

Agentes etiológicos de mastitis bovina en municipios con importante producción lechera del departamento de Boyacá

Etiological agents of bovine mastitis in municipalities with important milk production in the department of Boyacá

Jenny Carolina Hernández-Barrera^{1*},
Maritza Angarita-Merchán² Diego Alejandro
Benavides-Sánchez³, Carlos Fernando Prada-Quiroga⁴

¹ Bacterióloga y laboratorista clínica, MSc. en Microbiología; Grupo de Investigación del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia.

² Bacterióloga y laboratorista clínica, Mg. Sistemas Integrados de Gestión; profesora asistente, Universidad de Boyacá; Grupo de Investigación del Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia.

³ Médico veterinario; profesional del CONPES lechero año 2013 - 2014, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia.

⁴ Biólogo, Mg. en Genética y Evolución, doctor en Genética; profesor asociado, Grupo de Investigación del programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Boyacá, Tunja, Colombia.

*Correo electrónico: gribac@uniboyaca.edu.co

..... Fecha de recibido: 02 – 07 – 15 Fecha de aceptación: 30 – 10 – 15

Citar este artículo así:

Hernández-Barrera J, Angarita-Merchán M, Benavides-Sánchez D, Prada-Quiroga C. Agentes etiológicos de mastitis bovina en municipios con importante producción lechera del departamento de Boyacá. Revista Investig. Salud Univ. Boyacá. 2015;2:162-176.

RESUMEN

Introducción: La mastitis es considerada como una infección que afecta la ubre de la vaca en diversos grados de gravedad, ocasionada por numerosos microorganismos. Trae como consecuencia una reducción en la producción de leche y la alteración de sus características fisicoquímicas. La calidad higiénica de la leche tiene una importancia fundamental en el consumo humano y, por tanto, debe ser un producto inocuo e idóneo.

Objetivo: Este estudio pretende dar a conocer los principales agentes etiológicos de la mastitis bovina y sus patrones de sensibilidad a los antibióticos, dando una visión global de su situación actual en los municipios de importante producción lechera del departamento de Boyacá.

Métodos: Mediante un estudio cuantitativo, descriptivo, observacional y transversal, se procesaron 214 muestras de leche provenientes de pezones afectados con algún grado de mastitis bovina. Para el diagnóstico microbiológico se emplearon muestras de leche a las que se les aplicaron protocolos habituales de identificación, siguiendo los perfiles bioquímicos. Los patrones de sensibilidad a antibióticos se establecieron mediante la técnica de Kirby-Bauer.

Resultados: Se encontró una prevalencia de 31 % (n=214) de bacterias que ocasionan mastitis contagiosa, siendo *Staphylococcus aureus* el agente etiológico más importante en un 26 %. Se presentó una alta sensibilidad a los antibióticos betalactámicos evidente en el 20,6 % de los aislamientos, correspondiente a bacterias Gram positivas presentando resistencia a la penicilina, especialmente en especies de *Staphylococcus* spp.

Conclusiones: En este trabajo se aislaron e identificaron algunos agentes etiológicos causantes de mastitis bovina de origen contagioso, origen ambiental y agentes oportunistas e infrecuentes (*Bacillus* spp. y *Lactobacillus* spp.). En estos aislamientos se encontró una alta sensibilidad a antibióticos, principalmente a los betalactámicos.

Palabras clave: leche, mastitis bovina, microbiología, antibiograma.

ABSTRACT

Introduction: Mastitis is considered as an infection affecting the cow's udder in varying degrees of severity, caused by numerous microorganisms. It results in a reduction of milk production and an alteration of the physicochemical characteristics. The hygienic quality of milk has a fundamental importance in human consumption; therefore, it must be a safe and suitable product.

Objective: This study seeks to highlight the major etiologic agents of bovine mastitis and antibiotic susceptibility patterns giving an overview of the current disease situation in municipalities with important milk production in Boyacá state.

Methods: This is a quantitative, descriptive, observational and cross-sectional study in which a total 214 sample from quarters affected with some degree of bovine mastitis were processed. For microbiological diagnosis of milk samples, standard protocols for identifying biochemical profiles were used. The antibiotic susceptibility patterns were performed by the technique of Kirby Bauer.

Results: A prevalence of 31% (n=214) of bacteria causing contagious mastitis was observed, and within these, *Staphylococcus aureus* was found as the most important etiologic agent in 26%. A high sensitivity to beta-lactam antibiotics were observed in 20.6% of isolates, corresponding Gram-positive bacteria were resistant to penicillin, especially among *Staphylococcus* spp. species.

Conclusions: Some etiological agents were isolated and identified causing bovine mastitis of contagious and environmental origin and opportunistic and infrequent agents (*Bacillus* spp. and *Lactobacillus* spp.). In these isolates a high susceptibility was found, mainly to beta-lactam antibiotics.

Key words: Milk, bovine mastitis, microbiology, antibiogram

INTRODUCCIÓN

Las infecciones bovinas pueden disminuir la productividad de los hatos lecheros en todo el mundo, incrementando la mortalidad de los animales, afectando la calidad de la leche y reduciendo el nivel de conversión de los alimentos, lo cual ocasiona pérdidas económicas sustanciales (1). La mastitis bovina es una enfermedad infectocontagiosa de la ubre, en la cual la inflamación se produce por la invasión, a través del canal del pezón, de diferentes tipos de bacterias e incluso hongos. Se ha reportado que las bacterias pertenecientes a los géneros *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Corynebacterium* spp. y algunas Gram negativas, son responsables de más del 90 % de los casos clínicos y subclínicos de las mastitis en vacas (2).

Otro aspecto de importancia creciente en el tema de la lechería, es la posibilidad de generar problemas de salud humana debidos a intoxicaciones alimentarias producidas por la presencia de bacterias patógenas o sus toxinas. Entre las bacterias que pueden tener como origen los establecimientos lecheros, y que pueden ser causantes de mastitis, se destacan algunas cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (2,3). De igual forma, la mastitis puede cambiar sustancialmente las características propias de la leche, como el sabor, el color, el olor, el aspecto y la composición físico-química, deteriorando o reduciendo su vida útil, situación que posiblemente

puede tener un fuerte impacto en la salud de la población.

El uso de antibióticos es una práctica habitual para el control de la mastitis, y es tema de preocupación creciente entre consumidores, industriales, técnicos y autoridades sanitarias, quienes han puesto de manifiesto que el empleo excesivo de antibióticos es el principal factor en la aparición de cepas bacterianas resistentes (3). Hallazgos tanto clínicos como epidemiológicos, han indicado que cada vez son más frecuentes los reportes de la transferencia de genes de resistencia entre microorganismos patógenos y no patógenos en el ámbito veterinario (4,5).

En el presente estudio se pretendió identificar los principales agentes etiológicos de mastitis, aislados de muestras de leche de vaca en fincas de Boyacá, mediante procedimientos habituales de microbiología y, asimismo, delimitar sus patrones de sensibilidad a los antibióticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras

Se hizo un muestreo por conveniencia con un número aproximado de 800 vacas en producción, provenientes de 61 fincas representativas de municipios con importante producción lechera en el departamento de Boyacá, como Chiquinquirá, Chiscas,

Güicán, El Cocuy, Ciénega, Nuevo Colón, Ramiriquí, Ventaquemada, Soracá, Samacá, La Uvita, Soatá, Viracachá, Boyacá, Siachoque, Cerinza, Sogamoso, Sotaquirá, Firavitoba, Santa Rosa de Viterbo, Tuta, Oicatá, Chivatá, Toca, Belén, Floresta, Caldas, Pesca, Tibasosa, Iza, Chíquiza, Arcabuco, Cómbita, San Miguel, Paipa y Duitama.

En total, se procesaron 214 muestras provenientes de pezones afectados con mastitis, teniendo como criterio de inclusión: muestras de leche de vacas cuyos pezones presentaran algún grado de reacción en la prueba de *California Mastitis Test-CMT* (desde el grado 1), y como criterio de exclusión: vacas que se encontraran con algún tipo de tratamiento antimicrobiano o estuvieran en tiempo de retiro.

Se recolectaron 10 ml de leche en recipiente estéril, previo lavado y desinfección de los pezones. Las muestras se mantuvieron refrigeradas a 4 °C para su posterior transporte desde las fincas hasta el Laboratorio de Microbiología de la Universidad de Boyacá, empleando triple embalaje.

Identificación microbiológica de agentes etiológicos de mastitis

Se hizo un primer aislamiento en agar sangre, previa y cuidadosa homogeneización de las muestras. El volumen de leche inocu-

lado fue de 0,01 ml en un cuadrante de la placa de cultivo, sembrada con asa calibrada desechable. Se incubaron a 35-37 °C por 24 a 48 horas. Los patógenos involucrados en la mastitis bovina se identificaron con base en los criterios del *National Mastitis Council* (NMC) (6). Asimismo, las bacterias del género *Streptococcus* spp. y *Staphylococcus* spp., se confirmaron por API Staph® y API20 Strep® (bioMérieux SA), respectivamente.

Evaluación de la sensibilidad antimicrobiana

La sensibilidad de las cepas aisladas se estableció mediante la técnica de difusión de disco, según las recomendaciones del *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)* (7). Los antibióticos evaluados en las bacterias Gram positivas, principalmente, fueron: penicilina, ampicilina, oxacilina, cloxacilina, amoxicilina, cefalexina y tetraciclina (OXOID®). Para los agentes etiológicos de tipo coliforme aislados de mastitis de origen ambiental, los médicos veterinarios no recomiendan hacer un antibiograma, debido a que el manejo se hace directamente en el hato.

RESULTADOS

Identificación microbiológica de los agentes etiológicos de mastitis

De 214 muestras de leche, 44 fueron negativas y 23 se consideraron contaminadas al evidenciarse crecimiento de más de tres colonias. En la tabla 1 se listan los agentes

etiológicos de mastitis contagiosa aislados e identificados, los cuales corresponden a la mayoría de infecciones de las muestras analizadas. El 31 % (67 aislamientos) de los aislamientos correspondieron a microorganismos de origen contagioso.

Tabla 1. Agentes etiológicos de mastitis bovina de origen contagioso

Mastitis contagiosa		
Microorganismo	n	(%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	56	26
<i>Streptococcus galactiae</i>	9	4
<i>Corynebacterium</i> spp.	2	1
Total	67	31

Un total de 40 microorganismos ambientales se aislaron entre las bacterias del género *Streptococcus* diferentes a *S. agalactiae* y bacterias Gram negativas; la prevalencia de estos agentes patógenos en el estudio fue de 18 %, como se muestra en la tabla 2. De los 40 aislamientos, la mayoría pertenecía a la familia Streptococcaceae.

Tabla 2. Agentes etiológicos de mastitis ambiental

Gram positivos		
Microorganismo	n	(%)
<i>Streptococcus uberis</i>	10	4,7
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	7	3,3
<i>Enterococcus faecium</i>	4	1,9
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	1,4
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	2	0,9
<i>Streptococcus bovis</i>	1	0,5
<i>Enterococcus gallinarum</i>	1	0,5
<i>Streptococcus pluranimalium</i>	1	0,5
Gram negativos		
Microorganismo	n	(%)
<i>Klebsiella</i> spp.	5	2,3
<i>Escherichia coli</i>	3	1,4
<i>Citrobacter</i> spp.	1	0,5
<i>Edwardsiella</i> spp.	1	0,5
Total	40	18,2

Entre los agentes etiológicos oportunistas de la mastitis, se identificaron bacterias del género *Staphylococcus* diferentes a *S. aureus*, las cuales se presentan en la tabla 3. El porcentaje de *Staphylococcus* coagulasa negativa fue de 14,5 %.

Tabla 3. Agentes etiológicos oportunistas de mastitis en hatos de Boyacá

Mastitis por agentes oportunistas		
Microorganismo	n	(%)
<i>Staphylococcus warneri</i>	7	3,3
<i>Staphylococcus xylosus</i>	6	2,8
<i>Staphylococcus hominis</i>	5	2,3
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	1,9
<i>Staphylococcus hyicus</i>	3	1,4
<i>Staphylococcus chromogenes</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus simulans</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus sciuri</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus lentus</i>	1	0,5
<i>Staphylococcus capitis</i>	1	0,5
Total	31	14,5

De igual forma, en este estudio se identificaron otros agentes etiológicos aislados con menor frecuencia (tabla 4). No se aisló ningún microorganismo correspondiente a hongos.

Tabla 4. Agentes etiológicos infrecuentes en mastitis bovina

Mastitis causada por agentes infrecuentes		
Microorganismo	n	(%)
<i>Bacillus</i> spp.	4	1,9
<i>Lactobacillus</i> spp.	2	0,9
Total	6	2,8

Evaluación de la sensibilidad antimicrobiana

En términos generales, en bacterias Gram positivas, de origen contagioso ambiental (n=131), la resistencia más habitual encontrada fue a la penicilina (18 %; n=24), seguida de la tetraciclina (13,7 %; n=18) y la ampicilina (8,4 %; n=11).

El género representativo de este estudio, *Staphylococcus* spp., presentó una resistencia que se describe en la tabla 5.

Tabla 5. Perfiles de sensibilidad del género *Staphylococcus* spp.

Bacteria	Antibiótico															
	P		A		AMC		Cx		Da		Te		Ox		FOX	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
<i>Staphylococcus aureus</i> n=56	43	13	48	8	50	6	52	4	53	3	52	4	50	2	50	2
Resistencia (%)	23,2		14,3		10,7		7,1		5,4		7,1		3,6		3,6	
<i>Staphylococcus</i> spp. n=33	24	9	30	3	32	1	32	1	31	2	29	4	30	3	30	3
Resistencia (%)	27,3		9,1		3,0		3,0		6,1		12,1		9,1		9,1	

S: sensible; R: resistente; P: penicilina; A: ampicilina; AMC: amoxicilina; CX: cefalexina; Da: clindamicina; Te: tetraciclina; Ox: oxacilina; FOX: ceftioxitin

Particularmente, entre patrones de sensibilidad de aislamientos identificadas como *Streptococcus* spp., se observa resistencia únicamente a la tetraciclina (tabla 6).

Tabla 6. Perfiles de sensibilidad del género *Streptococcus* spp. y *Enterococcus* spp.

Microorganismo	Antibiótico													
	n	P		A		AMC		CX		Da		Te		
		S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	
<i>Streptococcus uberis</i>	10	10	0	10	0	10	0	10	0	10	0	8	2	
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	7	7	0	7	0	7	0	7	0	7	0	5	2	
<i>Enterococcus faecium</i>	4	4	0	4	0	4	0	3	1	2	2	3	1	
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	3	0	3	0	3	0	2	1	2	1	1	2	
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	2	1	1	1	1	2	0	2	0	2	0	2	0	

Microorganismo	Antibiótico												
	n	P		A		AMC		CX		Da		Te	
		S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
<i>Streptococcus bovis</i>	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
<i>Enterococcus gallinarum</i>	1	1	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1
<i>Aerococcus viridans</i>	1	0	1	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1
<i>Streptococcus pluranimalium</i>	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0
Resistencia (%)		6,7		3,3		0		13,3		16,7		30	

El presente estudio permitió la identificación de nuevos agentes etiológicos de categoría infecciosa o ambiental, importantes para el diagnóstico y el manejo oportuno de la enfermedad, brindando un panorama diferente de la mastitis bovina en la región.

DISCUSIÓN

La mastitis se produce cuando varios factores, ya sean sanitarios o ambientales, interactúan para crear ciertas condiciones que favorecen la generación de la infección. Esta es ocasionada por microorganismos que penetran la ubre a través del canal de los pezones por multiplicación o movimiento mecánico, entre otros factores (8). Teniendo en cuenta los agentes causales, la mastitis se ha clasificado en contagiosa y ambiental, principalmente de acuerdo con las características de los microorganismos y su relación con la distribución e interacción con el pezón y su canal (8).

En este estudio se encontró una prevalencia de 31 % (n=67) de bacterias que ocasionan mastitis contagiosa, siendo su mayor representante *S. aureus* (26 %, n=55) (9), bacteria que de acuerdo con estudios similares, es de difícil control y genera cronicidad en el animal, pues persiste en las glándulas afectadas (6,10). No se considera un patógeno obligado de la ubre, dado que se puede encontrar también en lesiones de la piel de los pezones, manos de los ordeñadores, camas o equipos de ordeño, entre otros.

Según el último estudio realizado en el altiplano cundiboyacense en 2014, por Andrade-Becerra, *et al.* (11), el mismo grupo de agentes viene afectando la región, representado por *S. aureus*. Igualmente, Calderón reportó en 2008 la presencia de esta bacteria en 29,9 % (12). Internacionalmente, la frecuencia de este patógeno es más alta, como en Finlandia (62,3 %) (9) y Alemania (73,65 %) (13). Es por ello que *S. aureus*, causante de mastitis, es el agente patógeno contagioso más

importante a nivel mundial, asociado con la glándula mamaria. Por lo tanto, se debe tener en cuenta que el hombre puede infectarse mediante el consumo de leche que contiene las enterotoxinas de este agente patógeno, posibilitando una enfermedad transmitida por alimentos (14).

Las enfermedades transmitidas por alimentos constituyen uno de los problemas de salud más relevantes; entre los alimentos implicados en brotes de estas enfermedades asociados a *S. aureus*, se encuentran la leche y sus derivados (6,10). Numerosos estudios *in vitro* han demostrado que esta bacteria puede ingresar y sobrevivir en una línea celular epitelial mamaria bovina. Tal es el caso del estudio de Hébert, *et al.*, quienes evidenciaron que *S. aureus* está presente en las células alveolares y en los macrófagos de la leche de vacas crónicamente infectadas (15).

Además, *S. agalactiae* se considera un agente patógeno estricto de la ubre bovina, pues puede sobrevivir en ella por largos periodos. *Streptococcus agalactiae* es la causa más común de infecciones subclínicas, pero muy rara vez produce una enfermedad grave o crónica. Según lo informado por Hébert, *et al.*, solo 4 % de los aislamientos correspondían a esta bacteria, lo cual concuerda con el estudio de Calderón (12), quien reportó una prevalencia de 6 %. En países como los Estados Unidos, estos datos son superados

con más del 50 % de los aislamientos causantes de mastitis contagiosa (16).

Por otra parte, se aislaron 40 microorganismos ambientales entre bacterias del género *Streptococcus* diferentes a *S. agalactiae* y bacterias Gram negativas. En Colombia, específicamente en la región cundiboyacense, en estudios anteriores se han reportado dos especies del género *Streptococcus*: *S. uberis* y *S. dysgalactiae*, y ausencia de microorganismos coliformes (12).

La higiene insuficiente durante el ordeño y el funcionamiento inadecuado de la máquina de ordeñar, contribuyen a la aparición de mastitis por patógenos ambientales, los cuales se localizan principalmente en el medio que rodea a la vaca; estas bacterias pertenecen a la microbiota normal del ambiente y se encuentran en cada hato o finca. Estos agentes patógenos poseen, en general, un potencial muy pobre para causar enfermedad; sin embargo, pueden penetrar en el conducto galactóforo hacia la ubre y causar infecciones muy persistentes (17).

La prevalencia para *Staphylococcus coagulasa* negativa fue de 14 %, la cual es alta en comparación con otros estudios; por ejemplo, para el Valle de Ubaté fue del 0,15 %, mientras que en Venezuela se reportan datos superiores (23 %) (18). En años recientes, este grupo de bacterias está retomando

importancia como agentes patógenos emergentes causantes de mastitis bovina en novillas (18).

En estudios previos se ha determinado la prevalencia de especies como *S. warneri* (n=7; 3,3 %), *S. epidermidis* (n=4; 1,9 %) y *S. simulans* (n=1; 0,5 %), los cuales pertenecen a la microbiota normal de la piel del pezón; mientras otras, como *S. xylosus* (n=6; 2,8 %) y *S. sciuri*, parecen provenir del ambiente. De igual forma, *S. chromogenes* (n=1; 0,5 %) puede colonizar la piel del pezón y también otros lugares del cuerpo del animal, como el pelaje y la vagina (19).

La incidencia de otros microorganismos aislados en este estudio, es comparable con la reportada por Andrade, *et al.* (11). Sin embargo, el porcentaje de *Bacillus* spp. es superado en un análisis similar en Brasil, donde reportaron esta bacteria en 17 aislamientos provenientes de muestras de ordeño manual (14). Se debe tener especial cuidado en el momento de interpretar los resultados por otros agentes infrecuentes, pues la presencia de esta bacteria puede deberse a contaminación al momento de tomar la muestra (14).

Sensibilidad antimicrobiana de agentes etiológicos de mastitis bovina

En promedio, el 25 % de los aislamientos correspondientes a *Staphylococcus* spp.

presentaron una resistencia *in vitro* a la penicilina; este porcentaje supera los reportados para *S. aureus* en Boyacá (14,9 %) (12), en Argentina (40,3 %) (20) y en Suiza (23,3 %) (21). Generalmente, la penicilina exhibe buena actividad contra cocos Gram positivos, pero es afectada por la actividad de la betalactamasa. Por otro lado, *S. aureus* es una bacteria que desarrolla rápidamente resistencia a antibióticos como la penicilina, sobre todo después de su uso terapéutico en terreno, como en el caso de los tratamientos para mastitis bovina (21).

En relación con *Staphylococcus* coagulasa negativa, *S. warneri* y *S. epidermidis* evidenciaron resistencia a más de dos antibióticos: penicilina (27,3 %), tetraciclina (12,1 %), amoxicilina y ampicilina; en comparación con el estudio de Yvonne Frey, *et al.*, se pueden observar similitudes en cuanto a la resistencia a penicilina (23,3 %) y tetraciclina (15,8 %) (22,23).

En los microorganismos aislados en este estudio, se determinó que existía una resistencia de cinco aislamientos a la oxacilina (3,6 % en *S. aureus* y 9,1 % en *Staphylococcus* coagulasa negativa). Igualmente, no se observó variación significativa entre los patrones de sensibilidad de *Streptococcus* spp.; solo se observó el patrón de resistencia hacia la tetraciclina reportado internacionalmente, entre 30 % y 50 % (21).

Habitualmente, no se hace aislamiento ni evaluación por antibiograma del agente causal de la infección intramamaria. De igual forma, la descripción de la actividad de los antibióticos solo tiene un carácter orientador, dado que la sensibilidad de los aislamientos depende de variados factores; los más importantes son: la concentración en el sitio de localización de la bacteria, la capacidad del antimicrobiano de penetrar la bacteria, y la ulterior unión a proteínas específicas de los agentes (24,25).

Las penicilinas son antibióticos potentes, de amplio espectro, bactericidas y de baja toxicidad. La sensibilidad a ellas depende del efecto combinado de varios mecanismos y la resistencia antimicrobiana refleja un cambio en ellos. Las penicilinas resistentes a la penicilinas y las cefalosporinas, poseen una estructura molecular que las protege frente a la acción de las betalactamasas (26). A pesar de la aparente resistencia a la penicilina en cepas de *Staphylococcus* spp., es importante recalcar que las penicilinas estafilocócicas son mayoritariamente inducibles y se excretan extracelularmente, por lo que se requerían otros métodos para su detección, como la determinación de la concentración inhibitoria mínima o técnicas moleculares. La relación entre la presencia de betalactamasas y la resistencia a las penicilinas ha sido reportada por otros autores y es factor predictor de resistencia tanto a penicilinas,

como a amino-penicilinas, carboxi-penicilinas y ureido-penicilinas (27,28).

Con las técnicas de identificación fenotípica y de sensibilidad a antibióticos, se encontró que los microorganismos presentes con mayor frecuencia como agentes causales de mastitis en bovinos del cordón central lechero de Boyacá, son *Staphylococcus* coagulasa negativa y, en menor proporción, los coagulasa positiva, como es el caso de los cinco aislamientos de *S. aureus*, con resistencia principalmente a la oxacilina y los betalactámicos.

Conflictos de intereses

Se manifiesta que en este artículo de investigación no se presentan conflictos de interés de los investigadores para su elaboración y publicación.

Financiación

La financiación de este proyecto contó con el aporte de la Universidad de Boyacá y la Unidad de Extensión de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia.

Agradecimientos

A los Laboratorios de Microbiología y Biología, de la Universidad de Boyacá.

REFERENCIAS

1. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Producción y productos lácteos. Sanidad animal. Fecha de consulta: 17 febrero de 2015. Disponible en: <http://www.fao.org/agriculture/dairy-gateway/produccion-lechera/sanidad-animal/es/#.VQ-DNWSG-6Y>.
2. Erskine R. Mastitis in cattle. En: The Merck Veterinary Manual. Fecha de consulta: 10 de mayo de 2015. Disponible en: http://www.merckmanuals.com/vet/reproductive_system/mastitis_in_large_animals/mastitis_in_cattle.html. 2004.
3. World Organization for Animal Health. Terrestrial animal health code (OIE). Responsible and prudent use of antimicrobial agents in veterinary medicine. Health standards of the World Organization for Animal Health. Fecha de consulta: 13 de enero de 2015. Disponible en: http://www.oie.int/eng/normes/mcode/en_chapitre_1.6.9.pdf. 2010.
4. Frana TS, Beahm AR, Hanson BM, Kinyon JM, Layman LL, Karriker LA, et al. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from pork farms and visiting veterinary students. PLoS ONE. 2013;8:e53738.
5. Wellington EM, Boxall AB, Cross P, Feil EJ, Gaze WH, Hawkey PM, et al. The role of the natural environment in the emergence of antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. Lancet Infect Dis. 2013;13:155-65.
6. Oliver SP, González RN, Hogan JS, Jayarao BM, Owens WE. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. Fourth edition. Verona, WI: National Mastitis Council; 2004.
7. Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Approved standards. Document M31-A. Wayne, Pennsylvania: Clinical Laboratory Standards Institute; 2008. p. 183.
8. Bradley A. Bovine mastitis: An evolving disease. Vet J. 2002;164:116-28.
9. Pitkala A, Haveri M, Pyörala S, Mylly S, Honkanen-Buzalski T. Bovine mastitis in Finland 2001--prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. J Dairy Sci. 2004;87:2433-41.
10. Bean NH, Goulding JS, Lao C, Angulo FJ. Surveillance for foodborne-disease outbreaks--United States, 1988-1992. MMWR. 1996;45:1-66.

11. Andrade RJ, Carvajal EC, Báez ED. Prevalencia de mastitis subclínica bovina y su etiología infecciosa en fincas lecheras del altiplano boyacense (Colombia). *Saber- Ula*. 2014;24: 305 – 310.
12. Calderón A, Rodríguez VC. Prevalencia de mastitis bovina e sua etiologia infecciosa nos sistemas especializados na produção de leite no altiplano cundiboyacense (Colombia). *Rev Colom Cienc Pecu*. 2008;21:582-9.
13. Tenhagen BA, Köster G, Wallmann J, Heuwieser W. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J Dairy Sci*. 2006;89:2542-51.
14. Ruiz A, Ponce P, Gomes G, Mota R, Elizabeth S, Lucena E, *et al*. Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: comparación entre ordeño manual y mecánico en Pernambuco, Brasil. *Rev Salud Anim*. 2011;33:57-64.
15. Hébert A, Sayasith K, Sénéchal S, Dubreuil P, Lagacé J. Demonstration of intracellular *Staphylococcus aureus* in bovine mastitis alveolar cells and macrophages isolated from naturally infected cow milk. *FEMS Microbiol Lett*. 2000;193:57-62.
16. Makovec J, Ruegg P. Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. *J Dairy Sci*. 2003;86:3466-72.
17. Valero-Leal K, Valbuena E, Chacón F, Olivares Y, Castro G, Briñez W. Patógenos contagiosos y ambientales aislados de cuartos mamarios con mastitis subclínica de alto riesgo en tres fincas del estado Zulia. *Rev Cient*. 2010;20:498-505.
18. Taponen S, Pyörälä S. Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis—Not so different from *Staphylococcus aureus*? *Vet Microbiol*. 2009;134:29-36.
19. Jarp J. Classification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine clinical and subclinical mastitis. *Vet Microbiol*. 1991;27:151-8.
20. Gentilini E, Denamiel G, Betancor A, Rebuelto M, Fermepin MR, De Torres R. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. *J Dairy Sci*. 2002;85:1913-7.
21. Erskine R, Walker R, Bolin C, Bartlett P, White D. Trends in antibacterial susceptibility of mastitis pathogens during a seven-year period. *J Dairy Sci*. 2002;85:1111-8.

22. Frey Y, Rodríguez JP, Thomann A, Schwendener S, Perreten V. Genetic characterization of antimicrobial resistance in coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis milk. *J Dairy Sci.* 2013;96:2247-57.
23. Chambers HF. Methicillin resistance in staphylococci: Molecular and biochemical basis and clinical implications. *Clin Microbiol Rev.* 1997;10:781-91.
24. Aguilera-Luiz M, Vidal JLM, Romero-González R, Frenich AG. Multi-residue determination of veterinary drugs in milk by ultra-high-pressure liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2008;1205:10-6.
25. Sears PM, McCarthy KK. Management and treatment of staphylococcal mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 2003;19:171-85.
26. Calvo J, Martínez-Martínez L. Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enferm Infecc Microbiol Clín.* 2009;27:44-52.
27. Betancourt O, Scarpa C, Villagrán K. Estudio de resistencia de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis subclínica bovina frente a cinco antibióticos en tres sectores de la IX Región de Chile. *Rev Cient.* 2003;13:413-7.
28. Watts JL, Salmon SA. Activity of selected antimicrobial agents against strains of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine intramammary infections that produce β -lactamase. *J Dairy Sci.* 1997;80:788-91.