

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA**



VALORACIÓN *IN VITRO* DE ANTIBIÓTICOS FRENTE A *Staphylococcus spp* y  
*Streptococcus spp* AISLADOS DEL TRACTO RESPIRATORIO ALTO EN  
VACUNOS DE PUNO

**TESIS**

**PRESENTADO POR:**

**Bach. HÉCTOR NAPOLEÓN HOLGUÍN ESPINOZA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**2017**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TESIS

Valoración *in vitro* de antibióticos frente a *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp* aislados del tracto respiratorio alto en vacunos de puno

PRESENTADA POR:

Bach. HÉCTOR NAPOLEÓN HOLGUÍN ESPINOZA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNIA



APROBADA POR:

PRESIDENTE:

  
Mg. Sc. Abigail Teresa DE LA CRUZ PÉREZ

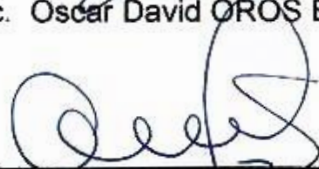
PRIMER MIEMBRO:

  
Mg. Sc. Harold PORTOCARRERO PRADO

SEGUNDO MIEMBRO:

  
Mg. Sc. Oscar David OROS BUTRON

DIRECTOR:

  
Mg. Sc. Alberto SOTO QUISPE

ASESOR:

  
Dr. Julio MÁLAGA APAZA

Área : Salud animal

Tema : Antibióticos en vacunos

Fecha de sustentación: 27 de diciembre del 2017

*DEDICATORIA*

*A Dios*

*Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud, para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.*

*A mis padres Juan, por su apoyo incondicional en mi carrera profesional, a mi madre Aurelia (Q.E.P.D.), por darme la vida y porque siempre me diste aliento noble.*

*A mis hermanos Walter, Peter y Margot, por estar conmigo y apoyarme siempre.*

## AGRADECIMIENTOS

*Mi sincero agradecimiento a los docentes de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano, por haberme impartido sus enseñanzas que contribuyeron a mi formación Profesional.*

*A los docentes Mg. Sc. Alberto Soto Q. al Mg. Oscar Orós B. y al Dr. Julio Málaga A. , que entodo momento me apoyaron y guiaron en la realización de este trabajo de investigación.*

*Mis agradecimientos al Sr. César Condori, gerente del centro de beneficio “Señor de la Agonía”, por haberme permitido tomar muestras para la realización de dicho trabajo.*

*A mis compañeros de Promoción de estudio, Roberto Choque T. Fredy Velásquez F. Víctor Velásquez P. Desiderio Guevara G. y Andrés Condori T.*

## ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA .....	3
AGRADECIMIENTOS .....	4
ÍNDICE GENERAL.....	5
INDICE DE FIGURAS .....	7
ÍNDICE DE TABLAS .....	8
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS.....	9
RESUMEN.....	10
ABSTRACT.....	11
I. INTRODUCCIÓN.....	12
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	15
2.1. Resistencia a los antibióticos.....	15
2.2. Antibióticos .....	15
2.2.1. Penicilina .....	16
2.2.2. Tetraciclina .....	17
2.2.3. Eritromicina .....	19
2.2.4. Enrofloxacin.....	19
2.2.5. Estreptomycin.....	20
2.2.6. Ceftiofur.....	21
2.3. Bacterias .....	21
2.3.1. Género <i>Staphylococcus</i> .....	21
2.3.2. Antibiograma para <i>Staphylococcus spp</i> .....	23
2.3.3. Género <i>Streptococcus</i> .....	23
2.3.4. Antibiograma para <i>Streptococcus spp</i> .....	24
2.4. Método disco difusión (Kirby Bauer) .....	24
2.4.1. Preparación del inóculo para las pruebas de difusión por disco.....	25
2.5. Categoría de interpretación del antibiograma .....	29
2.6. Selección de los antibióticos.....	30
2.7. Enfermedad respiratoria bovina.....	30
2.8. Antecedentes de la investigación. ....	31

III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	35
3.1. LUGAR DE ESTUDIO .....	35
3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL .....	35
3.2.1. TAMAÑO DE MUESTRA .....	35
3.2.2. Materiales y equipos .....	36
3.3. METODOLOGÍA.....	38
3.3.1. Selección de los animales. ....	38
3.3.2. Procedimiento para aislamiento primario de los microorganismos	38
3.3.3. Identificación de los microorganismos.....	39
3.3.4. Metodología sensibilidad antimicrobiana .....	40
3.4. MÉTODO ESTADÍSTICO .....	41
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	42
4.1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN CEPAS DE <i>Staphylococcus spp</i> y <i>Streptococcus spp</i> DEL TRACTO RESPIRATORIO DE VACUNOS. ....	42
4.2. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS AISLADAS DE <i>Staphylococcus</i> y <i>Streptococcus</i> A LOS ANTIBIÓTICOS.....	44
4.2.1. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS AISLADAS A LA PENICILINA.....	44
4.2.2. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS A LA TETRACICLINA .....	45
4.2.3. GRADO SENSIBILIDAD DE CEPAS AISLADAS A LA ERITROMICINA.....	47
4.2.4. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS AISLADAS DE VACUNOS A LA ENROFLOXACINA.....	48
4.2.5. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS AISLADAS EN VACUNOS A LA ESTREPTOMICNA .....	49
4.2.6. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS BACTERIANAS AL CEFTIOFUR .....	50
V. CONCLUSIONES.....	52
VI. RECOMENDACIONES.....	53
VII. REFERENCIAS.....	54
VIII ANEXOS. ....	58

**INDICE DE FIGURAS**

Figura 1. Muestreo de secreción de fosas nasales en vacunos del camal de Puno.....	60
Figura 2. Transporte de muestras, hisopados de secreción de fosas nasales al Laboratorio de Microbiología de la UNA-Puno. ....	60
Figura 3. Placas Petri con agar sangre con hemolisis alfa y agar manitol salado, mostrando Cepas manitol positivo y manitol negativo.....	61
Figura 4. Placas Petri con agar Mueller Hinton para Staphylococcus spp y M-H con sangre desfibrinada para antibiograma de Streptococcus spp. ....	61

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1. Frecuencia de cepas bacterianas aisladas del tracto respiratorio de vacunos de Puno .....	42
Tabla 2. Sensibilidad a la penicilina de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno .....	44
Tabla 3. Sensibilidad a la tetraciclina de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno.....	46
Tabla 4. Sensibilidad a la eritromicina de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno.....	47
Tabla 5: Sensibilidad a la enrofloxacin de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno .....	48
Tabla 6: Sensibilidad a la estreptomicina de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno .....	50
Tabla 7: Sensibilidad al ceftiofur de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno.....	51
Tabla 8. Cuadro general de resultados .....	58
Tabla 9. Diámetro de halo e interpretación de la sensibilidad bacteriana para <i>Staphylococcus spp</i> .....	59
Tabla 10. Diámetro de halo para e interpretación de la sensibilidad bacteriana para <i>Streptococcus spp.</i> Grupo $\beta$ hemolítico. ....	59



**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

C L S I	Instituto de estándares clínicos y de laboratorio.
CENAGRO:	Censo Nacional Agropecuario
C°:	grados centígrados.
CO <sub>2</sub>	Bióxido de carbono.
Km:	kilómetro.
IM	Intramuscular.
INEI	Instituto Nacional de Estadística e informática.
L	Litro
mg	miligramo
ml.	mililitros.
m.s.n.m:	metros sobre el nivel del mar.
nm	nanómetro.
mL:	micro litros.
ug	microgramos
%:	porcentaje.
R	Resistente
S	Sensible
I	Intermedio

## RESUMEN

La investigación se realizó en vacunos de Puno, con el objetivo de aislar e identificar cepas de *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp* del tracto respiratorio alto en vacunos, y determinar el grado de sensibilidad frente a la penicilina, tetraciclina, eritromicina, enrofloxacina, estreptomina y ceftiofur. Las muestras fueron 20 hisopados de fosas nasales de vacunos sanos y enfermos en el camal de la ciudad de Puno; el análisis bacteriológico se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNA - Puno. Los datos fueron interpretados en frecuencias. Los resultados fueron: En el tracto respiratorio de vacunos enfermos se encontró la asociación de *Staphylococcus aureus* -*Streptococcus pyogenes* en 5 animales que representa el 50.0 %, en 2 animales se determinaron la asociación *Streptococcus pyogenes* - *Staphylococcus saprophyticus* que representa el 20.0 %, en 2 animales se aisló solo *Staphylococcus aureus* que representa el 20.0 % y de un animal se aisló una cepa *Streptococcus pyogenes* que representa el 10.0 %. El 100 % de cepas aisladas del tracto respiratorio de los vacunos enfermos y sanos fueron sensibles a enrofloxacina y ceftiofur, lo que indica, que estos antibióticos pueden ser empleados en tratamientos de infecciones respiratorias en vacunos. Asimismo, las cepas fueron sensibles en 48, 88, 76 y 64 % y resistentes en 52, 8, 4 y 8 % a la penicilina, tetraciclina, eritromicina y estreptomina, respectivamente.

**PALABRAS CLAVES:** Antibióticos, Sensibilidad, *Staphylococcus*, *Streptococcus*

**ABSTRACT**

The research was conducted in cattle of Puno, with the aim of isolating and identifying strains of *Staphylococcus spp* and *Streptococcus spp*. Of the upper respiratory tract in cattle, and determining the degree of sensitivity to penicillin, tetracycline, erythromycin, enrofloxacin, streptomycin and ceftiofur. The samples were 20 swabs of nasal fossae of healthy and diseased cattle in the slaughterhouse of the city of Puno; The bacteriological analysis was carried out in the Microbiology laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of the UNA - Puno. The data was interpreted in frequencies. The results were: In the respiratory tract of diseased cattle was found the association of *Staphylococcus aureus* -*Streptococcus pyogenes* in 5 animals representing 50.0%, in 2 animals were determined the association *Streptococcus pyogenes* - *Staphylococcus saprophyticus* that represents 20.0%, in 2 animals were isolated only *Staphylococcus aureus* representing 20.0% and from one animal a *Streptococcus pyogenes* strain was isolated representing 10.0%. 100% of strains isolated from the respiratory tract of diseased and healthy cattle were sensitive to enrofloxacin and ceftiofur, which indicates that these antibiotics can be used in treatments of respiratory infections in cattle. Likewise, the strains were sensitive in 48, 88, 76 and 64% and resistant in 52, 8, 4 and 8% to penicillin, tetracycline, erythromycin and streptomycin, respectively.

**KEY WORDS:** Antibiotics, Sensitivity, *Staphylococcus*, *Streptococcus*

## I. INTRODUCCIÓN

La incertidumbre de conocer si un antibiótico es correctamente utilizado en el tratamiento de las enfermedades infecciosas, es un problema importante en la práctica veterinaria en nuestro medio, en razón a que no se prescribe un determinado antibiótico con el apoyo de análisis de sensibilidad a estos fármacos, por consiguiente hacemos uso inapropiado e indiscriminado de estos antibióticos, contribuyendo de esta manera a incrementar o propiciar la instauración de mecanismos de resistencia por parte de las bacterias hacia los fármacos empleados. Al respecto Domínguez *et.al.* (2010), manifiesta que las alertas que se produjeron en las dos últimas décadas en relación con las resistencias a antimicrobianos en ganadería, han conducido al desarrollo de diferentes medidas que han mejorado sustancialmente el uso de los antimicrobianos en veterinaria. Estas medidas tienen que ver fundamentalmente con la aplicación de la nueva ley del medicamento, y promover alternativas al empleo de antimicrobianos, especialmente las dirigidas a la prevención de las enfermedades bacterianas. Estas actuaciones deben complementarse con las acciones formativas y de concientización de todos los agentes implicados (veterinarios, ganaderos, industria farmacéutica, distribuidores de medicamentos y grandes distribuidores de alimentos).

El uso de antibióticos en producción animal ha tenido históricamente un enfoque doble; por un lado, su empleo terapéutico y por el otro su empleo como promotor del crecimiento. Sin embargo, el progresivo aumento en el uso de antibióticos, tanto en medicina humana como en veterinaria y agricultura, fue dando lugar a las bacterias resistentes y por lo tanto la utilidad clínica de alguno de ellos comenzó a disminuir. Al respecto diversos Organismos nacionales e

internacionales han elaborado informes al respecto, todos ellos coinciden en sus conclusiones en tres recomendaciones principales; primero, es imprescindible instaurar sistemas de vigilancia de resistencias en bacterias de origen humano y animal, segundo, es indispensable disponer también de datos del consumo de antibacterianos en producción animal y tercero, hay que potenciar la difusión y la aplicación de los principios de uso prudente de antibióticos (Ghizlane, 2006).

Gimeno Ortega (2005), manifiesta que, el problema de la resistencia se hace extensible al mundo de la ganadería, ya que también en Sanidad Animal se está detectando un importante incremento de microorganismos que presentan resistencia a los antibióticos y que por tanto poseen un riesgo añadido, el de la transferencia de esa resistencia al hombre. Se ha detectado que la persistencia en el medio ambiente de residuos de antibióticos o de microorganismos saprófitos, son capaces de resistir a la mayoría de los antibióticos como consecuencia de un contacto permanente con ellos y que jugarán un papel clave como transmisores de la resistencia a microorganismos patógenos, en los que la actividad de los antibióticos es un aspecto clave.

Las enfermedades infecciosas de los vacunos de la Cuenca de Lima Perú, entre las más comunes son: la neumonía 67.8%, trastornos digestivos 12.7% y lesiones músculo esquelético 6.6 % (Evaristo, 2013).

Estudios epidemiológicos y económicos realizados en bovinos de engorde en Estados Unidos y Canadá, indican que la enfermedad respiratoria bovina es causa

de 75% de morbilidad y 65% de mortalidad, ocasionando grandes pérdidas económicas a los ganaderos, asimismo indica que de pulmones afectados

identificaron a *Pasteurella multocida* y bacterias piógenas, la predominancia de estas especies en tejidos afectados se refleja similarmente cuando se recuperan bacterias utilizando hisopos nasales. Esta correlación entre aislamiento de tejido recuperación bacterial de hisopados, indica no solamente que la bacteria se encuentra proliferando en las vías respiratorias altas, sino que además tiene una gran capacidad de descender al tracto respiratorio bajo para comprometer fatalmente las funciones respiratorias del hospedero (Zanabria, 2000). Por los motivos antes indicados se planteó los objetivos: Aislar e identificar cepas de *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp* del tracto respiratorio de vacunos en Puno y Determinar el grado de sensibilidad del *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp* aislados en vacunos frente a la penicilina, tetraciclina, eritromicina, enrofloxacina, estreptomycin y ceftiofur.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Resistencia a los antibióticos

La resistencia a la mayoría de los antibióticos es como consecuencia de un contacto permanente con ellos y que juegan un papel clave como transmisores de la resistencia a microorganismos patógenos. Esta situación ha llevado a que la resistencia a antibióticos pase a ser uno de los desafíos importantes a los que se enfrenta la salud pública veterinaria actual (que englobaría elementos de sanidad animal, salud pública o de ecología). En lo que respecta al punto de vista veterinario, hay que considerar que en general la resistencia a antibióticos es la consecuencia de la producción animal bien por la necesidad de instaurar tratamientos desde el punto de vista sanitario cuando aparece una enfermedad o bien desde la perspectiva de rentabilizar esa producción, caso del uso de antibióticos como promotores de crecimiento en algunas especies. El efecto final de la resistencia a antibióticos es por un lado la “aparición de cepas bacterianas multiresistentes a antibióticos” y por otro lado la “presencia de residuos” y contaminantes (restos de antibióticos) en subproductos de origen animal destinados a consumo humano y el consiguiente riesgo de su transmisión en esa cadena alimenticia y al propio medio ambiente (Gimeno y Ortega, 2005).

### 2.2. Antibióticos

La actividad de un fármaco anti infeccioso está definida por su espectro antibacteriano, es decir, el conjunto de agentes patógenos que son afectados por las concentraciones del antibiótico que se pueden alcanzar en el paciente, sin causar toxicidad. En el momento actual, la inmensa mayoría de los

antibióticos actúan sobre varias bacterias y a su vez, numerosas bacterias son afectadas por varios antibióticos. Esto obliga a tener que efectuar una elección para el mejor beneficio del paciente (Flórez *et al.*, 1997).

### 2.2.1. Penicilina

Antibiótico muy eficaz y de casi nula toxicidad, descubierto por Alexander Fleming en 1928, 10 años después la purificación hecha por Florey, Chain y Abraham en Oxford permitió disponer de la penicilina en la aplicación clínica, aunque esta sustancia inicialmente se obtuvo del cultivo de *Penicillium notatum* en superficie, en la actualidad los cultivos en tanques de *Penicillium chrysogenum* irradiado hacen de la extracción de la penicilina un proceso fácil y productivo. De las penicilinas que se obtienen; F, G, K, O, X, etc. La única que resultó clínicamente útil es la bencilpenicilina o penicilina G (Sumamo y Ocampo 2006). A ella se asociaron la procaina y la benzatina para prolongar su presencia en el organismo, obteniéndose las respectivas suspensiones; bencilpenicilina procainica y bencilpenicilina benzatinica, que sólo se pueden administrar por vía intramuscular (Flórez *et al.*, 1997)

El grupo de los  $\beta$ -lactámicos, es conocido por su escasa toxicidad y alta eficacia, pero con las limitaciones la inestabilidad frente al pH gástrico, falta de actividad frente a bacterias Gram negativas e inactivación por la  $\beta$ -lactamasa producida por las bacterias, llevaron al descubrimiento de derivados semisintéticos del antibiótico original basado en esa porción. El desarrollo ulterior de las cefalosporinas, con mayor actividad y resistencia que las penicilinas, así como los carbapenémicos y monobactámicos (Botana *et al.*, 2002).

Las penicilinas son bactericidas y actúan por inhibición de la síntesis de



mucopeptidos en la pared celular, lo que da lugar a una barrera defectuosa y un esferoplasto osmóticamente inestable, estos antibióticos se unen dentro de la membrana citoplasmática a varias enzimas como la carboxipeptidasas, transpeptidasas, endopeptidasas, involucradas en la síntesis de la pared celular. Para reducir la inactivación de las penicilinas por parte de las  $\beta$ -lactamasas, se han desarrollado el clavulanato de potasio y el sulbactam, que inactivan estas enzimas y extienden el espectro de las penicilinas siendo efectivas contra; *Escherichia coli*, *Pasteurella spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Klebsiella* y *Proteus*. Las penicilinas suelen ser ampliamente distribuidas a través de todo el cuerpo, la mayoría de ellas alcanza niveles terapéuticos, en los riñones, hígado, corazón, piel, pulmones, intestinos, bilis, hueso, próstata, y líquidos; peritoneal, pleural y sinovial. La mayoría de las penicilinas se excretan con rapidez y sin cambios, a través de los riñones en la orina por medio de filtración glomerular y secreción tubular (Plumb & Pharm, 2010).

Una unidad internacional (UI), es la actividad de la penicilina incluida en 0.6  $\mu$ g de sal sódica, y por lo tanto, 1 mg de dicha sal contendrá 1 667 UI de penicilina. Un mg de sal potásica contiene 1 595 UI. Un mg de la sal procainica tiene una equivalencia de 1 000 UI (Sumamo & Ocampo, 2006).

### **2.2.2. Tetraciclina**

Descubierta en 1940, obtenida a partir de varias especies de *Streptomyces*, son considerados de amplio espectro, ya que son efectivas contra bacterias Gram negativas, tanto aerobias como anaerobias, así como Gram positivas, e incluso

contra algunos protozoos. Como en muchos casos, el incremento de las

resistencias en los patógenos más comunes, agravado por la utilización de estos antibióticos como promotores de crecimiento, ha limitado su uso terapéutico en los últimos años. Actualmente suelen utilizarse como antibióticos de primera elección preferentemente en rumiantes y ganado porcino, aunque también tienen implicaciones en diversos animales de compañía, para el tratamiento de infecciones causadas sobre todo por bacterias atípicas como rickettsias, chlamideas, micobacterias y micoplasmas (*Botana et al.*, 2002).

Las tetraciclinas por lo general actúan como bacteriostáticos, inhiben la síntesis de proteína al unirse en forma reversible a las subunidades ribosomales 30S, previniendo de esta forma la unión a esos ribosomas de la aminoacil ARNtransferencia, además alteran la permeabilidad de la membrana citoplasmática de los microorganismos susceptibles. La oxitetraciclina y las tetraciclinas comparten casi idénticos espectros de actividad y patrones de resistencia cruzada, y por lo general, un disco de tetraciclina es usado para la evaluación *in vitro*, de la susceptibilidad de la oxitetraciclina. Tanto la oxitetraciclina como la tetraciclina se absorben con facilidad después de la administración oral en animales, en ayunas, la biodisponibilidad es del 60 a 80%. Después de la administración IM la tetraciclina es errática y escasamente absorbida, y los niveles séricos suelen ser más bajo que los alcanzados con la administración oral. Son ampliamente distribuidos al corazón, riñones, pulmones, músculos, líquido pleural, secreciones bronquiales, esputo, bilis, saliva, orina, líquido sinovial, líquido ascítico y los humores vítreo y acuoso. Tanto la oxitetraciclina como la tetraciclina, se eliminan sin modificarse, principalmente por filtración glomerular, estas drogas parecen ser no metabolizadas, pero se excretan hacia el tracto gastrointestinal por vía biliar y no biliar y pueden

inactivarse posterior a la quelación con materiales fecales (Plumb y Pharm, 2010).

### 2.2.3. Eritromicina

La eritromicina es un agente bacteriostático, pero en altas concentraciones y en algunos microorganismos susceptibles puede tener acción bactericida, se cree que la eritromicina y la tilocina actúan uniéndose a la subunidad ribosomal 50S, de las bacterias susceptibles inhibiendo así la formación de péptidos. Este antibiótico tiene actividad in vitro contra estafilococos y estreptococos, así como *Bacillus anthraxis*, *Corinebacterium*, *Clostridium spp*, *Listeria*, *Erysipilothrix* y algunos bacilos Gram negativos como *Haemophylus*, *Pasteurella* y *Brucella*. La eritromicina se absorbe después de la administración oral en la porción proximal del intestino delgado, después de la inyección IM (intra muscular) o SC (sub cutánea), en los bovinos la absorción es muy lenta, la biodisponibilidad es de solo 40% después de la inyección subcutánea y 65% después de la intra muscular (Plumb y Pharm, 2010).

Pertenece al grupo de los macrólidos, también producidos por diversas especies de *Streptomyces*, que comparten una estructura química característica. La eritromicina y algunos otros antibióticos relacionados contienen un anillo de lactona macrocíclica, formado por 14 átomos de carbono (Botana et al. 2002)

### 2.2.4. Enrofloxacin

Agente bactericida, dependiendo de la concentración alcanzada y la muerte

de las bacterias susceptible ocurre dentro de los 20 a 30 minutos, Tiene un

efecto post antibiótico tanto en bacterias Gram positivas como Gram negativas y es activa tanto en la fase estacionaria como en la de crecimiento. Su mecanismo de acción es por la inhibición del ADN girasa bacteriana, (unas topoisomerasa tipo II) que impide así el enrollamiento y la síntesis de la cadena de ADN. Las fluoroquinolonas tienen actividad variable contra la mayoría de los *Streptococcus* y actividad débil contra bacterias anaerobias. La enrofloxacin se absorbe bien después de la administración oral en la mayoría de las especies. Se informa que el 50% de la concentración máxima se logra 15 minutos después de la administración y los niveles máximos se logran luego de 1 hora. La eliminación es tanto por la vía renal como por mecanismos no renales, entre 15 y 50% de la droga se excreta sin cambios por la orina (Plumb & Pharm, 2010).

#### **2.2.5. Estreptomicina.**

Pertenece al grupo de los aminoglucósidos, utilizadas para tratar infecciones debidas a bacterias Gram negativas aerobias. Dentro del grupo de antibióticos que actúa inhibiendo la síntesis de proteínas, son los únicos claramente bactericidas en concentraciones terapéuticas. Su estructura presenta un núcleo hexosa, generalmente en posición central, al que se unen mediante enlaces glucosídicos, dos o más azúcares, la hexosa o aminociclitol es una estreptidina en la estreptomicina o una 2-desoxi-estreptamina en los demás miembros, por tanto, todos los miembros del grupo se llaman aminoglucósidos. La inhibición de la síntesis de proteínas se basa en la unión, mucho más fuerte a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano. Todos los aminoglucósidos son más activos a pH alcalino, por tanto, son ineficaces en infecciones urinarias ni en presencia de pus, debido a su pH ácido. Todos los aminoglucósidos tienen efecto sinérgico con los antibióticos beta-lactámicos y otros antibióticos como los

macrólidos, ya que estos incrementan la tasa de incorporación de los aminoglucósidos, por las células bacterianas, aunque la administración conjunta, con las cefalosporinas puede producir un incremento en la nefrototoxicidad (Botana et al. 2002).

### **2.2.6. Ceftiofur.**

En bovinos el ceftiofur está aprobado para el tratamiento de enfermedades respiratorias, neumonía, fiebre del transporte asociadas con *Mannheimia ahemolítica*, *Salmonella cholerasuis*, *Histophilus sommei*. En casos de mastitis asociados con *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus dysgalactiae*, y *Streptococcus uberis*. El ceftiofur es una cefalosporina de tercera generación, activa contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, inhibe la síntesis de la pared bacteriana en estadio tres. En bovinos y porcinos el ceftiofur es rápidamente metabolizado a desfuroilceftiofur, tiene prácticamente parámetros farmacocinéticos similares. Los niveles máximos son cercanos 7 µg/L, posterior a la inyección IM, la vida media de eliminación es de 8 a 12 horas. Estructuralmente es similar a la cefotaxima (Plumb & Pharm, 2010).

## **2.3. Bacterias**

### **2.3.1. Género *Staphylococcus***

Se clasifica tradicionalmente en la familia *Micrococcaceae*. Recientemente en la 2da. Edición de Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, el género *Staphylococcus* se ha incluido en la sección XXII (bacilos y lactobacilos) del volumen 3, dentro de la familia *Staphylococcaceae*, los estafilococos son cocos Gram positivos de 0,5 a 1,5 µm de diámetro, que se presentan sueltos, en

parejas, en pequeñas cadenas y más característicamente en grupos irregulares en forma de racimo. Son anaerobios facultativos, catalasa positivos, generalmente oxidasa negativos, no esporulados, inmóviles no tienen cápsula o tienen una limitada formación capsular. Se reconocen 32 especies y varias subespecies, de las cuales, según produzcan o no la enzima coagulasa, se dividen en dos grupos; Estafilococos coagulasa positivos (ECP) con poder patógeno, y los Estafilococos coagulasa negativos (ECN). En el grupo de los ECP se incluyen *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. delphini* y *S. schleiferi sub grupo coagulans*, ampliamente difundidos en la naturaleza, hábitat natural es la piel y las membranas mucosas de los mamíferos y las aves, también pueden encontrarse en forma transitoria en el tracto gastrointestinal (Vadillo *et al.*, 2003).

Para la identificación, se pueden utilizar pruebas bioquímicas relativamente sencillas como las reacciones positivas para la coagulasa, proteína A, nucleasa termoestable y fermentación de manitol, para diferenciar *S. aureus* de otros estafilococos. La identificación de los estafilococos coagulasa negativos resulta más complicada y exige el uso de sistemas comerciales diseñados para ello. No se pueden emplear estos métodos para identificar de forma directa los estafilococos presentes en muestras clínicas o detectadas en un hemocultivo. Se pueden utilizar los patrones de sensibilidad antimicrobiana (antibiogramas), los patrones bioquímicos (biotipaje o caracterización bioquímica), la sensibilidad a los bacteriófagos (fagotipaje) y el análisis de ácidos nucleicos con el propósito de caracterizar a las especies aisladas con fines epidemiológicos. Los antibiogramas y los biotipos se llevan a cabo en la mayor parte de los laboratorios para la identificación habitual de una cepa (Murray *et al.* 2007).

### 2.3.2. Antibiograma para *Staphylococcus spp*

El Instituto Nacional de Salud (INS NT, 2002) recomienda el procedimiento para realizar antibiograma para el Género *Staphylococcus* indicando lo siguiente:

- Medio de cultivo, agar Mueller-Hinton
- Inóculo, suspensión directa de la colonia en caldo Mueller-Hinton o solución salina al 0.9 % a partir de un cultivo en agar no selectivo de 18–24 h de incubación, ajustar la turbidez equivalente al estándar 0,5 de la escala de Mc. Farland.
- Incubación, 35°C.
- Lectura, a las 16–18 h a las 24 h para el disco de oxacilina

### 2.3.3. Género *Streptococcus*

En cuanto a la clasificación, en los últimos años ha sufrido continuas modificaciones, en la segunda edición del Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, el Género *Streptococcus* se ha incluido en la Sección XXII (bacilos y lactobacilos) del volumen 3, dentro de la familia *Streptococcaceae* son células esférica u ovoides, con un diámetro de 0,5 a 2 µm de diámetro, que se dividen en un plano y pueden quedar adheridas y formar parejas o bien cadenas largas cuando crecen en medios de cultivo líquidos, a excepción de algunas especies, son generalmente inmóviles no capsuladas, requieren de medios de cultivo enriquecidos con sangre o suero, crecen mejor en condiciones de microaerofilia (Vadillo *et al.*, 2003) Para la identificación, históricamente se ha identificado a *S. pyogenes* por su sensibilidad a bacitracina, con este método se coloca un disco saturado con bacitracina en una placa inoculada con estreptococos del grupo A y

tras una noche de incubación, se asignan al grupo A de estreptococos todas aquellas cepas inhibidas por bacitracina. (Murray *et al.* 2007).

#### **2.3.4. Antibiograma para *Streptococcus spp***

El Instituto Nacional de Salud (INS NT, 2002) recomienda el procedimiento para realizar Antibiograma para el Género *Streptococcus*, indicando lo siguiente:

- Medio de cultivo, agar Mueller-Hinton con 5% sangre de carnero, no aplicar más de 9 discos en las placas de 150 mm, ni más de 5 en las placas de 100 mm.
- Inóculo, suspensión directa de la colonia (a partir de una placa de agar sangre de carnero incubada 16 – 18 horas), ajustar a la turbidez equivalente al estándar 0,5 de la escala de Mc Farland.
- Incubación, 35°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>.
- Lectura, 20 – 24 h.

#### **2.4. Método disco difusión (Kirby Bauer)**

El CLSI (2009), indica que las pruebas de difusión por disco que están basadas exclusivamente en la presencia o ausencia de un halo de inhibición sin tener en cuenta el diámetro del halo, no son válidas para determinar la sensibilidad a los antimicrobianos. Solo se obtendrán resultados fiables con las pruebas de difusión por disco basadas en una metodología estandarizada y diámetros del halo de inhibición correlacionados con las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de cepas cuya sensibilidad o resistencia a diversos agentes antimicrobianos se conoce. Asimismo, indica que, los discos deben conservarse refrigeradas a una temperatura  $\leq 8^{\circ}$  C o congelarlos a  $\leq -14^{\circ}$  C hasta el momento de usarlos.



### **2.4.1. Preparación del inóculo para las pruebas de difusión por disco**

#### **a) Turbidez estándar para la preparación del inóculo**

Para estandarizar la densidad del inóculo del antibiograma, debe usarse un patrón de turbidez de sulfato de bario equivalente al 0,5 de la escala de McFarland, Agregando 0,5 mL de una solución de  $\text{BaCl}_2$  0,048 M ( $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  al 1,175% P/V) a 99,5 mL de una solución de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,18 M (0,36 N) (1% V/V) en constante movimiento para mantener la suspensión. Verificar que la densidad de la turbidez estándar es correcta midiendo la absorbancia en un espectrofotómetro con 1 cm de diámetro del paso de la luz y cubetas en paralelo. Para el patrón 0,5 de McFarland la absorbancia a 625 nm debe ser de 0,08 a 0,13 (CLSI, 2009)

#### **b) Preparación del inóculo**

El método de suspensión directa de colonias es el más adecuado para la preparación del inóculo. Este método puede usarse para la mayoría de los microorganismos; es el método recomendado para las pruebas de microorganismos fastidiosos. Preparar el inóculo haciendo un caldo directo o suspensión salina de las colonias aisladas, seleccionadas de una placa de agar después de 18 a 24 horas de incubación (debe utilizarse un medio no selectivo, como el agar sangre). Ajustar la turbidez de la suspensión hasta que sea equivalente al estándar 0,5 de la escala de McFarland. Para realizar este paso con exactitud, se debe utilizar un equipo fotométrico o, si se realiza visualmente, una luz adecuada para comparar el tubo del inóculo con el estándar 0,5 de McFarland frente a una tarjeta de fondo blanco y líneas negras (CLSI, 2009).

### **c) Inoculación de las placas**

CLSI (2009) establece los siguientes pasos en el procedimiento:

1. Lo ideal es que dentro de los 15 minutos después de haber ajustado la turbidez de la suspensión del inóculo, se sumerja un hisopo de algodón estéril en la suspensión ajustada. Se debe rotar el hisopo varias veces y presionar firmemente por las paredes internas del tubo, por encima del nivel del líquido. Este procedimiento elimina el exceso de líquido del hisopo.
2. Inocular la superficie seca de una placa de agar Mueller-Hinton estriando con el hisopo toda la superficie del agar estéril. Repetir este procedimiento estriando dos veces más el hisopo, rotando la placa aproximadamente 60° cada vez para asegurar una distribución homogénea del inóculo. Como paso final, se debe estriar el hisopo por el borde del agar.
3. La tapa puede dejarse entreabierta durante tres a cinco minutos, pero no más de 15 minutos, para permitir que el exceso de humedad de la superficie se absorba antes de aplicar los discos impregnados con el antibiótico.

### **d) Dispensación de los discos en las placas de agar inoculadas.**

CLSI (2009) establece los siguientes pasos en el procedimiento:

1. Depositar la batería predeterminada de los discos de antimicrobiano sobre la superficie inoculada del agar. Cada disco debe presionarse para asegurar un contacto completo con la superficie del agar. Los discos colocados individualmente o con un dispensador deben distribuirse de manera equidistante uno del otro con una separación que no debe ser menor de 24 mm de centro a centro. Normalmente, no deben colocarse más de 12 discos en una placa de 150 mm ni más de cinco en una placa de 100 mm. Sin

embargo, con el fin de evitar la superposición de halos, siempre es mejor colocar los discos que se espera que den halos pequeños (por ejemplo, gentamicina y vancomicina) al lado de los que dan halos más grandes (como los de cefalosporinas). También es importante prestar atención a la proximidad de los discos al borde de las placas, independientemente del número de discos colocados. Si los discos están muy cerca del borde de las placas, algunos antimicrobianos podrían dar halos que no sean totalmente circulares. Debido a que algunos fármacos difunden casi instantáneamente, el disco no debe cambiarse de lugar después de haber entrado en contacto con la superficie del agar.

2. Invertir las placas y colocarlas en una incubadora a  $35 \pm 2$  °C (las temperaturas de  $> 35$ °C pueden impedir la detección de estafilococos resistentes a metilicina) antes de que transcurran 15 minutos de haberse colocado los discos. Las placas no deben incubarse en una atmósfera rica en CO<sub>2</sub>, excepto en el caso de *Haemophilus spp.*, *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis* y estreptococos, ya que las normas de interpretación se desarrollaron en atmósfera normal y el CO<sub>2</sub> altera significativamente el tamaño de los halos de inhibición de algunos agentes.

#### **e) Lectura de las placas e interpretación de los resultados.**

CLSI (2009) establece los siguientes pasos en el procedimiento:

1. Las placas se examinan después de 16 a 18 horas de incubación. Si la placa se estrió como corresponde y el inóculo estaba bien preparado, la placa tendrá un fondo confluyente de crecimiento y los halos de inhibición formados serán uniformemente circulares. Si se observan colonias aisladas, significa que el inóculo estaba diluido y la prueba debe repetirse. Medir el diámetro de

los halos con inhibición completa (a simple vista), incluido el diámetro del disco. Medir los halos redondeando al milímetro entero más cercano, usando un calibrador o una regla que se coloca en la parte posterior de la placa de Petri invertida. Sostener la placa Petri a pocos centímetros sobre un fondo negro opaco e iluminar con luz reflejada, con las siguientes excepciones:

- Si se ha enriquecido el agar base con sangre (como se hace para los estreptococos), se medirán los halos desde la superficie superior del agar iluminado con luz reflejada y sin la tapa.
  - Para la prueba de sensibilidad de aislados de *Staphylococcus spp.* a oxacilina o de *Enterococcus spp.* a vancomicina, se requieren 24 horas de incubación antes de informar un resultado sensible; el resto de agentes puede leerse e informarse tras 16 a 18 horas de incubación. Cualquier crecimiento visible dentro del halo es indicativo de resistencia a oxacilina o vancomicina.
2. El borde del halo de inhibición es el área en la que, a simple vista, no se observa un crecimiento claro y visible. Debe ignorarse el crecimiento leve de pequeñas colonias en el borde de los halos de inhibición que solo pueden detectarse con lente de aumento, sin embargo:
- Cuando crecen colonias diferenciadas dentro del halo de inhibición, la prueba debe repetirse a partir del cultivo o subcultivo puro. Si continúan creciendo colonias diferenciadas dentro del halo de inhibición, habrá que medir el halo interno donde no haya colonias.
  - Las cepas de *Proteus spp.* pueden invadir el área de inhibición alrededor de algunos agentes antimicrobianos; en estos casos, debe ignorarse un fino velo de crecimiento dentro de un halo en lo que era una zona

evidente de inhibición.

- Cuando se usa un medio enriquecido con sangre para las pruebas de sensibilidad de los estreptococos, se debe prestar atención para medir el halo de inhibición del crecimiento y no el halo de inhibición del hemólisis.

## 2.5. Categoría de interpretación del antibiograma

CLSI (2009), establece una clasificación basada en la respuesta *in vitro* de un microorganismo a un agente antimicrobiano cuya concentración corresponde a la alcanzada en la sangre o los tejidos con las dosis recetadas normalmente para ese agente, considerando las siguientes categorías:

- **Sensible:** categoría que implica que los aislados son inhibidos por las concentraciones del agente antimicrobiano alcanzadas generalmente cuando se administra la dosis recomendada para el lugar de la infección.
- **Intermedia:** esta categoría incluye aislados en los que la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) del agente antimicrobiano que se acerca a las concentraciones alcanzadas en la sangre y los tejidos, y para las que las tasas de respuesta pueden ser inferiores a las de los aislados sensibles. La categoría intermedia implica una eficacia clínica en localizaciones en las que los fármacos se concentra fisiológicamente (por ejemplo, quinolonas y betalactámicos en orina) o cuando pueden administrarse dosis del fármaco superiores a las normales (por ejemplo, betalactámicos).
- **Resistente:** Esta categoría implica que los aislados no son inhibidos por las concentraciones de antimicrobiano alcanzadas generalmente con una pauta posológica normal o que los diámetros del halo de inhibición, caen dentro del intervalo en el que es probable que haya mecanismos específicos de

resistencia.

- **No sensible:** Esta categoría de interpretación puede aplicarse a los nuevos agentes antimicrobianos para los cuales no se ha encontrado aislados resistentes al momento de determinar los criterios iniciales de interpretación. Los aislados que den una CIM por encima del punto de corte de la interpretación sensible se designan no-sensibles.

## 2.6. Selección de los antibióticos

En general, deberá incluir sólo un representante de cada grupo de drogas relacionadas con actividad casi idéntica y para las cuales la interpretación podría ser la misma. Frente a estafilococos se deberá ensayar penicilina G y realizar la detección de  $\beta$ -lactamasas. También se debe ensayar una penicilina resistente a las penicilinasas. Generalmente se prefiere oxacilina a la metilicina o nafcilina por su mayor estabilidad durante el almacenamiento, porque es más apropiada para detectar esta resistencia. Para estreptococos se recomienda probar penicilina o ampicilina. Ensayar antibióticos alternativos como cefalosporinas, eritromicina, clindamicina o tetraciclina, puede ser útil en el tratamiento de animales alérgicos a penicilina. Los Macrólidos son antibióticos estructuralmente relacionados, que inhiben la síntesis proteica a nivel ribosomal, la eritromicina, claritromicina, azitromicina, tilosina, y tilmicosina pertenecen a este grupo de antibióticos. Sólo deben ensayarse eritromicina y tilmicosina (Malbrán, 2001).

## 2.7. Enfermedad respiratoria bovina

La enfermedad respiratoria bovina (ERB) tiene una etiología multifactorial y se desarrolla como consecuencia de interacciones complejas entre los factores del medio ambiente y del entorno, factores del hospedador y patógenos. Los

factores del entorno (por ejemplo, el destete, el transporte, la mezcla, el hacinamiento y la ventilación inadecuada) actúan como estresantes que afectan adversamente, los mecanismos de defensa, inmunitarios y no inmunitarios del hospedador. Los micoplasmas y los agentes bacterianos incluyen *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* y *Mycoplasma bovis*, todos ellos representan la mayor parte de los organismos patógenos aislados (Kahn & Line 2007).

La característica principal de la bronconeumonía en bovinos, es que la inflamación se inicia en la unión bronquioloalveolar. Esto se correlaciona con una vía de entrada aerógena de los agentes infecciosos que por lo común afecta las regiones cráneoventral pulmonares; tiene una apariencia macroscópica de parches. Los agentes que se asocian con este tipo de neumonías son *Pasteurella multocida*, *Corynebacterium sp*, *Streptococcus sp*, *Staphylococcus spp*, etc. (Trigo, 2011)

## 2.8. Antecedentes de la investigación.

*El Staphylococcus aureus* están ampliamente difundidos en la naturaleza, su

hábitat natural es la piel y las membranas mucosas de los mamíferos y las aves. También pueden encontrarse de forma transitoria en el tracto intestinal. La presentación de varias especies de *Staphylococcus Coagulasa Negativos* (ECN) descritas en los últimos años tienen una difusión mucho más amplia y se presentan en los ungulados. Los *Streptococcus* cuyo hábitat es similar al de los *Staphylococcus*. El *Streptococcus pyogenes* su hábitat es la cavidad oral y el tracto respiratorio superior de los seres humanos y los animales, comúnmente

asociado a septicemia faringitis, lesiones de la piel, glomerulonefritis, y fiebre reumática. Los individuos sanos pueden ser portadores del microorganismo y representar fuentes de infección (Vadillo, Píris, & Mateos, 2003).

Li-Elias y Alvarado (2006), en su investigación sobre la “Efectividad y tolerancia de la oxitetraciclina al 30% L.A. en el tratamiento de neumonías bacterianas de bovinos de engorde en crianza intensiva, en el departamento de Lima – Lurin”, en 20 bovinos afectados de neumonías, demostrándose una alta eficacia de Duramycin 300 LA, en el tratamiento de estas neumonías. Para este fin prepararon discos de sensibilidad para los antibiogramas, a partir de productos en su presentación comercial, comparativamente se usaron otros discos de sensibilidad. Para evaluar la sensibilidad bacteriana se hizo de acuerdo al método Kirby Bauer, de acuerdo a las pautas recomendadas por el National Commitee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 1999). Asimismo, en los resultados de las pruebas de sensibilidad, cepas aisladas como *Manheimia*, *Streptococcus*, *Pasteurella*, *Actinomyces* resultaron resistentes a penicilina, Tilosina y Ceftiofur.

Haytara (2006), en su trabajo de investigación “Evaluación de la eficacia de agentes antimicrobianos para el tratamiento de mastitis bovina en el Distrito de Umachiri – Puno, determinó que en los tres grados de mastitis subclínica aisló; *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Micrococcus sp*, *Streptococcus sp*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus sp*, *Streptococcus pneumoniae*, y *Corynebacterium sp*, en cuya prueba de sensibilidad a los antibióticos fueron sensibles a meticilina, eritromicina, cefalotina, penicilina y amikacina, teniendo menos acción antibiótica la tetraciclina y ampicilina, asimismo las bacterias Gram negativas fueron sensibles a la gentamicina, ampicilina, estreptomycin y



amikacina, también la de menor acción antibiótica fue la tetraciclina.

En una investigación sobre la “Evaluación comparativa de la efectividad antibiótica del Tylo – Ccombisone (tilosina + gentamicina) y Proxifen 23 L.A. (oxitetraciclina), contra cepas bacterianas causantes de enfermedad respiratoria en bovinos. Lograron el aislamiento de 80 cepas bacterianas de los Géneros *Pasteurella* (27), *Streptococcus* (27), *Actinomyces* (8), *Klebsiella* (7), *Manhemia* (5), *Staphylococcus* (4), *Pseudomona* (3) y *Hamophylus* (1 cepa), todas ellas fueron sometidas a la prueba de sensibilidad *in vitro* (Método Kirby Bauer). Determinándose que 70 aislamientos (87.5 %) fueron sensibles a Tylo-combisone, mientras que solo 41 de los aislamientos (51.25 %) fueron sensibles a Proxifen 23 LA. Además 10 aislamientos (12.5 %) tuvieron sensibilidad intermedia a Tylo-combisone, y ninguna de las cepas aisladas fue resistente a este producto; en comparación a la prueba con Proxifen 23 LA, que tuvo 7 aislamientos (8.75%) con sensibilidad intermedia y 32 aislamientos (40%) de aislamientos resistentes. (Elías & Sánchez, 2007).

Kutchynskaya et al. (2010) determina la susceptibilidad a los agentes antimicrobianos de *S. aureus* aisladas de leche de con mastitis subclínica y leche de tanque en tres fincas del estado Zulia. 88 cepas fueron analizadas, de estos aislamientos 81 fueron aislados de leche de cuartos mamarios y 7 de leche de tanque. Al determinar la sensibilidad a antimicrobianos por el método de difusión en disco, correspondientes a: vancomicina (Va), estreptomycin (S), eritromicina (E), tetraciclina (Te), penicilina (Pe), ciprofloxacina (Cip), cloranfenicol (C), enrofloxacin (Enr). La concentración inhibitoria mínima (CIM) se determinó a Pe, Va y E. Las cepas de *S. aureus* aisladas de leche de cuartos mamarios fueron resistentes a Pe (12,3%), Enr (8,6%), Cip,y S en 4,9%, respectivamente,

E (3,7%). Las cepas aisladas de tanque fueron resistentes a Pe y Te (28,6%).

El estudio se realizó en el Criadero PAUL SCHOCKEMÖLE; en Alemania, en los años 2007, 2008, 2009. Se recopiló una base de datos de los cultivos endometriales, se organizó por número de cultivos, fecha de toma de muestras, número de yeguas, actividad reproductiva, positividad o negatividad de crecimiento bacteriano en cultivos, diferenciación bacteriana y antibiograma. Los agentes patógenos aislados fueron *Staphylococcus aureus* (22%), *Streptococcus spp.* (19.6%), *Streptococcus  $\beta$ -hemoliticum* (11.6%) y *Staphylococcus coagulasa* – (9%). Se establecieron los siguientes valores de resistencia: Enrofloxacina (6.5%), Sulfa- Trimetropin (10.5%), Ceftiofur Sódico (13.8%), Amoxicilina (14.5%), Gentamicina (17.0%), Ampicilina (17.5%) y Penicilina (21.8%) (Acosta & Álvarez, 2010)

El paso de bacterias resistentes de los animales al hombre es posible. En perros, machos y hembras, de diferentes razas y edad, con infecciones bacterianas variadas en el Brazil. Se realizaron cultivos y antibiograma. El porcentaje de resistencia del grupo de los ***Streptococcus***: tetraciclina 80%, eritromicina 72%, enrofloxacino y levofloxacino 52%, ampicilina, azitromicina, ciprofloxacino, norfloxacino, penicilina G y sulfa + trimetoprin 48%, amoxicilina + ácido clavulánico 4%, cefalexina 12%, cefalexina 12% florfenicol 24%, ceftiofur, ceftriaxona y oxacilina 28%, cloranfenicol 32%. Porcentaje de resistencia del grupo de los ***Staphylococcus spp***: ampicilina 57,14%, sulfa + trimetoprin y tetraciclina 52,38%, amicacina, amoxicilina + ácido clavulánico, gentamicina, levofloxacino, 4,76%; cefalexina, ceftiofur, ceftriaxona y cloranfenicol, 9,52%; vancomicina 13,33%, norfloxacino 19,05%; ciprofloxacino, enrofloxacino y oxacilina 23,81% y azitromicina 33,33% (Cruz, Paes, & Siqueira, 2012)

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. LUGAR DE ESTUDIO

El trabajo de investigación se realizó en la provincia y Región Puno, a 15°50'15" de latitud sur y 70°01'18" de longitud oeste; a 3827 m.s.n.m. El clima es frío, seco con temperatura media de 8.8°C en los meses de junio, se distingue dos épocas bien definidas; época seco (abril - noviembre) y la época de lluvias de diciembre a marzo (INEI, 2011), el análisis bacteriológico se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNA - Puno.

#### 3.2. MATERIAL EXPERIMENTAL

##### 3.2.1. TAMAÑO DE MUESTRA

El tamaño de muestra se determinó mediante la siguiente ecuación:

$$n = \frac{Z^2 S^2}{d^2}$$

Dónde:

n : tamaño de muestra

Z<sup>2</sup> : Nivel de confianza estandarizada 1.96 (95% de confiabilidad)

S<sup>2</sup> : Variancia de la variable en estudio

d<sup>2</sup> : Precisión o error máximo permisible 0.05

$$n = \frac{(1.96)^2 0.23^2}{0.1^2} = 20.3$$

n = 20 Animales.

En el trabajo se evaluaron hisopados de 20 vacunos del camal particular de Puno, cuyos animales pertenecen a criadores de los distritos de Acora, Ilave y Pilcuyo, distribuidos de la siguiente forma: 10 vacunos clínicamente sanos y 10 vacunos con infección respiratoria.

### **3.2.2. Materiales y equipos**

#### **Equipos de laboratorio:**

- Estufa de incubación.
- Autoclave.
- Microscopio.
- Refrigeradora.
- Balanza.
- Asa de kolle.
- Mechero de Bunsen.
- Canastillas y gradillas.
- Trípode.
- Regla Vernier

#### **Materiales de vidrio**

- Placas petri.
- Tubos de ensayo.

- Probetas graduadas de 100 a 250 mL.
- Pipetas graduadas 1, 2, 5 y 10 mL.
- Laminas Porta objetos.

### **Medios de cultivo para aislamiento e identificación, antibiograma**

- Agar TSA
- Agar Manitol salado.
- Agar Mueller Hinton
- Discos de antibióticos (Penicilina, tetraciclina, eritromicina, enrofloxacina, streptomina y ceftiofur)
- Medio Cary Blair de transporte.

### **Material de tinción**

- Bateria Tinción Gram (Solución de cristal violeta, lugol, alcohol acetona y safranina).
- Puente de coloración.
- Lamina porta-objetos.
- Asa bacteriológica.
- Aceite de inmersión.

### 3.3. METODOLOGÍA

#### 3.3.1. Selección de los animales.

Los animales clínicamente sanos se consideraron como criterios de inclusión; animales cuyas condiciones de carnes estén de regular para bueno, que no presenten enfermedades del tracto intestinal o genitourinario.

Los animales enfermos, se seleccionaron animales que presenten signos clínicos como lagrimeo, secreción nasal, tos y que indiquen infección respiratoria.

#### 3.3.2. Procedimiento para aislamiento primario de los microorganismos

##### Género *Staphylococcus*

Para el aislamiento e identificación de las especies del *Staphylococcus* se procedió de acuerdo a las indicaciones dadas por Koneman *et.al.* (2008). Las muestras de hisopados de fosas nasales, se cultivaron en agar manitol salado medio de cultivo selectivo y diferencial, a partir del cual luego de la incubación en aerobiosis a 37°C por 24 horas, se seleccionó colonias manitol positivas y manitol negativas para un posterior repique en medios de cultivo manitol salado fértiles.

Las características culturales que se consideraron para este Género son; Colonias pequeñas, redondas, convexas de superficie lisa cuya coloración fue del blanco al amarillo, y que a la coloración Gram demostraron ser cocos Gram positivos dispuestos a manera de racimo de uvas.

### **Genero *Streptococcus***

De acuerdo a las indicaciones dadas por Koneman *et.al.* (2008) hisopados de fosas nasales se cultivaron en medio agar sangre con base Trypticasa Soy Agar (TSA), incubados en microaerofilia a 37°C por 24 horas para después seleccionar colonia de acuerdo al tipo de hemólisis que presentaron y repique correspondiente en agar sangre.

Las características culturales para este Género, se consideraron colonias pequeñas, redondas, elevadas de superficie lisa, con una coloración que va del traslúcido al blanquecino, que presenten hemólisis alfa, beta o gama y que a la coloración Gram demostraron ser cocos Gram positivos dispuestos en parejas o en pequeñas cadenas.

#### **3.3.3. Identificación de los microorganismos**

La identificación de los microorganismos aislados de los Géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus* se realizó de acuerdo a la metodología empleada por, Aquiahuatl y Pérez (2004) métodos convencionales:

- a) **Prueba de Catalasa.**- Consiste en añadir aproximadamente una gota, de peróxido de hidrógeno a un cultivo y observar la presencia de burbujas, catalasa positivo, para identificación de cocos Gram positivos y diferenciación de los *Staphylococcus* de los *Streptococcus*.
- b) **Prueba del manitol,** Se realizó a través de la siembra en agar manitol salado e incubado a 37°C luego de 24 horas de incubación diferenciar *Staphylococcus aureus* que presentó colonias de color amarillo, las colonias que presentaron una coloración blanca se corresponden a

*Staphylococcus saprophyticus* o *Staphylococcus epidemidis*.

- c) **Prueba de la hemólisis.** Fue la determinación de la actividad hemolítica en agar sangre de carnero, para identificación del Género *Streptococcus*.

### 3.3.4. Metodología sensibilidad antimicrobiana

Para determinar el grado de sensibilidad de los microorganismos aislados se procedió de acuerdo a las indicaciones dadas por el Instituto Nacional de Salud, Normas Técnicas (INS NT, 2002):

#### a) Preparación del inóculo

La preparación de la siembra para la realización del antibiograma, se efectuó utilizando cepas puras, las cuales fueron cultivadas en agar a 37°C durante 24 h, de cada cultivo se tomaron 5 colonias aproximadamente y se suspendieron en tubos con 5 mL de agua destilada estéril, hasta alcanzar una turbidez equivalente a la del tubo 0.5 de la escala de McFarland, luego se realizó dilución de 1:100 para obtener la concentración ( $10^6$  ufc/mL).

#### b) Dispensación de los discos de sensibilidad e incubación.

Los discos de sensibilidad utilizados penicilina, tetraciclina, eritromicina, y estreptomycin fueron de presentación comercial y enrofloxacin, y ceftiofur fueron elaborados en el laboratorio de acuerdo a Orós (2014) en razón a que no se encuentran en el mercado. La dispensación de los discos de sensibilidad se procedió de acuerdo a las indicaciones dadas por el Instituto Nacional de Salud, Normas Técnicas (INS NT, 2002):

1. Con la ayuda de un hisopo estéril se tomó el inóculo de la dilución preparada



- y se sembró por estriaciones en placas de Agar Mueller Hinton.
2. Se dejó por 10 minutos antes de depositar los discos de sensibilidad.
  3. Con pinzas esterilizadas, asegurándonos que entren en contacto con la superficie del medio se dispensaron en el medio Mueller Hinton un total de 6 por placa que corresponden a penicilina, tetraciclina, eritromicina, estreptomicina, enrofloxacino, y ceftiofur.
  4. Los discos se situaron a menos de 15 mm del borde de la placa, y distribuidos en forma que no se produzca superposición de los halos de inhibición, dejándolos por 10 minutos más antes de llevarlos a la incubadora.
  5. Se incubó las placas invertidas a 37°C en aeróbiosis por 24 horas.

#### **c) Lectura de los resultados.**

Luego del periodo de incubación (24 horas) se midió el diámetro de la zona inhibida con una regla Vernier, sobre el reverso de la placa donde se aprecia mejor las zonas de inhibición bacteriana.

#### **d) Interpretación.**

La interpretación de los resultados, se basan en la medición de los halos de inhibición y las categorías establecidas por el CLSI (2014) son: Sensible (S), Intermedia (I) o Resistente (R) al antibiótico.

### **3.4. MÉTODO ESTADÍSTICO**

Los datos cuantitativos discretos (contadas) sobre las variables estudiadas fueron procesadas e interpretadas en tablas de frecuencias, utilizando medidas de tendencia central como promedios y porcentajes.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN CEPAS DE *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp* DEL TRACTO RESPIRATORIO DE VACUNOS.

Los resultados del aislamiento e identificación de cepas bacterianas de los géneros *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp* en vías respiratorias altas de los vacunos de la ciudad de Puno, se presenta en la tabla 1.

**Tabla 1. Frecuencia de cepas bacterianas aisladas del tracto respiratorio de vacunos de Puno**

Condición del animal	Cepa aislada	Frecuencia	Porcentaje (%)
<b>Enfermos 10 vacunos</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> - <i>Streptococcus pyogenes</i>	5	50.00
	<i>Streptococcus pyogenes</i> - <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	20.00
	<i>Staphylococcus aureus</i>	2	20.00
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	10.00
<b>Sano 10 vacunos</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	40.00
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	20.00
	<i>Streptococcus pyogenes</i> - <i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	10.00

En la tabla 1, se observa proporción de cepas bacterianas aisladas a partir de fosas nasales de vacunos donde, en el grupo de animales enfermos se aislaron dos cepas tales como *Staphylococcus aureus* - *Streptococcus pyogenes* en fosas nasales de 5 animales que representa el 50.0 %; en dos animales se identificaron dos cepas como *Streptococcus pyogenes* - *Staphylococcus saprophyticus* que representa el 20.0 % , una cepa se aisló en dos animales como el *Staphylococcus aureus* que representa el 20.0 % y una sola cepa

aislada, fue *Streptococcus pyogenes* que representa el 10.0 %. Sin embargo, en el grupo de animales sanos se aislaron *Staphylococcus aureus* en 4 animales que representa el 40.0 %, en 2 animales se identificó *Streptococcus pyogenes* que representa el 20.0 % y un animal mostró 2 cepas como *Streptococcus pyogenes* - *Staphylococcus saprophyticus* que representa el 10.0 %. Cabe resaltar que, el grupo de vacunos enfermos el 100 % presentaron microorganismos que corresponden a cocos Gram positivos, demostrando una mayor frecuencia de aislamiento de estas especies bacterianas, comparado al grupo de animales sanos con un 70%, lo cual se debería a la respuesta inmune del animal, registrando una mayor asociación de bacterias patógenas en animales enfermos. Asimismo, en el proceso de selección de las colonias desarrolladas, solo se consideró aquellas colonias pequeñas, redondas convexas de coloración que va del blanquecino al amarillento tal como indica Koneman *et.al.* (2008)

Estas frecuencias de cepas encontradas en el presente estudio son corroboradas por Vadillo *et.al.* (2003), quien manifiesta que *Staphylococcus aureus*, así como los *Staphylococcus* Coagulasa Negativos (ECN) y el *Streptococcus pyogenes* su hábitat es la cavidad oral y el tracto respiratorio superior de los seres humanos y los animales, comúnmente asociado a septicemia faringitis, lesiones de la piel, glomerulonefritis, y fiebre reumática. Los individuos sanos pueden ser portadores del microorganismo y representar fuentes de infección. Asimismo, Haytara (2006) en su investigación en vacunos aisló *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus spp* de secreción láctea y por último podemos citar a Trigo (2011), quien manifiesta que los agentes que se asocian con casos de neumonías en vacunos son *Pasteurella multocida*,

*Corynebacterium spp*, *Streptococcus spp*, *Staphylococcus spp*.

## 4.2. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS AISLADAS DE *Staphylococcus* y *Streptococcus* A LOS ANTIBIÓTICOS.

### 4.2.1. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS AISLADAS A LA PENICILINA

Los resultados de la variable estudiada *in vitro* de las cepas bacterianas aisladas a partir de fosas nasales de vacunos de la ciudad de Puno, se presenta en la tabla 2.

**Tabla 2. Sensibilidad a la penicilina de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno**

Condición de salud	Cepa Aislada	Frecuencia Cepas	Sensibilidad a la penicilina					
			S	%	I	%	R	%
Enfermos	<i>Staphylococcus aureus</i>	7	3	12%	0	0%	4	16%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	2	8%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	8	0	0%	0	0%	8	32%
Sanos	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	4	16%	0	0%	0	0%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	3	12%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	0	0%	0	0%	1	4%
<b>Totales</b>		<b>25</b>	<b>12</b>	<b>48%</b>			<b>13</b>	<b>52%</b>

La tabla 2, muestra la frecuencia de cepas bacterianas sensibles a la penicilina, en donde se observa que, las tres cepas fueron sensibles al antibiótico en 48.0% y resistente en un 52%, ninguna cepa resultó ser intermedio. También se puede apreciar que las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en vacas enfermas resultaron ser resistentes en un 16% así como el *Streptococcus pyogenes* en un 32%, y solo una cepa de *Streptococcus pyogenes* aislada de vacas sanas

resultó ser resistente con un 4%.

Estos resultados evidencian que, el antibiótico no tendría efectividad en los tratamientos de infecciones respiratorias en los vacunos de la presente investigación, situación alarmante en la actualidad por que nuestros resultados se encuentran por encima de lo que reporta Kutchynskaya *et al.* (2010) que en casos de mastitis determinó que las cepas de *Staphylococcus aureus* presento una resistencia del 12.3%, seguido por Acosta & Álvarez (2010) quienes determinaron un 21.8% de resistencia a la penicilina en cepas de *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp* aisladas a partir de cultivos endometriales en yeguas, por el contrario Haytara (2006) determinó que *Staphylococcus aureus* aislado a partir de muestras leche mastítica bovina en el distrito de Umachiri fue, sensible a la penicilina.

El incremento de los porcentajes de resistencia de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*, se debe a que estas cepas bacterianas tienen la capacidad de desarrollar mecanismos de resistencia que tienden a producir una enzima denominada beta-lactamasa que bloqueará la actividad del anillo beta-lactámico principio activo de la penicilina, de esta manera evita el daño producido por este compuesto a nivel de la pared bacteriana de las bacterias Gram positivos tal como indica Koneman *et.al.* (2008)

#### **4.2.2. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS A LA TETRACICLINA**

Los resultados de la variable estudiada *in vitro* de las cepas de vacunos de la ciudad de Puno, se presenta en la tabla 3.

**Tabla 3. Sensibilidad a la tetraciclina de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno.**

Condición de salud	Cepa Aislada	Frecuencia Cepas	Sensibilidad a la tetraciclina					
			S	%	I	%	R	%
Enfermos	<i>Staphylococcus aureus</i>	7	7	28%	0	0%	0	0%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	2	8%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	8	5	20%	1	4%	2	8%
Sanos	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	4	16%	0	0%	0	0%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	3	12%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	1	4%	0	0%	0	0%
	<b>Totales</b>	<b>25</b>	<b>22</b>	<b>88 %</b>	<b>1</b>	<b>4 %</b>	<b>2</b>	<b>8 %</b>

En la tabla 3, muestran la frecuencia de cepas sensibles a la tetraciclina; en donde, se observa que, las tres cepas fueron sensibles al antibiótico en 88.0 %, 4.0 % fueron intermedios y solo 2 cepas de *Streptococcus pyogenes* (2/25) fue resistente, que representa el 8.0 %. Estos resultados evidencian que, el antibiótico todavía se puede utilizar en los tratamientos de infecciones respiratorias de los vacunos. Resultados que son corroborados por Li y Alvarado (2006), en su investigación sobre la “Efectividad y tolerancia de la oxitetraciclina al 30% L.A. en el tratamiento de neumonías bacterianas de bovinos de engorde en crianza intensiva, en el departamento de Lima – Lurín”, en 20 bovinos afectados de neumonías, demostrándose una alta eficacia de la oxitetraciclina. Por debajo de nuestros resultados Elías y Sánchez (2007) demostraron que solo el 51.25% de los aislamientos de *Staphylococcus* y *Streptococcus* fueron sensibles a la oxitetraciclina.

#### 4.2.3. GRADO SENSIBILIDAD DE CEPAS AISLADAS A LA ERITROMICINA

Los resultados de la variable estudiada *in vitro* de las cepas bacterianas aisladas a partir de fosas nasales en vacunos de la ciudad de Puno, se presenta en la tabla 4.

**Tabla 4. Sensibilidad a la eritromicina de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno.**

Condición de salud	Cepa aislada	Frecuencia Cepas	Sensibilidad a la eritromicina					
			S	%	I	%	R	%
Enfermos	<i>Staphylococcus aureus</i>	7	4	16%	2	8%	1	4%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	2	8%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	8	5	20%	3	12%	0	0%
Sanos	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	4	16%	0	0%	0	0%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	3	12%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	1	4%	0	0%	0	0%
	<b>Totales</b>	<b>25</b>	<b>19</b>	<b>76</b>	<b>5</b>	<b>20</b>	<b>1</b>	<b>4</b>

La tabla 4, muestra la frecuencia de cepas bacterianas sensibles a la eritromicina en donde, se observa que, las tres cepas fueron sensibles a la eritromicina en 76.0 %, intermedios 20.0 % y la cepa *Staphylococcus aureus* (1/25) fue resistente que representa el 4.0 %. Estos resultados evidencian que, el antibiótico todavía se podría utilizar en los tratamientos de infecciones respiratorias, el 20% de cepas intermedias a la eritromicina sugieren que estas podrían generar mecanismos de resistencia.

El resultado del presente estudio se asemeja a lo reportado por Haytara (2006), quien a partir de aislamientos de especies de los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus*, estos fueron sensibles a la eritromicina.

#### 4.2.4. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS AISLADAS DE VACUNOS A LA ENROFLOXACINA

Los resultados de la variable estudiada *in vitro* de las cepas bacterianas aisladas a partir de fosas nasales en vacunos de la ciudad de Puno, se presenta en la tabla 5.

**Tabla 5: Sensibilidad a la enrofloxacin de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno**

Condición de salud	Cepa aislada	Frecuencia cepas	Sensibilidad a la enrofloxacin					
			S	%	I	%	R	%
Enfermos	<i>Staphylococcus aureus</i>	7	7	28%	0	0%	0	0%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	2	8%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	8	8	32%	0	0%	0	0%
Sanos	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	4	16%	0	0%	0	0%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	3	12%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	1	4%	0	0%	0	0%
	<b>Totales</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>100%</b>		<b>0 %</b>		<b>0 %</b>

En la tabla 5, se observa la frecuencia de cepas sensibles a la concentración de la enrofloxacin; en donde, se aprecia que, tanto del grupo enfermo y sano, las tres cepas aisladas en el tracto respiratorio de vacunos, fueron sensibles al antibiótico; no observándose ninguna cepa que haga resistencia ni sea intermedio, lo que indica que el empleo de este fármaco en los tratamientos de infecciones respiratoria sería completamente eficaz.

El resultado del presente estudio es similar a lo encontrado por Kutchynskaya *et.al.* (2010) determinó la susceptibilidad del *S.aureus* aisladas de leche de con mastitis subclínica y leche de tanque en tres fincas del estado Zulia determinó



que enrofloxacin era resistente en un 3.7%. Por el contrario, superior a nuestro resultado se encuentra el reportado por Acosta y Álvarez (2010) quienes determinaron un 6.5% de resistencia a la enrofloxacin en cepas de *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp* aisladas a partir de cultivos endometriales en yeguas en Alemania, esta diferencia probablemente se deba a que en Alemania tengan un tiempo mayor en el uso de este antibiótico, que en nuestra región que recién se viene empleando en el tratamiento de enfermedades infecciosas. Superior a todos se encuentra los estudios en el Brasil reportado por Cruz, Paes y Siqueira (2012) que determinaron un 23.81% de resistencia al enrofloxacin en cepas de *Sataphylococcus* aislados en perros con infecciones variadas.

#### **4.2.5. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS AISLADAS EN VACUNOS A LA ESTREPTOMICINA**

Los resultados de la variable estudiada *in vitro* de las cepas bacterianas aisladas en vacunos de la ciudad de Puno, se presenta en la tabla 6.

**Tabla 6: Sensibilidad a la estreptomina de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno**

Condición de salud	Cepa Aislada	Frecuencia Cepas	Sensibilidad a la estreptomina					
			S	%	I	%	R	%
Enfermos	<i>Staphylococcus aureus</i>	7	4	16%	3	12%	0	0%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	2	8%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	8	2	8%	4	16%	2	8%
Sanos	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	4	16%	0	0%	0	0%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	3	12%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	1	4%	0	0%	0	0%
	<b>Totales</b>	<b>25</b>	<b>16</b>	<b>64</b>	<b>7</b>	<b>28</b>	<b>2</b>	<b>8</b>

En la tabla 6, se muestran las frecuencias de cepas bacterianas sensibles a la eritromicina; en donde, se observa que, las tres cepas aisladas de fosas nasales de vacunos, fueron sensibles al antibiótico en 64.0 %, 28.0 % fueron intermedios y la cepa *Staphylococcus pyogenes* (2/25) obtenida de vacunos enfermos fue resistente que representa el 8.0 %. Estos resultados evidencian que, el antibiótico no tendría efectividad en los tratamientos de infecciones respiratorias de los vacunos. Resultado que fue corroborado por Kutchynskaya *et.al.* (2010) quienes determinaron la susceptibilidad a los agentes antimicrobianos del *S. aureus* aislados de leche con mastitis subclínica obteniendo un 4.9% de resistencia considerándolo ligeramente por debajo de nuestros resultados que fue 8%.

#### 4.2.6. GRADO DE SENSIBILIDAD DE CEPAS BACTERIANAS AL CEFTIOFUR

Los resultados de la variable estudiada *in vitro* de las cepas aisladas de fosas nasales de vacunos en la ciudad de Puno, se presenta en la tabla 5.

**Tabla 7: Sensibilidad al ceftiofur de cepas bacterianas aisladas en vacunos de Puno**

Condición de salud	Cepa Aislada	Frecuencia Cepas	Sensibilidad al ceftiofur					
			S	%	I	%	R	%
Enfermos	<i>Staphylococcus aureus</i>	7	7	28%	0	0%	0	0%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	2	2	8%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	8	8	32%	0	0%	0	0%
Sanos	<i>Staphylococcus aureus</i>	4	4	16%	0	0%	0	0%
	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	3	3	12%	0	0%	0	0%
	<i>Streptococcus pyogenes</i>	1	1	4%	0	0%	0	0%
	<b>Totales</b>	<b>25</b>	<b>25</b>	<b>100%</b>		<b>0</b>		<b>0</b>

En la tabla 7, se evidencia la frecuencia de cepas sensibles al ceftiofur; en donde, todas las cepas aisladas del tracto respiratorio de los vacunos enfermos y de sanos fueron sensibles al fármaco; lo que nos indica, que se utilice este antibiótico en los tratamientos de infecciones respiratoria, resultados que contradicen a las investigaciones hechas por Li-Elias y Alvarado (2006) quienes indican que *Satreptococcus* hace resistencia al ceftiofur, por tanto este antibiótico no es indicado para el tratamiento de las neumonías de origen bacteriano en vacunos de Lima. De la misma forma nuestros resultados, se encuentra por debajo de Acosta y Álvarez (2010) quienes determinaron un 13.8% de resistencia al ceftiofur sódico, en cepas de *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp* aisladas a partir de cultivos endometriales en yeguas en Alemania. En el Brasil Cruz, Paes y Siqueira, (2012) también determinaron un 4.7% de resistencia al ceftiofur en cepas de *Sataphylococcus* aislados en perros con infecciones variadas.

## V. CONCLUSIONES

Las cepas de microorganismos encontrados en el tracto respiratorio de los vacunos enfermos la asociación *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* en 5 animales que representa el 50.0 %; en 2 animales se identificaron la asociación *Streptococcus pyogenes* - *Staphylococcus saprophyticus* que representa el 20.0 %, en 2 animales se aisló solo *Staphylococcus aureus* que representa el 20.0 % y de un animal se aisló una cepa *Streptococcus pyogenes* que representa el 10.0 %.

El 100 % de cepas de *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp* aisladas del tracto respiratorio de los vacunos enfermos y sanos fueron sensibles a enrofloxacin y a ceftiofur. Asimismo, estas cepas bacterianas fueron sensibles en 48, 88, 76 y 64 % y resistentes en 52, 8, 4 y 8 % frente a la penicilina, tetraciclina, eritromicina y estreptomina respectivamente.

## VI. RECOMENDACIONES

En los programas de tratamiento de infecciones respiratorias en vacunos, se recomienda utilizar los fármacos enrofloxacin y ceftiofur, como tratamiento de primera elección luego de la utilización de la tetraciclina.

Los antibióticos tetraciclina y eritromicina para el tratamiento de infecciones respiratorias se utilicen bajo estricto seguimiento, para evitar un incremento en la resistencia.

La penicilina y estreptomicina ya no debe utilizarse, debido a que mostraron mayor resistencia y cepas intermedias en un porcentaje elevado.

## VII. REFERENCIAS

- Acosta, A y A. Álvarez. (2010). Estudio retrospectivo de cultivos endometriales determinando los agentes bacterianos y su resistencia o sensibilidad a un grupo de antimicrobianos en yeguas. Tesis para optar el grado de Médico veterinario, Universidad de La Salle. Bogotá Colombia.
- Aquihuatl, M. & M. Pérez (2004) Manual de Prácticas. Laboratorio de Microbiología General. Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa. Impreso en México. Pp 36, 115
- Botana L; L. Fabiana; T. Martin-Jiménez (2002) Farmacología y Terapéutica Veterinaria. Ed. Mc Graw-hill/Interamericana. España pp 455-466
- CLSI (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio). (2009). Normas para Realizar las Pruebas de Sensibilidad a los Antimicrobianos con Discos. Norma aprobada. Décima edición. M02-A10 Vol. 29 N° 1. USA. pp 32-36
- CLSI (Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio), (2014). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty – first informational supplement. M100-S21. Vol 31 N° 1. USA.
- Cruz, A., A. Paes y A. Siqueira. (2012). Perfil de sensibilidad de bacterias patógenas aisladas en canes frente a antimicrobianos. *Veterinaria e Zootecnia*. 2012 19(4). 601-610.
- Domínguez, L., M. Moreno, C. Porrero y S. Téllez. (2010). Uso prudente de antimicrobianos y propuestas de mejora en veterinaria. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2010;28 (Supl 4):40-44. © Elsevier España, S.L. All rights reserved.
- Elias, O. y A. Sánchez. (2007) Evaluación Comparativa de la Efectividad

Antibiótica del Tylo-Combisone, y Proxifen 23 LA., contra Cepas Bacterianas Causantes de Enfermedad Respiratoria en Bovinos. Informe Laboratorio de Patología Clínica FMVZ - UNMSM – Lima.

Evaristo, R. (2013). Enfermedades más Comunes en un Centro de Engorde de la Cuenca de Lima. Universidad Nacional Cayetano Heredia. Publicado el 24/06/2013 por Perúlactea.(<http://www.perulactea.com/2013/06/24/enfermedades-mas-comunes-en-un-centro-de-engorde-de-la-cuenca-de-lima/>)

Fernández, F., J. López, L. Ponce. (2003). Resistencia bacteriana. Hospital Militar Central "Dr. Luis Díaz Soto". Rev Cubana Med Milit 2003;32(1):44-8

Flórez, J., J. Armijo & A. Mediavilla. (1997) Farmacología Humana. 3ra. Ed. MASSON S.A. Barcelona España. 1061,1062.

Ghizlane, E. (2006) Farmacocinética y Eficacia de Oxitetraciclina tras su Administración Intramuscular en Bovino. Depleción Tisular. Tesis Doctoral. Facultad de Veterinaria. Universidad Autónoma de Barcelona – España.

Gimeno, O. & C. Ortega. (2005). Antibioterapia y salud pública veterinaria; desarrollo de microorganismos resistentes, mecanismos de resistencia y estrategias para el uso prudente de antibióticos. Dep. Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza. España. [http://www.sapuvetnet.org/antigo/Pdf%20Files/antib\\_portugal.pdf](http://www.sapuvetnet.org/antigo/Pdf%20Files/antib_portugal.pdf)

Haytara, J. (2006). Evaluación de la eficacia “in vitro” de agentes antimicrobianos para el tratamiento de la mastitis bovina en el distrito de Umachiri – Puno. [Tesis T prof.] Fac Medic Vet y Zootec: UNA – PUNO.

INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática). (2011). Compendio

estadístico, Sistema estadístico Regional. ODEI – Puno.

INS NT (Instituto Nacional de Salud, Normas Técnicas). (2002) Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión. Serie de Normas Técnicas Nro. 30 Lima Perú. pp 20, 36 62-65

Kahn, C. & S. Line (2007). Manual Merck de Veterinaria. 50 aniversario, Sexta edición. Edit. Océano, Barcelona España.

Koneman, E.; Giovanniello O; Klajn D. y M. Preciado. (2008). Diagnóstico microbiológico. Editorial Médica Panamericana. 6ta Ed. Buenos Aires, Argentina.

Kutchynskaya, V.; Y. Oivares; A. Perozo; E. Valbuena; L. Boscán; G. Colina & W. Briñez. (2010) Susceptibilidad a los Agentes Antimicrobianos en Cepas de *Staphylococcus aureus* Aisladas en Leche de Bovinos con Mastitis Subclínica y Leche de Tanque. Revista Científica, FCV-LUZ / Vol. XX, Nº 4, 367 - 376.

Li, E. & S. Alvarado (2006). Efectividad y Tolerancia del antibiótico inyectable oxitetraciclina al 30% (Duramycin 300 L.A.) en el tratamiento de neumonías bacterianas de bovinos de engorde en crianza intensiva, Lima. [http://www.vetermex.com/Pdfs/Trabajos\\_investigacion/Duramycin\\_300\\_LA/Efectividad\\_Tolerancia\\_Duramycin\\_oxitetraciclina\\_Inyectable\\_1.pdf](http://www.vetermex.com/Pdfs/Trabajos_investigacion/Duramycin_300_LA/Efectividad_Tolerancia_Duramycin_oxitetraciclina_Inyectable_1.pdf)

Malbrán, C. (2001) Métodos Estandarizados para la Determinación de la Sensibilidad Antimicrobiana en Bacterias Aisladas de Animales: Test de Difusión por Discos y Test de Dilución. Ministerio de Salud Subsecretaría de Investigación y Tecnología (Documento M31-A NCCLS-Junio 1999)



Buenos Aires, Argentina.

- Morales, S. (1958). Control microbiológico de antibióticos. Curvas standard, determinación de potencia y preparación de discos para pruebas de sensibilidad, Tesis doctoral UNMSM, Rev. Perú. med. exp. Salud Pública v.12 n.1-2 Lima
- Murray, P., K. Rosenthal & M. Pfaüer. (2007) Microbiología Médica. 5ta. Edición Impreso en España por Gráficas Muriel, S.A. pp 963.
- Plumb, D. & D. Pharm. (2010) Manual de Farmacología Veterinaria. Sexta Ed. Inter-Médica SAICI. Buenos Aires – Argentina. pp 418,818, 839, 992
- Rojas, M. (2010) Manual de Redacción Científica. (Online). 2da. Edición, Disponible: [www.mrojas.perulactea.com](http://www.mrojas.perulactea.com).
- Sacsquispe, R. & J. Contreras. (2002) Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión. Serie de Normas Técnicas N° 30. Instituto Nacional de salud Lima.
- Sumamo, H. & L. Ocampo. (2006) Farmacología Veterinaria. 3ra. Edición. McGraw-Hill, Interamericana. Editores S.A. de C.V. México.
- Trigo, F. (2011). Patología sistémica veterinaria. 4ta ed. México D.F. editorial McGraw – Hill Interamericana, 2011 pp. 31-62
- Vadillo, S; S. Piriz & E. Mateos. (2003). Manual de Microbiología Veterinaria. Ed. McGraw-Hill - Interamericana, España. Pp 431,432, 441
- Zanabria, V. (2000). Etiología del síndrome neumónico agudo en vacunos de engorde en Lima. Rev Inv Vet Perú, 11 (2): 67-85

VIII ANEXOS.

Tabla 8. Cuadro general de resultados

MUESTRA	EST. SALUD	LUGAR M.	Especie	MUESTRA	SENSIBILIDAD														
					Penicilina	Tetraciclina	Eritromicina	Enrofloxacino	Estreptomina	Ceftiofur									
MV - 1	Sano	FN		MV - 1															
MV - 1	Sano	FN	<i>Staphylococcus aureus</i>	MV - 1	33	S	27	S	22	I	26	S	18	S	28	S			
MV - 2	Enfermo	FN		MV - 2															
MV - 2	Enfermo	FN	<i>Staphylococcus aureus</i>	MV - 2	26	R	22	S	21	R	25	S	13	I	23	S			
MV - 3	Sano	FN		MV - 3															
MV - 3	Sano	FN	<i>Staphylococcus aureus</i>	MV - 3	30	S	21	S	19	I	28	S	26	S	24	S			
MV - 4	Sano	FN		MV - 4															
MV - 4	Sano	FN	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	MV - 4	38	S	29	S	27	S	29	S	19	S	23	S			
MV - 5	Sano	FN	<i>Streptococcus pyogenes</i>	MV - 5	18	R	25	S	21	S	26	S	22	S	25	S			
MV - 5	Sano	FN	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	MV - 5	39	S	30	S	28	S	25	S	21	S	24	S			
MV - 6	Sano	FN		MV - 6															
MV - 6	Sano	FN		MV - 6															
MV - 7	Sano	FN		MV - 7															
MV - 7	Sano	FN	<i>Staphylococcus aureus</i>	MV - 7	32	S	22	S	20	I	27	S	26	S	28	S			
MV - 8	Enfermo	FN	<i>Streptococcus pyogenes</i>	MV - 8	18	R	25	S	21	S	21	S	14	I	22	S			
MV - 8	Enfermo	FN	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	MV - 8	39	S	30	S	28	S	25	S	21	S	24	S			
MV - 9	Sano	FN		MV - 9															
MV - 9	Sano	FN		MV - 9															
MV - 10	Sano	FN		MV - 10															
MV - 10	Sano	FN	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	MV - 10	38	S	30	S	28	S	26	S	21	S	19	S			
MV - 11	Sano	FN		MV - 11															
MV - 11	Sano	FN		MV - 11															
MV - 12	Enfermo	FN		MV - 12															
MV - 12	Enfermo	FN	<i>Staphylococcus aureus</i>	MV - 12	28	R	21	S	20	I	27	S	14	I	28	S			
MV - 13	Sano	FN		MV - 13															
MV - 13	Sano	FN	<i>Staphylococcus aureus</i>	MV - 13	33	S	26	S	21	I	27	S	26	S	24	S			
MV - 14	Enfermo	FN	<i>Streptococcus pyogenes</i>	MV - 14	19	R	16	R	19	I	21	S	14	I	26	S			
MV - 14	Enfermo	FN	<i>Staphylococcus aureus</i>	MV - 14	28	R	29	S	27	S	27	S	20	S	27	S			
MV - 17	Enfermo	FN	<i>Streptococcus pyogenes</i>	MV - 17	18	R	25	S	21	S	21	S	14	I	24	S			
MV - 17	Enfermo	FN	<i>Staphylococcus aureus</i>	MV - 17	28	R	21	S	20	I	27	S	14	I	28	S			
MV - 18	Enfermo	FN	<i>Streptococcus pyogenes</i>	MV - 18	22	R	25	S	21	S	21	S	11	R	25	S			
MV - 18	Enfermo	FN	<i>Staphylococcus aureus</i>	MV - 18	32	S	28	S	31	S	29	S	23	S	24	S			
MV - 19	Enfermo	FN	<i>Streptococcus pyogenes</i>	MV - 19	18	R	25	S	21	S	21	S	10	R	20	I			
MV - 19	Enfermo	FN	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	MV - 19	39	S	30	S	28	S	25	S	21	S	24	S			
MV - 20	Enfermo	FN	<i>Streptococcus pyogenes</i>	MV - 20	18	R	25	S	21	S	22	S	19	S	23	S			
MV - 20	Enfermo	FN	<i>Staphylococcus aureus</i>	MV - 20	31	S	29	S	27	S	27	S	20	S	27	S			
MV - 21	Enfermo	FN	<i>Streptococcus pyogenes</i>	MV - 21	19	R	16	R	19	I	21	S	14	I	25	S			
MV - 21	Enfermo	FN		MV - 21															
MV - 22	Enfermo	FN	<i>Streptococcus pyogenes</i>	MV - 22	19	R	21	I	19	I	25	S	23	S	22	S			
MV - 22	Enfermo	FN	<i>Staphylococcus aureus</i>	MV - 22	34	S	29	S	27	S	27	S	20	S	27	S			

**Tabla 9. Diámetro de halo e interpretación de la sensibilidad bacteriana para *Staphylococcus spp***

Agente Antimicrobiano	Contenido del Disco	Diámetro en mm.		
		S	I	R
Penicilina	10 UI	≥ 29	-	≤ 28
Tetraciclina	30 µg	≥ 19	15-18	≤ 14
Eritromicina	15 µg	≥ 23	14-22	≤ 13
Enrofloxacina	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14
Estreptomicina *	10 µg	≥ 15	12-14	≤ 11
Ceftiofur *	10 µg	≥ 21	18-20	≤ 17

Fuente: CLSI, 2011

\*= Lab Upjhon (1999); CLSI, 2008Página 59 de 61

**Tabla 10. Diámetro de halo para e interpretación de la sensibilidad bacteriana para *Streptococcus spp. Grupo β hemolítico.***

Agente Antimicrobiano	Contenido del Disco	Diámetro en mm.		
		S	I	R
Penicilina	10 UI	≥ 24	-	-
Tetraciclina	30 µg	≥ 23	19-22	≤ 18
Eritromicina	15 µg	≥ 21	16-20	≤ 15
Enrofloxacino	30 µg	≥ 18	15-17	≤ 14
Estreptomicina	10 µg	≥ 15	12-14	≤ 11
Ceftiofur sodico	10 µg	≥ 21	18-20	≤ 17

Fuente: CLSI, 2011

\*= Lab Upjhon (1999); CLSI, 2008

**Figura 1. Muestreo de secreción de fosas nasales en vacunos del camal de Puno.**



**Figura 2. Transporte de muestras, hisopados de secreción de fosas nasales al Laboratorio de Microbiología de la UNA-Puno.**



**Figura 3. Placas Petri con agar sangre con hemolisis alfa y agar manitol salado, mostrando Cepas manitol positivo y manitol negativo.**

0=



**Figura 4. Placas Petri con agar Mueller Hinton para Staphylococcus spp y M-H con sangre desfibrinada para antibiograma de Streptococcus spp.**

