106 (11.83)	69 (7.70)	24 (2.68)	26 (2.90)	896

GRAFICA 4. PORCENTAJE DE APARICION DE MICROORGANISMOS PATOGENOS, POR GRUPOS.



GRAFICA 5. APARICION MENSUAL DE LOS PATOGENOS CAUSANTES DE MASTITIS BOVINA



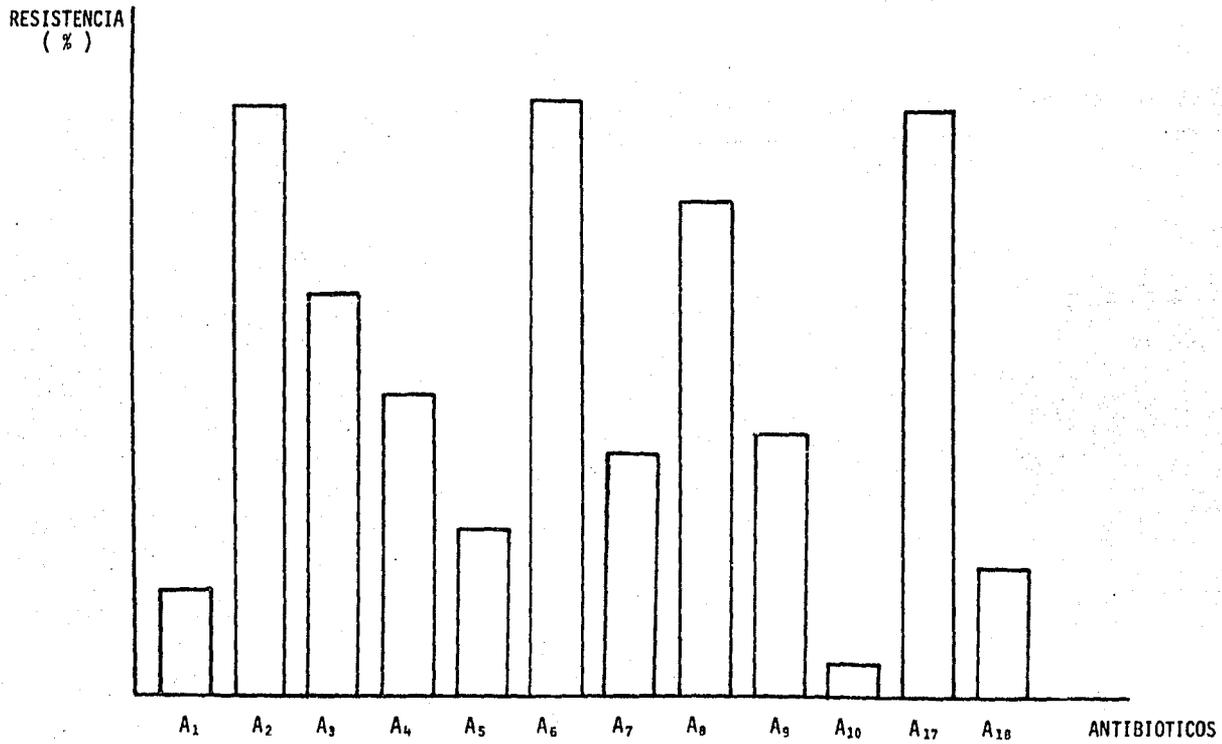
CUADRO 5. POSICIONES DE LOS MICROORGANISMOS PATOGENOS DE ACUERDO AL PORCENTAJE DE APARICION Y LA IMPORTANCIA DE ESTOS COMO CAUSANTES DE MASTITIS.

LUGAR DE ACUERDO AL PORCENTAJE DE APARICION	LUGAR DE ACUERDO A LA IMPORTANCIA ($P=1.33 \times 10^{-5}$)
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	1. <i>Staphylococcus aureus</i>
2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	2. <i>Staphylococcus epidermidis</i>
3. <i>Bacillus cereus</i>	3. <i>Escherichia coli</i>
4. <i>Escherichia coli</i>	4. Levaduras
5. <i>Corynebacterium</i> spp	5. <i>Bacillus cereus</i>
6. Levaduras	6. <i>Corynebacterium</i>
7. <i>Streptococcus agalactiae</i>	7. <i>Streptococcus agalactiae</i>
8. <i>Streptococcus uberis</i>	8. <i>Enterobacter</i> spp
9. <i>Enterobacter</i> spp	9. <i>Streptococcus uberis</i>
10. <i>Klebsiella</i> spp	10. <i>Streptococcus</i> spp
11. <i>Streptococcus</i> spp	11. <i>Klebsiella</i> spp
12. <i>Pseudomonas</i> spp	12. <i>Pseudomonas</i> spp
13. <i>Pasteurella haemolytica</i>	13. <i>Pasteurella haemolytica</i>

CUADRO 6. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A LOS
ANTIBIOTICOS DE BACTERIAS GRAM
POSITIVAS.

Antibiótico	Resistencia (%)
Cefalosporina (A ₁)	4.93
Estreptomina (A ₂)	27.25
Penicilina (A ₃)	19.15
Sulfametoxazol-Trimetroprim (A ₄)	14.22
Cefotaxima (A ₅)	7.75
Ampicilina (A ₆)	28.17
Eritromicina (A ₇)	11.55
Cloxacilina (A ₈)	23.52
Tetraciclina (A ₉)	12.39
Gentamicina (A ₁₀)	1.41
Lincomicina (A ₁₇)	27.61
Kanamicina (A ₁₈)	6.06

GRAFICA 6. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS.



CUADRO 7. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS DE CADA UNA DE LAS BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

Valores de P.	Bacterias Gram positivas	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	A ₆	A ₇	A ₈	A ₉	A ₁₀	A ₁₇	A ₁₈
7.96x10 ⁻¹²	<i>Staphylococcus aureus</i>	4.33	<u>38.63</u>	<u>23.83</u>	15.66	4.33	<u>36.82</u>	14.80	<u>26.35</u>	15.16	2.53*	<u>24.19</u>	6.14
2.74x10 ⁻⁷	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4.73	<u>34.91</u>	20.71	13.61	10.65	<u>29.59</u>	12.43	<u>31.95</u>	18.34	0.59*	<u>27.22</u>	10.06
2.24 10 ⁻⁴	<i>Bacillus cereus</i>	5.83	5.83	18.33	9.17	10.00	<u>26.67</u>	10.00	6.67	2.50	0.00*	<u>48.33</u>	2.50
0.06457	<i>Corynebacterium spp</i>	5.33	8.00	4.00	6.67	2.67	5.33	0.00	8.00	4.00	1.33	10.66	1.33
9.15x10 ⁻³	<i>Streptococcus agalactiae</i>	0.00*	14.71	8.82	<u>29.41</u>	5.88	0.00*	5.88	14.71	5.88	2.94	17.65	2.94
0.04797	<i>Streptococcus uberis</i>	19.23	<u>50.00</u>	26.92	<u>38.46</u>	<u>34.61</u>	<u>42.31</u>	26.92	76.92	<u>23.08</u>	0.00*	<u>42.31</u>	11.54
0.44797	<i>Streptococcus spp</i>	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	11.11	11.11	11.11	11.11	0.00	0.00	11.11

— Mayor resistencia

* Menor resistencia

CUADRO 8. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS DE
CADA BACTERIA GRAM NEGATIVA.

Bacterias Gram negativas	A ₁	A ₄	A ₅	A ₆	A ₉	A ₁₀	A ₁₁	A ₁₂	A ₁₃	A ₁₄	A ₁₅	A ₁₆
<i>Eschericha coli</i>	31.46	21.35	2.25	65.17	38.20	1.12	3.37	20.22	8.99	3.37	2.25	12.36
<i>Enterobacter spp</i>	37.50	18.75	6.25	56.25	43.75	6.25	6.25	18.75	6.25	12.50	0.00	12.50
<i>Klebsiella spp</i>	53.84	23.08	7.69	61.54	69.23	0.00	0.00	23.07	7.69	0.00	7.69	46.15
<i>Pseudomonas spp</i>	33.33	33.33	0.00	33.33	33.33	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
<i>Pasteurella haemolytica</i>	33.33	0.00	0.00	100.00	66.67	0.00	0.00	33.33	0.00	0.00	0.00	0.00

CUADRO 9. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS.

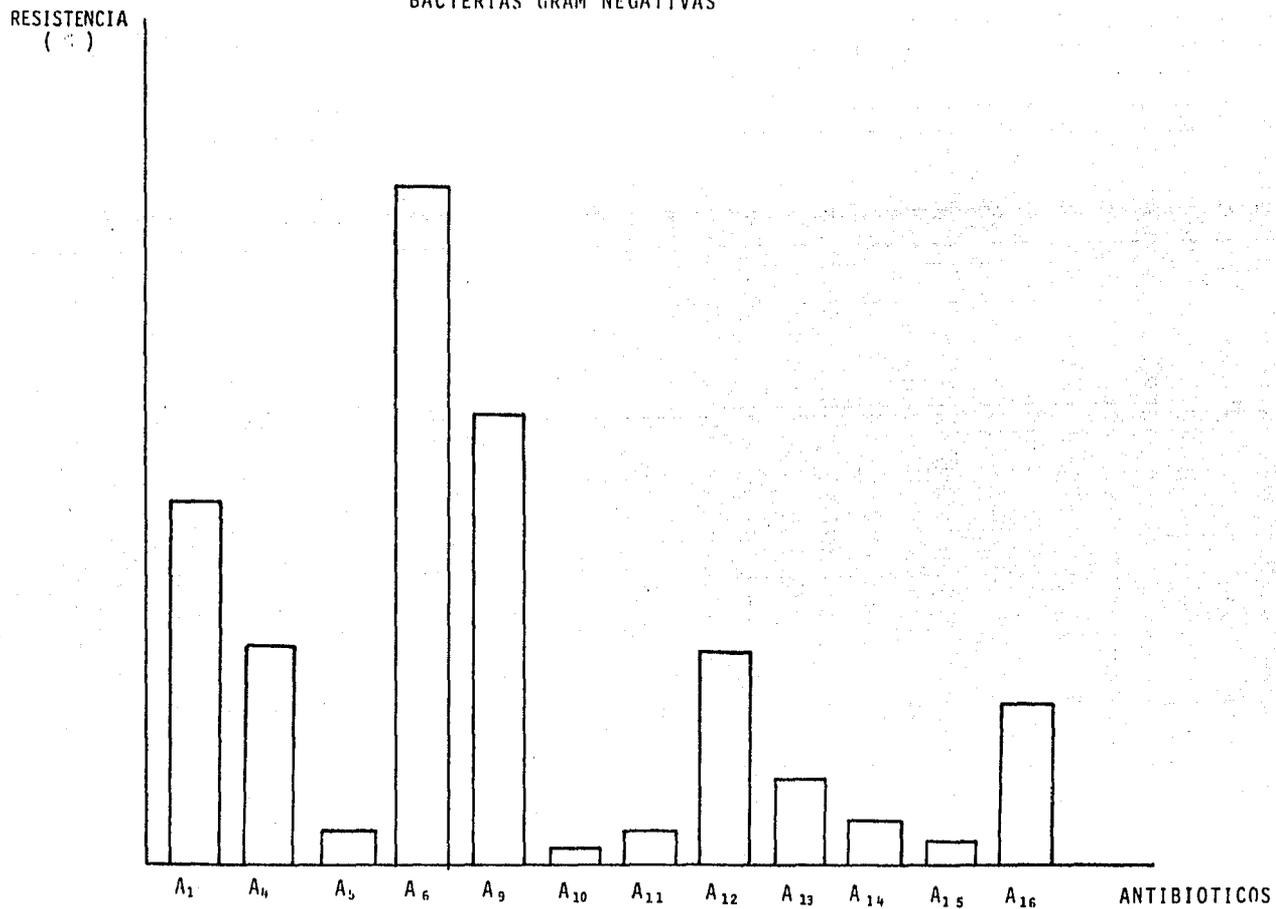
Antibiótico	Resistencia (%)
Cefalosporina (A ₁)	<u>34.40</u>
Sulfametoxazol-Trimetroprim (A ₄)	20.80
Cefotaxima (A ₅)	3.20
Ampicilina (A ₆)	<u>64.00</u>
Tetraciclina (A ₉)	<u>42.53</u>
Gentamicina (A ₁₀)	1.60*
Furadantina (A ₁₁)	3.20
Carbencilina (A ₁₂)	20.00
Ac. Nalidixico (A ₁₃)	8.00
Colimicina (A ₁₄)	4.00
Ac. Oxolfnico (A ₁₅)	2.40
Cloranfenicol (A ₁₆)	15.20

$$P = 2.27 \times 10^{-11}$$

—— Mayor resistencia

* Menor resistencia

GRAFICA 7. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS



CUADRO 10. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS DE LEVADURAS.

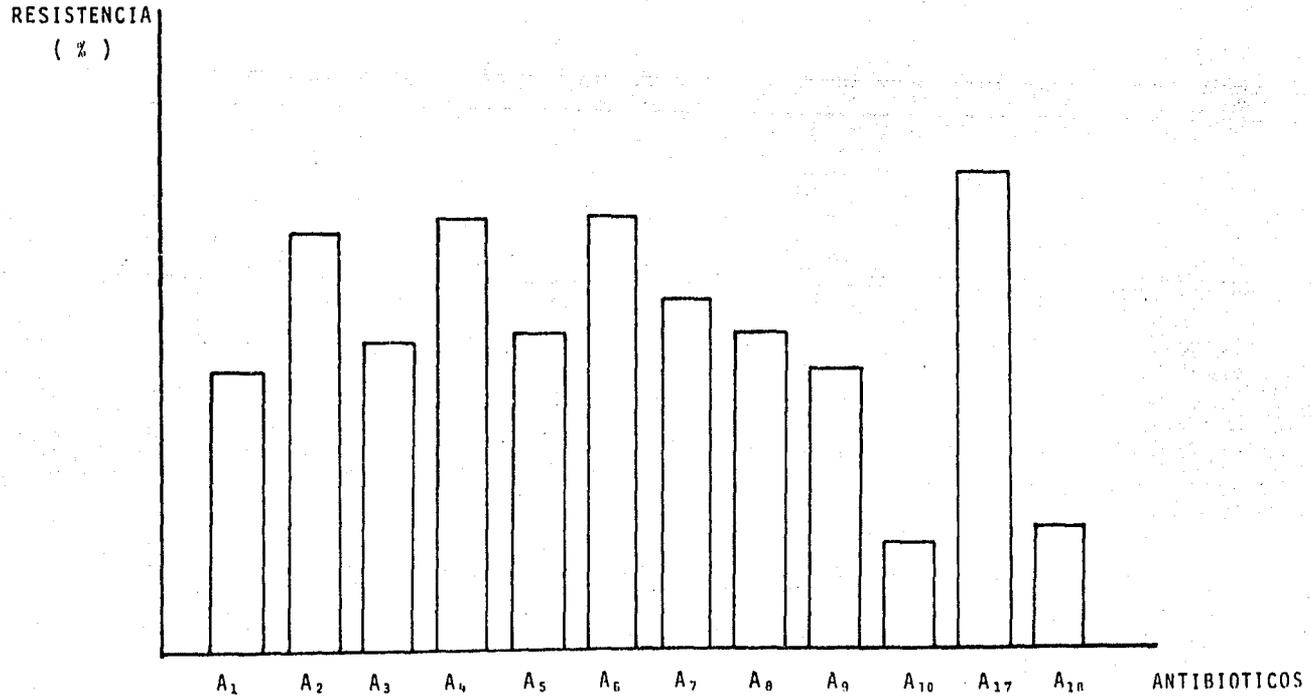
Antibióticos	Resistencia (%)
Cefalosporina (A ₁)	26.23
Estreptomina (A ₂)	<u>39.34</u>
Penicilina (A ₃)	29.15
Sulfametoxazol-Trimetroprim (A ₄)	<u>40.98</u>
Cefotaxima (A ₅)	29.51
Ampicilina (A ₆)	<u>40.98</u>
Eritromicina (A ₇)	32.79
Cloxacilina (A ₈)	29.51
Tetraciclina (A ₉)	21.31
Gentamicina (A ₁₀)	9.84*
Lincomicina (A ₁₇)	<u>44.26</u>
Kanamicina (A ₁₈)	11.48

$$P = 2.24 \times 10^{-4}$$

— Mayor resistencia

* Menor resistencia

GRAFICA 8. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS DE LEVADURAS CAUSANTES DE MASTITIS BOVINA.



CUADRO 11. RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS, AGRUPADOS POR EL MECANISMO DE ACCION, DE BACTERIAS GRAM POSITIVAS.

Bacteria	MECA 1*	MECA 2*	MECA 3*
<i>Staphylococcus aureus</i>	143	142	42
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	82	82	23
<i>Bacillus cereus</i>	34	63	11
<i>Corynebacterium spp</i>	9	10	5
<i>Streptococcus agalactiae</i>	7	7	10
<i>Streptococcus uberis</i>	28	19	10
<i>Streptococcus spp</i>	2	3	0

MECA 1 = Inhibición de la síntesis de pared celular.

MECA 2 = Inhibición de la síntesis de proteínas.

MECA 3 = Inhibición de enzimas que intervienen en el metabolismo de la bacteria.

* Número de cepas resistentes.

CUADRO 12. RESISTENCIA A LOS ANTIBIOTICOS, AGRUPADOS POR EL MECANISMO DE ACCION, DE BACTERIAS GRAM NEGATIVAS.

Bacteria	MECA 1*	MECA 2*	MECA 3*	MECA 4*	MECA 5*
<i>Escherichia coli</i>	75	40	20	9	3
<i>Enterobacter spp</i>	13	9	3	1	2
<i>Klebsiella spp</i>	11	10	3	2	0
<i>Pseudomonas spp</i>	1	1	1	0	0
<i>Pasteurella haemolytica</i>	3	2	0	0	0

MECA 1 = Inhibición de la síntesis de pared celular.

MECA 2 = Inhibición de la síntesis de proetfna.

MECA 3 = Inhibición de enzimas que intervienen en el metabolismo de la bacteria.

MECA 4 = Inhibición de la síntesis de ácidos nuclefcos.

MECA 5 = Deterioro de la membrana celular.

* Número de cepas resistentes.

ESTA TESIS
SALIR DE LA
NO DEBE
BIBLIOTECA

VI. CONCLUSIONES.

Tal como se esperaba, los estafilococos fueron los patógenos más frecuentes, no así los estreptococos.

Los más altos porcentajes de resistencia son a los antibióticos más utilizados en medicina veterinaria y el menor porcentaje de resistencia es para la gentamicina, un antibiótico que está siendo recientemente utilizado en medicina veterinaria (cuando menos en lo que respecta a tratamientos contra mastitis). Lo cual puede ser provisional si se abusa del uso de este antibiótico.

El problema es evidente y se deben tomar medidas para evitar que el problema se siga incrementando, racionalizando el uso de los antibióticos.

Las medidas principales que se pueden tomar en cuanto a la mastitis, son mejorar las condiciones en las que se encuentre el ganado y hacer más eficiente la rutina de ordeño para evitar las infecciones de la glándula mamaria (3, 4, 19) y no pensar en controlar la mastitis por medio del uso exclu-

sivo de antibióticos, ya que no existe tal control, puesto que éstos sólo son una herramienta secundaria del control de la mastitis (42).

Es importante considerar dentro del programa de control de la mastitis un programa de cuantificación celular, el cual permitirá al ganadero contar con la información de la mastitis subclínica de su hato, tanto de vacas en lactancia como de vacas que van al secado, y si además cuenta con el apoyo de un laboratorio que haga aislamientos de los patógenos que estén causando la infección y pruebas de sensibilidad que permitan hacer un mejor uso de los antibióticos.

En casos clínicos el médico deberá hacer un diagnóstico del agente causal de la enfermedad de acuerdo a los signos que presente el paciente y tomar la decisión del antibiótico que utilizará en el tratamiento, tomando una muestra de leche antes de aplicar éste, en condiciones de esterilidad para aislar el patógeno y hacerle pruebas de sensibilidad, lo que le permitirá al médico cambiar el tratamiento si el animal no responde al primero (13).

El establecer un programa de control de este tipo parecerá un cuanto inconveniente por que da la impresión de que -

resulta un programa muy costoso, pero se conocen reportes de los beneficios económicos que trae un programa de control (sin utilizar pruebas de sensibilidad) (3, 9), ya que al bajar los niveles celulares aumenta la producción láctea, bajan los costos en los tratamientos de mastitis considerablemente y los animales que se destinan al rastro suelen ser esporádicos, por lo que un programa de control puede ser auto-financiable y solventar los gastos de laboratorio.

Por último, la biotecnología actualmente ha provisto nuevos recursos para promover el crecimiento, y la eficiencia en la producción de carne, leche y huevos que incluyen enzimas, cultivos de levaduras, de bacterias viables y sus metabolitos, y modificadores del pH en los alimentos, los cuales ofrecen un gran potencial de mejoramiento en los programas de nutrición animal (32). Siendo éstos, otras alternativas para sustituir el uso de antibióticos.

VII. LITERATURA CITADA

1. ABRAHAM, E. P.; 1981. Antibióticos beta-lactámicos. Investigación y Ciencia. (59):30-41.
2. BAKER, C. N.; CLYDE, T. AND RONALD, N. J. 1980. *In Vitro* Antimicrobial Activity of Cefoperazone, Cefotaxime, Moxalactam (LY 127935), Azlocillin, Mezlozillin and Other β -Lactam Antibiotics - Against *Neisseria gonorrhoeae* and *Haemophilus influenzae*, Including β -lactamase Producing - Strains. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 17 (4):757-761.
3. BLOWEY, R. W. 1986. An assament of the Economic Benefits of Mastitis control Scheme. Veterinary Record. 119 (22):551-553.
4. BRAMLEY, A. J. AND DODD, F. H. 1984. Reviews of the progress of Dairy Science: Mastitis control, progress and prospects. Journal of Dairy Research 51 (3):481-512.
5. BRYANT, M.C. 1976. Antibióticos y su control mediante el laboratorio. 1a. Ed. El Manual Moderno. 125 p.
6. CAMPOS, R. V. 1981. Incidencia de infecciones de la -- glándula mamaria en ganado lechero durante el período seco. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.

7. CARTER, G.R. 1978. Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology 2a. Ed. EDT Charles C. Thomas Publisher. Springfield. Illinois, USA. 102-285 pp.
8. COMMISSIONER OF THE FOOD AND DRUG ADMINISTRATION TASK FORCE REPORT ON THE USE OF ANTIBIOTICS IN ANIMAL FEEDS. 1968. Department of the Health, Education and Welfare. Washington, D.C. USA.
9. CORTES, S. C. Y SALVADOR, A. T. 1985. Papel de la máquina de ordeño en la mastitis. Memorias de la Primera Conferencia Internacional sobre Ganado Lechero. México, D.F. 81-112 pp.
10. COWAN Y STEEL'S. 1979. Manual para la identificación de bacterias de importancia médica. 2a. Ed. CECSA, México, D.F. 320 p.
11. DAVIES, D. B.; RENATO, D. Y COL. 1972. Tratado de Microbiología. 1a. Ed. Salvat. Barcelona, España. 1478 p.
12. DAVIES, J. AND DAVID, I. S. 1978. Plasmid-Determined Resistance to Antimicrobial Agents. Annual Reviews of Microbiology. 32:469-518.
13. DUPON'T, H. C. 1980. Uso práctico de los antibióticos. 1a. Ed. Interamericana. México, D.F. 172 p.

14. EL MANUAL DE VETERINARIA. 1981. Editado por Merck & Co. INC. New Jersey, USA. 1386 p.
15. FALKOW, S. 1975. Infectious multiple drug resistance. Pion Ltd. London.
16. FISHER, P. R.; APPLETON, J. AND PEMBERTON, J. M. 1978. Isolation and Characterization of the practice digradng plasmid pJpl From *Alcaligenes paradoxus*. Journal of Bacteriology. 135:798-
17. FUCH, P. C.; ARTHUR, R. B. *et al.* 1980. Cefotaxime: *In Vitro* Activity and Tentative Interpretative Standars of Disk Susceptibility Testing. Anti-microbial agents and Chemotherapy. 18 (1): 88-93.
18. FUENTES, H. V. 1987. Farmacología y terapéutica veterinaria. 1a. Ed. Interamericana. 69-153 pp.
19. GOODGER, W. J. AND GRETA, F. 1987. Benefits and costs of a control program for an epizootic of *Staphylococcus aureus* mastitis. Journal of American Veterinary Medical Association. 190 (10): 1284-1287.
20. GOODMAN, G. A.; LOVIS, S. G. Y ALFRED, G. 1982. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 6a. Ed. Panamericana, México, D.F. 1756 p.

21. GREENWOOD, D.; NEIL, P. ADRIAN, E. AND FRANCIS, O. G. 1980. Comparative *In Vitro* Activities of Cefotaxime and Ceftizoxime (FK749): New Cephalosporins with Exceptional Potency. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 17(3):397-401.
22. HAGAR, W. A.; DORSEY, W. B. *et al.* 1981. Infections diseases of domestic animals. 7a. Ed. Cornell University Press. London. 851 p.
23. HEIDRICH, H. J. 1969. Enfermedades de las glándulas mamarias en los animales domésticos. 1a. Ed. Labor. New Jersey, USA. 502 p.
24. JAIM, N. C. 1979. Common mamary pathogens and factors in infections and mastitis. Journal of Dairy Science. 62:128-139.
25. KENICHI, S.; MATSUSHISA, I. AND SUSUMU, M. 1980. Activity of β -Lactamase Produced by *Bacteroides fragilis* Against Newly Introduced Cephalosporins. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 17 (4):736-737.
26. KINSER, J. S. 1976. Perspective an the use of Antibiotics in Animal. Feeds. Journal of Animal Science. 42:1058-1072.
27. LAZZARD, D.A. 1985. Reflexiones referentes a medicamentos, agentes químicos o biológicos y alimentos. Gaceta Veterinaria de Buenos Aires. XLII. (352):421-426.

28. LEHNINGER, A. L. 1982. Bioquímica. 2a. Ed. Omega. Barcelona, España. 871-902 pp.
29. LEVINE, R. P. 1982. Genética. 2a. Ed. CECSA, México, D.F. 237 p.
30. LEWIN, B. P. 1977. Gene Expression-3: Plasmids & Phages. John Wiley & Sons. New York, USA.
31. LITTER, M. 1980. Farmacología experimental y clínica. 6a. Ed. El Ateneo. Buenos Aires, Argentina. 1953 p.
32. LYONS, T. P. 1987. Biotecnología: La Ruta Natural para Incrementar la Productividad en la Industria Lechera. Memorias de la Tercera Conferencia Internacional sobre Ganado Lechero. México, D.F. 41-58 pp.
33. Mc FARLAND, J. 1957. The nephelometer: an instrument for estimating the number of bacteria in suspension, use for calculating the opsonic index and vaccines. Journal American Medical Association. 49:1176.
34. MEYERS, F. H.; ERNEST, J. Y ALAN. G. 1980. Farmacología clínica. 1a. Ed. El Manual Moderno. México, D.F. 869 p.
35. MUCKLE, C. A.; PRECOTT, J. F. AND JOHNSTON, R. 1986. Susceptibility of *Escherichia coli* from Bovine Mastitis to New Antimicrobial Drugs. Canadian Journal of Veterinary Research. 50:543-544.

36. MURILLO, S. E.; MARCELO, P. D. Y VICTOR, C. R. 1984. Identificación de patógenos de la glándula mamaria. Manual sobre la Glándula Mamaria Núm. 6 Fascículo 2. México, D.F. 17 p.
37. NADER, G. E. 1982. Plásmidos de resistencia a agentes quimioterapéuticos en cepas enterotoxigénicas de *Escherichia coli* aislados de lechones, en México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM.
38. O'BRIEN, T. F.; NORTON, R. A.; KENT, R. L. AND MEDEIROS, A. A. 1977. International Surveillance of Prevalence of antibiotic resistance. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 59-66 p.
39. PAGOLA, J. G. 1983. Comunicación Personal.
40. PAYAN, R. M. 1987. El Problema de la Mastitis. Memorias del VI Encuentro Militar de Médicos Veterinarios Zootecnistas. Secretaría de la Defensa Nacional. México, D.F.
41. PECHERE, J. C.; GUAY, R.; DUBOIS, J. AND LETARTE, R. - 1980. Hydrolysis of Cefotaxime by a Beta-Lactamase from *Bacteroides fragilis*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 17 (6): 1001-1003.
42. PEREZ, D. M. 1984. Generalidades sobre Mastitis. Manual sobre la Glándula Mamaria Núm. 5, Fascículo 1. México, D.F.

43. PEREZ, D. M.; CASTILLO, R. F. Y COL. 1984. Métodos físico-químicos para el diagnóstico de la mastitis subclínica. Manual sobre la Glándula Mamaria No. 6, Fascículo 1. México, D.F. 21 p.
44. PEREZ, D. M. Y VICTOR, C. 1984. Algunos procedimientos para la prevención y tratamiento de la mastitis. Manual sobre la Glándula Mamaria No. 5, Fascículo 2. México, D.F. 30 p.
45. PEREZ, D. M. Y VICTOR, C. 1984. Células somáticas en leche: su origen, su función, su detección, su interpretación. Memorias de la Primera Conferencia Internacional sobre Ganado Lechero. México, D.F. 59-80 pp.
46. PLOMMET, M. 1970. Diagnóstico bacteriológico de las infecciones de la mama de la vaca. Patología de la producción láctea. Centro Nacional de Recherche Scientifique de Francia. Academia León (España). 9-57 pp.
47. REPORT OF THE PANEL OF THE COLLOQUIUM ON BOVINE MASTITIS. 1977. Journal of American Veterinary Medical Association. 170 (10):1119-1123.
48. SCHALM, P. W. 1971. Bovine Mastitis. Lea & Fabier. Philadelphia, USA.
49. SHINJI, M.; SUSUMURY, A.; MASAKI, M. AND SUSUMO, M. - 1980. *In Vitro* Antimicrobial Activity of Cefotaxime, a new Cephalosporin. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 18 (1): 1-9.

50. SIEGEL, S. 1985. Estadística no paramétrica. 2a. Ed. Trillas. México, D.F. 108-203 pp.
51. STEEL, G. D. R. AND JAMES, H. T. 1980. Principles and procedures of statistics, a biometrical - approach. 2a. Ed. Mc Grow Hill. Kogakusha-Ltd. Tokyo, Japan. 633 p.
52. SUMMERS, A. O.; SCHOTTEL, J.; CLARK, D. AND SILVER, S. 1975. Plasmid borne Hg (II) and organomercurial resistance microbiology. American Society for Microbiology. Washington, D.C. USA. 219-224 p.
53. TREJO, J. R. 1978. Consideraciones Económicas de los Efectos de la Mastitis sobre la Producción de Leche. Curso de actualización sobre mastitis bovina. UNAM. 27-40 pp.
54. VILCHIS, P. A. 1983. La resistencia a antibióticos en bacterias patógenas de interés clínico en México. XXI Congreso Internacional de Farmacología. Mérida, Yuc.
55. WISE, R.; WILLIS, P. J.; ANDREWS, J. M. AND BEDFORD, K. A. 1980. Activity of Cefotaxime (HR756) Desacetyl Metabolite Compared with Those of Cefotaxime and Other Cephalosporins. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 17 (1):84-86.

56. ZIV, G. 1980. Drug Selection and Use in Mastitis: Systemic v. s. local therapy. Journal of American Veterinary Medical Association. 176 (10): 1109-1115.

Esta tesis fué elaborada en su
totalidad en los Talleres de -
Impresos Moya, Rep. de Cuba -
No. 99, Despacho 23 bis.
México 1, D.F. Tel. 657-24-74
Presupuestos 9 P.M. a 11 P.M.
Sr. Salvador Moya Franco.