

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO
DIVISION DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y ANIMAL
LICENCIATURA EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Proyecto de Servicio Social

**Identificación y aislamiento de bacterias resistentes a antibióticos
causantes de mastitis en vacas lecheras.**

Prestador De Servicio Social

Pedro David Hernández Melo
Matrícula: 2182028120

Asesores internos



Daniel Martínez Gómez
No. Económico: 30356



Ulises Alejandro González García
No. Económico: 38521

Lugar de realización: *Complejo agropecuario industrial de Tizayuca S.A. de C.V.
y Laboratorio de Microbiología Agropecuaria UAM-Xochimilco.*

Índice

Tabla de contenido

Resumen.....	4
Introducción.....	4
Justificación.....	5
Marco teórico.....	5
<i>Staphylococcus</i> , multiresistencia y nuevas β -lactamasas.....	6
Permeabilidad de la membrana exterior (PME).....	7
Sistemas de descarga (Efflux system).....	7
Producción de enzimas modificadoras de antimicrobianos (β -lactamasas).....	7
Resistencia por mutaciones.....	7
Adquisición de genes de resistencia.....	7
Resistencia mediada por biofilm.....	8
Células persistentes en la resistencia a antibióticos.....	8
Objetivos.....	8
Objetivo general.....	8
Objetivos específicos.....	8
Metodología.....	8
Detección de mastitis.....	9
Toma de muestras.....	9
Análisis bacteriológico.....	9
Antibiograma.....	10
Análisis estadístico.....	10
Resultados.....	10
Discusión.....	12
Recomendaciones.....	13
Tratamientos.....	13
Inhibición de detección de quórum.....	13
Inhibidores de lectina.....	14
Quelación de hierro.....	14
Terapia de fagos.....	14
Nanopartículas.....	14

Bibliografía..... 16

Resumen.

Con el fin de establecer la presencia de cepas multirresistentes asociadas a casos de mastitis bovina, en el presente proyecto se realizó un muestreo de 73 glándulas mamarias bovinas con mastitis clínica (MC) alojadas en el establo número 198 del Complejo agropecuario industrial de Tizayuca S.A. de C.V. De cada muestra se realizó el análisis bacteriológico y las cepas recuperadas fueron evaluadas para establecer su sensibilidad a antibióticos a través de ensayos en agar con multidiscos (serie GRAM + serie 2 INVESTIGACIÓN DIAGNÓSTICA). Los resultados obtenidos mostraron la presencia de distintas cepas hemolíticas y no hemolíticas de *Staphylococcus aureus* con resistencia variable a antibióticos.

Introducción

La mastitis se define como la inflamación de la glándula mamaria y se presenta la mayor parte de las veces como una enfermedad infecciosa de las vacas lecheras (Rodríguez Pulido, 2022). Como se ha comentado la enfermedad representa grandes pérdidas productivas y económicas en ganado lechero especializado (DANE, 2014; Vissio et al., 2015; Gómez, 2015; Addis et al., 2016; Ruiz et al., 2016). Las vacas con mastitis pueden tener signos clínicos (Mastitis clínica: MC) o no mostrar ninguno (Mastitis subclínica: MS). Esta última, es considerada la forma más común de esta afección y la que genera más pérdidas, debido a que no se presentan signos que evidencien la enfermedad, convirtiéndola en un foco de diseminación para todo el hato (Gómez, 2015; Addis et al., 2016). La introducción de microorganismos patógenos a la glándula mamaria causa daños al conducto y parénquima glandular lo que genera una menor síntesis de leche; estos daños se presentan tanto en la MC como en la MS. Por otro lado, las bacterias, el principal agente etiológico que afecta a la glándula, han desarrollado resistencia a los antibióticos complicando aún más el problema (Khazandi et al., 2018). Para detectar la presencia de MS es común la Prueba de tazón de fondo oscuro y California (Avilés Ruiz et al., 2024).

Justificación

Las pérdidas económicas que la mastitis bovina ocasiona a la industria láctea son considerables a nivel mundial. Estas incluyen la reducción de la producción de leche, eliminación de leche, costos de tratamiento y médicos veterinarios, sacrificio de ganado después de un tratamiento fallido, aumento de costos laborales relacionados con el cuidado especial del ganado enfermo entre otros (Bedolla y Ponce, 2008; Morales, 2021). La leche contaminada con antimicrobianos no puede ser comercializada para consumo humano, por lo que esta se destina para alimento de terneros que pueden o no unirse posteriormente a la producción lechera, alimentarlos con esta leche de desecho origina resistencia a antimicrobianos además de ser una fuente potencial de residuos antimicrobianos que pueden afectar la microbiota ruminal en desarrollo y posteriormente contaminar el medio ambiente después de su eliminación (EFSA BIOHAZ Panel, 2021).

Marco teórico

El uso indiscriminado de los antibióticos sin previa prueba de sensibilidad *in vitro* es la principal causa del fracaso en el tratamiento de la mastitis (Quispe *et al.*, 2021). Actualmente existen en el mercado diferentes antibióticos para su tratamiento, no obstante, la utilización excesiva de los mismos está permitiendo la aparición de patógenos multirresistentes (Anangón, 2020), que puede incluso causar la muerte del animal (Valenzuela, 2010; Quispe *et al.*, 2021).

La resistencia antimicrobiana se origina por el uso inapropiado de los antimicrobianos causada por:

- Aplicación incorrecta de tratamientos antibióticos por parte de los profesionales a cargo y en los casos de productores, la aplicación empírica.
- La aplicación sin conocer el agente causal de la infección y menos aun identificando la sensibilidad microbiana del patógeno a los antibióticos que más se emplean en el sector lechero.

- Falta de seguimiento de las infecciones, para evitar casos crónicos (Anangonó, 2020).

La leche de una glándula afectado cambia su composición fisicoquímica presentando un menor porcentaje de sólidos totales, proteínas, grasa y calcio, además el productor que realiza tratamientos con antibióticos obtendrá como resultado residuos de antibióticos en la leche (Moreira Mendoza Y Solórzano Guerrero, 2023), lo que se convierte en un problema de salud pública (Leal, 2014). En la actualidad existe una preocupación mundial por la multiresistencia a los antibióticos, todo gracias a la propiedad de conjugación entre bacterias donde la resistencia a antibióticos de una puede ser transferida a otra por medio de plásmidos, transposones o integrones, sin el requisito de ser parte de su congenie, esto conocido como transferencia horizontal (Estrada-Calles *et al.*, 2022). Es una de las razones para que algunos países inicien la implementación de programas de monitoreo de resistencia bacteriana y fomenten el uso racional de los antibióticos en animales en producción (Bhosale *et al.*, 2014; Quispe *et al.*, 2021).

Los antibióticos betalactámicos se distinguen gracias a su anillo betalactámico, el cual define su mecanismo de acción inhibiendo la síntesis de la pared celular de las bacterias. Constituyen la familia más numerosa de antimicrobianos, así como los más utilizados y prescritos a nivel clínico, estos se han modificado a lo largo de los años en su estructura química con el fin de mejorar su efecto terapéutico, pero en los últimos años el ritmo de aparición de las bacterias resistentes ha superado al desarrollo y mejora de fármacos (Estrada-Calles *et al.*, 2022).

***Staphylococcus*, multiresistencia y nuevas β -lactamasas**

Entre los principales agentes etiológicos causantes de mastitis infecciosa en vacas lecheras se encuentra *Staphylococcus aureus* con una prevalencia del 43 – 74% (Deگو, 2021).

Las tasas de resistencia en infecciones por *S. aureus* y cepas multiresistentes a distintos fármacos van en aumento, dificultando el tratamiento (Guo *et al.*, 2020). Los principales mecanismos de resistencia endógena son tres que se nombran a continuación:

Permeabilidad de la membrana exterior (PME).

Reducción de la permeabilidad de la membrana celular. En estas situaciones el metabolismo energético de la bacteria disminuye, lo que reduce la absorción del fármaco, produciendo resistencia a los antibióticos (Anuj *et al.*, 2019; Guo *et al.*, 2020).

Sistemas de descarga (Efflux system).

Consisten en sistemas de transporte activo que permiten el movimiento de moléculas en contra del gradiente de concentración. Estos sistemas se inducen por la presencia de sustratos en el ambiente por tiempo prolongado, lo que activa la expresión de genes que codifican sistemas selectivos de transporte, aumentando con ello su capacidad de expulsar fármacos (Guo *et al.*, 2020).

Producción de enzimas modificadoras de antimicrobianos (β -lactamasas)

Las β -lactamasas son enzimas que catalizan la hidrólisis de varios antibióticos β -lactámicos (incluyendo antibióticos como carbapenem de amplio espectro) se encuentra codificado en los cromosomas bacterianos o en plásmidos lo que permite su transferencia (Lee y Park, 2016). La secreción de β -lactamasas reduce el efecto de antimicrobianos mediante dos mecanismos; el primero mediante el mecanismo de hidrólisis en el cual la β -lactamasa hidroliza e inactiva el antibiótico; el segundo involucra una reducción considerable del antibiótico y en consecuencia una competencia entre las enzimas β -lactamasas y las proteínas blanco de estos antibióticos extracelulares, previniendo que estos alcancen el espacio pericelular (Guo *et al.*, 2020).

Resistencia por mutaciones.

Staphylococcus aureus puede volverse resistente debido a mutaciones que alteren las proteínas blanco, por ejemplo las ADN girasas, las proteínas ligadoras de penicilina, etc. Otras mutaciones, que ocurren en las regiones promotoras, reducen la expresión de proteínas en el espacio intermembrana, por lo tanto reducen o bloquean la actividad de los antimicrobianos (Yang *et al.*, 2019).

Adquisición de genes de resistencia.

Otro tipo resistencia mediada por plásmidos se da a través de la transducción y expresión de genes de resistencia a los antimicrobianos. En estos casos los genes adquiridos confieren a los microorganismos otras capacidades metabólicas contribuyendo a la resistencia bacteriana, especialmente en casos de resistencia a las sulfas (Foster, 2017; Guo *et al.*, 2020).

Resistencia mediada por biofilm.

Es una estructura multicelular compleja compuesta por una población de microorganismos unidos a la superficie del sustrato y una matriz formada por un polímero extracelular altamente hidratada. Este polímero es producido por las bacterias y tiene como función básicamente la protección a las condiciones ambientales adversas como la presencia de antibióticos (Guo *et al.*, 2020).

Células persistentes en la resistencia a antibióticos

Las células persistentes son un pequeño subconjunto de células que son genéticamente homólogas pero fenotípicamente heterogéneas en una población microbiana, crecen lentamente o permanecen inactivas y sobreviven a altas concentraciones de antibióticos (Fisher *et al.*, 2017; Guo *et al.*, 2020). A diferencia de la resistencia a los antibióticos, la persistencia bacteriana es un estado fisiológico de las bacterias que resisten temporalmente el estrés antibiótico y no produce un cambio en el genotipo (Kester and Fortune, 2014; Guo *et al.*, 2020).

Objetivos

Objetivo general

- Realizar un análisis microbiológico en muestras de leche para detectar bacterias causantes de mastitis en bovinos lecheros y realizar pruebas de resistencia a antibióticos.

Objetivos específicos

- Obtener muestras de leche de bovinos afectados con mastitis y realizar cultivos microbiológicos para la detección de bacterias causantes de mastitis en bovinos.
- Realizar pruebas de resistencia a antibióticos en las bacterias aisladas de casos clínicos de mastitis.

Metodología

El estudio se llevó a cabo en el establo lechero número 198 del Complejo agropecuario industrial de Tizayuca S. A. de C. V. Se analizaron 73 muestras de leche de glándulas mamarias afectadas con mastitis clínica.

Detección de mastitis

Para detectar los cuartos infectados se realizara la prueba de California, la cual es la prueba estándar cualitativa para detección de mastitis (CMT). Para realizar la prueba primero se debe limpiar el orificio del pezón para eliminar la carga bacteriana. Posteriormente, se debe mezclar aproximadamente 2.5 ml de leche de cada una de las glándulas con 2.5 ml del reactivo de California (aril alquil sulfonato de sodio y púrpura de bromocresol), en proporción 1:1. La prueba positiva se da por la formación de un gel, visible a simple vista, la prueba arroja 5 lecturas: negativa donde no hay cambio alguno, trazas donde se forma un leve y transitorio precipitado en la base de la paleta, grado 1 donde hay un mayor precipitado sin formación de gel, grado 2 se forma un denso precipitado en el centro de la base de la paleta y grado 3 donde se forma un gel muy denso adherible a la paleta (Pérez-Morales et al., 2022).

Toma de muestras

Las muestras de leche deben tomarse después de limpiar y secar el pezón, evitando el uso de antisépticos. Debe desecharse el primer chorro de leche y llenar un tubo con el chorro o chorros siguientes, la leche para pruebas serológicas no se debe congelar, calentar o agitar de forma enérgica (WOAH, 2007).

Análisis bacteriológico

El análisis bacteriológico de las muestras de leche se realizara de la manera siguiente. Las muestras se homogenizarán para liberar las bacterias que pudieran encontrarse atrapadas en los glóbulos de grasa. Para el aislamiento se inocularán 30 µl de la muestra en placas de agar sangre y agar MacConkey. Todas las placas se incubarán a 37°C durante 24 horas en condiciones de aerobiosis. Los cultivos serán examinados para determinar la morfología macroscópica de las colonias desarrolladas y su número relativo de acuerdo con el número de cuadrantes del agar en donde se observó crecimiento bacteriano. A partir de las colonias representativas se realizará un frotis fijo teñido con Gram para guiar la identificación bioquímica de acuerdo con procedimientos estándares. Todas las

cepas recuperadas serán analizadas para establecer su resistencia a antimicrobianos.

Antibiograma

Para estudiar la sensibilidad de las cepas recuperadas se usara la técnica de difusión en discos de papel impregnados con el antibiótico. Para cada antibiótico se medirán los diámetros de los halos de inhibición. El procedimiento que se seguirá será el siguiente: Primero se suspenderá cada cepa bacteriana en agua destilada hasta obtener una turbiedad del 0.5 del nefelómetro de Mac- Farland. Posteriormente en placas de Muller-Hinton, se colocara cada uno de los inóculos de cada cepa de *S. aureus*, empleando un hisopo de algodón estéril. Después se colocará un multidisco sobre cada placa, presionando ligeramente contra el agar. Las placas se incubarán a 37°C durante 24 horas. Finalmente se medirá el diámetro de los halos de inhibición por cada antibiótico.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos serán analizados por medio de métodos de estadística descriptiva para establecer patrones y frecuencia de la resistencia a los antimicrobianos evaluados

Resultados

Se realizaron pruebas en 33 vacas de la raza Holstein, donde se analizaron 73 glándulas mamarias con MC de las cuales se obtuvieron los siguientes resultados:

- 1) Se determinaron mediante pruebas de california. Con esta técnica la frecuencia de MC grado 1 fue del 19.18%, MC grado 2 del 73.97% y MC grado 3 del 6.85%. Las glándulas afectadas fueron la anterior izquierda (AI) con 26%, la anterior derecha (AD) con 27.4%, la posterior izquierda (PI) con 26% y la posterior derecha (PD) con 20.5%.
- 2) De las glándulas analizadas se obtuvieron 13 muestras con crecimiento de microorganismos en los medios selectivos. A partir de estas muestras se aislaron e identificaron mediante pruebas fisicoquímicas 22 cepas

diferentes de microorganismos cocoides Gram positivos, de los cuales recuperaron 18 cepas de *Staphylococcus aureus*.

- 3) Las colonias analizadas mostraron en el 95.45% de los casos hemólisis completa y 4.55% hemólisis incompleta.
- 4) El análisis de las colonias en el primoaislamiento mostró la existencia de 8 cepas con crecimiento retardado, lo cual es indicativo de cepas persistentes asociados a la multiresistencia.
- 5) El análisis de la resistencia a los antimicrobianos mostró cepas con distintos niveles de resistencia a diferentes antimicrobianos. En la tabla 1 se muestran los halos de inhibición obtenidas para cada una de las cepas. Así como los perfiles de resistencia de cada cepa.

Tabla 1. Resistencia a los antimicrobianos recuperadas de los casos con mastitis.

Resultado antibiograma		Bacterias gram (+) Serie 2																					
Cepa		1	2	3	Ap	BG	AI	AD	PD	AI1A	AI1B	AI2A	AI2B	AD2A	AD2B	PI1	PI2	AD1	AD2	AI	AD1	AD2	PD
Antibiótico	ID. Abreviatura	8674	8674	8674	3511	3511	7272	7272	7272	6779	6779	6779	6779	6779	6779	1036	1036	9077	9077	9074	9074	9074	6786
Ampicilina	AM	+	1.2	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
Cefalotina	CF	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.8	-	-	2.2	-	-	-
Cefotaxima	CFX	2.5	-	.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	1.9	-
Ciprofloxacino	CPF	-	-	-	-	-	-	-	1.5	-	-	-	-	-	-	-	1.9	-	-	-	-	-	-
Clindamicina	CLM	1.6	1.7	-	+	-	-	-	1.5	1.7	1.8	2.3	2	1.9	1.3	2.2	1.7	2.1	1.9	2	-	1.6	-
Dicloxacilina	DC	-	1.4	1.8	1.3	-	-	-	-	1.5	-	2.5	-	-	-	-	1.2	-	1.5	1.3	-	1.1	-
Eritromicina	E	2.2	1.7	1.6	1.5	2	-	-	1.7	1.8	1.5	2	1.7	2.2	2	2	1.9	1.8	1.8	1.8	2.2	1.6	2.2
Gentamicina	GE	1.7	1.8	1.3	1.1	-	-	-	1.5	-	1.4	1.6	1.4	2	1.6	1.7	1.6	1.4	1.3	1.9	1.7	1.7	1.9
Penicilina	PE	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Tetraciclina	TE	-	-	2.6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sulfametoxazol/Trimetoprim	SXT	1.7	-	1.4	2	-	-	-	-	-	-	1.2	1.3	+	-	+	1.6	-	1.7	1.3	+	-	+
Vancomicina	VA	1.6	-	.6	1.6	-	-	-	-	-	-	-	1.7	-	-	-	1.7	-	-	1.7	-	-	-
Tratamiento		Gentamox/E Gentamox/E Gentamox/Enroxil										Gentamox/E Gentamox/Enroxil											
Crecimiento: "+", "-" o halo de inhibición "0.00cm"																							

El 100% de las muestras presentó resistencia al menos un antibiótico, las cepas presentaron resistencia a: ampicilina (AM) el 86.36%, a cefalotina (CF) el 9.09%, a cefotaxima (CFX) el 18.18%, a ciprofloxacino (CPF) el 9.09%, a clindamicina (CLM) 72.73, a dicloxacilina (DC) 59.09%, a eritromicina (E) 90.91%, a gentamicina (GE) 81.82%, penicilina (PE) 100%, a tetraciclina (TE) 4.55%, a sulfametoxazol/ trimetoprim (SXT) 54.55% y a vancomicina (VA) 27.27%.

Las cepas con hemólisis representaron el 72.73% del análisis, las cuales presentaron resistencia de: 81.25% AM, 6.25% CF, 6.25% CFX, 12,5% CPF, 75% CLM, 56.25% DC, 87.5% E, 81.25% GE, 100% PE, 0% TE, 50% SXT Y 12.5% VA.

Las cepas con hemolisis incompleta representaron el 4.55% del análisis, presentando una resistencia de 100% a AM, CF, CFX, CLM, DC, E, GE, PE, SXT y VA, del 0% a CPF y TE.

Las cepas que no presentaron hemolisis representaron el 22.73% del análisis, y presentaron una resistencia de: 100% AM, CF 0%, CFX 40%, CPF 0%, CLM 60%, DC60%, E 100%, GE 80%, PE 100%, TE 20%, SXT 60% y VA 60%.

Discusión

La disminución respecto a la eficiencia en los tratamientos de la mastitis causada por *S. aureus* se presenta debido a que el agente etiológico cuenta con diferentes mecanismos que contrarrestan los efectos de los antimicrobianos por ejemplo disminuyendo el metabolismo celular, evitando que actúen en el sitio de acción o modificando el mismo, produciendo enzimas que hidrolizan los antimicrobianos y activando los sistemas de descarga (Efflux) de acuerdo al antimicrobiano de elección, estas capacidades sumadas a su habilidad de transferir y adquirir genes, entre ellos los de resistencia, disminuyen aún más la eficiencia de los tratamientos.

Al no haber un diagnóstico y pruebas adecuadas de sensibilidad sumado a deficiencias en la administración de los fármacos por el tiempo y las dosis recomendadas por el médico veterinario, las deficiencias en los protocolos de limpieza principalmente de la ubre y el personal favorecen la persistencia y propagación de la enfermedad.

Si bien los perfiles de resistencia en las cepas de *Staphylococcus* spp analizadas en este estudio mostraron una alta frecuencia de resistencia a antibióticos betalactámicos, como ya se había reportado en la literatura (Deogo, 2021; Estrada-Calles *et al.*, 2022), en este trabajo se observó también la resistencia a otros grupos de antimicrobianos como los aminoglucósidos. Este dato es relevante porque establece la posibilidad de que las cepas que estén involucradas en el desarrollo de casos de mastitis tengan perfiles de multirresistencia.

Finalmente es necesario establecer que se requieren análisis más detallados de las cepas involucradas en casos de mastitis para establecer su relación filogenética con otras cepas aisladas de la misma región o establecer, polimorfismos genéticos que pudieran estar asociados a la multirresistencia.

Recomendaciones

Se recomienda que en animales infectados con *S. aureus* se realicen pruebas de sensibilidad a antibióticos mediante cultivos microbiológicos para la determinación específica del agente etiológico causante de la mastitis.

Al personal de ordeña se recomienda realizar limpieza de glándulas mamarias con productos a base de yodo 1% y por el periodo mínimo que indica la etiqueta ya que de no cumplir con los tiempos mínimos de aplicación de los productos, estos no aseguran la correcta asepsia de la glándula mamaria permitiendo la presencia de agentes patógenos, así mismo también limpiar las áreas y el equipo de ordeño, utilizar toallas desechables y soluciones que sellen los pezones para evitar la diseminación y proliferación de patógenos (Lozada, 2024).

De igual manera se recomienda descartar a los animales positivos a *S. aureus* ya que los mismos son una fuente de contaminación tanto de otros animales como de equipos.

Tratamientos

Existen diferentes tratamientos los cuales ofrecen una alternativa al tratamiento convencional como lo son:

Inhibición de detección de quórum

La detección de quórum es un fenómeno en el cual las células bacterianas regulan el comportamiento de las poblaciones bacterianas detectando autoinductores. Las bacterias secretan moléculas de señalización, cuando la concentración extracelular de sustancias aumentan a cierto punto, la bacteria codifica genes específicos que regulan el comportamiento grupal de las mismas, la aplicación de inhibidores en quórum previenen que la bacteria desarrolle resistencia debido al estrés del crecimiento (Guo *et al.*, 2020).

Inhibidores de lectina

La lectina es una proteína no inmunoderivada de unión a azúcar que permite la aglutinación o precipitación de glicoconjugados (Aretz *et al.*, 2018). Se ha reportado que las lectinas no solo aglutinan glóbulos rojos, sino que también gran variedad de células como patógenos, células inmunes y células germinales. La aplicación de la lectina es principalmente el reconocimiento específico y la adhesión de las lectinas, que permiten que varios microorganismos patógenos se unan e infecten a sus células receptoras (Alghadban *et al.*, 2019). Así mismo es posible diseñar nuevos fármacos que prevengan la unión de microorganismos patógenos a las células receptoras (Guo *et al.*, 2020).

Quelación de hierro

El hierro es uno de los nutrientes esenciales para la mayoría de los organismos incluidas las bacterias. Estudios han demostrado que el hierro constituyen un centro catalítico importante de enzimas biológicas como la oxidoreductasa, y participan en varias actividades importantes como transporte de electrones, reacciones antioxidantes y síntesis de ácidos nucleicos (Nutti *et al.*, 2017). Mediante la quelación de hierro se puede inhibir en bacterias su crecimiento y actividad metabólica, y que las células eucariotas carecen de una vía relacionada para la síntesis de transportadores de hierro, sus vías de biosíntesis y absorción también pueden aplicarse al tratamiento antimicrobiano (Guo *et al.*, 2020).

Terapia de fagos

Debido al incremento global de infecciones por bacterias multiresistentes a antibióticos ha llevado a realizar investigación en fagos, una gran cantidad de experimentos ha probado la eficacia de los fagos mejorando la tasa de supervivencia de animales infectados (Shlezinger *et al.*, 2017). Comparado con los antibióticos, las preparaciones con fagos tienen ventajas sobre la alta especificidad, la rápida proliferación y el corto tiempo de desarrollo, en 2007 se encontró que el fago *Msa* podía controlar de manera eficiente las infecciones letales causadas por *S. aureus* mediante una inyección intravenosa en ratones (Delgado *et al.*, 2000). No obstante, de manera similar a los antibióticos las bacterias pueden también ser resistentes a los fagos, además las enzimas líticas de los fagos pueden tener un efecto destructivo sobre la estructura básica de la bacteria, compensado la falta de resistencia de los fagos (Guo *et al.*, 2020).

Nanopartículas

La nanotecnología se refiere a la preparación, investigación e industrialización de sustancias a nanoescala, estudios demuestran que nuevos antibióticos a nanoescala con tan solo 25 nanómetros de diámetro poseen una fuerte inhibición y muerte de microorganismos como *E. coli* y *S. aureus* (Li M. *et al.*, 2017; Wang *et al.*, 2020). Antibióticos a nanoescala tienen varias propiedades como amplio

espectro, hidrofiliidad y proteccio ambiental, lo que no producen resistencia debido al uso de minerales (Guo *et al.*, 2020).

Bibliografía

- ADDIS MF, Tedde V, Puggioni GMG, Pisanu S, Casula A, Locatelli C, Rota N, Bronzo V, Moroni P, Uzzau, S. (2016). *Evaluation of milk cathelicidin for detection of bovine mastitis*. Journal Dairy Science. 99: 8250-8258. <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2016-11407>. Anangonó Martínez, D. T. (2020). *Resistencia antibiótica de Staphylococcus aureus en vacas con mastitis en tres estratos lecheros del cantón Mejía* [Tesis licenciatura, Universidad de las Fuerzas Armadas]. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/24834/1/T-IASA%20I-005703.pdf>
- Alghadban, S., Kenawy, H. I., Dudler, T., Schwaeble, W. J., and Brunskill, N. J. (2019). *Absence of the lectin activation pathway of complement ameliorates proteinuria-induced renal injury*. Front. Immunol. 10:2238. doi: 10.3389/fimmu.2019.02238
- Anuj, S. A., Gajera, H. P., Hirpara, D. G., and Golakiya, B. A. (2019). *Interruption in membrane permeability of drug-resistant Staphylococcus aureus with cationic particles of nanosilver*. Eur. J. Pharm. Sci. 127, 208–216. doi: 10.1016/j.ejps.2018.11.005
- Aretz, J., Anumala, U. R., Fuchsberger, F. F., Molavi, N., Ziebart, N., Zhang, H., et al. (2018). *Allosteric inhibition of a mammalian lectin*. J. Am. Chem. Soc. 140, 14915–14925. doi: 10.1021/jacs.8b08644
- Avilés Ruíz, R., Barrón Bravo, O. G., Gutiérrez Chávez, A. J., & Ruiz Albarrán, M. (2024). *Principales sistemas de producción de leche en México: recopilación actual de parámetros productivos, reproductivos y de manejo*. Ciencias Veterinarias Y Producción Animal, 1(2), 32–47. <https://doi.org/10.29059/cvpa.v1i2.16>
- Bhosale, R. R., Osmani, R. A., Ghodake, P. P., Shaikh, S. M., & Chavan, S. R. (2014). *Mastitis: an intensive crisis in veterinary science*. International Journal of Pharma Research and Health Sciences, 2(2), 96-103.
- DANE (Departamento Administrativo Nacional de Estadística). (2014). *La Mastitis Bovina, enfermedad infecciosa de gran impacto en la producción lechera. Boletín Insumos y Factores Asociados a la Producción Agropecuaria*. 26:1-7. https://www.dane.gov.co/files/investigaciones/agropecuario/sipsa/insumos_factores_de_produccion_ago_2014.pdf.
- Dego, O. K. (2021). *Mastitis in Dairy Cattle, Sheep and Goats*. En IntechOpen eBooks. <https://doi.org/10.5772/intechopen.92965>
- EFSA BIOHAZ Panel (EFSA Panel on Biological Hazards), Koutsoumanis K, Allende A, Álvarez-Ordóñez A, Bolton D, Bover-Cid S, Chemaly M, Davies R, De Cesare A, Herman L, Hilbert F, Lindqvist R, Nauta M, Ru G, Simmons M, Skandamis P, Suffredini E, Argüello H, Berendonk T, Cavaco LM, Gaze W, Schmitt H, Topp E, Guerra B, Liébana E, Stella P and Peixe L, (2021). *Scientific Opinion on the role played by the environment in the emergence*

and spread of antimicrobial resistance (AMR) through the food chain. EFSA Journal 2021;19(6):6651, 188 pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6651>.

- Estrada-Calles, D. M., Rodríguez-Gamboa, M. F., & Velázquez-Álvarez, E. A. (2022). *Resistencia a antibióticos betalactámicos: situación actual y nuevas estrategias*. RD-ICUAP, 22, 13-27. <https://doi.org/10.32399/icuap.rdic.2448-5829.2022.22.682>.
- Fisher, R. A., Gollan, B., and Helaine, S. (2017). *Persistent bacterial infections and persister cells*. Nat. Rev. Microbiol. 15, 453–464. doi: 10.1038/nrmicro.2017.42
- Foster, T. J. (2017). *Antibiotic resistance in Staphylococcus aureus*. Current status and future prospects. FEMS Microb. Rev. 41, 430–449. doi: 10.1093/femsre/fux007
- GÓMEZ DLS. (2015). *Identificación y antibiograma de patógenos relacionados con mastitis bovina en seis comunidades de pequeños productores*. Tesis de licenciatura. Universidad de las Américas. Ecuador. Pp. 2. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/4545>.
- Guo, Y., Song, G., Sun, M., Wang, J., & Wang, Y. (2020). *Prevalence and Therapies of Antibiotic-Resistance in Staphylococcus aureus*. Frontiers In Cellular And Infection Microbiology, Vol. 10. Art. 107. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00107>
- Kester, J. C., and Fortune, S. M. (2014). *Persisters and beyond: mechanisms of phenotypic drug resistance and drug tolerance in bacteria*. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol. 49, 91–101. doi: 10.3109/10409238.2013.869543
- Khazandi, M., Al-Farha, A. A., Coombs, G. W., O’Dea, M., Pang, S., Trott, D. J., Avilés-Ruiz, R., Hemmatzadeh, F., Venter, H., Ogunniyi, A. D., Hoare, A., Abraham, S., & Petrovski, K. R. (2018). *Genomic characterization of coagulase-negative staphylococci including methicillin-resistant Staphylococcus sciuri causing bovine mastitis*. Veterinary Microbiology, 219, 17-22. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.04.004>.
- Leal M. 2014. *Antibacterial efficacy of plant extracts: clinical application in bovine mastitis*. Rev UDCA Actualidad & Divulgación Científica 17: 179-187
- Lee, Y. D., and Park, J. H. (2016). *Phage conversion for beta-lactam antibiotic resistance of Staphylococcus aureus from foods*. J. Microbiol. Biotechnol. 26, 263–269. doi: 10.4014/jmb.1508.08042
- Li, M., Zou, P., Tyner, K., and Lee, S. (2017). *Physiologically based pharmacokinetic (PBPK) modeling of pharmaceutical nanoparticles*. AAPS J. 19, 26–42. doi: 10.1208/s12248-016-0010-3
- Lozada Escobar, K. M. (2024). *Identificación fenotípica de Staphylococcus aureus meticilino resistente mediante cultivo microbiológico a partir de muestras de leche de vacas con mastitis subclínica y muestras de secreciones orofaríngeas del personal encargado del ordeño* [Tesis de licenciatura, UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECURIAS].

<https://repositorio.uta.edu.ec/server/api/core/bitstreams/9ba40167-a65f-4f98-8f0c-2932540833cb/content>.

- Morales, M. (2021). *Determinación de las pérdidas económicas por mastitis bovina, en el hato de la Sierra Ecuatoriana a través del seguimiento longitudinal de la producción, calidad de leche y determinación de células somáticas*. [Tesis de Pregrado, Escuela Superior Politécnica Estatal]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/26771/1/T-IASA%20I-004757.pdf>
- Moreira Mendoza, R. A., & Solórzano Guerrero, Á. D. (2023). *AGENTES CAUSALES DE MASTITIS EN BOVINOS POSITIVOS DE GANADERÍAS ADSCRITAS A CENTRO DE ACOPIO DE LÁCTEOS Y ANTIBIORRESISTENCIA*. [Informe De Trabajo De Integración Curricular, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabí Manuel Félix López]. https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/2289/1/TIC_MV50D.pdf
- Nuti, R., Goud, N. S., Saraswati, A. P., Alvala, R., and Alvala, M. (2017). *Antimicrobial peptides: a promising therapeutic strategy in tackling antimicrobial resistance*. *Curr. Med. Chem.* 24, 4303–4314. doi: 10.2174/0929867324666170815102441
- Quispe, R., Peña, G., & Andía, V.. (2021). *Resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* aislados de leche de vacas con mastitis*. *Revista veterinaria*, 32(1), 79-83. <https://dx.doi.org/10.30972/vet.3215640>
- Rodríguez Pulido, L. (2022). *Procedimientos de identificación de bacterias causantes de la mastitis en bovinos y pruebas de sensibilidad: pasantía en el laboratorio de ciencias básicas de la Universidad Antonio Nariño, Bogotá*. [Universidad Antonio Nariño] <http://repositorio.uan.edu.co/handle/123456789/7455>.
- RUIZ GAK, Peña RJ, Remón DD. (2016). *Mastitis bovina en Cuba. Artículo de revisión*. *Revista de producción animal*. 28 (2-3):39-50. ISSN 2224-7920. [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202016000200006#:~:text=La%20mastitis%20bovina%20se%20ha,cubana%20\(Ponce%20202009\)](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-79202016000200006#:~:text=La%20mastitis%20bovina%20se%20ha,cubana%20(Ponce%20202009)).
- Valenzuela M. 2010. *Sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis clínica bovina en rebaños lecheros de la Región de Los Ríos*. Tesis de grado, Universidad Austral de Chile, p. 25-31.
- VISSIO C, Agüero DA, Raspanti CG, Odierno LM, Larriestra AJ. (2015). *Pérdidas productivas y económicas diarias ocasionadas por la mastitis y erogaciones derivadas de su control en establecimientos lecheros de Córdoba, Argentina*. *Archivos de Medicina Veterinaria*. 47 (1):7-14 ISSN 0301-732X. <http://dx.doi.org/10.4067/S0301-732X2015000100003>.

- Wang, Q., Yang, Q., Wu, W. (2020). *Graphene-based steganographic aptasensor for information computing and monitoring toxins of biofilm in food*. *Front. Microbiol.* 10:3139. doi: 10.3389/fmicb.2019.03139
- World Organisation for Animal Health (WOAH). (2007). *MANUAL DE RECOLECCION, CONSERVACION y ENVIO DE MUESTRAS AL LABORATORIO PARA DIAGNOSTICO DE ENFERMEDADES COMUNES DE LOS ANIMALES*. En <https://www.woah.org>. Recuperado 17 de agosto de 2024, de https://www.woah.org/fileadmin/Home/esp/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/1.1.01_Muestreo_2007.pdf
- Yang, J. J., Cheng, A., Tai, H. M., Chang, L. W., Hsu, M. C., and Sheng, W. H. (2019). *Selected mutations by nemonoxacin and fluoroquinolone exposure among relevant gram-positive bacterial strains in Taiwan*. *Microb. Drug Resist.* 26, 110–117. doi: 10.1089/mdr.2019.0048