



10
209
Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**APLICACIÓN DE LA TÉCNICA
ESTANDARIZADA DE KIRBY-BAUER
PARA DETERMINACIÓN DE
SUSCEPTIBILIDAD A QUIMIOTERAPÉUTICOS
CON *S. aureus* AISLADOS
DE MASTITIS BOVINA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A

EDGAR ALFONSECA SILVA

**Asesores: MVZ Gustavo A. García Delgado
MVZ Graciela Tápia P.
MVZ Salvador Avila T.**



México, D.F.

FALLA EN ORIGEN

1991



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.

RESUMEN

Alfonseca Silva, Edgar. Aplicación de la Técnica Estandarizada de Kirby-Bauer para determinación de susceptibilidad a Quimioterapéuticos con *S. aureus* aislados de Mastitis Bovina. (Bajo la asesoría de: García-Delgado G.A., Tápia Pérez G., Ávila Tellez S.).

Con el fin de evaluar la acción de 8 quimioterapéuticos sobre 30 cepas de *S. aureus* aislados de mastitis bovina, se aplicó el Método Estandarizado de Kirby-Bauer de susceptibilidad a quimioterapéuticos por difusión en agar con la modificación de D'Amato para la preparación rápida del inóculo. Los quimioterapéuticos se seleccionaron con base en eficacia y frecuencia de uso en mastitis bovina según la literatura y son: Espiramicina, Lincomicina, Cloranfenicol, Neomicina, Gentamicina, Estreptomicina, Cloxacilina y Penicilina. El procedimiento consiste en igualar el inóculo de la bacteria con el estándar de turbidez 0.5 de Mac Farland y sembrarlo sobre placas de agar Mueller-Hilton, se colocan los sensibilizadores con concentraciones comerciales de quimioterapéuticos, se incuban 24 hr a 37°C y se hace la lectura de los halos de inhibición. Se hicieron 3 réplicas de cada prueba. En los niveles de muy susceptible y susceptible espiramicina mostró eficacia contra el 86.6% de las cepas, seguido por cloranfenicol con 73.3%, lincomicina 70%, neomicina 46%, penicilina 26.6%, gentamicina 23%, estreptomicina 20% y por último cloxacilina con 13.3%. No se encontraron cepas resistentes para espiramicina, lincomicina, cloranfenicol, neomicina y gentamicina. Las principales resistencias son observadas en las penicilinas y estreptomicina.

INTRODUCCIÓN

El hombre ha creado la tecnología para hacer el uso de la leche lo más naturalmente posible y preservando sus cualidades nutricionales. La importancia de la leche como alimento para el humano y especialmente para los infantes se debe a su gran riqueza nutritiva así como a su alta digestibilidad. El consumo de este alimento en la República Mexicana se estima que es menor de 250 ml diarios per capita, sin embargo, la FAO recomienda un consumo diario de 250 a 500 ml para adultos y 500 a 1000 ml para niños y jóvenes. De las proteínas de origen animal el huevo y la leche tradicionalmente son las de menor precio (15, 31, 46).

Uno de los problemas más importantes que disminuyen la producción de leche es la mastitis, aunque ésta ocurre esporádicamente en todas las especies, adquiere mayor importancia económica en el ganado bovino lechero en el cual las infecciones bacterianas, el trauma y las prácticas inadecuadas de manejo desempeñan papeles importantes. La mastitis es una enfermedad común y compleja en etiología, patogénesis y secuelas (2, 8, 15).

En el problema económico de la mastitis muchos de los costos están escondidos y por lo general no son reconocidos, sin embargo, estos costos son reales y afectan las ganancias netas del productor; siendo la mastitis el principal factor por el cual los estableros quiebran (10).

En orden de importancia las pérdidas por mastitis se podrían agrupar de la siguiente manera (10,15, 31, 44):

- 1.1- Pérdidas en producción láctea.
- 1.2- Incremento de los gastos por reemplazos.
- 1.3- Leche anormal eliminada.

- 1.4- Costos de los antibióticos utilizados en el tratamiento.
- 1.5- Pago por servicios veterinarios.
- 1.6- Trabajo y mano de obra extra.
- 1.7- Animales desechados prematuramente.

Por lo general la mayoría de los estableros no están conscientes de la frecuencia de la mastitis en su hato, por lo tanto, el problema mayor está en convencer al productor que la mastitis clínica es sólo una parte, que hay mastitis subclínicas y que probablemente tengan de 40 a 50 veces más mastitis de lo que piensan. En la mayoría de los casos el 70% de los casos de mastitis están causados por la persona que ordeña, 25% por problemas de la máquina de ordeño y 5% por factores predisponentes de la vaca. Únicamente en el 2% de los animales se observan manifestaciones clínicas o cambios físicos en la leche (15), sin embargo, son las manifestaciones subclínicas las que ocasionan las mayores pérdidas económicas ya que en cada cuarto infectado se reduce la producción láctea (2,10,15,19,33, 44).

El acto de las vacas de estar echadas largas horas, expone a la glándula mamaria a un permanente contacto con el suelo, siendo éste un gran contaminante potencial por la proliferación bacteriana que puede llegar a invadir la ubre y causar diversas infecciones (15,16,17).

Un diagnóstico oportuno de la mastitis no sólo es fundamental, en la exigencia de la calidad de la leche, sino decisivo para un tratamiento eficaz. El problema del diagnóstico de la mastitis se complica todavía más por el hecho de que las reacciones inflamatorias del tejido mamario, no sólo se desencadenan por el efecto de agentes infecciosos, sino también y con mucha frecuencia por procesos traumáticos; teniendo esto en cuenta, un buen método de exploración es aquel que pone de manifiesto el proceso inflamatorio y la existencia de una infección (1,15).

La exploración de la glándula mamaria incluye diferentes métodos que se basan en inspección, palpación, percusión, insuflación y exa-

men de la secreción láctea tanto físicos y químicos, como estudios citológicos y bacteriológicos) (1,15,33,39).

Se han desarrollado pruebas sencillas para identificar la leche anormal, para darnos cuenta de la frecuencia de la mastitis subclínica en un hato, ésta puede diagnosticarse detectando en la leche productos derivados de la inflamación o lesión tisular. Estas incluyen la prueba de California (CMT), que detecta la presencia de leucocitos polimorfonucleares y cambios de pH en la leche; la prueba de Wisconsin (WMT), que calcula el número de células somáticas por ml; y la prueba de Tazón de fondo oscuro, que identifica alteraciones en la leche. También existen otros métodos de laboratorio con los que se puede hacer el diagnóstico de las mastitis subclínicas (39).

Los estudios que se han realizado en México, coinciden con los otros países en que *S. aureus* es la causa más frecuente de mastitis infecciosa bovina (5, 15,16, 25, 32, 44). Este microorganismo, coco gram positivo y coagulasa positivo, forma parte de la microflora de la piel de los bovinos y se distribuye ampliamente en el medio ambiente, su capacidad metabólica le permite utilizar metabolitos esenciales en varios medios. Ha creado gran resistencia a los antimicrobianos, es altamente invasivo y tiene la capacidad de producción de enzimas y toxinas (16) lo que hace de *S. aureus* una bacteria de difícil control y erradicación en los hatos lecheros.

Aunque un alto porcentaje de las mastitis son causadas por microorganismos patógenos comunes, existe una larga lista de agentes bacterianos y micóticos que han sido implicados como causantes de mastitis (5, 8, 9, 15, 16, 19, 25, 32). Entre los más importantes microorganismos tenemos: frecuentemente contagiosos y transmitidos principalmente por contacto directo entre animales y ocasionalmente por el hombre: *S. aureus*, *Staphylococcus spp.*, *Actinomyces (Corynebacterium) pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. uberis*, *S. dysgalactiae*, *Mycoplasma spp.* Bacterias usualmente contaminantes del medio ambiente y pueden ocasionar brotes de mastitis: enterobacterias, *E.coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Enterococcus*. Microorganismos que en ocasiones son intro-

ducidos por el hombre durante tratamientos: *Nocardia*, *Pseudomonas*, levaduras y algas.

Es importante que tanto el bacteriólogo como el veterinario clínico estén familiarizados con las potencialidades patogénicas de los organismos reportados, así como aquellos considerados de flora normal y del medio ambiente, tales conocimientos son necesarios para interpretar los hallazgos del análisis bacteriológico (2,16). La ayuda del laboratorio bacteriológico nos sugiere la tónica a seguir, es usual que los patrones de susceptibilidad a los antibióticos se expresen con los siguientes términos: sensible, intermedio, resistentes (7,9,15,22). Cuando el clínico recibe los resultados selecciona el antibiótico más adecuado, para esto es de gran importancia tener las bases suficientes en farmacología para hacer un buen uso de los antimicrobianos (15,42), y así orientar la terapéutica de una manera más racional (15).

Para que las pruebas de susceptibilidad a quimioterapéuticos sean confiables, es importante llevar a cabo los procedimientos adecuados y estandarizados, tales como los recomendados por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) de los E.U. (29).

Los antibióticos han sido usados intensivamente en el manejo del ganado lechero, especialmente en el tratamiento y prevención de la mastitis. La presencia de antibióticos en la leche es motivo de especial preocupación porque constituye ya un problema serio de salud pública, si se compara con los límites máximos de antibióticos en leche aceptados por la FDA (Food and Drug Administration) de los E.U. se verá que en México los niveles de antibióticos están alcanzando niveles alarmantes (15,31).

Medir la susceptibilidad de los microorganismos a los antibióticos y quimioterapéuticos es de gran importancia en el uso racional de la quimioterapia, en la evaluación de nuevos agentes y en estudios epidemiológicos (13).

Anteriormente los resultados de las pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos se veían influenciados por diferentes variables y mé-

todos, generalmente no estandarizados y los resultados que informaba un laboratorio diferían de otro, en consecuencia el mismo microorganismo aparecía en diferentes categorías en diferentes laboratorios. La implicación de esta situación para la práctica y la investigación hace recomendable la estandarización de métodos (13).

MÉTODO KIRBY-BAUER DE SUSCEPTIBILIDAD A QUIMIOTERAPÉUTICOS

El método de Kirby-Bauer de susceptibilidad a antimicrobianos por difusión en agar con disco (7) es un método estandarizado y aprobado por la NCCLS (29) y su importancia se debe a su reproducibilidad y comparatividad epidemiológica. El método de Kirby-Bauer consiste en colocar un disco de papel impregnado con antibióticos en una caja de agar Mueller-Hinton previamente inoculada con el microorganismo problema, la droga presenta un gradiente de difusión circular en el agar alrededor del disco, las zonas de inhibición de crecimiento bacteriano se aprecian alrededor del disco después de una noche de incubación. El tamaño de las zonas de inhibición depende de la difusibilidad del antimicrobiano en el agar y de la susceptibilidad de la bacteria al antimicrobiano (7,9,20,22,26), estos diámetros de inhibición pueden ser medidos con regla por la parte de abajo de la caja o por sistemas de iluminación como menciona Barry (6).

En medicina humana el método de Kirby-Bauer es ampliamente utilizado desde hace más de 20 años pero para que esto fuera posible se necesitaron 15 años de investigación para obtener los estándares de los halos de inhibición de un grupo de bacterias a determinados antibióticos. En medicina veterinaria, y específicamente en el caso de la mastitis infecciosa, no existe un método estandarizado para la interpretación de pruebas de susceptibilidad a quimioterapéuticos. Sería deseable que en un futuro se contara con un método similar a Kirby-Bauer para ser usado en medicina veterinaria, claro que esto implica

altos costos y tiempo para realizar gran número de pruebas con diferentes microorganismos expuestos a diferentes quimioterapéuticos.

Es de suma importancia llevar a cabo el método de Kirby-Bauer tal como lo exige la NCCLS (29), ya que al realizar éste método se llegan a cometer algunos errores que generalmente son técnicos o por mal seguimiento del mismo como son (20, 22):

- a)- Mala preparación del agar Mueller-Hinton (cambio de pH).
- b)- Uso de medios viejos y cajas inadecuadamente guardadas.
- c)- Variabilidad en agares Mueller-Hinton.
- d)- Inadecuada estandarización del inóculo.
- e)- Inadecuado almacenamiento de sensidiscos.
- f)- Mala preparación del estandar de turbidez.
- g)- Excesivo retraso entre la estandarización y la inoculación en la caja.
- h)- Excesivo retraso en la aplicación del disco después de la inoculación.
- i)- Excesivo retraso en la incubación de la caja.
- j)- Incubación a temperaturas menores de 35°C incremento en la atmósfera de CO₂.
- k)- Lectura prematura de los resultados antes de 16-18 horas.
- l)- Falla en la cantidad de fluido en hisopo.
- m)- Falla en la medición de los diámetros de inhibición.
- n)- Falla en el control de calidad (cepas no probadas).
- o)- Intentos por mezclar cultivos.
- p)- Usar bacterias de lento crecimiento o anaerobias.
- q)- Errores en la transcripción de resultados.

Existen otros métodos para la realización de pruebas de susceptibilidad por difusión en agar como el descrito por Thonsberry (43) y el agar Overlay Method que está estandarizado y aprobado por la NCCLS (4,29). D'Amato (12) ha propuesto una modificación orientada a la preparación rápida del inóculo bacteriano para ser utilizado en pruebas de susceptibilidad en agar.

Los antibióticos que fueron probados en el presente trabajo se seleccionaron con base a la literatura, que los menciona como los de mayor eficacia (21), y a su disponibilidad en el mercado (35).

AGRUPACIÓN POR MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS QUIMIOTERAPÉUTICOS UTILIZADOS

PENICILINAS

1.PENICILINA

Su mecanismo de acción consiste en inhibir la reacción de transpeptidación y así impedir la formación de peptidoglicano, además provoca la liberación de ácido lipoteicoico y al liberarse queda activada la enzima hidrolasa murefínica y se degrada sin medida la pared bacteriana (38,42).

2.CLOXACILINA

Penicilina semisintética resistente a la betalactamasa con igual mecanismo de acción que la penicilina (42)

AMINOGLICÓSIDOS

3.ESTREPTOMICINA

Su mecanismo de acción se puede explicar indicando que hay una inserción del aminoglicósido a un receptor específico sobre la unidad ribosomal 30S en donde se inhibe la síntesis de proteínas y disminuye la fidelidad de la traducción del código genético (42).

4.NEOMICINA

Penetra en el microorganismo bacteriano y actúa en forma específica en la unidad subribosómica 30S para producir proteínas deficientes o alteradas, lo que causa una alteración en la lectura del código genético (42).

5.GENTAMICINA

Inhibe la síntesis proteínica, se une a la porción 30S ribosomal, alterando la función del ARNm, de esta manera impide la síntesis normal de proteínas (42).

CLORANFENICOL

6.CLORANFENICOL

Es un antibiótico que inhibe la síntesis de proteínas a nivel ribosomal, actúa principalmente ligándose reversiblemente a la unidad ribosomal 50S (42).

MACRÓLIDOS

7.LINCOMICINA

Se une a la unidad ribosomal 50S, la unión causa bloqueo de los procesos de translocación y alargamiento de la cadena peptídica (42).

8.ESPIRAMICINA

El espectro de acción de este macrólido es contra bacterias gram(+) principalmente y algunos gram(-). Antibiótico bacteriostático que en dosis bajas actúa como preventivo y en dosis altas como bactericida, se fija fuerte y progresivamente a nivel del ribosoma bacteriano en la subunidad 50S. Esta unión es más estable en comparación con los otros macrólidos. Tiene efecto moderado sobre el metabolismo de los carbohidratos en la síntesis bacteriana, es el macrólido de mayor permanencia en los tejidos y con las mayores concentraciones, además posee el efecto de la bacteriopausa que consiste en una fijación más persistente en los puntos de acción donde actúa la molécula aún por bastante tiempo después de que las bacterias hubieran sido lavadas y replicadas en un medio nuevo, se puede observar este mecanismo al emplear la técnica de traspaso de las bacterias para el aislamiento de las bacterias mutantes propuesta por Lederberg (47, 48). Estas características permiten una biodisponibilidad elevada y

duradera. No hay informes sobre resistencia al quimioterapéutico (3, 35, 38).

De acuerdo a la literatura consultada en medicina veterinaria y en el caso de la mastitis bovina no se han aplicado técnicas estandarizadas de pruebas de susceptibilidad a quimioterapéuticos como la del método de Kirby-Bauer.

Este trabajo se hizo con la idea de aplicar el método estandarizado de susceptibilidad a quimioterapéuticos de Kirby-Bauer en medicina veterinaria, específicamente en el caso de bacterias asociadas a mastitis infecciosa bovina como *S. aureus*.

El objetivo de éste trabajo fue aplicar la técnica de Kirby-Bauer modificacion de D'Amato utilizando *S. aureus* aislados de procesos de mastitis infecciosa bovina y quimioterapéuticos seleccionados con base en la literatura. Para demostrar que la técnica es útil y confiable y comparar resultados con los reportados en la literatura.

MATERIAL Y MÉTODO

1.-Se obtuvieron 30 cepas liofilizadas de *S.aureus* asociados mastitis infecciosa bovina, aislados de casos que llegaron a la sección de diagnóstico del departamento de bacteriología de la FMVZ-UNAM de 1982 a 1990.

2.-Se determinaron los rangos de susceptibilidad de *S.aureus* asociado a mastitis infecciosa por el método de Kirby-Bauer utilizando sensibilizadores con concentraciones comerciales a los siguientes quimioterapéuticos: penicilina (10 ui), cloxacilina (10 µg), estreptomina (10 µg), neomicina (30 µg), gentamicina (10 µg), cloranfenicol (30 µg), lincomicina (2 µg) y espiramicina (100 µg)

Se trabajó en la sección de diagnóstico del Departamento de Bacteriología y Micología de la FMVZ-UNAM, contando con el apoyo de su infraestructura para la realización de esta investigación.

El método de Kirby-Bauer (7) es usado para bacterias aerobias o facultativas de rápido crecimiento como *S.aureus*. Las bacterias liofilizadas de *S.aureus* se fueron reconstituyendo de acuerdo a su uso, una vez reconstituida la ampollita la cepa fue sembrada sobre placas de agar tripticosa soya., con la técnica de aislamiento en cultivo puro. Después de la incubación, se seleccionaron unas pocas colonias (3 a 10), en el método original éstas colonias se introducen en un tubo con 4 ml de triptofosfato o de tripticosa soya agar. Se incuban de 2 a 5 horas hasta que se produzca una suspensión bacteriana moderada, una vez obtenido el inóculo la suspensión se estandariza a una densidad igual al 0.5 de McFarland (estándar de turbidez) (22, 29). En este proyecto se utilizó el método descrito por D'Amato (12) para la preparación rápida del inóculo, que consiste en suspender un número

suficiente de colonias en 4 ml de agua destilada estéril e igualar la densidad del 0.5 de McFarland.

Se utilizaron cajas de petri de 90 mm con placas de agar Mueller-Hinton (5-6 mm) con menos de 4 días de preparación, las que se dejaron secar antes de la inoculación. La suspensión bacteriana fue sembrada con un hisopo en tres planos en el agar Mueller-Hinton, se dejó secar 3 a 5 minutos, los sensidiscos se colocaron en el agar con pinzas flameadas asegurando el contacto con el medio. Las cajas se incubaron de inmediato, después de una noche de incubación se midió el diámetro de la zona de inhibición (incluyendo los 6 mm del disco) con regla, por la parte de abajo de la caja. Se hicieron tres repeticiones con cada una de las 30 cepas y los 8 antibióticos.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para evaluar los resultados del experimento se utilizó un análisis de varianza con el Modelo de Efectos fijos siguiente (27):

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + A_j + \Sigma_{ijk}$$

Y_{ijk} es la k -ésima respuesta medida en milímetros del halo de inhibición del j -ésimo antibiótico para la i -ésima cepa.

μ es la media poblacional.

C_i es el efecto de la i -ésima cepa. $i = 1, 2, 3 \dots 30$.

A_j es el efecto del j -ésimo antibiótico. $j = 1, 2 \dots 8$.

Σ_{ijk} es el error aleatorio. ENID $(0, \sqrt{2} \Sigma)$.

El modelo se analizó por el método de cuadrados mínimos. Para comparar la eficacia de los antibióticos se realizó una Prueba de Tukey (41).

Para el análisis de susceptibilidad de las cepas se realizó un ANOVA para cada antibiótico por separado y después la Prueba de Com-

paraciones Múltiples de Duncan ($P < 0.05$) (41), con el Paquete SAS (Statistical Analysis System) para microcomputadoras.

El criterio utilizado para clasificar las cepas con base a su susceptibilidad, fue determinado por el nivel de significancia de los grupos formados con la Prueba de Comparaciones Múltiples de Duncan, con ayuda de la computadora.

- + + + +** Muy Susceptible
- + + +** Susceptible
- + +** Medianamente Susceptible
- +** Baja Susceptibilidad
- Resistente

RESULTADOS

Los rangos de halos de inhibición (mm) para *S.aureus* aislados de mastitis bovina contra los ocho quimioterapéuticos probados nos muestran la variabilidad en la susceptibilidad de las cepas para cada uno de los quimioterapéuticos (cuadro 1).

Para espiramicina y cloranfenicol los rangos son menores encontrándose mayor uniformidad de resultados (cuadro 2).

El análisis de varianza efectuado mostró que tanto el efecto de antibiótico como de cepas mostraron ser altamente significativos dentro del experimento realizado (cuadro 3).

Al determinar la eficacia de los quimioterapéuticos con la prueba de Tukey (41) se obtuvieron las medias de los halos de inhibición (mm) por quimioterapéutico, formándose grupos con diferencia significativa entre ellos (cuadro 4), en los cuales lincomicina y espiramicina son los de mayor eficacia, seguidos de gentamicina, cloranfenicol, neomicina y cloxacilina; penicilina y estreptomycin mostraron ser los de más bajos valores.

En todos los casos, la clasificación de las cepas por su susceptibilidad, fue determinado por el nivel de significancia de los grupos formados con la prueba de comparaciones múltiples de Duncan (41).

Frente a lincomicina, el 16.6% de las cepas se mostro muy susceptible, 53.3% susceptible, 23.3% medianamente susceptible y 6.6% con baja susceptibilidad, no encontrándose cepas resistentes (cuadro 5). Frente a espiramicina, el 6.6% de las cepas fue muy susceptible, el 80% fueron susceptibles, el 13.3% medianamente susceptibles, no encontrándose cepas de baja susceptibilidad ni resistentes (cuadro 6).

Frente a gentamicina, el 3.3% fue muy susceptible, el 20% susceptibles, 60% medianamente susceptibles y el 16.6% de las cepas con baja susceptibilidad, no hubo resistencia (cuadro 7).

Frente a cloranfenicol, el 10% de las cepas fueron muy susceptibles, 63.3% susceptibles, 16.6% medianamente susceptibles y 10% con baja susceptibilidad, no encontrándose cepas resistentes (cuadro 8).

Frente a neomicina, 3.3% de las cepas fueron muy susceptibles, 43.3% susceptibles, 50% medianamente susceptibles y 3.3% con baja susceptibilidad, no hubo cepas resistentes (cuadro 9).

Frente a cloxacilina el 3.3% fueron muy susceptibles, 10% susceptibles, el 60% de las cepas mostro ser medianamente susceptible, 16.6% con baja susceptibilidad y 10% de las cepas mostraron ser resistentes (cuadro 10).

Frente a penicilina el 13.3% de las cepas fueron muy susceptibles, 13.3% susceptibles, 20% medianamente susceptibles y con 26.6% de las cepas para cada una de baja susceptibilidad y resistentes (cuadro 11).

Frente a estreptomycinina, el 3.3% fue muy susceptible, 16.6% fueron susceptibles, 43.3% medianamente susceptibles, 10% con baja susceptibilidad y el 26.6% de las cepas mostró resistencia (cuadro 12).

DISCUSIÓN

El fácil acceso a los quimioterapéuticos en Medicina Veterinaria ha provocado un uso indiscriminado para muchas enfermedades animales, en especial la mastitis bovina. La resistencia a quimioterapéuticos es un fenómeno común y está asociado a la continua exposición de estos, además de factores químicos del medio ambiente, mutaciones o selección de plásmidos de resistencia (11,14,18,34,37). Una de las bases para un uso racional de la quimioterapia es la aplicación de pruebas de susceptibilidad a quimioterapéuticos.

La técnica de Kirby-Bauer de susceptibilidad a quimioterapéuticos por difusión en agar con la modificación de D'Amato para la preparación rápida del inóculo, mostró tener un ahorro de tiempo hasta de 8 hr y demostró ser de fácil aplicación en el laboratorio de diagnóstico bacteriológico en Medicina Veterinaria. Este método es rápido y práctico, por estas razones es recomendable su aplicación de manera rutinaria para pruebas de susceptibilidad a quimioterapéuticos en Medicina Veterinaria y para investigaciones sobre el tema. La utilidad de una técnica estandarizada para pruebas de susceptibilidad a quimioterapéuticos como la de Kirby-Bauer se debe a su reproducibilidad en cualquier laboratorio; para que su aplicación y resultados sean confiables es recomendable seguir los pasos establecidos por el método, sin embargo, pueden cometerse algunos errores técnicos y humanos como los observados durante esta investigación y que alteran los resultados; por ejemplo, el tiempo de incubación (fase de crecimiento bacteriano), preparación de inóculo al comparar con el estándar de turbidez y la lectura de los halos de inhibición.

Utilizando el Método de Kirby-Bauer con la modificación de D'Amato se obtuvieron los rangos de los halos de inhibición en mm para

S. aureus aislados de mastitis bovina para los 8 quimioterapéuticos probados.

Los datos se trabajaron en la computadora. En un principio de utilizó la prueba de Tukey (41) con gran cantidad de datos dificultando la interpretación de resultados por lo que se decidió utilizar la prueba de Comparaciones Múltiples de Duncan (41) en que se formaron grupos estadísticamente significativos.

Los rangos de los halos de inhibición presentados por espiramicina y cloranfenicol son menores en comparación a los otros quimioterapéuticos, lo que nos indica que no hay tanta variabilidad bacteriana en la respuesta a estos dos quimioterapéuticos. Puede pensarse que no existen aún cepas resistentes, lo que haría un punto favorable para su uso en el campo.

Los quimioterapéuticos que mostraron mayor efectividad al hacer una comparación entre todos fueron lincomicina y espiramicina con medias (mm) de halos de inhibición de 29.23 y 27.20 respectivamente.

El antibiótico que obtuvo mayor porcentaje de cepas muy susceptibles fué con 16.6% lincomicina, seguido con 13.3% penicilina, 10% cloranfenicol, 6.6% espiramicina y 3.3% para cloxacilina, neomicina, gentamicina y estreptomina.

Para la clasificación de cepas susceptibles el 80% correspondió a espiramicina, 63.3% cloranfenicol, 53.3% lincomicina, 43% neomicina, 20% gentamicina, 16.6% estreptomina, 13.3% penicilina y 10% para cloxacilina.

Sumando los datos de cepas muy susceptibles y susceptibles encontramos que los mejores resultados se lograron con 86.6% espiramicina, 73.3% cloranfenicol, 70% lincomicina, 46% neomicina, 26.6% penicilina, 23% gentamicina, 20% estreptomina y por último 13.3% cloxacilina.

El porcentaje de cepas resistentes fué de 26.6% para penicilina y estreptomina, 10% para cloxacilina. No encontrándose cepas resistentes para lincomicina, espiramicina, cloranfenicol, gentamicina y neomicina.

Las principales resistencias descritas en la literatura son observadas en las penicilinas y estreptominas (11,14,18,23,28,34,36,37,40) que coinciden con lo encontrado en este trabajo. A continuación se discutirán los quimioterapéuticos por grupos en orden de mayor a menor eficacia en este trabajo.

MACRÓLIDOS

ESPIRAMICINA. Mostró ser el quimioterapéutico con mayor porcentaje de cepas con buen nivel de susceptibilidad con el 86.6%, de las cuales 80.0% fueron susceptibles y 6.6% muy susceptibles.

No encontrándose cepas con baja susceptibilidad ni cepas resistentes, lo informado concuerda con lo reportado por Perrin (34) que menciona un alto porcentaje de susceptibilidad y solo 5% de cepas resistentes.

Como nota importante se menciona que espiramicina presenta el fenómeno llamado: bacteriopausa, el cual se puede demostrar in vitro mediante la Técnica de Calcado de Lederberg (47,48) que nos pone en evidencia un segundo halo de inhibición de mayor tamaño que el del antibiograma original, con fines de trabajar todos los quimioterapéuticos de igual modo se tomo en cuenta el primer halo de inhibición presentado por espiramicina.

LINCOMICINA. Resultados reportados indican que el 3% de las cepas son resistentes y otro 3% con susceptibilidad intermedia, por lo tanto, la mayoría de las cepas son susceptibles y hay muy baja resistencia al quimioterapéutico (34). Los datos de esta investigación apoyan lo anterior, no se encontraron cepas resistentes, el 6.6% de las cepas con baja susceptibilidad, 23.3% de las cepas son moderadamente

susceptibles, el 53.3% y 16.6% fueron cepas susceptibles y muy susceptibles respectivamente que sumándolos da 70% de cepas con un buen nivel de susceptibilidad.

CLORANFENICOL

CLORANFENICOL. Presenta buenos niveles de susceptibilidad con 73.3% de las cepas de muy susceptibles (10%) y susceptibles (63.3%), tienen un 10% de cepas con baja susceptibilidad. Estos datos coinciden con lo reportado por Horovitz (18) de 56 a 75% de cepas susceptibles. Otros autores mencionan una resistencia del 9% al 43% (34).

AMINOGLICÓSIDOS

NEOMICINA. La literatura indica que existe una alta resistencia al quimioterapéutico. Horovitz (18) reporta un 74% de cepas resistentes y 2% de susceptibles, pero también hay reportes que indican un 72% a 98% de cepas susceptibles (24) y otros con 0% de resistencia (34). en esta investigación tenemos un 3.3% de cepas muy susceptibles, 43.3% de cepas susceptibles que sumadas nos da 46.6% de cepas con un buen nivel de susceptibilidad. Se encontraron 3.3% con baja susceptibilidad y ninguna cepa resistente.

GENTAMICINA. Se encontró un 3.3% de cepas muy susceptibles y 20% de cepas susceptibles que sumado da 23.3% de cepas con buen nivel de susceptibilidad. El 60% de las cepas mostraron ser moderadamente susceptibles y el 16.6% con baja susceptibilidad. Estos datos se asemejan a lo reportado por Horovitz (18) del 31% de cepas susceptibles, 44% de cepas con susceptibilidad intermedia y 25% cepas resistentes.

ESTREPTOMICINA. *S. aureus* bovino muestra una alta resistencia a este antibiótico con valores de 26.6% de cepas resistentes, 10% con baja susceptibilidad y 43% de cepas moderadamente susceptibles. La mayoría de los autores coinciden con la alta resistencia con valores de 42% de cepas resistentes, 31% de intermedias (18), 73% de resistencia (37). Trinidad (45) menciona hasta un 85.5% de susceptibilidad en comparación con el 3.3% de cepas muy susceptibles reportadas aquí.

PENICILINAS

CLOXACILINAS. En este trabajo se encontró un 10% de cepas resistentes que coinciden con el 8% reportado por Perri (34). Se encontró un 3.3% de cepas muy susceptibles a comparación de 100% de susceptibilidad reportado de 1984 a 1987 por Mackie (24). El 60% de las cepas son moderadamente susceptibles y el 16.6% tienen baja susceptibilidad. La bibliografía menciona una resistencia hasta del 54% (34).

PENICILINA. Si tomamos en cuenta las cepas con baja susceptibilidad y las resistentes tenemos un 53.2% de cepas que muestran resistencia a penicilina y comparando con lo reportado por otros autores tenemos que de las cepas de *S. aureus* aislados de mastitis bovina en Francia el 60% son resistentes a penicilina, 75% Bélgica, 69.8% Gran Bretaña, 62% Australia (34). Algunos han encontrado resistencias del 80% (18), 74.9% (37), 56% (40), en el periodo de 1971 a 1985 38%-92% (28) y de 1981-1987 61%-75% (23).

El 13.3% de las cepas fueron muy susceptibles. Estos resultados coinciden con la baja susceptibilidad que se reporta (11,14,18,23,28,37,40). Aunque Trinidad (45) menciona una susceptibilidad del 100% y Mackie (24) hasta del 58%.

La mayoría de los resultados aquí expuestos coinciden con lo reportado en la literatura sobre *S. aureus* de mastitis bovina (11,18,23,28,30,34,36,37,40). Pero también se encontraron dos reportes (24,45) que son totalmente opuestos tanto a este trabajo como a los con-

sultados. Esto hace pensar que se aplican diferentes métodos para pruebas de susceptibilidad a quimioterapéuticos creando dificultad para la clasificación de la bacteria con base a susceptibilidad ya que los resultados reportados por un investigador pueden diferir de otros.

Los resultados obtenidos se compararon con los diámetros de los halos de inhibición de la tabla para la interpretación de la Prueba de Kirby-Bauer originada en trabajos con *S. aureus* humanos de diferentes cepas y fuentes (7,9,22,26,29), teniendo dificultad para elegir en cuál categoría colocar nuestras cepas ya que si seguimos el criterio de esta tabla casi el 100% de las cepas se clasificarían susceptibles, teniendo en cuenta que en humanos se maneja la mínima concentración inhibitoria (MIC) de quimioterapéuticos en sangre y en bovinos las concentraciones de quimioterapéuticos en glándula mamaria son diferentes al MIC sérico, además, la exposición a quimioterapéuticos de *S. aureus* humano y *S. aureus* bovino no es igual. No se utilizó como referencia la tabla de interpretación de Kirby-Bauer y se decidió formar grupos de cepas de acuerdo a su susceptibilidad con base a los grupos formados con la prueba de Duncan (41).

Hasta donde sabemos no existe una cepa de referencia de *S. aureus* bovino para ser utilizado con el Método de Kirby-Bauer. Se propone utilizar como cepa de referencia de *S. aureus* bovino para el método de Kirby-Bauer la cepa número 667 del Cepario del Departamento de Bacteriología de la FMVZ-UNAM por mostrar un comportamiento constante en las pruebas realizadas.

Por lo anterior expuesto surge la necesidad de aplicar un método estandarizado para pruebas de susceptibilidad a quimioterapéuticos como Kirby-Bauer aplicado en Medicina Veterinaria y específicamente en mastitis bovina, aquí se trabajó sólo con *S. aureus* aislados de mastitis bovina con 8 quimioterapéuticos, sería deseable que se realizaran pruebas con diferentes bacterias expuestas a diferentes quimioterapéuticos y poder contar con una tabla de interpretación de resultados para bacterias productoras de mastitis.

LITERATURA CITADA

1.- Ávila, G.J.: Examen clínico de la ubre. Memorias del curso de Actualización: Mastitis Bovina. México 1982. 18-23 *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. (1982).

2.- Ávila, T.S.: El equipo del ordeño mecánico y su relación con la mastitis. Memorias del curso de actualización: Mastitis Bovina. México 1982. 42-46 *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. (1982).

3.- Baños, L.C.: Espiramicina: renovado concepto terapéutico. 1- 11 *Rhone Mérieux de México*. Méx. D.F. (1990).

4.- Baker, N.C. , Thornsberry, C. and Hawkinson, R.W.: Inoculum standardization in antimicrobial susceptibility testing: evaluation of overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system. *J. Clin. Microbiol.* 17: 450-457 (1983).

5.- Barajas, R.J.: Diagnóstico bacteriológico y sensibilidad a quimioterapéuticos de casos de mastitis bovina en el CNEEIZ de la FMVZ-UNAM. Memorias del curso de actualización sobre mastitis bovina. Méx. 1978. 41-69 *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. (1978).

6.- Barry, A.L., Coyle, B.M., Thornsberry, C., Gerlach, E.H. and Hawkinson, R.W.: Methods of measuring zones of inhibition with the Bauer-Kirby disk susceptibility test. *J. Clin. Microbiol.* 10:885- 889 (1979).

7.- Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C. and Turck, M.: Antibiotic susceptibility by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:493-496 (1966).

8.- Blood, D.C y Henderson, J.A.: *Medicina Veterinaria*. 4a. Ed. *Interamericana*. Méx. D.F. 1976.

9.- Carter, G.R.: *Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology*. 4Th. Ed. *Charles C. Thomas*. Springfield, Ill. 1984.

10.- Cobo, A.R.: *Pérdidas económicas causadas por mastitis*. *Memorias del curso de actualización sobre mastitis bovina*. Méx. 1978. 13-26 *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. (1978).

11.- Cottral, G.E.: *Manual of standardized methods for veterinary microbiology*. *Comstock Publishing Associates Cornell University*, London. 1978.

12.- D'Amato, R.F. and Hochstein, L.: *Evaluation of a rapid inoculum preparation method for agar disk diffusion susceptibility testing*. *J. Clin. Microbiol.* 15:282-285 (1982).

13.- Ericsson, H.M. and Sherris, J.C.: "Antibiotic sensitivity" report of an international collaborative study. *Acta Pathol. Microbiol. Scandinavica Section B Suppl.* 217:1-90 (1971).

14.- Falkow, S.: *Infections multiple drug resistance*. Pion limited. London 1975.

15.- Flores, R.C.: *Manual de mastitis bovina*. *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. 1988.

16.- García-Delgado, G.A.: *Microorganismos causantes de mastitis*. *Memorias del curso de actualización de mastitis bovina*. Méx. 1982. 3-17. *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. (1982).

17.- Gasque, G.R.: *Condiciones ambientales y su relación con la mastitis*. *Memorias del curso de actualización de mastitis bovina*. Méx. 1982. 37-41. *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. (1982).

18.- Horovitz, C.T., Ziv, G.: Susceptibility of *Staphylococcus aureus* of bovine udder origin to antimicrobial drugs and heavy metals. *Isr. J.Vet. Med.* 44(2) 119-123 (1988).

19.- Jasper, D.E.: Mastitis y su control. Memorias del curso de actualización de mastitis bovina. Méx. 1982. 69-66. *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. (1982).

20.- Kirby, W.M., Ryan, K.J. and Schoenknecht, F.D.: Disc sensitivity testing. *Hospital Practice*. 91-100 (1970).

21.- Le Loudec, C.: Efficacité des antibiotiques contre les mammites bovines staphylococciques et streptococciques. *Ann. Rech. Vet.* 9(1) 63-68-(1978).

22.- Lennette, E.H., et al.: Manual of clinical microbiology 4th. *ASM*. Washington 1985.

23.- Linhart, A., Wiskopft, S.: Development of drug resistance in bovine mastitis pathogens. *Praktische Tierarzt.* 69 (5) 43-51 (1988).

24 Mackie, D.P., Logan, E.F., Pollock, D.A. Rodgers, S.P.: Antibiotic sensitivity of bovine *Staphylococcus* and coliform mastitis isolates over four years. *Vet. Rec.* 123. 515-517. (1988).

25.- Madariaga, A.O.: Estudio bacteriológico de la mastitis bovina en 32 establos que abastecen de leche al D.F., Tesis de Licenciatura. *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. (1974).

26.- McDougal, L.K. and Thornsberry, C.: New recomendations for disk diffusion antimicrobial susceptibility test for methicillin resistant (heteroresistant) *Staphylococci*. *J. Clin. Microbiol.* 19:482-488 (1984).

27.- Méndez, I.: Experimentos factoriales balanceados completos. *II-MAS-UNAM*. 3: 1-75 (1976).

28.- Milojevic, Z.: Use of antibiotics to treat staphylococcal of the udder in cows. *Veterinarski Glasnik* 42 (10) 675-679 (1988).

29.- National committee for clinical laboratory standars. "Performance standars for antimicrobial disk susceptibility test." M2-A3. 3th. *NCCLS*. 4 (16) (1984).

30.- Pal, B., et al: A note of treatment of bovine mastitis. *Indian J.Vet. Med.* 8 (2) 164-165 (1988).

31.- Pérez, D.M.: Residuos de fármacos y sus efectos en la salud pública. Memorias del curso de actualización de mastitis bovina. Méx. 1982. 67-74. *FMVZ-UNAM. Méx. D.F.* (1982).

32.- Pérez, M.J.A.: Principales gérmenes aislados de México como causantes de mastitis. Memorias del curso de actualización sobre mastitis bovina. Méx. 1978. 88-102. *FMVZ-UNAM. Méx. D.F.* (1978).

33.- Pérez, P.F.: Fisiopatología y clínica de la glándula mamaria *Científico Medica. Barcelona* 1970.

34.- Perrin-Coullioud, I., Martel, J.L. Coudert, M.: Bilan de L'epidemiologie de L'antibioesistance de *Staphylococcus aureus* en pathologie bovine. *Revue Med. Vet.* 139 (7) 709-718 (1988).

35.- Prontuario de especialidades veterinarias. 12a. ed. *Centro Profesional de Publicaciones. Méx.* 1989.

36.- Rajangam, R.K., et al: Antibiotic sensitivity of mastitis causing organisms. *Indian Vet. J.* 66 (3) 272-273 (1989).

37.- Rege, J.E., Mutwiri, G.K. and Mulei, C.M.: Antibiotic resistance patterns of bacteria implicated in bovine mastitis and some canine infections. *Bull Anim. Hlth. Afr.* 37 : 319-326 (1989).

38.- Rodríguez, C.R.: Vademecum académico de medicamentos y II. Fac. de Medicina-UNAM. 1984.

39.- Ruíz, S.H.: Pruebas utilizadas en el diagnóstico de mastitis subclínicas. Memorias del curso de actualización de mastitis bovina. Méx. 1982. 24-31. *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. (1982).

40.- Saikia, G.K. Boro, B. Rand Das, J.: Bacteriological investigation on chronic mastitis on a cattle farm. *Indian J. Camp. Microbiol, Immunol. Infec. Diseases*. 10 (3) 153-155 (1989).

41.- Steel, G.D. y Torrie, H.I.: Bioestadística: Principios y Procedimientos. Ed. *McGraw Hill*. Méx. 1989.

42.- Sumano, H. y Ocampo, C.L.: Farmacología Veterinaria. *McGraw-Hill*. Méx. 1988.

43.- Thornsberry, C., Gavan, T.L., Sherris, J.C., Balows, A., Matsen, J.M., Sabat, L.D. and Washington, II J.A.: Laboratory evaluation of a rapid automated susceptibility testing system: report of a collaborative study. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 7:466-480 (1975).

44.- Trejo, I.R.: Consideraciones económicas de los efectos de la mastitis sobre la producción de la leche. Memorias del curso de actualización sobre mastitis bovina. Méx. 1978. 27-40 *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. (1978)

45.- Trinidad, P., Nickerson, S.C. and Luther, D.G.: Antimicrobialsusceptibilities of staphylococcal species isolated from mammary glands of unbreed and primigravid dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 73 357-362 (1990).

46.- Valdés, O.O. y Fuentes, G. de la: Políticas oficiales para el control de la mastitis bovina en la República Mexicana. Memorias del curso de actualización sobre mastitis bovina. Méx. 1978. 1-12 *FMVZ-UNAM*. Méx. D.F. (1978).

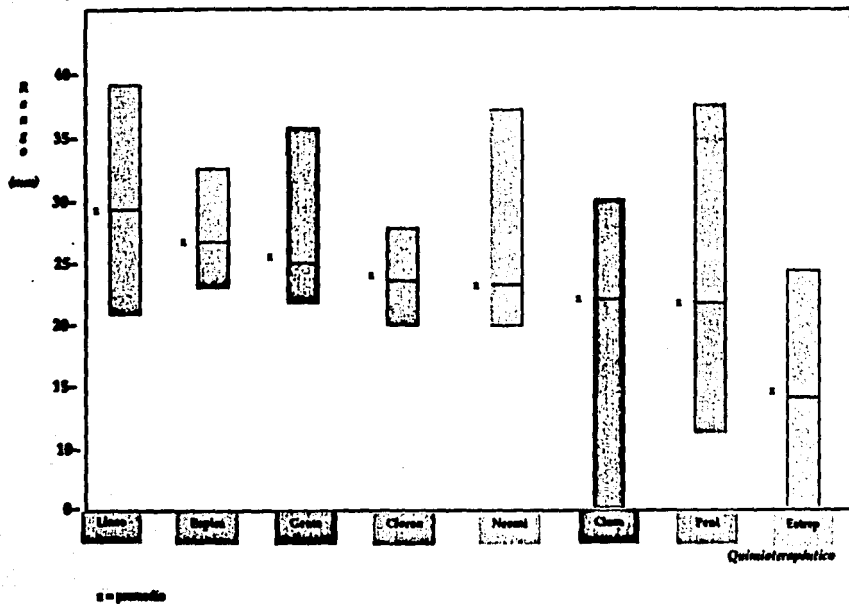
47.- Videau, D.: Actualisation de notre connaissance des differents macrolides: Particularites de la spiramycine. *Actualites D'Acfou* 1 (21-22) 176-190 (1982).

48.- Videau, D.: La spiramycine: bacteriologie, pharmacologie, pharmacocinetique et distribution tissulaire. *Cah. Med. Vet.* 47:155-164 (1978).

CUADRO 1. RANGO DE INHIBICIÓN DE S. aureus CON OCHO QUIMIOTERAPÉUTICOS.

QUIMIOTERAPÉUTICOS

RANGO (mm)	LINCO	ESPIRA	GENTA	CLORAN	NEDMI	CLOXA	PENI	ESTREP
MÁXIMO	39.66	33.66	35.66	28.00	36.00	30.00	37.00	24.66
MEDIA	29.23	27.20	25.45	24.24	23.98	22.21	22.06	14.64
MÍNIMO	21.66	23.33	22.33	20.66	20.66	0.00	13.33	0.00



Cuadro 2. Histograma de rangos de inhibición de *S. aureus* con ocho quimioterápicos.

CUADRO 3. ANÁLISIS DE VARIANZA.
VARIABLE DEPENDIENTE: INHIBICIÓN.

FUENTE	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	CUADRADOS MEDIOS	VALOR F	Pr>F
ANTIBIÓTICO	7	11590.62	1655.80	91.70	0.0001*
CEFA	29	6073.78	209.44	11.60	0.0001*
ERROR	681	12297.03	18.05		
TOTAL CORREGIDO	717	29961.44			

* ALTAMENTE SIGNIFICATIVO ($P < 0.01$).

CUADRO 4 COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DE LOS QUIMIOTERAPÉUTICOS.

QUIMIOTERAPÉUTICO	INHIBICIÓN (mm) MEDIAS
LINCOMICINA	29.23 a
ESPIRAMICINA	27.20 b
BENTAMICINA	25.45 c
CLOXANFENICOL	24.24 c
NEDMICINA	23.97 c
CLOXACILINA	22.21 d
PENICILINA	22.06 d
ESTREPTOMICINA	14.80 e

a, b, c, d, e. LITERALES DIFERENTES DENOTAN DIFERENCIA SIGNIFICATIVA (P<0.05).

CUADRO 5 RANGOS PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm) PARA LINCOMICINA.

SUSCEPTIBILIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	No. CEPAS	%
++++	35.05	39.66	5	16.6
+++	28.33	31.66	16	53.3
++	22.66	27.66	7	23.3
+	21.66	22.00	2	6.6
-	-	-	-	-

ESTOS VALORES SE OBTUVIERON CON LOS GRUPOS QUE SE FORMARON CON LA PRUEBA DE AMPLITUD MÚLTIPLE DE DUNCAN ($P < 0.05$).

++++	MUY SUSCEPTIBLE	+++	SUSCEPTIBLE
++	MEDIANAMENTE SUSCEPTIBLE	+	BAJA SUSCEPTIBILIDAD
-	RESISTENTE		

CUADRO 6. RANGOS PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm) PARA ESPIRAMICINA.

SUSCEPTIBILIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	No. CEPAS	%
++++	32.66	33.66	2	6.6
+++	25.00	29.66	24	80.0
++	23.33	24.66	4	13.3
+	-	-	-	-
-	-	-	-	-

ESTOS VALORES SE OBTUVIERON CON LOS GRUPOS QUE SE FORMARON CON LA PRUEBA DE AMPLITUD MÚLTIPLE DE DUNCAN ($P < 0.05$).

++++	MUY SUSCEPTIBLE	+++	SUSCEPTIBLE
++	MEDIANAMENTE SUSCEPTIBLE	+	BAJA SUSCEPTIBILIDAD
-	RESISTENTE		

CUADRO 7. RANGOS PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm) PARA GENTAMICINA.

SUSCEPTIBILIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	No. CEPAS	%
++++	35.66	-	1	3.3
+++	27.66	31.33	4	20.0
++	23.00	26.33	18	60.0
+	22.33	22.66	5	16.6
-	-	-	-	-

ESTOS VALORES SE OBTUVIERON CON LOS GRUPOS QUE SE FORMARON CON LA PRUEBA DE AMPLITUD MÚLTIPLE DE DUNCAN ($P < 0.05$).

++++ MUY SUSCEPTIBLE +++ SUSCEPTIBLE
 ++ MEDIANAMENTE SUSCEPTIBLE + BAJA SUSCEPTIBILIDAD
 - RESISTENTE

CUADRO 8 RANGOS PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm) PARA CLORANFENICOL.

SUSCEPTIBILIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	No. CEPAS	%
++++	26.66	28.00	3	10.0
+++	23.33	26.33	19	63.3
++	21.33	23.00	5	16.6
+	20.66	21.00	3	10.0
-	-	-	-	-

ESTOS VALORES SE OBTUVIERON CON LOS GRUPOS QUE SE FORMARON CON LA PRUEBA DE AMPLITUD MÚLTIPLE DE DUNCAN ($P < 0.05$).

++++ MUY SUSCEPTIBLE +++ SUSCEPTIBLE
 ++ MEDIANAMENTE SUSCEPTIBLE + BAJA SUSCEPTIBILIDAD
 - RESISTENTE

CUADRO 9 RANGOS PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm) PARA NEOMICINA.

SUSCEPTIBILIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	No. CEPAS	%
++++	36.00	-	1	3.3
+++	23.00	29.33	13	43.3
++	21.33	22.66	15	50.0
+	20.66	21.00	1	3.3
-	-	-	-	-

ESTOS VALORES SE OBTUVIERON CON LOS GRUPOS QUE SE FORMARON CON LA PRUEBA DE AMPLITUD MÚLTIPLE DE DUNCAN ($P < 0.05$).

++++	MUY SUSCEPTIBLE	+++	SUSCEPTIBLE
++	MEDIANAMENTE SUSCEPTIBLE	+	BAJA SUSCEPTIBILIDAD
-	RESISTENTE		

CUADRO 10. RANGOS PROMEDIO DE VALORES DE INHIBICIÓN (mm) PARA CLOXACILINA.

BUSCEPTIBILIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	No. CEPAS	%
++++	30.00	-	1	3.3
+++	27.00	28.00	3	10.0
++	21.33	26.33	18	60.0
+	19.33	20.66	5	16.6
-	0.00	16.66	3	10.0

ESTOS VALORES SE OBTUVIERON CON LOS GRUPOS QUE SE FORMARON CON LA PRUEBA DE AMPLITUD MÚLTIPLE DE DUNCAN ($P < 0.05$).

++++ MUY SUSCEPTIBLE ++ SUSCEPTIBLE
 ++ MEDIANAMENTE SUSCEPTIBLE + BAJA SUSCEPTIBILIDAD
 - RESISTENTE

CUADRO 11 RANGOS PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm) PARA PENICILINA.

SUSCEPTIBILIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	No. CEPAS	%
++++	36.00	37.00	4	13.3
+++	30.00	34.66	4	13.3
++	20.00	22.33	6	20.0
+	16.00	19.00	8	26.6
-	13.00	15.66	8	26.6

ESTOS VALORES SE OBTUVIERON CON LOS GRUPOS QUE SE FORMARON CON LA PRUEBA DE AMPLITUD MÚLTIPLE DE DUNCAN (P<0.05).

++++	MUY SUSCEPTIBLE	+++	SUSCEPTIBLE
++	MEDIANAMENTE SUSCEPTIBLE	+	BAJA SUSCEPTIBILIDAD
-	RESISTENTE		

ESTA TESIS NO
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CUADRO 12 RANGOS PROMEDIO DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm) PARA ESTREPTOMICINA.

SUSCEPTIBILIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	No. CEPAS	%
++++	24.66	-	1	3.3
+++	21.00	22.66	5	16.6
++	17.00	19.33	13	43.3
+	15.33	16.66	3	10.0
-	0.00	10.00	8	26.6

ESTOS VALORES SE OBTUVIERON CON LOS GRUPOS QUE SE FORMARON CON LA PRUEBA DE AMPLITUD MÚLTIPLE DE DUNCAN ($P < 0.05$).

++++ MUY SUSCEPTIBLE +++ SUSCEPTIBLE
 ++ MEDIANAMENTE SUSCEPTIBLE + BAJA SUSCEPTIBILIDAD
 - RESISTENTE