

**REVISIÓN SISTEMÁTICA SOBRE ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO DE  
MASTITIS BOVINA, FRENTE A LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS**



**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico  
Bogotá, 2022

# REVISIÓN SISTEMÁTICA SOBRE ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO DE MASTITIS BOVINA, FRENTE A LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS



Sara Ximena Aguirre Borda  
Stacy Alexandra Montenegro Flórez  
Laura Valentina Álvarez Hernández

**Proyecto de grado**

Asesora interna

**Ingrid Pinillos Medina D.M.V. Esp. Msc.**

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico  
Bogotá, 2022

**REVISIÓN SISTEMÁTICA SOBRE ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO DE  
MASTITIS BOVINA, FRENTE A LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS**

Sara Ximena Aguirre Borda  
Stacy Alexandra Montenegro Flórez  
Laura Valentina Álvarez Hernández

**Proyecto de grado**

Asesora interna

**Ingrid Pinillos Medina D.M.V. Esp. Msc.**

**JURADOS:**

---

---

---

**CONCEPTO**

**APROBADA** \_\_\_\_\_  
**MERITORIA** \_\_\_\_\_  
**LAUREADA** \_\_\_\_\_

**UNIVERSIDAD COLEGIO MAYOR DE CUNDINAMARCA**  
Facultad de Ciencias de la Salud  
Programa Bacteriología y Laboratorio Clínico  
Bogotá, 2022

<b>Tabla de contenido</b>	<b>Pág</b>
Resumen ejecutivo	
1. Planteamiento del problema	8
1.1. Pregunta problema	9
2. Justificación	10
3. Impacto esperado	11
4. Usuarios directos e indirectos	11
5. Objetivos	11
5.1 Objetivo general	
5.2 Objetivos específicos	
6. Marco teórico	12
6.1 Antecedentes	
6.2 Bases teóricas	
6.3 Bases legales	
7. Metodología	20
7.1. Tipo de estudio	
7.2. Enfoque de investigación	
7.3. Población	
7.4. Muestra	
7.5. Criterios de exclusión	
7.6. Criterios de inclusión	
8. Resultados	21
9. Discusión	35
10. Conclusiones	39
Referencias	41

<b>Lista de tablas</b>	<b>Pág</b>
Tabla 1. Microbiota de la glándula mamaria.	22
Tabla 2. Alternativas de tratamiento para la mastitis bovina	26

<b>Lista de figuras</b>	<b>Pág</b>
Figura 1. Patogenia de la mastitis bovina	24
Figura 2. Terapia fotodinámica en la ubre de una vaca	34

# REVISIÓN SISTEMÁTICA SOBRE ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO DE MASTITIS BOVINA, FRENTE A LA RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

## RESUMEN EJECUTIVO

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria ocasionada por diferentes microorganismos, entre ellos bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, entre otros; esta enfermedad trae consigo no solo la afección en la salud animal, en el caso de esta revisión: salud bovina, sino grandes pérdidas económicas. El método comúnmente usado para tratar esta infección son los antibióticos, sin embargo, debido a la creciente resistencia a estos, es necesario buscar alternativas que cumplan con la misma función de erradicar la enfermedad; es por esto que el objetivo de esta revisión es el de buscar alternativas encaminadas a disminuir o sustituir el uso de antibióticos en el tratamiento a la mastitis mostrando posibilidades que ayuden al sistema inmune a responder mejor contra los patógenos, así como también, extractos de plantas con potencial antimicrobiano y diferentes alternativas químicas.

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria en mamíferos ocasionada por microorganismos productores de mastitis, entre los cuales se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, entre otros. Esta enfermedad es uno de los principales problemas que afectan notablemente la salud de los bovinos y que, además, representa grandes pérdidas financieras por efecto de la disminución en la producción, descartes tanto de leche como de vacas, las consultas y terapias para tratar la infección, esto aunado al aumento en el recuento de células somáticas<sup>1</sup>.

Por ello, nivel de producción, según algunos estudios, como el de Gonçalves et al.<sup>2</sup> (2020), *La mastitis subclínica bovina reduce la producción de leche y el rendimiento económico*, mostró que las pérdidas registradas fluctuaron entre 0,07 kg/trimestre ordeño y 1,4 kg/trimestre ordeño de acuerdo al patógeno causante de la mastitis y del tipo (clínica o subclínica) presentada por el bovino; por otro lado, las pérdidas económicas registradas variaron dependiendo del lugar (granja, país) según lo reportado por diferentes estudios en China, Etiopía y Europa.

Según Bonilla et al.<sup>3</sup> (2018), la principal herramienta para el control de la mastitis es la terapia antimicrobiana usada durante la lactancia, donde comúnmente se usan antibióticos tales como la tetraciclina, los  $\beta$ -lactámicos, las quinolonas, las sulfonamidas, la estreptomina y el cloranfenicol; sin embargo, debido a que en la actualidad algunas bacterias han venido demostrando diversos tipos de resistencia frente a los antimicrobianos a causa de un mal uso de estos<sup>3</sup>, de acuerdo con lo reportado por Jiménez et al.<sup>5</sup> (2020), Villanueva et al.<sup>4</sup> (2017) y Jaramillo et al.<sup>1</sup> (2018), en sus recientes estudios sobre resistencia bacteriana, es imperativo enfatizar en el correcto uso de fármacos en el tratamiento de las enfermedades, así como considerar alternativas a su uso<sup>5</sup>.

Además, es importante tener en cuenta que la OIE<sup>6</sup> (OMSA) define la resistencia antimicrobiana (RAM) como aquellos microorganismos (bacterias, virus, hongos y parásitos) que se han vuelto resistentes a los antimicrobianos, llegando a surgir de forma natural o por adaptación al entorno en que se desarrollan, razón por la cual diversos organismos internacionales y multisectoriales

(OIE, FAO, OMS) han buscado disminuir la aparición de ésta problemática uniendo fuerzas a partir de la noción de una sola salud, que interrelaciona la salud humana, animal y ambiental.

Así mismo, la estrategia de la OIE sobre la resistencia a los agentes antimicrobianos (RAM) y su uso prudente se da a conocer a través de cuatro objetivos principales: “mejorar la concientización y la comprensión; reforzar los conocimientos a través de la vigilancia y la investigación; apoyar la buena gobernanza y el refuerzo de competencias y promover la aplicación de normas internacionales”<sup>6</sup>.

Según el Decreto 616 del 28 de febrero de 2006, creado para garantizar la inocuidad y calidad de la leche para consumo humano, en el capítulo II titulado *Requisitos para la obtención de la leche en la producción primaria*, artículo V titulado *Requisitos que deben cumplir los hatos productores de leche*, dicta que: “la leche procedente de animales tratados con antibióticos y otros medicamentos veterinarios cuyos principios activos o metabolitos se eliminen por la leche, solo podrá darse para el consumo humano hasta tanto haya transcurrido el período de retiro especificado en el rótulo para el medicamento o insumo pecuario en cuestión”<sup>7</sup>.

A partir de lo mencionado con anterioridad, se hace vital conocer, en primer momento, los diferentes mecanismos que tiene la glándula mamaria como defensa natural frente a estos patógenos y posterior a esto, incorporar opciones de tratamiento en donde se usen productos con características naturales y químicas.

## **1.1 Pregunta problema**

¿Qué alternativas terapéuticas, diferentes a los antibióticos, pueden ser usadas para tratar la mastitis bovina?

## 2. JUSTIFICACIÓN

La mastitis es causada por microorganismos, especialmente bacterias, como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, entre otras; ésta se presenta de forma clínica y subclínica, la primera se destaca por alteraciones que se pueden apreciar tanto en la leche como en la ubre, mientras que la segunda se caracteriza por la inflamación de la glándula mamaria que no se aprecia a simple vista<sup>3</sup>.

En los estudios realizados por Jiménez et al.<sup>5</sup> (2020) y Llanos et al.<sup>8</sup> (2021) sobre la resistencia antimicrobiana, se da a conocer que algunas de las razones por las que se presenta este problema son principalmente el uso inadecuado de antibióticos por parte de los ganaderos y algunos veterinarios; los primeros debido a que, el uso de antibióticos en Colombia no está completamente regulado y de esta manera no se cuenta con un acceso limitado ni supervisado de los mismos, motivo por el cual se presenta la resistencia por parte de diversas cepas de microorganismos<sup>5</sup> y los segundos porque formulan antibióticos excesiva o inadecuadamente<sup>8</sup>.

A raíz de esto, con la creciente resistencia e incluso multirresistencia presentada por algunas bacterias y demostrada por diversos estudios, entre los que destacan los realizados por Jiménez et al.<sup>5</sup> (2020), Villanueva et al.<sup>4</sup> (2017) y Jaramillo et al.<sup>1</sup> (2018), es imperativo atender el adecuado uso de medicamentos, así como considerar alternativas a su uso<sup>5</sup>.

Por otro lado, en los alimentos de origen animal que presenten bacterias resistentes a los antibióticos, estas serán transmitidas a los consumidores a lo largo de la cadena alimenticia, como por ejemplo el *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), además de la presencia dañina de trazas de antibióticos en la leche<sup>3</sup>.

Este trabajo se realiza con el fin de evaluar las diversas alternativas, diferentes a los antibióticos, que permitan su uso en el tratamiento de la mastitis para el mejoramiento de la salud en bovinos y, así mismo, su aprovechamiento en los ámbitos de producción lechera y su consiguiente beneficio para el consumidor final.

### **3. IMPACTO ESPERADO**

Con la presente revisión se pretende sensibilizar a la población ganadera y veterinaria sobre la creciente resistencia antibiótica presentada por las bacterias, debido principalmente al inadecuado uso de los antibióticos (profilaxis, terapia incompleta, desinformación, entre otros) y, así mismo, dar a conocer alternativas que permitan mitigar ésta problemática; esto debido a que el uso de antibióticos en lugar de ser una solución frente al tratamiento de la mastitis, cuando no es aplicado correctamente, se presenta como dificultad adicional, la cual deberá atender no sólo a la enfermedad, sino también a la resistencia por el uso indiscriminado de la terapia antibiótica tradicional.

### **4. USUARIOS DIRECTOS E INDIRECTOS**

Los usuarios directos que se beneficiarán con esta revisión serán los ganaderos, los médicos veterinarios y los profesionales de la salud que quieran informarse sobre las problemáticas (resistencia antimicrobiana frente a la mastitis) y posibles alternativas diferentes al uso de antibióticos tradicionales.

En cuanto a los usuarios indirectos, serán tanto los terceros que quieran adquirir conocimientos sobre este tema, como los consumidores que serán beneficiados por las buenas prácticas de producción implementadas por los usuarios directos.

### **5. OBJETIVOS**

#### **5.1 Objetivo General**

Realizar una revisión amplia sobre las opciones terapéuticas diferentes a los antibióticos como alternativas para el tratamiento de la mastitis bovina.

## 5.2 Objetivos Específicos

- Conocer los mecanismos naturales de defensa de la glándula mamaria y el papel que juega la microbiota ante la presencia de patógenos productores de mastitis con el fin de buscar alternativas que aumenten la respuesta natural de la glándula.
- Clasificar las alternativas de tratamiento según su naturaleza, conociendo su compuesto activo y sus características.
- Describir las ventajas que presentan las alternativas para el control y manejo de la mastitis bovina en comparación con el tratamiento convencional.

## 6. MARCO TEÓRICO

### 6.1 Antecedentes

Según Belloso<sup>9</sup> (2009), en un principio se pensaba, según lo enseñado por Hipócrates (siglo IV a.C.), que las afecciones presentadas por la población eran debidas al desequilibrio de “humores” o sustancias corporales. A continuación, partiendo de este conocimiento, Galeno durante el siglo II d.C. incorporó sustancias presentes en la naturaleza con el fin de recobrar el equilibrio perdido entre estos “humores” (estos preparados no poseían especificaciones sobre la cantidad a usar por cada componente). El campo de la ciencia farmacéutica avanzó inicialmente de forma lenta, dependiendo del criterio de cada médico y también de cada paciente.

Posteriormente Paracelso, quien fue uno de los investigadores que impulsó la terapéutica actual, a lo largo del siglo XVI aportó el conocimiento sobre “la extracción de los principios activos de las prescripciones”<sup>9</sup>. Él pensaba que dentro de las prescripciones se hallaban sustancias específicas que cumplían una función específica y que presentaban el efecto demostrado. Además, fue quien incluyó el concepto de dosis, cuya importancia radicó en ayudar a comprender los efectos positivos y negativos de las sustancias usadas en cada preparado. Más adelante, a inicios del siglo XIX la Teoría Microbiana de la Enfermedad ayudó a dilucidar la causa verdadera de estas patologías, que

hasta ese momento se encontraba oculta, dando paso al descubrimiento de los agentes antimicrobianos específicos.

Así mismo, el primer producto antibacteriano natural fue el pigmento azul producido por la *Pseudomonas aeruginosa* (piocinasa), descubierto por E. de Freudenreich, sin embargo, este pigmento era inestable y tóxico para el uso humano. Por otro lado, el químico Paul Ehrlich, arguyó sobre hallar una sustancia que erradicara un organismo sin dañar el tejido del huésped, creando así el concepto de la “bala mágica”. Lo anterior dio paso a la búsqueda de dicha bala logrando una contribución al inicio de la historia de los antimicrobianos. Sin embargo, la toxicidad y/o efectos secundarios de la mayoría de los productos encontrados, detuvo la implementación en el ámbito humano.

Para 1928, Alexander Fleming descubrió por accidente la capacidad de lisis de un hongo contra el *Staphylococcus aureus*, y decidió llamar la sustancia capaz de tal actividad penicilina, empero no se usó en los humanos pasadas un par de décadas. De ahí en adelante se empezaron a descubrir diferentes agentes con propiedades antibióticas, por ejemplo, en 1930, donde se descubren las sulfas, siendo la primera sustancia química sintética administrable estable y no tóxica para combatir infecciones. Luego, en 1940, se inician los estudios del suelo para encontrar sustancias que inhibieran el desarrollo de bacterias patógenas, fue así que se descubrieron diferentes antibióticos de los que hoy se tienen conocimiento como la estreptomina, la clortetraciclina, la vancomicina, las cefalosporinas, entre otros. Adicional a esto, se trabajó a la par en antibióticos sintéticos, camino iniciado por las sulfonamidas y sus derivados para posteriormente desarrollar antibióticos como las fluoroquinolonas. Este tipo de avance ha sido más lento que los naturales.

A partir de esto, se ha dado un uso indiscriminado a la penicilina, hecho que favoreció el desarrollo de resistencia en contra de esta. En el momento en que los laboratorios buscaron maneras de desarrollar medicamentos que no fueran sensibles a las enzimas bacterianas que degradaban la penicilina, descubrieron la metilicina, pero del mismo modo surgió una resistencia a ésta desarrollada por los *Staphylococcus* y como consecuencia una diseminación casi mundial de estas cepas resistentes. Por ello, se identificó que la resistencia bacteriana es rápida a diferencia del tiempo que se demora la elaboración de los fármacos.

Por otro lado, en el estudio de Jiménez et al<sup>10</sup>, del año 2016, denominado *Raw milk quality in Northwestern Colombia* se evaluó el conteo de células somáticas, la calidad fisicoquímica y microbiológica de la leche cruda producida en el noroeste de Colombia. Para ello, se utilizó un muestreo no probabilístico por conveniencia y un estudio de corte transversal donde las muestras de leche cruda de 186 fincas de doble propósito fueron recolectadas. A estas se les determinaron parámetros fisicoquímicos, conteo de células somáticas y mesófilos. Los datos obtenidos se analizaron por estadística descriptiva mediante el programa estadístico SAS. En conclusión, la calidad fisicoquímica es buena, pero hay deficiencias en la calidad microbiológica y sanidad de la ubre, por lo cual se deben implementar excelentes prácticas de manejo y de prevención.

En el estudio realizado por Jamali et al<sup>11</sup>, en 2018, se investigó la resistencia antimicrobiana, genotipo y genes de virulencia de cepas de *E. coli* aisladas de mastitis clínica bovina en Irán, se realizó detección de los grupos filogenéticos y detección de genes virulentos usando PCR, además de evaluar la susceptibilidad antimicrobiana mediante el método Kirby-Bauer. El 83.3% de los aislamientos fueron resistentes a al menos uno de los antibióticos testados, así mismo, las cepas pertenecientes a los grupos filogenéticos A1 y B1 fueron más resistentes a los antibióticos.

El estudio *Prevalence and characteristics of extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Escherichia coli from bovine mastitis cases in China* de Yang et al<sup>12</sup>. del año 2018 se basó en investigar la prevalencia y caracterización de *E. coli* productora de  $\beta$ -lactamasa de espectro extendido (BLEE) tomada de casos de mastitis bovina en China. Para tal fin se utilizó agar ChromID ESBL para confirmar que *E. coli* es productora de ESBL. Junto con esto se emplearon PCR y secuenciación de ADN con el fin de caracterizar el genotipo de las bacterias productoras de ESBL. Por último, la susceptibilidad antimicrobiana se midió con el método de difusión en disco. En conclusión, el estudio muestra alta prevalencia junto con resistencia a diversos fármacos de cepas de *E. coli* productoras de ESBL de casos de mastitis bovina en China. Las  $\beta$ -lactamasas tipo CTX-M predominaron.

En una investigación realizada por Sánchez et al.<sup>3</sup> en 2018 se determinó la prevalencia de la mastitis bovina, así como la resistencia antimicrobiana de los patógenos involucrados en una

región lechera de Colombia. Se usó la prueba de California para el diagnóstico de mastitis, por otro lado, se usó el aislamiento de los microorganismos patógenos a través de siembra en agar, coloración de Gram y pruebas bioquímicas; la susceptibilidad fue evaluada mediante la prueba de difusión en disco en agar Müller-Hinton. Se encontró una prevalencia de mastitis del 45.4% con agentes causantes CNS (46.7%). *S. aureus* (31.1%) y *Streptococcus spp.* (20.7%), *K. pneumoniae* y *E. coli* fueron aislados en menor proporción. Por otro lado, se encontró alta resistencia en estos microorganismos, incluso mostraron multirresistencia, especialmente *Streptococcus spp.*

La revisión elaborada por Bhattarai et al.<sup>13</sup>, publicada en el 2018, denominada *Mechanism of pattern recognition receptors (PRRs) and host pathogen interplay in bovine mastitis*, habla acerca de la importancia de saber diferenciar los patrones de infección y la interacción huésped-patógeno entre las bacterias gramnegativas, como *Escherichia coli* y las bacterias grampositivas, como el estafilococo, que son bacterias capaces de producir mastitis bovina. Por lo tanto, lo que se buscó con la revisión fue conocer y estudiar la biología de las infecciones recurrentes, la respuesta inmune de los agentes/huésped y la genética, para de esta forma enfatizar en el control con el fin de disminuir las pérdidas en la industria láctea y poder garantizar leche con alta seguridad y calidad.

El estudio de Gao et al.<sup>14</sup> del 2019, se basó en indagar la aparición de enterococos involucrados en casos de mastitis clínica bovina y mastitis subclínica, evaluando los perfiles de resistencia antimicrobiana e identificando la disposición de integrones y matrices de casetes de genes en la provincia de Liaoning, China. Esto se hizo por medio de microdilución junto con la investigación del reparto de integrones entre los aislados. El estudio indica que los aislados de enterococos muestran alta incidencia en la resistencia antibiótica, lo que resalta el hecho de que se debe priorizar la utilización cuidadosa y consciente de antibióticos. Adicionalmente, los casetes del gen integrón se relacionan con la diseminación de la resistencia antimicrobiana en enterococos. Esto es importante para el diseño de estrategias que prevengan y traten la mastitis bovina en esta provincia China.

En el estudio del año 2019, elaborado por Srednik et al.<sup>15</sup> se describe el primer aislamiento de un *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA) en leche de vaca con mastitis en

Argentina. El gen *mecA* se encuentra en bacterias *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina y ocasiona resistencia a casi todos los antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos, los fármacos más usados en la terapia en contra de la mastitis bovina. La presente detección del MRSA presenta una alta significancia a causa de ser una amenaza potencial en la salud pública en relación con la resistencia a los antibióticos y el desarrollo de multirresistencia. Ciertos estafilococos en el ganado lechero también se ven en humanos y es por esta razón que los humanos y el ganado lechero tienen la capacidad de intercambiar bacterias surgiendo la posibilidad de nuevas fuentes de resistencia antibiótica a nivel veterinario y humano.

En el estudio de Song et al.<sup>16</sup> del año 2020 se busca determinar las principales bacterias que causan mastitis y junto con esto analizar la agrupación de los mismos en relación al tipo de leche (leche tomada de vacas con mastitis de distintos grados de gravedad, que trataba de mastitis subclínica - Lanzhou Mastitis Test positivo débil, positivo y positivo fuerte- y mastitis clínica), zona, temporada, material de cama, parto y momento de lactancia en granjas lecheras, con el fin de brindar información necesaria para la elaboración de programas aptos para prevenir y controlar la mastitis bovina. Lo que se puede concluir es que, en las granjas lecheras de las provincias chinas, se notó un cambio en la distribución de microorganismos causantes de mastitis, se determina también que *S. aureus* sigue siendo el más frecuente. Adicionalmente, diversos factores como los tipos de leche, las regiones, las estaciones, los materiales de cama y las formulaciones de terapia de vacas secas se relacionan con la mastitis bovina.

En un estudio realizado por Lan et al.<sup>17</sup>, en 2020, se determinó la susceptibilidad antimicrobiana, filotipo y genes de virulencia de *E. coli* de mastitis clínica bovina en China. En el estudio se usó el método de microdilución en caldo MIC para evaluar la susceptibilidad antimicrobiana, también se usó PCR para la detección de genes de resistencia a los antimicrobianos y por último se hizo una tipificación filogenética. Se encontró que el 52.2% de los aislamientos fueron no-susceptibles, además que la resistencia fue más alta en el filogrupo B1 que en el A. Por otro lado, el 70.7% de las cepas pertenecen a 7 serotipos O.

Este estudio elaborado por Zhang et al.<sup>18</sup>, publicado en el 2020, denominado *Detection of antimicrobial resistance and virulence-related genes in Streptococcus uberis and Streptococcus*

*parauberis* isolated from clinical bovine mastitis cases in northwestern China, el propósito fue investigar la presencia de factores de virulencia seleccionados de *S. uberis* y *S. parauberis*, como también los correspondientes genes de resistencia a los antimicrobianos, y proporcionar información importante para el uso adecuado de antibióticos, profilaxis y la contención de la mastitis bovina. La susceptibilidad a los antimicrobianos se determinó mediante la prueba E. Los genes que codifican la resistencia a los antimicrobianos y los factores de invasividad se examinaron mediante PCR. En conclusión, ambas especies demostraron un alto nivel de resistencia a los antibióticos comúnmente usados en la industria de las vacas lecheras en China, y todos los aislamientos albergaban mínimo un gen de resistencia. Los datos obtenidos en el estudio proporcionan información importante para entender la patogenia de la mastitis bovina causada por estos microorganismos, siendo esto de utilidad para desarrollar vacunas multivalentes y procedimientos profilácticos.

El estudio de Fuenzalida et al.<sup>19</sup> llamado *Antimicrobial resistance in Klebsiella species from milk specimens submitted for bovine mastitis testing at the Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory, 2008–2019*, elaborado en el año 2021, se basó en describir la inclinación de la resistencia antimicrobiana en cepas de *Klebsiella* cultivadas de muestras de leche enviadas al Laboratorio para realizar pruebas de mastitis bovina. Esto se realizó por medio de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana in vitro en 483 aislados de *Klebsiella* cultivados de 63841 muestras de leche enviadas a partir del 1 de enero de 2008 hasta el 31 de diciembre de 2019. Se usaron diez antimicrobianos: ampicilina, penicilina, eritromicina, oxacilina + NaCl al 2 %, pirlimicina, penicilina/novobiocina, tetraciclina, ceftiofur, cefalotina y sulfadimetoxina. Los aislados se catalogaron como resistentes a antibióticos específicos según las concentraciones inhibitorias mínimas dadas en el Clinical and Laboratory Standards Institute. En conclusión, los resultados del estudio no demuestran un alza a la resistencia antimicrobiana entre los aislamientos de *Klebsiella* tomados de muestras de leche enviadas al Laboratorio. Sin embargo, la resistencia a los antimicrobianos se debe seguir monitoreando con el objetivo de vigilar.

El presente estudio elaborado por Bag et al.<sup>20</sup> del 2021 se realizó para aislar y detectar los factores de virulencia, así como también el filogrupo, la susceptibilidad a los antibióticos y los determinados genes de resistencia antimicrobiana en la bacteria *E. coli* encontrada en vacas con

mastitis clínica. Para revisar la susceptibilidad a los antibióticos de los aislados se realizaron pruebas de difusión en disco y adicional a esto las *E. coli* resistentes se examinaron para evaluar la presencia de genes de resistencia antibiótica. En conclusión, se muestra multirresistencia por parte de todos los aislados, lo que se puede relacionar con el uso excesivo de antimicrobianos para controlar la mastitis o cualquier otra enfermedad en el animal. La presencia de *E. coli* resistente a múltiples fármacos representa un riesgo de transferencia de esta a humanos, animales y la naturaleza por la leche y sus derivados contaminados.

En esta revisión elaborada por Molineri et al.<sup>21</sup> en el año 2021, se habla del *Staphylococcus aureus* como un patógeno importante en la mastitis contagiosa mundial, caracterizado por ocasionar infecciones intramamarias con respuestas insuficientes a los antibióticos, lo que como consecuencia acarrea altas pérdidas a nivel financiero. Como objetivo, este estudio buscó determinar la persistente resistencia fenotípica a agentes antimicrobianos entre *S. aureus* en el mundo a nivel de infecciones intramamarias bovinas en los años 1969 al 2020. En conclusión, se encuentra una tendencia temporal al alza en resistencia antimicrobiana para la mayoría de los antimicrobianos revisados. En términos generales, África, Asia y América Latina fueron los continentes con más alta resistencia antimicrobiana. Adicional a esto y por último, se identificaron diferencias a nivel de métodos para probar la resistencia antimicrobiana y el tipo de diseño de estudio para monitorearla, lo que resalta la relevancia de tales variables para que se revise y compare la aparición de la resistencia antimicrobiana.

En un estudio realizado por Tesfaye et al.<sup>22</sup>, en 2021, se identificó el *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina, su patrón de susceptibilidad, así como la prevalencia de la mastitis bovina en Adama, Etiopía. Se usaron muestras de leche a las cuales se les hizo aislamiento bacteriológico y la evaluación de la susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de Kirby-Bauer. Se encontró una prevalencia del 31.5% en la mastitis con el 30.6% siendo a causa de *S. aureus* siendo el 32.4% MRSA.

A continuación, tenemos el estudio de Abd El-Aziz et al.<sup>23</sup>, publicado en el año 2021, que evalúa la resistencia presentada por el *Streptococcus agalactiae* MDR (resistente a múltiples fármacos), aislado de mastitis bovina clínica. En éste, después de haber identificado al microorganismo en

cuestión, se realizaron pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por medio del método de difusión en disco, en el que se usaron antibióticos tales como la penicilina G, amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, cloxacilina, entre otros. A continuación, se midieron los diámetros de las zonas de inhibición y se interpretaron los resultados considerando como MDR a aquellos aislamientos que demostraran resistencia a 3 o más clases diferentes de antibióticos. En este estudio, el *Streptococcus agalactiae* mostró completa resistencia frente a 10 de los 15 antimicrobianos utilizados.

## 6.2 Bases teóricas

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA) publicó un informe sobre la producción de leche y sus principales países productores (2013-2017), en donde se afirma que la producción mundial de leche de vaca fue de casi 606.440 millones de toneladas, correspondiendo el primer lugar a la Unión Europea con 155.855 millones de toneladas, seguido por India, Estados Unidos y China<sup>24</sup>.

Según Mera et al.<sup>25</sup> (2017), la mastitis bovina es considerada de gran importancia a nivel de salud pública dado que la leche contaminada con bacterias hace factible la transmisión de enfermedades zoonóticas, tales como la brucelosis bovina, la faringitis estreptocócica y la tuberculosis. Por otro lado, esta enfermedad se caracteriza por su alta prevalencia en los hatos lecheros siendo de las más importantes en esta industria puesto que denota pérdidas relevantes en cuestión de ventas y animales, así como la disminución de la cantidad y calidad de la leche<sup>25</sup>.

La forma en que se desarrolle la mastitis dependerá de diversos factores, entre los que se encuentran: medio ambiente (región donde se localice el animal), propios de la vaca como raza, edad, en qué momento de la lactancia se encuentra y, por último, el sistema de producción, el nivel de producción y el manejo que se le dé al animal<sup>25</sup>.

En cuanto a las bacterias causantes de mastitis, las principales son: *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis*, de las que se ha reportado resistencia a penicilina G y espiramicina (macrólido), tetraciclina y beta-

lactámicos, fosfomicina, sulfametoxazol-trimetoprim, amoxicilina, ciprofloxacina, oxitetraciclina, norfloxacina, gentamicina, eritromicina, ceftioxitina, imipenem, cloranfenicol, doxiciclina, ceftriaxona y ampicilina<sup>26</sup>.

En la actualidad, la terapia antibiótica se realiza de forma intramamaria y sistémica, en donde para ambas, la concentración del fármaco deberá ser igual o mayor a la concentración inhibitoria mínima (MIC); el éxito del antimicrobiano va a depender de la composición y estructura química del fármaco, de su aptitud para atravesar barreras anatómicas y su capacidad antimicrobiana<sup>26</sup>.

### 6.3 Bases legales

- **CONPES 3376:** Establece la política sanitaria y de inocuidad de los alimentos en Colombia para carne bovina y leche.
- **Decreto No 616 de febrero 28 de 2006 del Ministerio de salud y Protección Social:** Por el cual se expiden las normas que debe cumplir la leche para el consumo humano en el país.
- **Resolución No. 1382 del 2 de mayo de 2013 del Ministerio de Salud y Protección Social:** Establece los límites máximos para residuos de antibióticos y otros medicamentos de uso veterinario en los alimentos de origen animal destinados para consumo humano.

## 7. METODOLOGÍA

### 7.1 Tipo de estudio

Esta revisión es de tipo documental, exploratoria e informativa, donde se tuvo en cuenta artículos investigativos, de revisión y decretos que datan del año 2006 hasta el año 2022.

**Bases de datos:** PubMed, ScienceDirect (Elsevier), Oxford Academics Journal, Scielo, ProQuest, Springerlink, Medline, ResearchGate.

### 7.2 Enfoque de la investigación

Documental.

### **7.3 Población:**

58 publicaciones científicas relacionadas al tratamiento y microorganismos causales de la mastitis bovina.

### **7.4 Muestra:**

27 publicaciones científicas relacionadas con los mecanismos de defensa de la glándula mamaria y las alternativas de tratamiento para la mastitis bovina.

### **7.5 Criterios de exclusión:**

- Mastitis en otras especies
- Mastitis causada por otras especies de microorganismos (no bacterianas)

### **7.6 Criterios de inclusión:**

- Alternativas de tratamiento para la mastitis bovina
- Artículos del 2006 al 2022 en inglés, portugués y español.

## **8. RESULTADOS**

En cuanto a la calidad de la leche bovina ha generado grandes controversias a lo largo del tiempo, una de estas controversias ha sido acerca de si la leche realmente es estéril y si hay o no la presencia de una microbiota propiamente dicha en la glándula mamaria bovina. Este tema ha sido bastante discutido pues se sabe a ciencia cierta que el canal del pezón y la piel del pezón presentan una microbiota comensal, pero la veracidad acerca de la presencia de una microbiota a nivel de glándula mamaria se ha dificultado por inconvenientes y falta de solidez en los procedimientos de los estudios. Según la revisión de Ruegg et al.<sup>27</sup> (2022) y la investigación de Derakhshani et al.<sup>28</sup> (2020) (Tabla 1) se han identificado diversos géneros bacterianos en muestras de canal del pezón, piel del pezón y leche más sin embargo su procedencia y factibilidad no son claras; el ADN

bacteriano es de fácil recuperación, sin embargo, cuando hablamos de muestras de leche, la carga bacteriana puede estar influenciada por el contacto con la piel, el medio ambiente al momento de recolección de la leche así como también por la posible presencia de ADN bacteriano o de bacterias retenidas por la queratina del canal del pezón, entre otras fuentes aún desconocidas.

Al evaluarse la microbiota de la leche bovina, se han encontrado diferentes puntos de vista; por un lado, Oikonomou et al.<sup>29</sup>, (2020) afirma la presencia de una microbiota en la leche y que esta se ha comprobado en gran manera; no obstante, es una afirmación que no se acepta a nivel general pues se sabe que la presencia de estas comunidades microbianas puede estar ligada a aspectos técnicos, ambientales y del huésped. Al contrario de Oikonomou et al., (2020), Metzgeren et al.<sup>30</sup>, (2018) en su estudio longitudinal, analizó la microbiota en la leche de los bovinos para determinadas cohortes según el estado de salud de la ubre se concluyó que no había presencia de microbiota. En base a esto se puede observar la gran variabilidad entre estudios motivo por el cual no se tiene un consenso acerca de la presencia de una microbiota comensal por ello, es pertinente la elaboración de métodos investigativos estandarizados con el fin de lograr una afirmación universal acerca de esto.

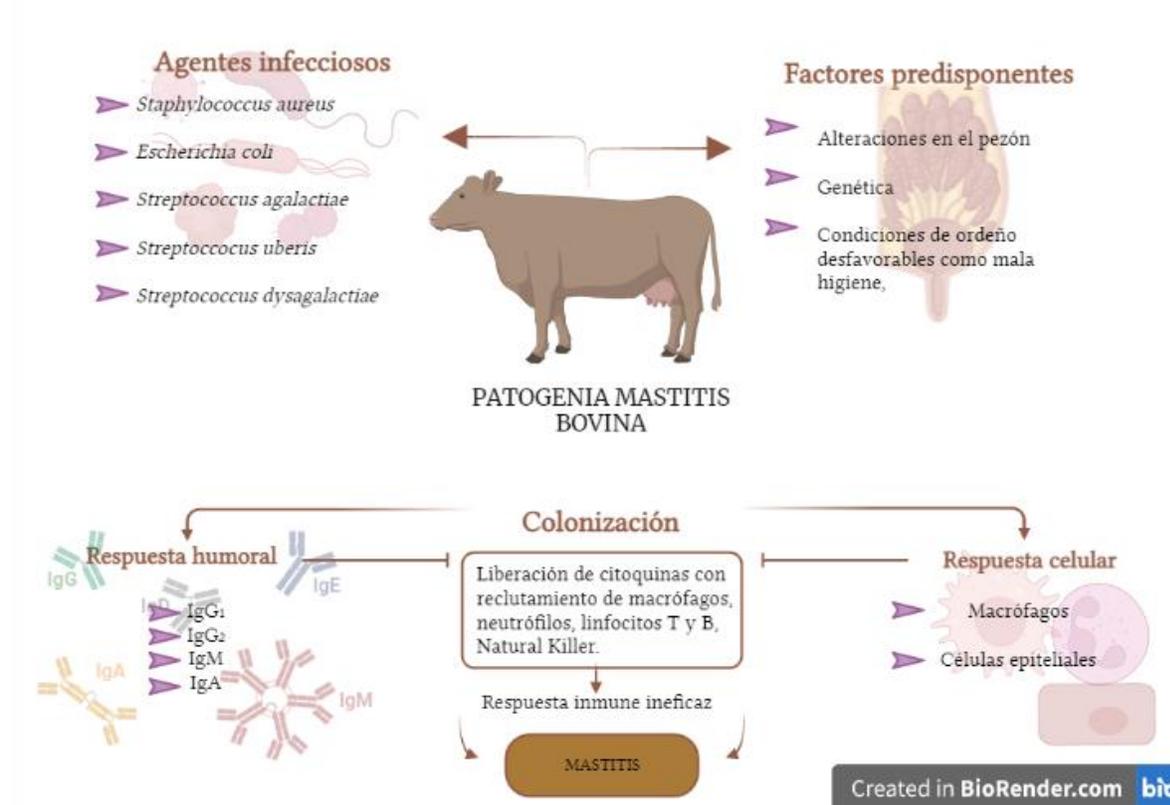
**Tabla 1. Microbiota de la glándula mamaria**

Filo	Géneros	Ápice de la piel del pezón	Canal del pezón	Leche
Firmicutes	Staphylococcus	+++	+++	+++
	Streptococcus			+
	Lachnospiraceae	+	+	+
	Ruminococcaceae	+	++	+
	Enterococcus			+
	Clostridiales	+	+	+

	Aerococcus	++	+	++
	Planococcacea		++	
	Facklamia	+		
	Lactobacillaceae	+		
Proteobacteria	Acinetobacter	+	+	++
	Pseudomonas	+	+	+
	Stentotrophomonas		+	+
	Comanonas		+	
	Sphingomonadaceae	+		
	Enterobacter	+		
Bacteroidetes	Prevotella	+		+
	Bacteroidales	+	+	+
	Flavobacteriaceae		+	+
	Sphingobacterium	+	+	+
Actinobacteria	Corynebacterium	+++	+++	+++
	Bifidobacterium		+	++
	Propionibacterium	++		+
	Arthrobacter		+	

**Nota:** + escaso, ++ moderadamente abundante, +++ abundante<sup>27</sup>

Para entender la patología que desencadenan los microorganismos productores de mastitis se debe conocer la respuesta inmune de la vaca frente a estos patógenos (Figura 1), debido a que según Seroussi et al., “la respuesta a un patógeno infeccioso depende de la especie bacteriana, la respuesta del huésped y su interacción”<sup>32</sup>; la tarea del sistema inmune en la glándula mamaria es, además de prevenir el establecimiento de infecciones, eliminar las ya existentes y, como consiguiente, lograr que el tejido vuelva a funcionar de forma adecuada. Esta respuesta inmune está dividida en dos: respuesta inmune adquirida e innata, que se caracterizan por ser dependientes una de la otra. Es importante tener en cuenta que la eficacia de esta respuesta inmunitaria va a depender no solamente de que se activen los mecanismos de defensa necesarios para controlar la invasión bacteriana, sino también de la capacidad del mismo de detenerse en el momento en que se haya resuelto la infección, de manera que no se dé una respuesta inmune exacerbada o descontrolada sino más bien óptima.



**Figura 1. Patogenia de la mastitis bovina**<sup>31</sup>

La inmunidad innata se caracteriza por ser la primera respuesta dada por el sistema inmune cuando

la glándula mamaria se expone al microorganismo causante de la mastitis. Adicional a esto, en esta inmunidad, se da una activación rápida pero corta luego del contacto con el patógeno, un reconocimiento y respuesta inespecífica a las bacterias; si hay una exposición repetitiva al patógeno causante de mastitis, la respuesta inmune no va a aumentar, sino que se presentará como una infección nueva a causa de un nuevo patógeno.

Según Sordillo "los componentes principales de la inmunidad innata incluyen la barrera física de la punta del pezón además de una variedad de mecanismos celulares y moleculares que facilitan la protección de la glándula mamaria"<sup>33</sup>. En la glándula mamaria las células tienen receptores de reconocimiento de patrones PRR que pueden interactuar con diferentes motivos conservados exclusivos de grupos de microorganismos, denominados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP). En segundo lugar, se da la inflamación que es crítica, ya que es clave que ésta sea de inicio rápido para neutralizar bacterias durante las etapas iniciales de invasión del tejido. Un importante mediador en esta respuesta son las citoquinas, que regulan la intensidad y duración de la respuesta del huésped a la infección, modulando la activación, proliferación y diferenciación de las células relacionadas con la respuesta inmune.

En la inflamación, los leucocitos locales y los reclutados son relevantes en las etapas iniciales de la patogénesis. El requisito para apagar la respuesta inflamatoria es eliminar los patógenos causantes de mastitis que iniciaron la inflamación. Por ello, si los neutrófilos pueden migrar desde el torrente sanguíneo a la glándula mamaria y eliminar las bacterias, entonces el reclutamiento de leucocitos va a cesar y los SCC de la leche regresan a los niveles encontrados en vacas sanas. Según Seroussi et al. "La tasa y la eficiencia de la inmunidad innata para reconocer y responder al patógeno son factores clave en la duración de la infección y la gravedad del daño a los tejidos mamarios"<sup>32</sup>.

Por su parte, la inmunidad adaptativa se caracteriza por tardar más que la inmunidad innata en desarrollarse, pero a diferencia de esta última, la inmunidad adquirida es duradera, más fuerte y eficaz para eliminar microorganismos patógenos, teniendo en cuenta también que es capaz de amplificarse al exponerse de forma repetida a un patógeno.

La generación de esta inmunidad va a requerir principalmente dos tipos de células amplias, que incluyen linfocitos y células presentadoras de antígenos. Los linfocitos reconocen los antígenos bacterianos por medio de receptores de membrana específicos del patógeno invasor. La capacidad de reconocer solo antígenos extraños está dada por proteínas unidas a la membrana, llamadas moléculas MHC. Una respuesta inmune específica solo se va a dar si los antígenos se unen con una molécula de MHC en la superficie de ciertas células, un proceso conocido como presentación de antígenos.

Según estudios revisados, actualmente existen dos maneras alternas a los antibióticos de tratar la infección, la primera va dirigida a la erradicación directa del patógeno y la segunda a potenciar la respuesta inmune del hospedador, más específicamente en la glándula mamaria, lo que por consiguiente eliminaría el microorganismo en cuestión y así mismo conlleva a la resolución de la infección (Tabla 2).

**Tabla 2. Alternativas de tratamiento para la mastitis bovina**

<p><b>Fortalecimiento la respuesta inmune</b></p>	<p>Butirato de sodio (NaB)<sup>34</sup>            Itiaconato de dimetilo (DI)<sup>35</sup>            Aceite de árbol de té (TTO)<sup>36</sup>            Mamicell<sup>37</sup></p>
<p><b>Natural</b></p>	<p><i>Acacia nilótica</i><sup>39,40</sup>  <i>Tetradenia riparia</i><sup>39</sup>  <i>Terminalia chebula</i><sup>41</sup>  <i>Ocimum sanctum</i><sup>41</sup>  <i>Azadirachta indica</i><sup>41</sup>            Aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i><sup>41, 43</sup>            Aceite esencial de <i>Lavandula angustifolia</i><sup>41</sup>            Infusión intramamaria PLA2G1P (fosfolipasa de páncreas bovino)<sup>32</sup>            Aceite esencial de <i>Minthostachys verticillata</i><sup>42</sup>            Limoneno<sup>42</sup>            Extracto hidroalcohólico de <i>Punica granatum</i><sup>44</sup>  <i>Allium sativum</i><sup>45</sup>  <i>Bunium persicum</i><sup>45</sup>            Extracto de <i>Artemisia herb alba</i><sup>46</sup>            Extrato de <i>Jasonia montana</i><sup>46</sup>            Extracto etanolítico y aceite esencial <i>Alpinia serumvet</i><sup>47</sup></p>

<b>Químicas</b>	Ganado transgénico (integrina PHIC31, beta defensina HBD3) <sup>48</sup> Nanopartículas de plata (AgNPs) – aceite de canela <sup>23</sup> Complejo de AgNPs y cobre (AgCuNP) <sup>49</sup> Quitosano <sup>50,51,52</sup> Solución liberadora de Oxido nítrico (NORS) <sup>53</sup> Terapia fotodinámica <sup>54</sup>
-----------------	--

En cuanto al fortalecimiento de la respuesta inmune, existen algunos estudios que se han enfocado en el uso de varios componentes con el objetivo de optimizarla: en primer lugar, el butirato de sodio (NaB) es un compuesto químico que, además de producir energía a las células, posee un alto potencial de regular la respuesta inmune innata; es así que, en la investigación de Dai et al.<sup>34</sup>, del año 2020, se muestra una manera de mejorar la respuesta inmune innata por medio de la acción del butirato de sodio (NaB) sobre la respuesta inducida por lipopolisacáridos (LPS), principales componentes de la membrana externa en bacterias gram negativas, capaces de generar el estímulo que, como ya se sabe, juega un papel importante en los estadios tempranos de la infección. Para tal fin, se seleccionó una línea celular alveolar mamaria bovina y se estimuló con LPS y NaB para dilucidar el efecto modulador del NaB sobre la respuesta inmune innata durante la infección de la glándula mamaria in vitro. Los autores del artículo concluyeron que el butirato de sodio sí mejora la respuesta inmune innata generada por lipopolisacáridos promoviendo la expresión de quimioquinas, citoquinas proinflamatorias y  $\beta$ -defensinas en células epiteliales mamarias bovinas.

El itaconato regulado por el gen de respuesta inmunológica 1 (Irg1) se ha identificado como un metabolito endógeno durante la activación de los macrófagos, con la capacidad de aliviar la inflamación mediante la inhibición de IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 y HIF-1 $\alpha$  a través del factor nuclear. El objetivo del estudio de Zhao et al.<sup>35</sup>, del año 2019, fue investigar el papel protector del itaconato de dimetilo (DI) en la mastitis inducida por lipopolisacáridos (LPS) en ratones. El procedimiento se realizó por medio de itaconato de dimetilo intraperitoneal y 24 horas después se inyectaron lipopolisacáridos en el conducto del pezón, se utilizó la tinción hematoxilina-eosina y ELISA para evaluar alteraciones en la glándula mamaria, proteínas y enzimas. Además de usar transferencia Western para identificar el papel protector del itaconato de dimetilo al activar vías de señalización de la respuesta celular. Como resultado de este estudio se afirma que el “efecto antiinflamatorio

de DI en la mastitis inducida por LPS puede atribuirse a la depresión NF- $\kappa$ B mediada por TLR4 a través de la activación de las vías de señalización MAPK y Nrf2/HO-1. Por lo tanto, el itaconato puede tener la posibilidad de ser un agente prometedor y eficaz para el control de la mastitis.

En un estudio realizado por Zhan et al.<sup>36</sup>, publicado en el año 2020, se evaluaron los efectos de los extractos del aceite del árbol de té (TTO), un aceite esencial extraído de las hojas de *Melaleuca alternifolia*, en la expresión de genes involucrados en la respuesta inflamatoria de las células epiteliales de la glándula mamaria bovina frente a *S. aureus*, así como también la inmunidad innata de estas células y de los polimorfonucleares. Se utilizaron las células epiteliales de tres vacas Holstein a mitad de lactancia; así mismo, se realizó un ensayo de la proliferación del extracto de té sobre dichas células para posteriormente evaluar su viabilidad. Con respecto a las cepas de *S. aureus* utilizadas, se les hizo aislamiento tras ser causantes de mastitis bovina para evaluar su formación de biopelículas y su capacidad invasora. Además, se realizó PCR para evaluar los genes involucrados en la respuesta inflamatoria. Como resultados se encontró que cierta concentración del aceite incrementó la proliferación de las células epiteliales mamarias además de mejorar su viabilidad al exponerse a *S. aureus*. Por otro lado, la incubación del extracto junto a las células, alivia la respuesta inflamatoria causada por este patógeno, además de mejorar la expresión de IL-8 para reclutar PMN<sup>35</sup>.

Por último, se encuentra disponible actualmente un producto denominado MAMICEL<sup>37</sup>, que es elaborado a base de extractos de plantas específicos que son capaces de fortalecer el sistema inmune del animal frente a patógenos productores de mastitis, de manera que se incrementa el proceso antiinflamatorio y permite que el animal se recupere rápidamente; este tratamiento por no contener antibióticos no precisa de retirada de la leche y se recomienda que sea consultado su uso con un especialista.

Desde otra perspectiva, a causa de la creciente resistencia que presentan los microorganismos productores de mastitis, los altos costos de tratamiento para los agricultores y las consecuencias para el ser humano por las trazas de medicamentos en la leche, se ve necesario buscar tratamientos naturales “para la identificación de agentes antibacterianos nuevos y efectivos”<sup>38</sup>, encaminados a cumplir el concepto de una sola salud.

Es así que, enfocado hacia la búsqueda de un sustituto para los tratamientos convencionales, se han venido realizando estudios sobre diversos compuestos que tengan la capacidad de resolver la infección eliminando directamente el patógeno. Dentro de estas alternativas se han evaluado formas naturales como plantas y aceites esenciales y químicas como nanopartículas, las cuales se describirán a continuación.

En cuanto a las alternativas naturales, en el estudio de Serunkuma et al.<sup>39</sup>, del año 2020, fueron seleccionadas cuatro especies de plantas (*Acacia nilotica* (corteza y hojas), *Aloe arborescens* (hojas), *Tetradenia riparia* (flores y hojas) y *Crassula multicava* (planta entera)), con el objetivo de evaluar su actividad antimicrobiana contra un panel de microorganismos conocidos por causar mastitis. Para tal fin, se realizó un ensayo de microdilución en serie para evaluar los valores de concentración inhibitoria mínima (MIC) de cada uno de los extractos. Se concluyó, que los extractos de *A. arborescens* y *C. multicava* no tuvieron una actividad antibacteriana satisfactoria contra el panel de especies bacterianas usadas, pero *A. nilotica* y *T. riparia* demostraron una actividad prometedora.

Así mismo, en el estudio realizado por Nisrin et al.<sup>40</sup> en 2020, se corroboró la actividad antimicrobiana de *A. nilotica*, al ser evaluada su eficacia contra patógenos causantes de mastitis. Esta investigación se llevó a cabo comparando cuatro desinfectantes comúnmente usados para la desinfección de la ubre (TH4+, Tek-Trol, Virkon S, Ácido peracético) con esta planta por medio de la evaluación del MIC y MBC revelando el potencial de *A. nilotica* como alternativa de antibiótico por su buena actividad antibacteriana frente a diferentes patógenos.

En el estudio de Silva et al.<sup>41</sup>, elaborado en el año 2020, el objetivo fue discutir el uso de extractos de plantas y aceites esenciales como alternativas para el tratamiento de la mastitis bovina. El extracto de *Terminalia chebula* demostró actividad antimicrobiana contra los aislados bacterianos obtenido de muestras de leche de vacas que presentaban mastitis subclínica; por su parte, el extracto acuoso de *Ocimum sanctum* redujo significativamente la concentración de ceruloplasmina y el recuento de células somáticas; además, al igual que el extracto de *Azadirachta indica*, disminuyó la inflamación de la ubre y mostró efectos inmunomoduladores en vacas con mastitis subclínica. Por último, los aceites esenciales de *Thymus vulgaris* y *Lavandula angustifolia*, contra

*Staphylococcus sp.* y *Streptococcus sp.*, demostraron una fuerte actividad antimicrobiana.

Por otro lado, en el estudio de Seroussi et al.<sup>32</sup>, del año 2018, se evaluó la efectividad de la infusión intramamaria de PLA2G1B (fosfolipasa de páncreas bovino) como tratamiento para vacas con mastitis clínica por diferentes bacterias. Para ello, las glándulas mamarias se pusieron a prueba al introducir *E. coli* y posteriormente fueron tratadas con PLA2G1B, lo que permitió una rápida recuperación de la producción de leche y ayudó a disminuir los recuentos de células somáticas; se cree que al ser inofensivo el tratamiento con PLA2G1B sobre las células cultivadas, no se requiere tiempo de retiro, es decir, no se requiere tiempo de espera desde que finaliza el tratamiento para poder comercializar la leche del bovino.

En el estudio de Montironi et al.<sup>42</sup>, del año 2016, el objetivo fue determinar tanto la concentración bactericida mínima (CBM) como la concentración inhibitoria mínima (MIC) del aceite esencial de *Minthostachys verticillata* y del limoneno, que es uno de los principales compuestos de esta planta, contra cepas de *Streptococcus uberis* que fueron aisladas de vacas con mastitis. Para este fin, usaron el método de microdilución añadiendo 75 µl de la dilución de cada uno a las microplacas, junto con  $1 \times 10^6$  UFC/ml de cada cepa. Se concluyó que tanto el aceite esencial como el limoneno poseen actividad antibacteriana contra las cepas probadas, aunque el primero demostró una mayor actividad en comparación con el segundo.

En el estudio de Mullen et al.<sup>43</sup>, del año 2014, el objetivo fue determinar la capacidad antimicrobiana que poseía Phyto-Mast, una combinación de aceites esenciales derivados de hierbas, contra 3 microorganismos productores de mastitis (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus chromogenes* y *Streptococcus uberis*). En este estudio, realizaron el método de dilución en caldo usando leche orgánica entera UHT pasteurizada y homogeneizada, sustituyendo al caldo Mueller Hinton como medio de cultivo, posteriormente añadieron el tratamiento y 10 µl de Mueller Hinton inoculado. Se demostró que el aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) fue el único que, a una concentración de 2 y 3%, obtuvo una “actividad antibacteriana consistente contra los 3 patógenos causantes de mastitis probados”.

En el estudio de Moreira et al.<sup>44</sup>, elaborado en el año 2014, el objetivo fue conocer la capacidad

antibacteriana in vitro que poseía el extracto hidroalcohólico, obtenido de la corteza de *Punica granatum*, sobre bacterias aisladas de leche de vacas que presentaban mastitis. En la investigación usaron el método de difusión en disco para evaluar la sensibilidad de las cepas, de manera que, los resultados que mostraron un halo de inhibición mayor a 15 mm fueron considerados como susceptibles. Allí se demostró que el extracto hidroalcohólico de *Punica granatum* contra *Staphylococcus aureus* sí poseía actividad antimicrobiana.

En el estudio elaborado por Amber et al.<sup>45</sup> del año 2018, el objetivo fue brindar información científica acerca de plantas etnomedicinales capaces de actuar en contra de microorganismos causantes de mastitis, esto por medio de estudios en fitoquímica y análisis antimicrobiano in vitro contra bacterias multirresistentes y la American Type Culture Collection (ATCC). Los análisis fitoquímicos de las plantas seleccionadas contienen una amplia cantidad de alcaloides, en especial *Allium sativum* y *Bunium persicum* mostrando un efecto antibacteriano significativo a comparación de otras plantas analizadas; por lo cual, estas dos son consideradas como potenciales para la elaboración de medicamentos veterinarios con bajos efectos secundarios.

El estudio realizado por Zeedan et al.<sup>46</sup> en el 2014, tuvo como objetivo aislar e identificar microorganismos causantes de mastitis y evaluar la actividad antibacteriana de extractos de las plantas *Artemisia herb alba* y *Jasonia montana* frente a estos. Se empleó la prueba de California para el diagnóstico de mastitis subclínica, así como la MIC para la evaluación de inhibición y crecimiento bacteriano. De dichas evaluaciones se encontró que ambos extractos pueden ser usados como alternativa de tratamiento.

Diversas plantas medicinales presentan actividad antibacteriana, como es el caso de la *Alpinia zerumbet* la cual es una planta propia de Asia, de la familia *Zingiberaceae*. Es conocida y encontrada en Brasil por ser usada como diurético, antipirético y para disminuir la tensión alta, además de contar con estudios que demuestran su eficacia antimicrobiana. En el estudio de Castro et al.<sup>47</sup> de 2016, se tuvo como objetivo estimar la actividad antimicrobiana del aceite esencial y el extracto etanólico de *Alpinia zerumbet* en contra de cepas bacterianas de *Staphylococcus aureus* recogidas de vacas lecheras con mastitis subclínica como también sobre cepas ATCC. Esto se realizó por medio del método de difusión y se hizo uso de diez tratamientos que contenían

diferentes concentraciones de aceite esencial y extracto de etanol y el grupo control para la realización de la prueba antimicrobiana. Los componentes principales del aceite esencial fueron analizados por medio de cromatografía. Se demostró que todos los aislamientos mostraron susceptibilidad al tratamiento utilizado por lo que se da a conocer el alto potencial antimicrobiano del aceite junto con el extracto etanólico de *A. zerumbet* en el tratamiento de mastitis bovina.

En cuanto a las alternativas químicas, los animales transgénicos son a quienes se les transfiere uno o más genes provenientes de otro organismo a través de diversas tecnologías; tal como el estudio de Chen et al.<sup>48</sup>, publicado en el año 2017, en el que se produjo ganado transgénico usando la integrasa phiC31 para insertar beta-defensina-3 humana (HBD3) en el genoma del ganado, que expresaba en sus glándulas mamarias HBD3, lo que le confiere resistencia a los microorganismos causantes de mastitis. La mastitis fue menos prevalente entre el ganado transgénico resultante y la leche que contenía HBD3 también reprimió el crecimiento de bacterias.

En el estudio de Abd El-Aziz et al.<sup>23</sup>, del 2021, el objetivo fue evaluar la capacidad antimicrobiana y antibiofilm de las nanopartículas de plata (AgNPs) y del aceite de canela, en conjunto y por separado, contra *S. agalactiae* resistente a múltiples fármacos (MDR). Para este fin, usaron el ensayo de difusión en pozos de agar y evaluaron los diámetros de las zonas de inhibición y los valores de concentración inhibitoria mínima (MIC), en donde se demostró que, para todos los aislamientos analizados, el aceite de canela y las AgNP tuvieron valores de concentración bactericida mínima (MBC) dos veces más altos que sus MIC registrados, lo que indicaría su efecto bactericida. Por otro lado, la exposición de los microorganismos a la combinación de AgNP con aceite de canela, dio como resultado la inhibición en 4 horas del 100 % de las células bacterianas, lo que demuestra que el efecto antimicrobiano del aceite de canela fue mejorado por las nanopartículas de plata.

El estudio de Kalińska et al.<sup>49</sup> elaborado en el año 2019, se planteó objetivos como: análisis de las propiedades fisicoquímicas de las AgNP, CuNP (nanopartículas de cobre) y AgCuNP (complejo de nanopartículas de plata y cobre) encontrados en el mercado; establecer la influencia de las nanopartículas en líneas celulares mamarias (humanas y bovinas) así como establecer la influencia de estas, en especies bacterianas patógenas específicas que comúnmente causan mastitis. Los

resultados obtenidos en el estudio muestran que las NP analizadas no causan toxicidad sobre las líneas celulares mamarias; por lo cual, la adición de NP debería ser segura para el ganado y los humanos, con estos estudios se busca lograr la preparación de desinfectantes que puedan utilizarse en el ámbito de ordeño de los hatos lecheros.

El quitosano es un polímero catiónico natural que se obtiene de la quitina, este compuesto, además de presentar actividad antibacteriana, tiene baja toxicidad, inmunogenicidad posee biocompatibilidad y es biodegradable<sup>50,51</sup>. Variedad de estudios se han realizado de la actividad antibacteriana de este compuesto frente a algunas bacterias causantes de mastitis bovina, como el realizado por Zhang et al.<sup>50</sup> en 2021, donde se exploró in vitro la actividad antimicrobiana del quitosano en diferentes pesos moleculares sobre bacterias causantes de mastitis. Además, se comparó la eficacia de un baño de pezones con quitosano más una baja concentración de povidona yodada con un producto convencional de altos niveles de povidona yodada en un diseño experimental de ubre dividida y rebaño dividido. Como resultado se obtuvo una eficacia mayor de la mezcla de quitosano con la povidona yodada en comparación con sólo la povidona; y de cuatro experimentos realizados aleatoriamente se concluyó que, con la adición del quitosano, fue efectivo prevenir la mastitis subclínica.

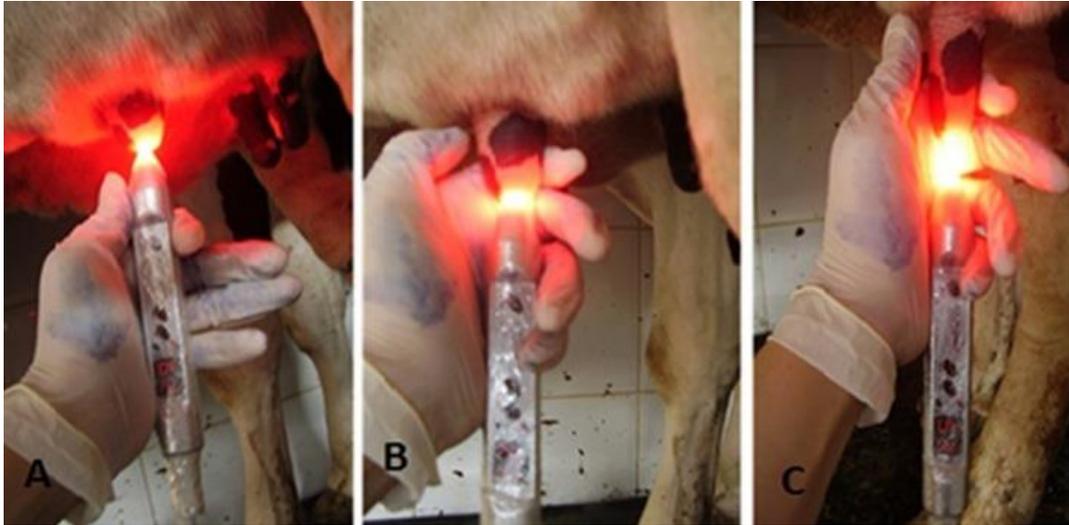
Otro estudio realizado por Bresler et al.<sup>51</sup>, en 2018, tras analizar aislamientos de mastitis bovina crónica clasificados como estafilococos coagulasa negativos reacios a terapia antibiótica, se estudió la respuesta tras la adición del quitosano a la terapia con cloxacilina; tras evaluación de MIC y MBC se observó que la adición del quitosano a la terapia con cloxacilina mejoró la muerte bacteriana.

Por otro lado, en un estudio de 2019, realizado por Orellano et al.<sup>52</sup>, se exploró el potencial antimicrobiano de las nanopartículas de quitosano como alternativa de tratamiento para la mastitis bovina, evaluando el efecto microbiocida, la inhibición de la formación de biopelículas y la toxicidad en las células bovinas, comparando resultados del quitosano nativo con las nanopartículas. Se realizó la síntesis de las nanopartículas de quitosano, la MIC y MBC, así mismo, se evaluó la viabilidad bacteriana mediante un método comercial. Se concluyó que las nanopartículas de quitosano mostraron mejor actividad microbiocida sobre cepas aisladas de

mastitis en comparación del quitosano solamente.

El óxido nítrico (NO) es un radical nitróxido que juega un rol significativo en la respuesta inmune innata de mamíferos, incluidos los bovinos, tiene un tiempo de vida corto y cuando se encuentra frente a hemoglobina oxigenada, es capaz de unirse a ella como metahemoglobina que se transforma en nitrito y nitrato a causa de la metahemoglobina reductasa y luego se expulsa en la orina. Este radical presenta atributos que lo hacen candidato en tratamientos antimicrobianos al usar una solución liberadora de óxido nítrico (NORS) que puede liberar al óxido nítrico (NO) mesuradamente. En el estudio de Regev et al.<sup>53</sup> del año 2018, se analiza y estudia la solución liberadora de óxido nítrico (NORS) como un posible tratamiento para la mastitis bovina. Se realizó midiendo el efecto antimicrobiano de la sustancia en especies bacterianas asociadas con mastitis bovina además de usar leche de vacas sintomáticas. También se realizó un estudio de escalada de dosis en vacas lecheras sanas en ordeño. NORS da a conocer diversos beneficios como la capacidad de eliminar bacterias resistentes junto a su metabolismo acelerado que permitiría una eliminación y consecuentemente una solución pronta a la infección. Se requieren más estudios que reflejen una mayor seguridad y efectividad para que el NORS pueda ser usado como tratamiento a la mastitis.

La terapia fotodinámica consiste en activar un fotosensibilizador que carece de toxicidad y que al exponerse a la luz en determinada longitud de onda y densidad de energía se producen especies reactivas de oxígeno, que cuando están en contacto con un microorganismo, son capaces de modificar su material genético además de su membrana lo que ocasiona su muerte (Figura 2). Por ello, se busca hacer uso de esta técnica en el estudio de Moreira et al.<sup>54</sup> denominado “Use of photodynamic therapy in the treatment of bovine subclinical mastitis”, donde se plantea como objetivo determinar el resultado de la terapia fotodinámica al tratar la mastitis subclínica bovina con el fin de elaborar un protocolo terapéutico capaz de ser utilizado en la práctica. En base a los resultados obtenidos en el estudio, se afirma que la terapia fotodinámica mostró eficiencia al usarse in vivo en tratamiento de la mastitis subclínica en vacas. Por tal motivo, se deben hacer más estudios en los que se puedan elaborar más protocolos terapéuticos a razón de la gran variedad de microorganismos que pueden causar mastitis.



**Figura 2.** Terapia Fotodinámica en la Ubre de una vaca<sup>54</sup>.

## 9. DISCUSIÓN

En la actualidad, en términos generales el recuento de células somáticas (SCC) que presenta la glándula mamaria del animal lechero sano es de 200.000 células/ml aproximadamente. Sin embargo, niveles de SCC superiores a 200.000 células/ml, en donde haya presencia de bacterias en la leche y ausencia de signos clínicos se denomina mastitis subclínica, a diferencia de la mastitis clínica, en la cual se presenta una secreción anormal de leche junto con rigidez, hinchazón y enrojecimiento de la ubre<sup>33</sup>.

La forma en la que una bacteria puede adquirir resistencia dependerá de diferentes condiciones: la presencia de bacterias resistentes en la población, si se reproducen exitosamente en presencia de antibióticos o si por el contrario ésta es hereditaria. “En estos casos, la composición de la población cambiará con el tiempo a favor de variantes resistentes”<sup>55</sup>.

Por otro lado, uno de los factores de virulencia más importante en la persistencia de la infección es la formación de biopelículas bacterianas, que se presentan en forma de capa protectora y se adhieren a una superficie, lo que les confiere resistencia. “Se ha demostrado previamente que las bacterias dentro de las biopelículas pueden ser hasta 1000 veces más resistentes a los antibióticos que las bacterias de vida libre”<sup>56</sup>.

Según los estudios revisados, se encontraron tratamientos alternativos capaces de optimizar la respuesta inmune, lo cual sería beneficioso pues una respuesta inmune sólida ayudará a que el animal se pueda defender mejor ante la infección. Tal como se encontró en el estudio de Dai et al.<sup>34</sup>, del año 2020, en donde se puso a prueba el butirato de sodio por su solidez y estabilidad, en este artículo se encontró que cuando la glándula mamaria está cursando por una infección a causa de la bacteria *S. aureus*, este compuesto puede actuar eficazmente disminuyendo la internacionalización de la bacteria en las células epiteliales mamaria bovinas. Así como el estudio de Sun et al.<sup>57</sup>, del año 2020, en el cual se encontró que el butirato de sodio controló la respuesta inflamatoria de las células epiteliales mamarias bovinas, ocasionada por LPS, al interferir en la señalización de NF-kb y la acetilación de histona.

Por otro lado, el itaconato de dimetilo, el cual es un metabolito endógeno en la activación de los macrófagos, se probó en el estudio de Zhao et al.<sup>35</sup>, del año 2019, en éste se encontró como ventaja la capacidad de este compuesto de reducir la secreción de TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  en donde, al igual que en el estudio anterior, se disminuye la inflamación causada por lipopolisacáridos al ser suministrado este compuesto.

Para optimizar la respuesta inmune se han evaluado también alternativas naturales. Como en el estudio de Zhan et al.<sup>36</sup>, publicado en el año 2020, en donde al evaluar el uso de aceite de árbol de té, se encontró que este es capaz de permear la membrana celular y de cambiar tanto la estructura como función de ésta. A nivel antimicrobiano juega un papel importante ya que colabora reduciendo al *S. aureus* y un componente importante de su virulencia, como lo es la formación de biopelículas, además de presentar la capacidad de colaborar en la resolución de infecciones crónicas causadas por este patógeno.

En cuanto a las alternativas naturales evaluadas en los resultados, las plantas medicinales poseen una amplia variedad de metabolitos secundarios (taninos, alcaloides y flavonoides), de los cuales se han realizado estudios que confirman que tienen propiedades antimicrobianas además de ser capaces de tratar enfermedades infecciosas, así como presentar menos efectos secundarios, baja toxicidad, ser de fácil acceso y amigables con el medio ambiente. Los compuestos de las plantas actúan independientemente de los mecanismos de resistencia que poseen los antibióticos y pueden

actuar como fuentes importantes de nuevos antibióticos para obtener una variedad de fármacos y compuestos activos, inhibidores de la bomba de expulsión, que atacan la virulencia bacteriana o pueden usarse en combinación con medicamentos existentes<sup>38,46</sup>.

En el caso de la *Alpinia zerumbet*, se muestra que los compuestos 4-terpineol y 1,8-cineol poseen capacidad antimicrobiana que puede deberse a que esta planta posee sesquiterpenos en sus flores, hojas y raíces; también se habla de un efecto sinérgico entre el p-cimeno y otras sustancias de la planta lo que promueve su efecto antibacteriano<sup>47</sup>.

Por otra parte, en cuanto a las alternativas químicas como el ganado transgénico que posee en su genoma beta-defensina-3 humana (HBD3), se conoce que según Chen et al.<sup>48</sup>, en el estudio publicado en el año 2017, no se necesita de una alta concentración de HBD3 para que se demuestre su actividad antimicrobiana y, por otra parte, que no es sencillo que se desarrolle resistencia a este compuesto por parte de los microorganismos patógenos, lo que equivaldría a hatos lecheros inmunes a la mastitis bovina.

En cuanto a las nanopartículas de plata, en el estudio de Fernandes et al.<sup>58</sup>, publicado en el año 2021, luego de exponer microorganismos a concentraciones subinhibitorias de AgNPs a lo largo de 10 días, no se desarrolló resistencia cruzada o adaptativa ya que no hubo alteración en los valores de MIC después del ensayo, consecuentemente con el estudio de Kalińska et al.<sup>49</sup>, elaborado en el año 2019, en el cual se afirma que “la ventaja más importante de las NP es que no producen resistencia bacteriana”<sup>49</sup>; además las nanopartículas de cobre tienen acción contra bacterias y hongos y, por su parte, las nanopartículas de plata poseen actividad antibacteriana y antiviral prometedora, son radiosensibilizadores y fotosensibilizadores y pueden ser usados en la terapia anticancerígena. A nivel de la glándula mamaria se asegura que no poseen alta toxicidad por lo cual se espera que no se genere un efecto negativo en los tejidos de la ubre.

En otro orden de ideas, el quitosano posee efecto antimicrobiano contra diversos microorganismos, es un biopolímero bioadhesivo, bioactivo, no tóxico, con una gran variedad de vías de administración. Su actividad antimicrobiana se basa en sus propiedades físicas, lo que aumenta la dificultad de desarrollar o transferir resistencia. Por su naturaleza policationica, “puede interactuar

con los ácidos teicoicos cargados negativamente en la pared celular de las bacterias Gram-positivas y eventualmente romper la membrana celular para matarlas”<sup>50</sup>. Al usarlo como solución de lavado del pezón como lo descrito por Zhang et al.<sup>50</sup>, en el 2021, mejoró la actividad antibacteriana de la limpieza realizada, así como la unión con la povidona yodada mostró buenos resultados sobre bacterias causantes de mastitis, siendo el quitosano un reservorio del yodo proporcionando una liberación más controlada de éste y mejorando su actividad antibacteriana.

Además, cuando es usado en forma de nanopartículas (Ch-NP) puede actuar como agente antibacteriano y presenta una actividad mejorada en comparación al quitosano nativo como lo indican los resultados del estudio de Orellano et al.<sup>52</sup> de 2019, en donde “la muerte bacteriana aumentó de manera dependiente de la dosis y el tiempo de exposición”<sup>52</sup>, así mismo, se encontró que las Ch-NP tenían la capacidad de inhibir la formación de biopelículas de cepas asociadas a mastitis.

Como es bien sabido, la leche que contiene trazas de antibióticos no es apta para venta ni para consumo humano, razón por la cual en el estudio de Regev et al.<sup>53</sup> del año 2018, se evaluó la eficacia del NORS y su posible tiempo de retiro para revelar una forma de solucionar esta problemática, es así que 24 horas postratamiento se demostró que la cantidad de nitritos en los cuartos tratados se había normalizado, lo que indica que si la infección se elimina, la leche es potencialmente útil entre las 24 a 48 horas después del tratamiento, esto debido a su alta capacidad de resolución de infecciones en un tiempo corto gracias a que se metaboliza rápidamente en el organismo. Adicional a esto, se afirma que NORS presenta múltiples ventajas en diferentes aspectos como lo es la acción en contra de bacterias resistentes, lo que lleva a pensar que también puede actuar cuando la resistencia ya se encuentre presente a nivel de la glándula mamaria.

Por último, la terapia fotodinámica, según Moreira et al.<sup>54</sup>, muestra grandes ventajas al ser aplicada en neoplasias e infecciones de la piel y microbianas, por lo cual puede ser usada en la terapia antimicrobiana de forma segura ya que no hay reportes que indiquen resistencia a tal tratamiento.

## 10. CONCLUSIONES

Los mecanismos de defensa de la glándula mamaria en bovinos se conocen y están ampliamente establecidos en la literatura. Estos se verán influenciados por diferentes factores biológicos y ambientales que sobrevengan de las condiciones particulares de cada bovino y de su capacidad para superar la infección; sin embargo, la microbiota en la glándula no está claramente identificada ya que, pese a que se han realizado diversos estudios sobre esta, no se ha llegado a un consenso. Motivo por el cual, el papel de ésta no es claro a nivel de defensa, por lo que al hablar de mecanismos de defensa se asume que el sistema inmune innato y adaptativo son los usados por el cuerpo y no la microbiota en su lugar.

Frente al creciente problema de la resistencia a los antibióticos y cómo esta afecta en el tratamiento de una enfermedad como la mastitis, con tanta repercusión a nivel de salud animal y producción, se hizo una revisión mostrando algunas de las posibles alternativas al uso de antibióticos frente a esta infección con el objetivo de implementarlas en un futuro cercano. Las alternativas químicas ofrecen una opción innovadora frente al tratamiento de la mastitis bovina ya que entre sus principales beneficios se encuentra la imposibilidad de la bacteria de adquirir resistencia frente a estos compuestos de manera que se provee una solución al problema principal de nuestra revisión.

Los derivados de plantas utilizados como alternativa de tratamiento contra la mastitis bovina son promisorios y permiten ahondar en el descubrimiento de nuevas especies con potencial medicinal que se puedan usar en esta misma dirección, ya que se ha demostrado que son buenos agentes antimicrobianos siendo eficaces *in vitro* e *in vivo* en algunos casos, cuando se han puesto a prueba contra bacterias resistentes resultando en la resolución de la infección. Además, ambos tipos de alternativas cumplen con el concepto de una sola salud siendo más seguros tanto para el animal en cuestión, como para el medio ambiente y el consumidor. Por tal motivo, consideramos que a pesar de que todas las alternativas son viables, el problema de su implementación radica en factores externos a estas, como lo serían: la disponibilidad de recursos, la accesibilidad a los tratamientos y la falta de conocimiento sobre el uso apropiado de cada una de estas.

Consideramos que a pesar de que todas las alternativas son viables, el problema de su

implementación radica en factores externos a estas, como lo serían: la disponibilidad de recursos, la accesibilidad a los tratamientos y la falta de conocimiento sobre el uso apropiado de cada una de estas. En consecuencia, una forma de hacer estas alternativas más cercanas sería realizando trabajos de campo con el fin de comprobar la eficacia de estas y, así mismo, darlas a conocer en el país, para de esta manera lograr su implementación y difusión en beneficio de los bovinos, la población ganadera del país, los veterinarios y demás implicados.

## REFERENCIAS

1. Jaramillo A, Cobo C, Moreno Y, Ceballos A. Resistencia antimicrobiana de *Streptococcus agalactiae* de origen humano y bovino [Internet]. Redalyc.org. 2018 [citado el 31 de marzo de 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/3214/321457137006/html/>
2. Chiesa L, DeCastelli L, Nobile M, Martucci F, Mosconi G, Fontana M, et al. Analysis of antibiotic residues in raw bovine milk and their impact toward food safety and on milk starter cultures in cheese-making process. *Lebenson Wiss Technol* [Internet]. 2020;131(109783):109783. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109783>
3. Bonilla M, Gutiérrez N, Posada I. Prevalencia de mastitis bovina en el Cañón de Anaime, región lechera de Colombia, incluyendo etiología y resistencia antimicrobiana. *Rev Investig Vet Perú* [Internet]. 2018 [citado el 31 de marzo de 2022];29(1):226–39. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172018000100022](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000100022)
4. Villanueva T, Gonzalo, Morales C., Siever. Resistencia antibiótica de patógenos bacterianos aislados de mastitis clínica en bovinos de crianza intensiva [Internet]. Redalyc.org. 2017 [citado el 31 de marzo de 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63654640046.pdf>
5. Jiménez S, Torres Higuera L, Parra Arango J, Rodríguez Bautista J, García F, Patiño R. Profile of antimicrobial resistance in isolates of *Staphylococcus* spp. obtained from bovine milk in Colombia. *Rev Argent Microbiol* [Internet]. 2020;52(2):121–30. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0325754119300604>
6. Organización mundial de Sanidad animal OM. Estrategia de la OIE sobre la resistencia a los agentes antimicrobianos y su uso prudente [Internet]. Oie.int. 2016 [citado el 31 de marzo de 2022]. Disponible en: <https://www.oie.int/app/uploads/2021/03/es-oie-amrstrategy.pdf>
7. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, Instituto Colombiano Agropecuario, Subgerencia de Protección y Regulación Pecuaria, Grupo de Inocuidad en Cadenas Agroalimentarias Pecuarias. LAS BUENAS PRÁCTICAS GANADERAS EN LA PRODUCCIÓN DE LECHE, EN EL MARCO DEL DECRETO 616 [Internet]. Gov.co.

2007 [citado el 31 de marzo de 2022]. Disponible en:

<http://ica.gov.co/getattachment/049aef47-c6e3-43d9-826b-e163f8b40e98/Publicacion-23.aspx>

8. Llanos S, Vezeau N, Wemette M, Bulut E, Greiner A, Moroni P, et al. Survey of perceptions and attitudes of an international group of veterinarians regarding antibiotic use and resistance on dairy cattle farms. *Prev Vet Med* [Internet]. 2021;188(105253):105253. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167587720309375>
9. Belloso, W, & Histórica, R. (s/f). Historia de los antibióticos. org.ar. [Internet]. 2009; Disponible en: [https://www.hospitalitaliano.org.ar/multimedia/archivos/noticias\\_attachs/47/documentos/7482\\_102-111-belloso.pdf](https://www.hospitalitaliano.org.ar/multimedia/archivos/noticias_attachs/47/documentos/7482_102-111-belloso.pdf)
10. Jiménez G, Villegas J, Calderón A, Rodríguez V, Maza L, et al. Raw milk quality in Northwestern Colombia. *Rev Colomb Cienc Pecu* [Internet]. 2016;29(3). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.rccp.v29n3a06>
11. Jamali H, Krylova K, Aïder M. Identification and frequency of the associated genes with virulence and antibiotic resistance of *Escherichia coli* isolated from cow's milk presenting mastitis pathology. *Anim Sci J* [Internet]. 2018;89(12):1701–6. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/asj.13093>
12. Yang F, Zhang S, Shang X, Wang X, Wang L, Yan Z, et al. Prevalence and characteristics of extended spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* from bovine mastitis cases in China. *J Integr Agric* [Internet]. 2018;17(6):1246–51. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s2095-3119\(17\)61830-6](http://dx.doi.org/10.1016/s2095-3119(17)61830-6)
13. Bhattarai D, Worku T, Dad R, Rehman Z, Gong X, Zhang S. Mechanism of pattern recognition receptors (PRRs) and host pathogen interplay in bovine mastitis. *Microb Pathog* [Internet]. 2018;120:64–70. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2018.04.010>
14. Gao X, Fan C, Zhang Z, Li S, Xu C, Zhao Y, et al. Enterococcal isolates from bovine subclinical and clinical mastitis: Antimicrobial resistance and integron-gene cassette

- distribution. *Microb Pathog* [Internet]. 2019;129:82–7. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2019.01.031>
15. Srednik M, Crespi E, Testorelli M, Puigdevall T, Pereyra A, Rumi M, et al. First isolation of a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from bovine mastitis in Argentina. *Vet Anim Sci* [Internet]. 2019;7(100043):100043. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vas.2018.11.004>
  16. Song X, Huang X, Xu H, Zhang C, Chen S, Liu F, et al. The prevalence of pathogens causing bovine mastitis and their associated risk factors in 15 large dairy farms in China: An observational study. *Vet Microbiol* [Internet]. 2020;247(108757):108757. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108757>
  17. Lan T, Liu H, Meng L, Xing M, Dong L, Gu M, et al. Antimicrobial susceptibility, phylotypes, and virulence genes of *Escherichia coli* from clinical bovine mastitis in five provinces of China. *Food Agric Immunol* [Internet]. 2020;31(1):406–23. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1080/09540105.2020.1736009>
  18. Zhang H, Yang F, Li X, Luo J, Wang L, Zhou Y, et al. Detection of antimicrobial resistance and virulence-related genes in *Streptococcus uberis* and *Streptococcus parauberis* isolated from clinical bovine mastitis cases in northwestern China. *J Integr Agric* [Internet]. 2020;19(11):2784–91. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s2095-3119\(20\)63185-9](http://dx.doi.org/10.1016/s2095-3119(20)63185-9)
  19. Fuenzalida M, Furmaga E, Aulik N. Antimicrobial resistance in *Klebsiella* species from milk specimens submitted for bovine mastitis testing at the Wisconsin Veterinary Diagnostic Laboratory, 2008–2019. *JDS Communications* [Internet]. 2021;2(3):148–52. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3168/jdsc.2020-0031>
  20. Bag M, Khan M, Sami M, Begum F, Islam M, Rahman M, et al. Virulence determinants and antimicrobial resistance of *E. coli* isolated from bovine clinical mastitis in some selected dairy farms of Bangladesh. *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2021;28(11):6317–23. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.06.099>
  21. Molineri A, Camussone C, Zbrun M, Suárez Archilla G, Cristiani M, Neder V, et al. Antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis:

- Systematic review and meta-analysis. *Prev Vet Med* [Internet]. 2021;188(105261):105261. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2021.105261>
22. Tesfaye K, Gizaw Z, Haile AF. Prevalence of mastitis and phenotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in lactating dairy cows of selected dairy farms in and around Adama town, Central Ethiopia. *Environ Health Insights* [Internet]. 2021;15:11786302211021296. Available from: <http://dx.doi.org/10.1177/11786302211021297>
23. Abd El-Aziz N, Ammar A, El-Naenaey E, El Damaty H, Elazazy A, Hefny A, et al. Antimicrobial and antibiofilm potentials of cinnamon oil and silver nanoparticles against *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis: new avenues for countering resistance. *BMC Vet Res* [Internet]. 2021;17(1):136. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s12917-021-02842-9>
24. Aguilar F, Álvarez C. MASTITIS BOVINA [Internet]. Edu.ec. [cited 2022 May 19]. Available from: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/15205/1/MASTITIS-BOVINA.pdf>
25. Mera R, Muñoz M, Artieda J, Ortiz P, González R, Vega V. Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche [Internet]. Redalyc.org. [citado el 19 de mayo de 2022]. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653574004.pdf>
26. Arenas NE, Moreno Melo V. Producción pecuaria y emergencia de antibiótico resistencia en Colombia: Revisión sistemática. *Infectio* [Internet]. 2018 [citado 2022 May 19];22(2):110 Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v22n2/0123-9392-inf-22-02-00110.pdf>
27. Ruegg PL. The bovine milk microbiome - an evolving science. *Domest Anim Endocrinol* [Internet]. 2022;79(106708):106708. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.domaniend.2021.106708>
28. Derakhshani H, Plaizier J, De Buck J, Barkema H, Khafipour E. Composition and co-occurrence patterns of the microbiota of different niches of the bovine mammary gland: potential associations with mastitis susceptibility, udder inflammation, and teat-end

- hyperkeratosis. *Anim Microbiome* [Internet]. 2020;2(1):11. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1186/s42523-020-00028-6>
29. Oikonomou G, Addis MF, Chassard C, Nader-Macias MEF, Grant I, Delbès C, et al. Milk Microbiota: What are we exactly talking about? *Front Microbiol* [Internet]. 2020;11:60. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2020.00060>
30. Metzger SA, Hernandez LL, Skarlupka JH, Walker TM, Suen G, Ruegg PL. A cohort study of the milk Microbiota of healthy and inflamed bovine mammary glands from dry off through 150 days in milk. *Front Vet Sci* [Internet]. 2018;5:247. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3389/fvets.2018.00247>
31. Guzmán, D. [Internet] 2015. [Citado el 14 de agosto de 2022]. Disponible en: [http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1730/1/Factores\\_inherentes\\_presentacion\\_mastitis\\_bovina.pdf](http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1730/1/Factores_inherentes_presentacion_mastitis_bovina.pdf)
32. Seroussi E, Blum S, Krifucks O, Lavon Y, Leitner G. Application of pancreatic phospholipase A2 for treatment of bovine mastitis. *PLoS One* [Internet]. 2018 [citado el 5 de septiembre de 2022];13(8):e0203132. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0203132>
33. Sordillo LM. Mammary Gland Immunobiology and Resistance to Mastitis. [Internet]. 2018. [Citado 26 sep 2021]; 34: 507–523. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.07.005>
34. Dai H, Wei G, Wang Y, Ma N, Chang G, Shen X. Sodium butyrate promotes lipopolysaccharide-induced innate immune responses by enhancing mitogen-activated protein kinase activation and histone acetylation in bovine mammary epithelial cells. [Internet] 2020. [Citado 14 ago 2022]. *Journalofdairyscience.org*. Disponible en: <https://doi.org/10.3168/jds.2020-18198>
35. Zhao C, Jiang P, He Z, Yuan X, Guo J, Li Y, et al. Dimethyl itaconate protects against lipopolysaccharide-induced mastitis in mice by activating MAPKs and Nrf2 and inhibiting NF- $\kappa$ B signaling pathways. [Internet] 2019. [Citado 14 ago 2022]. *Microbial Pathogenesis*. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.05.024>

36. Zhan K, Yang T, Feng B, Zhu X, Chen Y, Huo Y, et al. The protective roles of tea tree oil extracts in bovine mammary epithelial cells and polymorphonuclear leukocytes. *J Anim Sci Biotechnol* [Internet]. 2020;11(1):62. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s40104-020-00468-9>
37. MAMICEL 500 ML [Internet]. Proymaganadera.com. [citado el 11 de septiembre de 2022]. Disponible en: <https://www.proymaganadera.com/producto/mamicel-500-ml>
38. Mushtaq S, Manzoor A, Shah A, Ahmad S, Hussain A, Parvaiz Q, et al. Bovine mastitis: An appraisal of its alternative herbal cure. *Microb Pathog* [Internet]. 2018 [citado el 5 de septiembre de 2022];114:357–61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.024>
39. Serunkuma P, McGaw LJ, Nsahlai IV, Van Staden J. Selected southern African medicinal plants with low cytotoxicity and good activity against bovine mastitis pathogens. [Internet]. 2017. [Citado el 06 nov 2021]; 111:242-247. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.03.032>
40. Nisrin OA, Mona ME, Marwa EA, Fatma AE. Evaluation of antimicrobial effect of *Acacia nilotica* plant extract and selected commercial disinfectants against some pathogens causing mastitis. *Mansoura Veterinary Medical Journal* [Internet] 21:4 (2020) 193-200. Available from: [https://mvmj.journals.ekb.eg=article\\_148733\\_b80e85891cfbeb3a49f7c4cc32a8a1be.pdf](https://mvmj.journals.ekb.eg=article_148733_b80e85891cfbeb3a49f7c4cc32a8a1be.pdf)
41. Silva T, Scalabrin P, Oliveira A, Antunes F, Silveira S, Streck A. Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis. *Res Vet Sci* [Internet]. 2020 [citado el 5 de septiembre de 2022];131:186–93. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.025>
42. Montironi I, Cariddi L, Reinoso E. Evaluation of the antimicrobial efficacy of *Minthostachys verticillata* essential oil and limonene against *Streptococcus uberis* strains isolated from bovine mastitis. *Rev Argent Microbiol* [Internet]. 2016 [citado el 5 de septiembre de 2022];48(3):210–6. Disponible en: [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0325-75412016000300007&lng=es&nrm=iso](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-75412016000300007&lng=es&nrm=iso)

43. Mullen K, Lee A, Lyman R, Mason S, Washburn S, Anderson K. Short communication: an in vitro assessment of the antibacterial activity of plant-derived oils. *J Dairy Sci* [Internet]. 2014 [citado el 5 de septiembre de 2022];97(9):5587–91. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7806>
44. Moreira G, Matsumoto L, Silva R, Domingues P, Mello E. Atividade antibacteriana do extrato hidroalcoólico de *Punica granatum Linn.* sobre *Staphylococcus* spp. isolados de leite bovino. *Pesqui Vet Bras* [Internet]. 2014 [citado el 5 de septiembre de 2022];34(7):626–32. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/gDpRBxQr7GbnmR8NdNFSfXj/abstract/?lang=pt>
45. Amber R, Adnan M, Tariq A, Khan SN, Mussarat S, Hashem A, et al. Antibacterial activity of selected medicinal plants of northwest Pakistan traditionally used against mastitis in livestock. *Saudi J Biol Sci* [Internet]. 2018;25(1):154–61. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.02.008>
46. Zeedan GSG, Abdalhamed AM, Abdeen E, Ottai ME, Abdel-Shafy S. Evaluation of antibacterial effect of some Sinai medicinal plant extracts on bacteria isolated from bovine mastitis. *Vet World* [Internet]. 2014;7(11):991–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.14202/vetworld.2014.991-998>
47. Castro KN de C, Lima DF, Vasconcelos LC, Santos RC, Pereira AML, Fogaça FH dos S, et al. Composição química e eficácia do óleo essencial e do extrato etanólico de *Alpinia zerumbet* sobre *Staphylococcus aureus*. *Arq Inst Biol (Sao Paulo)* [Internet]. 2016;83(0). Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/1808-1657000192014>
48. Chen X, Gao M, Liang D, Yin S, Yao K, Zhang Y. Safety assessment of genetically modified milk containing human beta-defensin-3 on rats by a 90-day feeding study. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2017;100:34–41. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0278691516304653>
49. Kalińska A, Jaworski S, Wierzbicki M, Gołębiowski M. Silver and copper nanoparticles- an alternative in future mastitis treatment and prevention? *Int J Mol Sci* [Internet]. 2019;20(7):1672. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3390/ijms20071672>

50. Zhang H-M, Jiang H-R, Chen D-J, Shen Z-L, Mao Y-J, Liang Y-S, et al. Evaluation of a povidone-iodine and chitosan-based barrier teat dip in the prevention of mastitis in dairy cows. *J Integr Agric* [Internet]. 2021;20(6):1615–25. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/s2095-3119\(20\)63418-9](http://dx.doi.org/10.1016/s2095-3119(20)63418-9)
51. Breser ML, Felipe V, Bohl LP, Orellano MS, Isaac P, Conesa A, et al. Chitosan and cloxacillin combination improve antibiotic efficacy against different lifestyle of coagulase-negative Staphylococcus isolates from chronic bovine mastitis. *Sci Rep* [Internet]. 2018;8(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-23521-0>
52. Orellano MS, Isaac P, Breser ML, Bohl LP, Conesa A, Falcone RD, et al. Chitosan nanoparticles enhance the antibacterial activity of the native polymer against bovine mastitis pathogens. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2019;213:1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.02.016>
53. Regev G, Martins J, Sheridan MP, Leemhuis J, Thompson J, Miller C. Feasibility and preliminary safety of nitric oxide releasing solution as a treatment for bovine mastitis. *Res Vet Sci* [Internet]. 2018;118:247–53. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.02.009>
54. Moreira LH, de Souza JCP, de Lima CJ, Salgado MAC, Fernandes AB, Andreani DIK, et al. Use of photodynamic therapy in the treatment of bovine subclinical mastitis. *Photodiagnosis Photodyn Ther* [Internet]. 2018;21:246–51. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.12.009>
55. Lopes TS, Fontoura PS, Oliveira A, Rizzo FA, Silveira S, Streck AF. Use of plant extracts and essential oils in the control of bovine mastitis. [Internet] 2020. [Cited 06 nov 2021];131:186-193. Available in: <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.04.025>
56. Felipe V, Breser ML, Bohl LP, Rodrigues da Silva E, Morgante CA, Correa SG, et al. Chitosan disrupts biofilm formation and promotes biofilm eradication in Staphylococcus species isolated from bovine mastitis. [Internet] 2019 [Citado 06 nov 2021]; 01;126:60-67. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.159>
57. Sun X, Luo S, Jiang C, Tang Y, Cao Z, Jia H, et al. Sodium butyrate reduces bovine mammary epithelial cell inflammatory responses induced by exogenous

lipopolysaccharide, by inactivating NF- $\kappa$ B signaling. J Dairy Sci [Internet]. 2020;103(9):8388–97. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.3168/jds.2020-18189>

58. Fernandes P, Alves T, Barbosa R, Pimentel N, Natalino J, Cuquetto H, et al. Subinhibitory concentrations of silver nanoparticles and silver nitrate on the adaptative and cross-resistance to antibiotics on bovine mastitis pathogens. Cienc Rural [Internet]. 2021 [citado el 5 de septiembre de 2022];51(12). Disponible en: <https://www.scielo.br/j/cr/a/HWKk9Nmc7VJj7dbfhkRfzcN/abstract/?lang=en>