

9-2020

Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana contra cepas bacterianas causantes de endometritis clínica bovina

Juan Fernando Castillo Avila
Universidad de La Salle, Bogotá

Nicolás Andrés Amaya Bolivar
Universidad de La Salle, Bogotá

Follow this and additional works at: https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria



Part of the [Veterinary Infectious Diseases Commons](#), and the [Veterinary Pathology and Pathobiology Commons](#)

Citación recomendada

Castillo Avila, J. F., & Amaya Bolivar, N. A. (2020). Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana contra cepas bacterianas causantes de endometritis clínica bovina. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/964

This Trabajo de grado - Pregrado is brought to you for free and open access by the Facultad de Ciencias Agropecuarias at Ciencia Unisalle. It has been accepted for inclusion in Medicina Veterinaria by an authorized administrator of Ciencia Unisalle. For more information, please contact ciencia@lasalle.edu.co.

DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA CONTRA CEPAS
BACTERIANAS CAUSANTES DE ENDOMETRITIS CLÍNICA BOVINA

JUAN FERNANDO CASTILLO AVILA
NICOLÁS ANDRÉS AMAYA BOLIVAR



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
BOGOTÁ D.C., SEPTIEMBRE DEL AÑO 2020

DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA CONTRA CEPAS
BACTERIANAS CAUSANTES DE ENDOMETRITIS CLÍNICA BOVINA

JUAN FERNANDO CASTILLO AVILA. CÓDIGO 14151274
NICOLÁS ANDRÉS AMAYA BOLIVAR. CÓDIGO 14141000

Tutor:

DR. FELIPE GAMBOA RUIZ



UNIVERSIDAD DE LA SALLE
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
BOGOTÁ D.C., SEPTIEMBRE DEL AÑO 2020

Tabla de Contenido

Capítulo 1. Generalidades del proyecto

1.1 Título

1.2 Resumen

1.3 Planteamiento del problema

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

1.4.2 Objetivos específicos

1.5 Marco teórico y/o estado del arte

1.5.1 Microbiota uterina y trastornos reproductivos

1.5.2 Generalidades de endometritis bovina

1.5.3 Etiología y prevalencia

1.5.4 Tratamiento

1.5.5 Susceptibilidad antimicrobiana de los agentes etiológicos

1.6 Metodología

1.6.1 Animales

1.6.2 Toma de muestras

1.6.3 Microbiología

1.6.4 Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana

1.6.5 Análisis estadístico

1.6.6 Descripción del uso de animales

1.6.7 Situación geográfica

1.6.8 Enfoque de investigación

1.6.9 Variables

1.9.10 Métodos

1.7 Resultados

1.8 Discusión

1.9 Conclusiones

1.10 Referencias bibliográficas

1.11 Anexos

1.11.1 Anexo 1: Concepto comité de bioética

1.11.2 Anexo 2: Resultados sensibilidad antimicrobiana VITEK 2® Comapct

Lista de Tablas

Tabla 1. Concentraciones mínimas inhibitorias para cepas aisladas de *T. pyogenes*

Tabla 2: Concentraciones mínimas inhibitorias para cepas aisladas de *E. coli*

Tabla 3: Concentraciones mínimas inhibitorias para cepas aisladas de microorganismos anaerobios (*Fusobacterium necrophorum* y *Prevotella melaninogenicus*)

Tabla 4: Métodos por objetivo específico

Tabla 5: Porcentaje de cepas sometidas a pruebas de sensibilidad

Lista de Figuras

Gráfico 1 y 2: Porcentaje de tipo de endometritis y número de partos en el total de vacas

Gráfico 3: Número de aislamientos bacterianos por cada muestra cultivada

Gráfico 4: Géneros bacterianos aislados

Gráfico 5: Porcentaje de número de partos en vacas con endometritis tipo 2 y 3

Gráfico 6: Porcentaje de aislamientos por muestra en vacas con endometritis tipo 2 y 3

Lista de Anexos

Anexo 1: Concepto comité de bioética

Anexo 2: Resultados sensibilidad antimicrobiana VITEK 2® Compact

Capítulo 1. Generalidades del proyecto

1.1 Título

Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana contra cepas bacterianas causantes de endometritis clínica bovina

1.2 Resumen

El ganado lechero puede cursar con distintas patologías que afectan la eficiencia reproductiva, dentro de estas patologías la endometritis clínica es de especial importancia ya que tiene gran prevalencia y genera grandes impactos económicos en los sistemas de producción. Diversos tratamientos se han implementado en la resolución de la endometritis, en algunos casos reportándose resistencia antimicrobiana probablemente por el uso irracional de medicamentos en los distintos rebaños. En Colombia no existen reportes exactos de sensibilidad antimicrobiana de los microorganismos causantes de esta enfermedad. En el presente estudio se determinó la sensibilidad antimicrobiana de aislamientos de 20 vacas de sistemas de producción lechero, con 3 o más semanas post parto, que presentaban cuadros de endometritis clínica con secreciones uterinas grado 1, 2 o 3. La toma de muestras se realizó mediante lavado uterino con solución salina estéril por medio de catéter intravaginal, las muestras se transportaron al laboratorio en caldo peptonado. Se realizó el aislamiento y la identificación bacteriana en diferentes agares y mediante distintas pruebas bioquímicas para determinar el agente bacteriano según correspondiera. Para determinar la sensibilidad antimicrobiana se utilizó un método de microdilución en caldo por medio del equipo VITEK® 2 Compact y el método de difusión en agar o de Kirby-Bauer con las principales

familias de antibióticos utilizados en medicina veterinaria. De las 20 vacas incluidas en el estudio el 60% presentaba endometritis tipo 2, el 35% endometritis tipo 3 y 5% endometritis tipo 1. El 40% de las vacas fueron de tercer parto seguidas por las de segundo y cuarto parto con un 25% cada grupo y un 10% fueron vacas de primer parto. Todas las muestras colectadas fueron positivas a aislamiento microbiológico y en total se obtuvieron 49 aislamientos diferentes. Las bacterias más aisladas fueron *Escherichia coli* con un 21%, *Actinobacillus spp.* con 19% y *Klebsiella spp.* con 14%. El 40.91% de las cepas presentaron multirresistencia antibiótica demostrándose mayor resistencia a amoxicilina, cefalotina y ceftiofur. Como conclusión para la terapéutica es recomendado utilizar antibióticos como oxitetraciclina o gentamicina más una cefalosporina de primera generación mediante infusión intrauterina; no se recomienda usar cefalosporinas de primera generación como único agente antimicrobiano y se recomienda el uso muy reservado de cefalosporinas de tercera y cuarta generación por la resistencia antimicrobiana evidenciada.

1.3 Planteamiento del problema

La endometritis clínica es una de las patologías uterinas más importantes con mayor prevalencia en la producción bovina provocando una disminución en los índices reproductivos lo que conlleva a mayores costos de producción, tanto directos por la determinación del diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad, e indirectos por repercusiones como menor número de días en lactancia o sacrificio debido a la subfertilidad (LeBlanc et al., 2002). De manera más específica la endometritis clínica se ha evidenciado con un mayor impacto sobre el número de días abiertos, repetición de celo, tasa de preñez en el primer servicio, tasa de preñez relativa, número de servicios y sacrificio por fallo reproductivo (LeBlanc et al., 2002; Gilbert, Shin, Guard, Erb, & Frajblat, 2005); estas fallas reproductivas se debe a una involución uterina retrasada, alteraciones en la actividad ovárica y el patrón hormonal y producción de citoquinas locales (Plöntzke, Madoz, De la Sota, Heuwieser, & Drillich, 2011).

Por otro lado, diversos autores han reportado resistencia antimicrobiana por parte de los agentes etiológicos de esta enfermedad lo cual hace cada vez más difícil llevar a cabo una terapéutica exitosa. En Colombia la disposición de datos sobre resistencia bacteriana es muy limitada con respecto a los agentes causales de la endometritis clínica bovina y no existen datos de sensibilidad estimada mediante concentraciones mínimas inhibitorias de estos. Poseer estos datos es de gran importancia ya que la resistencia antimicrobiana es un problema de salud pública importante y de preocupación constante, debido a esto organizaciones sanitarias vienen llevando a cabo programas conjuntos para la disminución

de este problema como es el caso de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO).

La pregunta de investigación del proyecto fue ¿Cuáles son los agentes bacterianos de mayor importancia que causan endometritis clínica en los bovinos y cuál es su sensibilidad frente a los antimicrobianos de mayor uso en la terapéutica contra esta enfermedad? De este modo, el objetivo general del proyecto fue establecer la sensibilidad antimicrobiana de los principales antibióticos en la práctica médica veterinaria contra cepas bacterianas causantes de endometritis clínica aisladas de secreciones uterinas en sistemas de producción bovino en la Sabana de Bogotá entre los años 2019 y 2020 como herramienta para mejorar la eficacia y disminuir resistencias a los antibióticos..

Este proyecto de investigación tiene como base los programas desarrollados por la OMS y la FAO específicamente en el área de enfoque 2 de “El Plan de acción de la FAO sobre resistencia a los antimicrobianos 2016-2020” que tiene como objetivo apoyar la generación de datos locales y de esta forma superar que se deban tomar medidas basadas en datos de otras partes del mundo; y el objetivo 2 del “Plan de Acción Global sobre la Resistencia Antimicrobiana” de la OMS el cual habla de las falencias en el conocimiento la incidencia, la prevalencia, el rango de patógenos y los patrones geográficos relacionados con la resistencia antimicrobiana (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2016; World Health Organization , 2015).

El proyecto de investigación entrega información fiable sobre los microorganismos patógenos que afectan el sistema reproductor de la hembra bovina, así como de la situación actual en cuanto a la resistencia de estos microorganismos a los antimicrobianos de mayor

uso en campo, y de esta manera da una herramienta al médico veterinario en los sistemas de producción para establecer terapéuticas más objetivas en cuanto al uso de antibióticos en la solución de enfermedades reproductivas del ganado bovino.

En el presente proyecto fue necesario el uso de animales de la especie bovina que presentaban un cuadro de endometritis clínica para la toma de muestras de secreciones uterinas ya que de ninguna otra manera es posible obtener las cepas bacterianas causantes de la enfermedad y de esta forma proveer datos acordes con la epidemiología y práctica clínica cotidiana. Los animales que ingresaron en el proyecto de investigación no fueron sometidos a propósito por parte de los investigadores a esta enfermedad o a procedimientos que generen un impacto negativo sobre la salud de los mismos, luego de la toma de muestras el medio veterinario presente durante el muestreo determinó el mejor tratamiento para esta enfermedad.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

- Establecer la sensibilidad antimicrobiana de los principales antibióticos en la práctica médica veterinaria contra cepas bacterianas causantes de endometritis clínica aisladas de secreciones uterinas en sistemas de producción bovino en la Sabana de Bogotá entre los años 2019 y 2020 como herramienta para mejorar la eficacia y disminuir resistencias a los antibióticos.

1.4.2 Objetivos específicos

- Determinar las cepas bacterianas que con mayor frecuencia son causantes de endometritis clínica bovina en la Sabana de Bogotá.
- Determinar la sensibilidad *in vitro* de las cepas aisladas, frente a los distintos antimicrobianos propuestos mediante la concentración mínima inhibitoria y el método de Kirby-Bauer.
- Reevaluar las terapéuticas antimicrobianas utilizadas en nuestro medio para el tratamiento de endometritis clínica.

1.5 Marco teórico y/o estado del arte

1.5.1 Microbiota uterina y trastornos reproductivos

Las vacas cuentan con una compleja microbiota uterina, y diversos estudios se han realizado comparándola con la microbiota de vacas con problemas reproductivos. En la microbiota normal se han encontrado más abundantemente microorganismos de los géneros *Fusobacterium* (15.7%), *Bacteroides* (13.9%), *Coxiella* (12.7%), *Porphyromonas* (9.9%) y *Ureaplasma* (5.2%) (Jeon et al, 2015). Por otro lado, otro estudio encontró *Lactococcus*, *Bacillus*, *Solibacillus*, *Pseudomonas* y *Arthrobacter*, como los cinco géneros más abundantes en el útero de vacas sanas (Wang et al, 2018).

Se ha demostrado que la microbiota uterina de vacas con problemas reproductivos como metritis o endometritis comparte la mayoría de estos géneros bacterianos por lo tanto los cambios en la abundancia bacteriana y las interacciones entre las bacterias compartidas son más importantes para el desarrollo de estas enfermedades que las diferencias únicas en comunidades bacterianas (Jeon et al, 2015; Bicalho et al, 2017; Wang et al, 2018). Se ha observado, por ejemplo, que las Fusobacterias representan menos del 1.0% de la población bacteriana en vacas sanas a diferencia de vacas con descarga vaginal purulenta en las que representa el 6%; igualmente con el filo *Bacteroidetes* que en vacas sanas representa el 20%, mientras que en vacas enfermas el 29% e igualmente con Proteobacterias que representan el 33% en vacas sanas y el 28% en vacas enfermas. Cabe destacar que *Trueperella* raramente es encontrada en vacas sanas; sin embargo la carga bacteriana total en el útero no se asocia con la presencia de descarga vaginal purulenta. *Prevotella*, *Escherichia* y *Trueperella* son los géneros más prevalentes (Bicalho et al, 2017; Jeon et al, 2015).

1.5.2 Generalidades de endometritis bovina

La endometritis posparto es definida como la inflamación superficial del endometrio que ocurre 21 días o más, después del parto sin presentar signos sistémicos de enfermedad (Mandhwani, Bhardwaz, Kumar, Shivhare, & Aich, 2017) y está relacionada por lo general con retrasos en la involución uterina (Sheldon & Dobson, 2004). Histológicamente hay evidencia de inflamación en la superficie del endometrio que no se extiende más allá del estrato esponjoso, (lo que la diferencia de la metritis en la que hay evidencia de inflamación en todas las capas de la pared del útero, además de signos sistémicos); hay alteración del epitelio, infiltración de células inflamatorias y congestión vascular (Sheldon & Dobson, 2004), posteriormente durante la recuperación, se evidencia fibrosis y leucocitosis, con depleción de las glándulas endometriales y atrofia del resto del epitelio (Sheldon, Lewis, LeBlanc, & Gilbert, 2006).

La endometritis puede clasificarse de acuerdo a su presentación en endometritis clínica o subclínica. En la endometritis subclínica no se presentan signos clínicos de enfermedad pasando por lo general como desapercibida, por lo que el diagnóstico se fundamenta en la presencia de polimorfonucleares en muestras de células endometriales obtenidas mediante lavados uterinos o por medio de un cepillo endocervical o técnica de cytobrush (Barajas et al., 2018). Por otro lado, en el cuadro de endometritis clínica se presentan signos localizados, caracterizándose por la presencia de un exudado purulento o mucopurulento que se origina en el útero y se evidencia en la vagina, adicionalmente se evidencia un aumento en el diámetro del cuello uterino mayor a 7,5 cm; estas condiciones están relacionadas con alteraciones en los índices de fertilidad (Sheldon et al., 2006; LeBlanc et al., 2002).

La endometritis clínica puede ser clasificada mediante un sistema de puntuación teniendo en cuenta el tipo de secreción y olor de la misma, este modelo se plantea de la siguiente manera: según el tipo de secreción: 0 - moco claro o translúcido 1 - moco claro o translúcido con manchas de pus blanco 2 - menos de 50 ml de exudado que contienen menos del 50 % de pus blanco o cremoso 3 - más de 50 ml de exudado que contiene más del 50 % de pus blanco, cremoso o sanguinolento. Según su olor: 0 - sin olor desagradable 3 - olor fétido (Sheldon & Dobson, 2004).

1.5.3 Etiología y prevalencia

Esta patología es fundamentalmente de etiología bacteriana, estos microorganismos que provienen del ambiente en el cual se desencadena el parto como el suelo o corrales, contaminan la mucosa uterina en la mayoría de los casos y no siempre generan infección, la eliminación de bacterias contaminantes o la presentación de endometritis dependerá de varios factores inmunológicos y hormonales; la inadecuada manipulación o asistencia durante el parto es agravante en la posibilidad de presentación de endometritis (Sheldon et al., 2006).

Dentro de las bacterias comúnmente encontradas en vacas con endometritis clínica están; *Escherichia coli*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Actinomyces* y *Pseudomonas* (Cayul, 2003). En un estudio elaborado en Baja Austria se realizaron aislamientos bacterianos de 109 vacas que presentaron endometritis clínica, siendo los agentes más importantes; *Trueperella pyogenes* (aislado en 31 vacas), *E. coli* (aislado en 18 vacas), *Corynebacterium* (aislado en 17 vacas), *Staphylococcus* (aislado en 16 vacas) y *Aerococcaceae* y *Bacillus* (aislado en 10 vacas cada uno) (Prunner, Wagener, Pothmann, Ehling-Schulz, & Drillich, 2014). De igual manera en un estudio llevado a cabo en Schleswig-Holstein, Alemania, de un total de 200 muestras las

bacterias que se aislaron en mayor proporción fueron *T. pyogenes* (43.5%) y *E. coli* (21.5%), en menor medida se aislaron *Bacillus spp.* (21.0%), *Streptococcus uberis* (18.5%), *Staphylococcus coagulasa negativos* (11.5%) y *Aerococcus spp.*, *Mannheimia spp.* y *Corynebacterium spp.* (<10%) (Wagener, Grunert, Prunner, Ehling-Schulz, & Drillich, 2014). En Chile los agentes más comúnmente aislados fueron *E. coli* (38,4%) seguido de *S. uberis* (15,5%) y *Staphylococcus coagulasa negativo* (12,0%); en menor proporción se aislaron *Chryseomona luteola*, *Pasteurella pneumotropica*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus mutans* y *Vibrio fluvialis* (Cayul, 2003).

En Colombia un estudio realizado en Boyacá de un total de 6 muestras positivas a cultivo bacteriano de vacas con problemas reproductivos las bacterias predominantes fueron: *Streptococcus sp.* β hemolítico con 33.33% (2 veces aislado), *Streptococcus sp.* γ hemolíticos 50% (3 veces aislado) y *Streptococcus sp.* α hemolíticos en 50% (3 veces aislado) (Sánchez et al., 2011). En otro estudio realizado en Montería, de 281 aislamientos obtenidos de 209 vacas con distintos problemas reproductivos las principales bacterias encontradas fueron: *E. coli* con 19.6%, Bacilos gram negativos oxidantes con 17.4% , *Klebsiella spp* con 16.4%, *Pseudomona spp* con 15.6%, Cocos gram positivos con 10,7 % y Bacilos gram negativos no oxidantes con 3,2% (González, Ríos, & Mattar, 2007).

La endometritis es una de las enfermedades con mayor impacto sobre la eficiencia reproductiva del ganado bovino, de acuerdo a distintos estudios realizados en otros países la endometritis clínica presentó una prevalencia considerable; en el centro del estado de Nueva York en Estados Unidos se reportó 53% de prevalencia de endometritis clínica de un total de 141 vacas muestreadas (Gilbert et al., 2005), mientras que en la provincia de Buenos Aires, Argentina se reportó una prevalencia de 34.6 % de un total de 243 muestra (Plöntzke et al., 2011). En

Colombia un estudio realizado en el departamento de Nariño mediante el uso de ultrasonografía, reportó una prevalencia de 46.28% entre 515 vacas (Lagos & Narváez, 2016), no habiendo mayor información sobre esta patología en el resto del país.

1.5.4 Tratamiento

Para la terapéutica de la endometritis clínica se cuenta con 2 opciones: el uso de antibióticos vía intrauterina o sistémica, y el uso de prostaglandinas (PGF 2α) sistémicamente. Mediante la primera opción se reduce la carga bacteriana en el útero mientras que con la segunda se induce la luteolisis y posteriormente la presentación del estro consiguiendo una mayor contractilidad uterina y posterior depuración de la cavidad uterina (Lefebvre & Stock, 2012). Algunos autores han cuestionado la necesidad de un tratamiento para la endometritis clínica debido a que la tasa de autocuración varía del 92% en la primera semana postparto al 25% en la séptima semana (Haimerl, Heuwieser, & Arlt, 2013).

En cuanto al tratamiento de la endometritis con antimicrobianos, este ha presentado resultados variables con tasas de recuperación inconsistentes, residualidad en leche, aparición de resistencia microbiana y actividad fagocítica reducida de los leucocitos polimorfonucleares (Mandhwani et al., 2017). De acuerdo con varios reportes el tratamiento antimicrobiano con infusiones intrauterinas de clorhidrato de ceftiofur (125 mg), con penicilina G procaínica (1 millón de unidades en 40 ml de agua estéril), con oxitetraciclina (500 mg en 20 ml de agua estéril), con penicilina G procaínica (0,8 a 1,0 millones de unidades en 40 ml de agua estéril) y oxitetraciclina (500 mg en 20 ml de agua estéril), con ampicilina (400 mg) y oxacilina (800 mg) y un tratamiento preventivo del ácido libre cristalino de ceftiofur subcutáneo (6,6 mg/kg) no

demonstraron mejorar significativamente la eficiencia reproductiva de las vacas (Lefebvre & Stock, 2012).

Se ha demostrado el uso de infusiones intrauterinas de antibióticos junto con EDTA-tris potencia la actividad antibacteriana *in vivo* de antimicrobianos como oxitetraciclina, enrofloxacin, amikacina y lincomicina contra bacterias resistentes responsables de la endometritis crónica en vacas. Debido a que el EDTA-tris tiene la capacidad de cambiar la permeabilidad de la pared celular y alterar la estabilidad de los ribosomas bacterianos (Farca, Nebbia, Robino, & Re, 1997).

Varios estudios han demostrado que la infusión intrauterina de cefapirina mejora el rendimiento reproductivo de las vacas lecheras con endometritis clínica, reduciendo la prevalencia de descargas aparentes en el orificio cervical externo, acortando el tiempo hasta el establecimiento de la preñez y presentando un efecto positivo en la probabilidad de preñez en el primer servicio (Denis-Robichaud & Dubuc, 2015; Lefebvre & Stock, 2012).

En un estudio donde se evaluó la eficacia del ceftiofur vía intramuscular e intrauterina para el tratamiento de endometritis se demostró una respuesta adecuada con tasas de recuperación del 84% (vía intramuscular) y 71.4% (vía intrauterina) en los días 22 y 27 postparto respectivamente (Hott, 1997). El uso de cefquinoma se ha demostrado que puede ser útil para el tratamiento de la endometritis bovina, especialmente en casos de eficacia reducida de agentes antimicrobianos de generaciones anteriores (Amiridis, Fthenakis, Dafopoulos, Papanikolaou, & Mavrogianni, 2003).

En cuanto al tratamiento con $\text{PGF}_{2\alpha}$, estudios han demostrado baja eficiencia para la resolución de la endometritis, con excepción de un ensayo que demostró un aumento significativo en la probabilidad de concepción del primer servicio cuando las vacas con

endometritis clínica fueron tratadas con 2 inyecciones de PGF2 α en un intervalo de 14 días. Se han reportado efectos negativos sobre el rendimiento reproductivo en vacas posparto cuando se usó PGF2 α (Lefebvre & Stock, 2012), incluso un metaanálisis menciona que no hay una mejora en el rendimiento reproductivo de vacas con endometritis después del tratamiento con PGF2 α y este se podría percibir como un uso de hormonas injustificado (Haimerl, Heuwieser, & Arlt, 2013).

Un estudio realizado en vacas lecheras con endometritis clínica comparó la eficacia del tratamiento con cefapirina intrauterina y PGF2 α respecto a vacas no tratadas. Se observó que no hubo una diferencia significativa entre las vacas tratadas con cefapirina o PGF2 α y las vacas no tratadas, sin embargo las vacas no tratadas presentaron un aumento en los días abiertos. Por otra parte, la administración de PGF2 α entre 20 y 26 días postparto a vacas con endometritis que no tenían un cuerpo lúteo palpable se asoció con una reducción significativa en la tasa de preñez. Además no hubo diferencias significativas entre vacas tratadas con cefapirina y PGF2 α entre los 27 a 33 días postparto (LeBlanc et al, 2002).

1.5.5 Susceptibilidad antimicrobiana de los agentes etiológicos

Respecto a la susceptibilidad de los patógenos causantes de endometritis clínica se han realizado diversos estudios: cepas aisladas de *E. coli* presentaron resistencia a algunos antimicrobianos tales como la lincomicina, cloxacilina, penicilina, pirlimicina, novobiocina (Cayul, 2003); ampicilina, cefapirina (Malinowski et al., 2011); sulfametoxidiazina más trimetoprim, sulfadiazina, tetraciclina, oxitetraciclina, cefazolina, cloranfenicol (Zhao et al., 2014); cloxacilina y rifampicina, neomicina, cefapirina (Brodzki, Bochniarz, Brodzki, Wrona, & Wawron, 2014). Y mayor susceptibilidad a enrofloxacina y cefoperazona (Cayul, 2003);

norfloxacin, marbofloxacin, gentamicin, ceftiofur y Amoxicilina / ácido clavulánico, neomicina, cefoperazona y oxitetraciclina (Malinowski et al., 2011); ceftiofur, furazolidon, ciprofloxacina y enrofloxacin (Zhao et al., 2014); amoxicilina con ácido clavulánico, cefoperazona, oxitetraciclina, gentamicina, ampicilina, ceftiofur (Brodzki et al., 2014).

T. pyogenes mostró mayor resistencia frente a lincomicina, penicilina, cloxacilina y pirlimicina (Cayul, 2003); penicilina, ampicilina, rifampicina, cefapirina (Malinowski et al., 2011); estreptomicina (Sánchez et al., 2011); cloxacilina, oxitetraciclina, neomicina (Brodzki et al., 2014). Y mayor susceptibilidad a cefoperazona, enrofloxacin, gentamicina, sulfametoxazol más trimetoprim, florfenicol y en algunas cepas pirlimicina, novobiocina, cefquinoma, amoxicilina, penicilina, ceftiofur, cloxacilina, ampicilina, oxitetraciclina y neomicina (Cayul, 2003); ceftiofur, amoxicilina con ácido clavulánico, cefoperazona, lincomicina, norfloxacin (Malinowski et al., 2011); gentamicina, amoxicilina con ácido clavulánico, ampicilina, norfloxacin y cefotaxime (Sánchez et al., 2011); ceftiofur, cefoperazona, amoxicilina con ácido clavulánico (Brodzki et al., 2014).

Proteus mirabilis mostró una marcada resistencia a cloxacilina y lincomicina mientras que no presentó resistencia a estreptomicina, ampicilina, cefoperazona, enrofloxacin, gentamicina, neomicina, sulfametoxazol más trimetoprim y florfenicol (Cayul, 2003).

Streptococcus uberis, presentó mayor porcentaje de resistencia frente a cloxacilina, lincomicina y pirlimicina. Los porcentajes más bajos de resistencia correspondieron a sulfametoxazol más trimetoprim, florfenicol, gentamicina, cefoperazona, ceftiofur, cefquinoma, pirlimicina y no se presentó resistencia frente a enrofloxacin (Cayul, 2003).

Streptococcus β hemolítico demostró resistencia a la eritromicina, amoxicilina con ácido clavulánico y trimetoprim-sulfa y sensibilidad a gentamicina, tetraciclina y estreptomina (Sánchez et al., 2011).

Streptococcus α y γ hemolíticos, fueron resistentes a trimetoprim-sulfa, gentamicina y estreptomina y presentaron mayor sensibilidad a eritromicina, tetraciclina y amoxicilina con ácido clavulánico (Sánchez et al., 2011).

Varios trabajos ya han reportado concentraciones mínimas inhibitorias de cepas bacterianas de origen uterino en el bovino contra algunos antimicrobianos, aisladas en el Reino Unido (Sheldon, Bushnell, Montgomery, & Rycroft, 2004), Nueva Zelanda (de Boer, Heuer, Hussein, & McDougall, 2015), Mongolia (Liu, y otros, 2009) y Alemania (Pohl, Lübke-Becker, & Heuwieser, 2018); las concentraciones mínimas inhibitorias halladas en estos estudios son resumidas a continuación (Tablas 1, 2 y 3).

Tabla 1: Concentraciones mínimas inhibitorias para cepas aisladas de T. pyogenes

	Referencia			
	Sheldon et al., 2004		de Boer et al., 2015	
Antibiótico	MIC 50	MIC 90	MIC 50	MIC 90
Ofloxacina				
Gatifloxacina				
Ciprofloxacina				
Enrofloxacina	1	1	1	1
Marbofloxacina				
Estreptomina				

Gentamicina				
Amikacina				
Oxitetraciclina	16	32	0,5	1
Tetraciclina				
Doxiciclina				
Penicilina G				
Ampicilina			0,06	0,06
Amoxicilina				
Amoxicilina/Ácido clavulánico				
Ticarcilina/Ácido clavulánico			0,06	0,06
Cloxacilina			0,25	0,5
Oxacilina				
Cefapirina	<0,06	<0,06	0,25	0,25
Cefapirina/mecilinam	<0,06	<0,06		
Cefalotina				
Cefazolina				
Cefuroxima			0,06	0,12
Ceftiofur	<0,06	0,125	1	2
Cefotaxima				
Cefoperazona				
Cefquinoma	<0,06	0,125		
Florfenicol				
Sulfadiazina				

Sulfametoxidiazina				
Trimetoprim/sulfametoxazol				
Eritromicina				
Tilmicosina				
Tulatromicina				
Azitromicina				
Clindamicina			0,06	0,12
Bacitracina Zinc				

Tabla 1: Continuación

	Referencia			
	Liu et al., 2009		Pohl et al., 2018	
Antibiótico	MIC 50	MIC 90	MIC 50	MIC 90
Ofloxacina	2	2		
Gatifloxacina	0,5	0,5		
Ciprofloxacina	2	2	2	2
Enrofloxacina	0,25	1	1	1
Marbofloxacina			2	2
Estreptomicina	≥ 64	≥ 64		
Gentamicina	0,5	8	1	4
Amikacina	4	≥ 64		
Oxitetraciclina	8	32		
Tetraciclina	1	32	0,5	64

Doxiciclina	0,5	16		
Penicilina G	2	4	$\leq 0,008$	$\leq 0,008$
Ampicilina			$<0,015$	0,06
Amoxicilina	1	4		
Amoxicilina/Ácido clavulánico			$\leq 0,015$	0,06
Ticarcilina/Ácido clavulánico				
Cloxacilina				
Oxacilina	2	8		
Cefapirina				
Cefapirina/mecilinam				
Cefalotina			$\leq 0,06$	0,12
Cefazolina	1	16		
Cefuroxima				
Ceftiofur	8	16	0,25	0,5
Cefotaxima			0,06	0,25
Cefoperazona			$\leq 0,03$	0,25
Cefquinoma			0,12	0,25
Florfenicol	1	4		
Sulfadiazina	≥ 128	≥ 128		
Sulfametoxidiazina	≥ 128	≥ 128		
Trimetoprim/sulfametoxazol			0,06	0,12
Eritromicina	0,125	2		
Tilmicosina	0,25	0,25	$\leq 0,03$	0,12

Tulatromicina			1	2
Azitromicina	1	2		
Clindamicina	0,25	32		
Bacitracina Zinc	≥ 32	≥ 32		

Tabla 2: Concentraciones mínimas inhibitorias para cepas aisladas de *E. coli*

	Referencia			
	Sheldon et al., 2004		de Boer et al., 2015	
Antibiótico	MIC 50	MIC 90	MIC 50	MIC 90
Ciprofloxacina				
Enrofloxacin	<0,06	<0,06	0,06	0,06
Marbofloxacina				
Gentamicina				
Oxitetraciclina	1	>32	4	8
Tetraciclina				
Penicilina G				
Ampicilina			4	4
Amoxicilina/Ácido clavulánico				
Ticarcilina/Ácido clavulánico			2	4
Cloxacilina			64	64
Cefapirina	4	8	16	16
Cefapirina/mecilinam	0,125	0,25		
Cefalotina				
Cefuroxima			4	8

Ceftiofur	0,5	0,5	0,25	0,5
Cefotaxima				
Cefoperazona				
Cefquinoma	<0,06	<0,06		
Trimetoprim/sulfametoxazol				
Tilmicosina				
Tulatromicina				
Clindamicina			64	64

Tabla 2: Continuación

	Referencia	
	Pohl et al., 2018	
Antibiótico	MIC 50	MIC 90
Ciprofloxacina	0,015	0,03
Enrofloxacina	0,03	0,06
Marbofloxacina	0,03	0,06
Gentamicina	0,5	1
Oxitetraciclina		
Tetraciclina	4	8
Penicilina G	32	≥64
Ampicilina	4	≥ 128
Amoxicilina/Ácido clavulánico	4	8
Ticarcilina/Ácido clavulánico		
Cloxacilina		

Cefapirina		
Cefapirina/mecilinam		
Cefalotina	16	32
Cefuroxima		
Ceftiofur	0,5	1
Cefotaxima	0,06	0,25
Cefoperazona	0,25	1
Cefquinoma	0,06	0,5
Trimetoprim/sulfametoxazol	0,06	0,5
Tilmicosina	128	≥ 256
Tulatromicina	16	32
Clindamicina		

Tabla 3: Concentraciones mínimas inhibitorias para cepas aisladas de microorganismos anaerobios (*Fusobacterium necrophorum* y *Prevotella melaninogenica*)

	Referencia	
	Sheldon et al., 2004	
Antibiótico	MIC 50	MIC 90
Enrofloxacina	8	8
Oxitetraciclina	1	16
Cefapirina	<0,06	2
Cefapirina/mecilinam	0,25	4
Ceftiofur	<0,06	0,125
Cefquinoma	0,5	>32

1.6 Metodología

1.6.1 Animales

Para la toma de muestras se realizó un muestreo semidirigido o intencionado en el que se tuvieron en cuenta 20 animales en total. En el estudio se incluyeron vacas de sistemas de producción lechero, con 3 o más semanas post parto y que presentaron cuadros de endometritis clínica diagnosticada por un profesional al chequeo reproductivo con secreciones uterinas grado 1, 2 o 3 según la clasificación por su apariencia (Sheldon & Dobson, 2004). Fueron excluidas vacas que hubieran pasado por tratamientos antimicrobianos anteriores para patologías reproductivas, y animales con antecedentes de cesárea, laceraciones vaginales, mastitis aguda, cojera, trastornos abdominales u otras enfermedades, para eliminar cualquier influencia confusa de infecciones bacterianas no uterinas (Sheldon et al., 2014)

1.6.2 Toma de muestras

La toma de muestras para aislamiento microbiológico se realizó mediante lavado uterino teniendo en cuenta protocolos realizados anteriormente por otros autores (Meng-Ling et al., 2018); este se obtuvo mediante la infusión de 40 a 60 ml de solución salina fisiológica estéril por medio de una jeringa conectada a un catéter de lavado uterino, protegido por una funda o camisa sanitaria estéril que se rompía luego de pasar el cuello del útero. Posteriormente se recuperaba la muestra mediante aspiración con la jeringa luego de masaje uterino. La muestra se transportaba al laboratorio de la Universidad de La Salle en tubos con caldo peptonado a temperatura de refrigeración.

Todo el manejo animal realizado en este estudio fue aprobado y avalado por el Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de La Salle.

1.6.3 Microbiología

Para la identificación de las cepas bacterianas, una vez las muestras llegaron al laboratorio se cultivaban en un principio en agar sangre, agar MacConkey y agar XLD hasta obtener un aislamiento inicial. Luego se procedía a realizar tinción de gram y observación de la morfología microscópica. Por último se realizaba la identificación por medio de pruebas bioquímicas mediante agares TSI, agar LIA, medio SIM, agar Citrato de Simmons, agar cetrimida, agar ENDO, caldos de lactosa, caldos de sacarosa y pruebas de coagulasa y catalasa. Posterior a tener una cepa aislada e identificada se procedía a cultivarla en agar TSA para realizar la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana.

1.6.4 Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana

La determinación de las concentraciones mínimas inhibitorias se realizaron mediante el sistema VITEK® 2 Compact que utiliza la técnica de microdilución en caldo, en el cual se introducían tubos de ensayo con una cantidad conocida de la muestra correspondiente (estándar 0.5 de McFarland correspondiente a 150×10^6 células por ml) y el casete AST-GN96 el cual contiene diluciones predeterminadas para los siguientes antibióticos: amoxicilina / ácido clavulánico, ampicilina, cefalexina, cefalotina, cefoperazona, cefquinome, ceftiofur, enrofloxacin, betalactamasa de espectro extendido, florfenicol, flumequina, gentamicina, imipenem, marbofloxacin, neomicina, polimixina B, tetraciclina, ticarcilina / ácido clavulánico, trimetoprim/sulfametoxazol.

También se determinó la sensibilidad antimicrobiana mediante el método de Kirby-Bauer el cual consiste en la colocación de sensidiscos impregnados con cantidades específicas de diferentes antibióticos sobre un cultivo bacteriano con un estándar 0.5 de McFarland, esto genera

un halo de inhibición del crecimiento del cultivo que según su medida indica un resultado cualitativo de la sensibilidad al antimicrobiano. En el estudio fueron utilizados los siguientes antibióticos para realizar el método de Kirby-Bauer: penicilina, amoxicilina, cefalotina, ceftiofur, gentamicina, neomicina, oxitetraciclina, trimetoprim/sulfametoxazol, eritromicina, polimixina B y ciprofloxacina.

La interpretación de los resultados de ambos métodos de determinación de sensibilidad antimicrobiana se realizó tomando como referencia los estándares veterinarios para cada antibiótico, determinados por el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI, 2018), y en caso de no encontrar información para un antimicrobiano específico se tomaron como referencia los estándares de medicina humana determinados por el mismo Instituto (CLSI, 2020). Debido a que no hay consenso en medicina veterinaria sobre el concepto de multirresistencia, para el análisis de resultados fue tomado el concepto de la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (Magiorakos et al., 2012) que define una bacteria como multirresistente cuando muestra resistencia a antibióticos de tres o más clases.

1.6.5 Análisis estadístico

En la fase de análisis de las variables cuantitativas se les realizó primero una prueba de Shapiro-Wilk para corroborar si los datos siguen una distribución normal o no, con $P < 0,05$. Rechazando H_0 Si $W < VC$. Para las variables que no siguieron una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica de U de Mann-Whitney, la cual determina diferencias entre las medianas de los tratamientos en relación a variables cualitativas, manejando una confiabilidad de 95%:

$U = \min. (U_1, U_2)$ donde:

$$U_1 = n_1 n_2 + \frac{(n_1 + 1)n_1}{2} - R_1$$
$$U_2 = n_1 n_2 + \frac{(n_2 + 1)n_2}{2} - R_2$$
$$Z = \frac{U - \frac{n_1 \cdot n_2}{2}}{\sqrt{\frac{n_1 \cdot n_2 (n_1 + n_2 + 1)}{12}}}$$

Rechazando H_0 Si $Z > Z_\alpha$

A las variables cualitativas se les realizará una prueba de contingencia de Chi Cuadrado para determinar las diferencias entre las frecuencias de presentación de las diferentes categorías.

($P < 0.05$):

$$X^2 = \sum_{ij} \frac{(f_{oij} - f_{eij})^2}{f_{eij}}$$

Rechazando H_0 cuando X^2 experimental $>$ X^2 crítico

1.6.6 Descripción del uso de animales

En el proyecto fue necesario el uso de vacas que presentaron un cuadro de endometritis clínica para la toma de muestras de secreciones uterinas ya que de ninguna otra manera es posible obtener las cepas bacterianas causantes de la enfermedad y de esta forma proveer datos acordes con la epidemiología y práctica clínica cotidiana. Los animales que ingresaron en el proyecto de investigación no fueron sometidos a propósito por parte de los investigadores a enfermedad o a procedimientos que generen un impacto negativo sobre la salud de los mismos, luego de la toma de muestras el médico veterinario presente durante el muestreo determinó el tratamiento más acorde para la resolución de la enfermedad. El único procedimiento doloroso

que se realizó en el estudio fue la palpación rectal la cual se detuvo cuando el animal mostraba signos de dolor de acuerdo con la escala planteada por Glerup, Andersen, Munksgaard & Forkman (2015).

Los animales que fueron incluidos en el estudio procedían de sistemas de producción lecheros de la Sabana de Bogotá y en ningún momento de la investigación fueron transportados a un lugar diferente del sistema al cual pertenecen, por lo tanto el alojamiento y cuidado de los animales estaba a cargo de los encargados de la producción en donde se encontraban. Las secreciones uterinas obtenidas para realizar los aislamientos bacterianos fueron manejadas en el laboratorio de microbiología de la Universidad de La Salle que se encargó de la disposición final de estas con todas las normas sanitarias pertinentes.

1.6.7 Situación geográfica

La toma de muestras de secreciones uterinas de bovinos fue limitada a sistemas de producción lechero que se encuentran dentro de la Sabana de Bogotá, con un especial enfoque hacia la Zona Montañosa de la Cordillera Oriental y Sabana Centro. Región que se encuentra a una altura de 2.600 a 3.600 m.s.n.m. y con una temperatura promedio que varía de 12 a 18°C (Montoya & Reyes, 2005).

1.6.8 Enfoque de investigación

El enfoque de investigación del proyecto es mixto, el cual tiene un componente cualitativo con variables como género de bacterias aisladas, aislamiento y categorías como tipo de endometritis; y un componente cuantitativo en el cual se midieron variables como número de partos, tiempo postparto, número de géneros bacterianos aislados y concentración mínima inhibitoria.

1.6.9 Variables

- Tipo de endometritis: Clasificación del cuadro clínico según el tipo de secreción recogida para análisis microbiológico de acuerdo a la escala propuesta por Sheldon & Dobson (2004). Variable categórica.
- Número de partos: Cantidad de partos que tuvo la vaca hasta el momento de la presentación de endometritis. Variable cuantitativa.
- Aislamiento: Variable respuesta (sí o no) de cuántos de los aislamientos realizados se obtuvieron bacterias viables.
- Número de aislamientos: número de aislamientos realizados por muestra. Variable cuantitativa.
- Número de géneros bacterianos aislados: Número de bacterias aisladas en total. Variable cuantitativa.
- Género de bacterias aisladas: Géneros de bacterias aisladas según la identificación microbiológica. Variable cualitativa.
- Concentración mínima inhibitoria: Concentración mínima inhibitoria de las bacterias aisladas, hallada mediante el equipo VITEK® 2 Compact. Variable cuantitativa.
- Sensibilidad antimicrobiana KB: Resultado cualitativo del método de Kirby-Bauer. Variable cualitativa

1.6.10 Métodos

Tabla 4: Métodos por objetivo específico

Objetivos específicos	Actividades por objetivo
Objetivo específico 1	1.1 Toma de muestras de secreciones uterinas mediante lavado uterino con solución salina 1.2 Cultivo de las secreciones e identificación mediante pruebas bioquímicas de las cepas bacterianas aisladas 1.3 Análisis estadístico de los datos de identificación bacteriana
Objetivo específico 2	2.1 Determinación de concentraciones mínimas inhibitorias mediante el equipo VITEK® 2 Compact Tarjeta de Sensibilidad AST-GN96. 2.2 Determinación de susceptibilidad antimicrobiana mediante el método de Kirby-Bauer. 2.3 Análisis estadístico de los datos de sensibilidad obtenidos
Objetivo específico 3	3.1 Discusión de los resultados y generación de conclusiones en torno a la terapéutica de endometritis clínica bovina

Fuente: elaboración propia.

1.7 Resultados

En el estudio se obtuvieron un total de 20 muestras procedentes de 20 vacas de cuatro sistemas de producción lechero diferentes en los municipios de Sopó, Guasca y Chocontá. Todas las vacas fueron diagnosticadas con endometritis clínica de diferentes grados de acuerdo a la secreción presente en el examen reproductivo. Durante el examen se incluyeron en el estudio: 1 vaca con endometritis tipo 1, 12 vacas con endometritis tipo 2 y 7 vacas con endometritis tipo 3; con un número de partos entre 2 a 5 con una moda y mediana estadísticas de 3 (Gráficos 1 y 2).

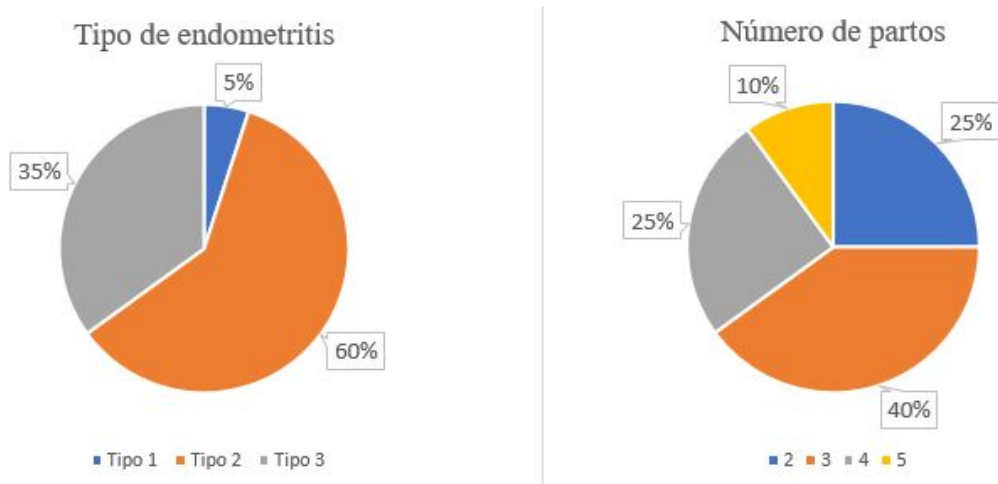


Gráfico 1 y 2: Porcentaje de tipo de endometritis y número de partos en el total de vacas.

Todas las muestras fueron positivas para cultivo microbiológico, de las cuales se obtuvieron un total de 49 aislamientos bacterianos. De cada muestra cultivada se realizaron entre 1 y 4 aislamientos diferentes con una media aritmética de 2.45 aislamientos por muestra (Gráfico 3). De los aislamientos se obtuvieron diversas especies bacterianas pertenecientes a un total de 11 géneros diferentes (Gráfico 4) que se ubican dentro de las familias *Enterobacteriaceae* (85.71%), *Pseudomonadaceae* (10.20%), *Staphylococcaceae* (2.04%) y *Yersiniaceae* (2.04%).

Número de aislamientos por muestra

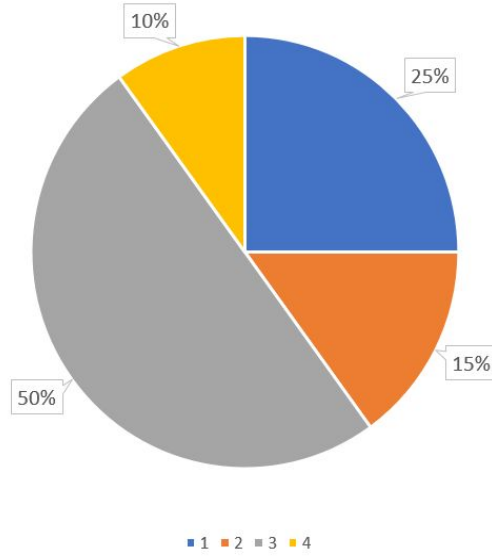


Gráfico 3: Número de aislamientos bacterianos por cada muestra cultivada

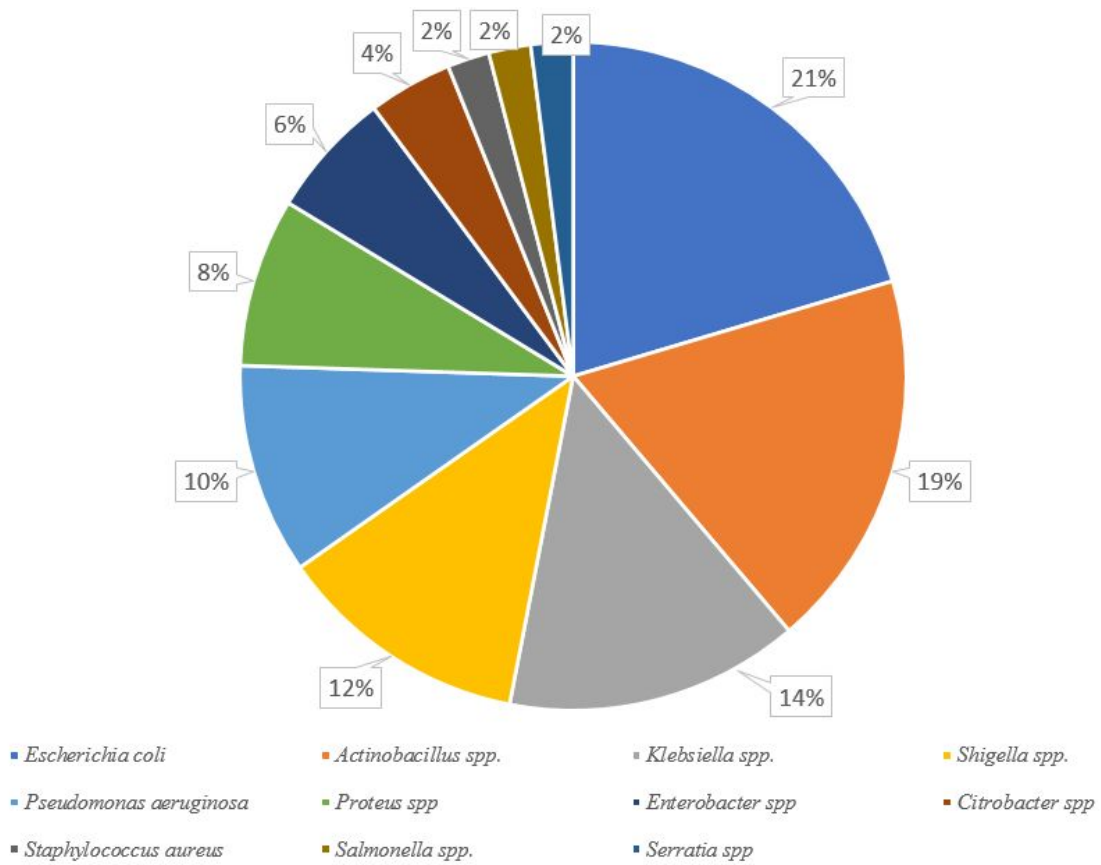
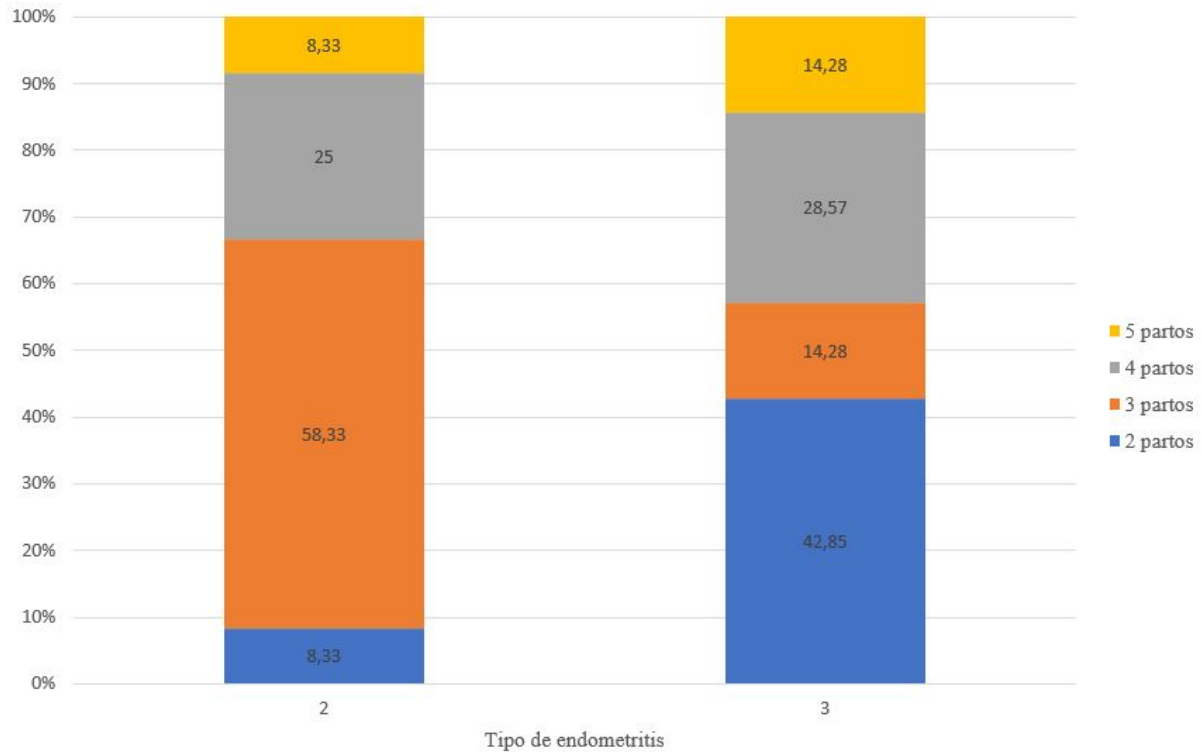
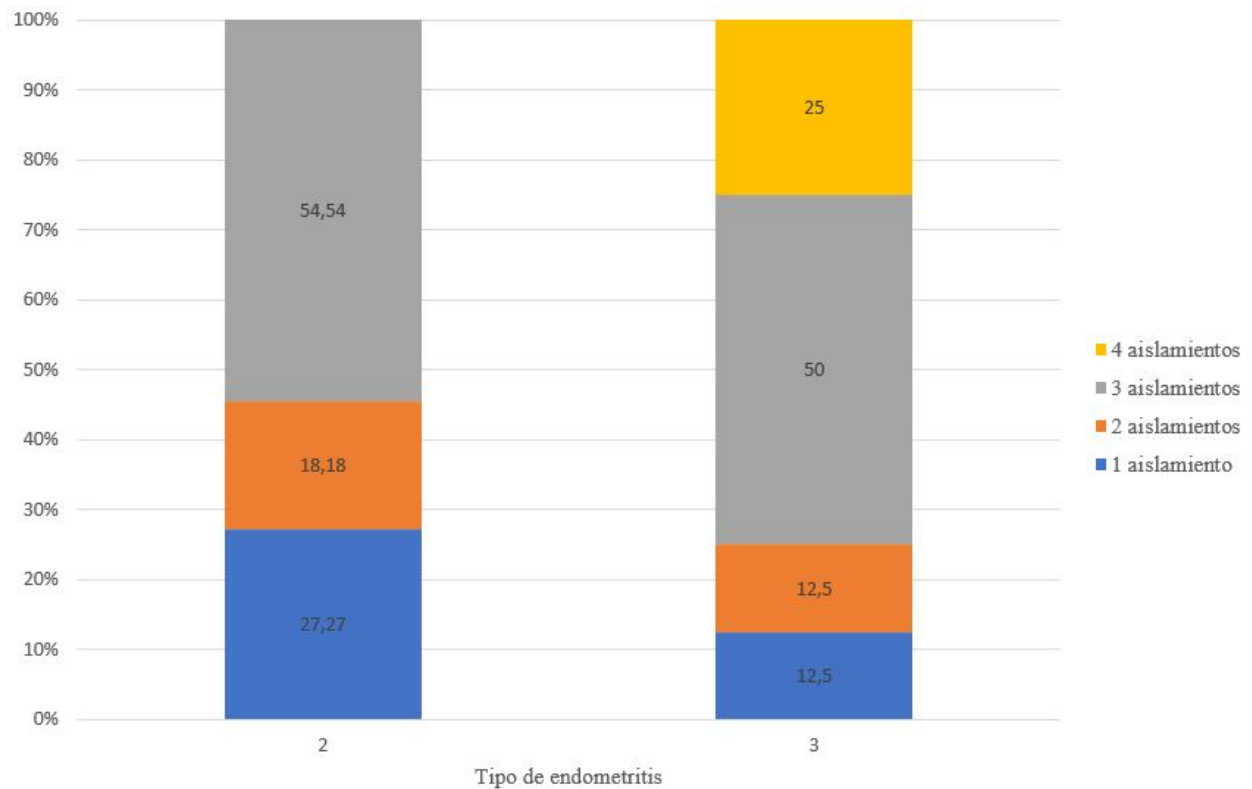


Gráfico 4: Géneros bacterianos aislados

De acuerdo al análisis estadístico mediante el modelo Chi cuadrado para variables cualitativas se determinó que no existe una relación estadística entre el género bacteriano aislado y el tipo de endometritis ($X^2 \text{ Exp} = 16.53 < X^2 \text{ Crítico} = 31.41$). La prueba de Shapiro-Wilk dio como resultado que los datos de número de partos y número de aislamientos por muestra no siguieron una distribución normal con $W = 0.88 < VC = 0.905$ y $W = 0.83 < VC = 0.905$ respectivamente. Mediante la realización de pruebas no paramétricas como la de U de Mann-Whitney para relacionar variables cuantitativas que no siguen una distribución normal y variables cualitativas se determinó que no existe una relación entre el desarrollo de endometritis tipo 2 y tipo 3 y el número de partos ($Z = -0.46 < Z_{\alpha} = 1.96$) así como tampoco hay una relación en el desarrollo de endometritis tipo 2 y tipo 3 y el número de aislamientos por muestra ($Z = 1.27 < Z_{\alpha} = 1.96$). Para los datos de endometritis tipo 1 no se tuvo en cuenta la realización de esta prueba estadística ya que solo se obtuvo una muestra de endometritis tipo 1. En las gráficas 5 y 6 se muestra el porcentaje de número de partos según el tipo de endometritis y el número de aislamientos de muestra según el tipo de endometritis.



Gráfica 5: porcentaje de número de partos en vacas con endometritis tipo 2 y 3



Gráfica 6: porcentaje de aislamientos por muestra en vacas con endometritis tipo 2 y 3

De los 49 aislamientos obtenidos se realizaron pruebas de sensibilidad a 22 cepas diferentes (44.9%), de las cuales 8 pruebas se realizaron por el método de Kirby-Bauer y 14 por microdilución en caldo mediante el equipo automatizado VITEK® 2 Compact. Los géneros bacterianos a los cuales se realizó las pruebas de susceptibilidad se muestran en la tabla 6. Los aislamientos de *Citrobacter spp.* y *Serratia spp.* no fueron sometidos a ninguna prueba ya que no se consideraron como patógenos de importancia.

Tabla 5: Porcentaje de cepas sometidas a pruebas de sensibilidad

Bacteria	Aislamientos totales	Pruebas realizadas	Porcentaje de pruebas
<i>Escherichia coli</i>	10	4	40%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	4	80%
<i>Actinobacillus spp.</i>	9	3	33,33%
<i>Proteus spp.</i>	4	3	75%
<i>Shigella spp.</i>	6	3	50%
<i>Klebsiella spp.</i>	7	2	28,57%
<i>Enterobacter spp.</i>	3	1	33,33%
<i>Salmonella spp.</i>	1	1	100%
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	1	100%
<i>Serratia spp.</i>	1	0	0%
<i>Citrobacter spp.</i>	2	0	0%
TOTAL	49	22	44,90%

Fuente: elaboración propia.

De acuerdo con las pruebas de sensibilidad antimicrobiana realizadas, se identificaron 9 cepas con multirresistencia antibiótica correspondiente a un 40.91% de las cepas analizadas: 2 cepas de *E. coli* (50% de las cepas analizadas del género), 2 cepas de *Proteus spp.* (66.67% de las cepas analizadas del género), 2 cepas de *Shigella spp.* (67% de las cepas analizadas del género), 1 *Klebsiella spp.* (50% de las cepas analizadas del género), 1 *Enterobacter spp.* (100% de las cepas analizadas del género) y 1 de *Staphylococcus aureus* (100% de las cepas analizadas del género).

Los resultados de la sensibilidad por antibiótico indican que los antimicrobianos a los cuales hubo un mayor porcentaje de cepas resistentes fueron amoxicilina (59.09%) y cefalotina (59.09%), seguidos por ceftiofur (40.91%), penicilina (36.36%), cefoperazona (27.27%) y Tetraciclina (22.73%).

1.8 Discusión

La bacteria mayormente aislada fue *E. coli* estando de acuerdo con gran parte de la literatura que indica que es el agente etiológico más común (Cayul, 2003; González et al., 2007); otros autores indican que es el segundo género bacteriano más aislado de vacas con endometritis (Prunner et al., 2014; Wagener et al., 2014), sin embargo, es claro el reconocimiento que *E. coli* es una bacteria altamente patógena dentro del útero y que altas densidades de crecimiento de esta bacteria se relacionan con trastornos reproductivos de diferentes tipos (Williams et al., 2007).

Sobre el siguiente género bacteriano más aislado, *Actinobacillus*, no hay mayor información en la literatura y no es aislado con mucha frecuencia en vacas con endometritis por lo que no se asocia con el desarrollo de esta enfermedad. Algunos autores han obtenido aislamientos de bacterias del género *Actinobacillus* de vacas con metritis puerperal aguda pero con muy baja prevalencia (Credille et al., 2014). Aunque algunos autores indican que *Actinobacillus lignieresii* hace parte de la microbiota normal del tracto digestivo, respiratorio y reproductivo de los rumiantes (Dubarry et al., 2004), no se encontró literatura basada en cultivos o detección por métodos genéticos de que este fuera un habitante normal del útero, por lo que probablemente se trate de paso bacterias provenientes del tracto digestivo al útero.

Tampoco se suele reportar una alta prevalencia de los géneros *Klebsiella* y *Shigella* como causantes de endometritis bovina a pesar de ser tercer y cuarto género bacteriano mayormente aislado en el estudio, sin embargo, un estudio realizado en Montería con vacas con diferentes patologías reproductivas demostró una prevalencia del 16.4% para el género *Klebsiella* (González et al., 2007), la cual supera la hallada en este estudio que fue de 14%, y un estudio realizado en India mostró a *Klebsiella spp.* como el segundo microorganismo más aislado de

vacas con endometritis con un 36% en una muestra de 25 vacas (Udhayavel, Malmarugan, Palanisamy & Rajeswar, 2013). *Klebsiella spp.* es considerada por algunos autores como contaminante oportunista que no suele asociarse con endometritis (Williams et al., 2007) sin embargo fue el tercer género más aislado por lo que vale la pena replantearse eso en nuestro medio. Respecto a *Shigella spp.*, es encontrada en vacas con endometritis teniendo una baja abundancia según algunos autores (Bogado-Pascottini et al., 2020) y se ha encontrado hasta en un 23.9% de muestras uterinas de vacas sanas (Méndez, 2008) por lo que puede considerarse un agente oportunista.

Pseudomonas aeruginosa se ha encontrado en la microbiota uterina de vacas sanas (Wang et al, 2018) pudiendo incluso ser la bacteria más aislada (Méndez, 2008); sin embargo es raramente encontrada en aislamientos provenientes de vacas con endometritis. Se ha demostrado que *Pseudomonas spp* puede tener una prevalencia de hasta 15.6% en trastornos reproductivos en bovinos (González et al., 2007), probablemente como bacteria oportunista. Otras bacterias como *Proteus spp.* son clasificadas como contaminantes oportunistas que no suelen asociarse con endometritis (Williams et al., 2007), y la misma clasificación podría abarcar otros géneros de enterobacterias que se aislaron en el estudio como *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Salmonella* y *Serratia*. *Staphylococcus aureus* por otro lado es frecuentemente aislado de vacas con trastornos reproductivos y no tanto así de vacas sanas, sin embargo no es un patógeno de mayor importancia en endometritis (Williams et al., 2007).

Cabe destacar que en el presente estudio no se obtuvieron aislamientos de *T. pyogenes* que se reporta como el patógeno más importante para el desarrollo de endometritis en los bovinos; todas las muestras fueron cultivadas en agar sangre, medio que se reporta como ideal para el

crecimiento de esta bacteria en un ambiente aerobio y con la temperatura ideal (Rodríguez, Almario, & Verjan, 2015), por lo que cabe la posibilidad de cuestionar la importancia de esta bacteria en enfermedades reproductivas en nuestro medio, además porque otros estudios realizados en nuestro país tampoco han demostrado altas prevalencias de esta bacteria a diferencia de otras como bacilos gram negativos, principalmente enterobacterias, que toman gran importancia en la enfermedad (González et al., 2007; Sánchez et al., 2011).

Por otra parte, en este estudio no se encontró una relación estadística significativa entre la cantidad de partos por vaca y la presentación de un tipo determinado de endometritis, esto ya ha sido corroborado anteriormente por algunos autores (Rinaudo, 2013; Gilbert et al., 2005) los cuales indican que la presentación de endometritis es independiente a la cantidad de número de partos no mostrando diferencias estadísticas significativas. Al contrario, otros autores han demostrado que existen diferencias altamente significativas que relacionan el número de partos y el desarrollo de endometritis (Calcina, 2018).

En lo que se refiere a la susceptibilidad antimicrobiana, el principal agente bacteriano aislado, *E. coli*, obtuvo un porcentaje de multirresistencia del 50%, el cual es un porcentaje relevante pero mucho menor al reportado por algunos autores, el cual alcanza hasta un 89.2% (Zhao et al., 2014) y 91% (Cayul, 2003) de multirresistencia. Este porcentaje puede ser debido al bajo número de pruebas de sensibilidad realizadas para *E. coli* en el estudio; sin embargo algo en lo que concuerda el estudio con otros autores es la amplia resistencia a los betalactámicos (Cayul, 2003; Malinowski et al., 2011) como penicilina, amoxicilina y cefalotina. En el estudio se presentó una alta susceptibilidad a antibióticos como flumequina, enrofloxacin, ciprofloxacina, marbofloxacina, tetraciclina, oxitetraciclina y gentamicina lo cual concuerda con otros estudios

(Cayul, 2003; Zhao et al., 2014; Manimaran et al., 2019). También se presentó alta sensibilidad a sulfametoxazol más trimetoprim, tetraciclina y oxitetraciclina estando en desacuerdo con algunos autores (Zhao et al., 2014) y concordando con otros (Malinowski et al., 2011; Brodzki et al., 2014). También se observó una mediana susceptibilidad a ceftiofur al cual algunos autores reportan alta susceptibilidad (Malinowski et al., 2011; Brodzki et al., 2014) y es importante destacar que un aislamiento de *E. coli* presentó resistencia a cefalosporinas de 3 y 4 generación (ceftiofur, cefoperazona y cefquinoma).

Con respecto a *Actinobacillus spp*, que fue el segundo género bacteriano más aislado, no hay información de susceptibilidad antibacteriana de cepas provenientes de útero en bovinos, sin embargo, la literatura reporta sensibilidad de *Actinobacillus lignieresii*, causante de enfermedades piogranulomatosas de la cavidad oral en bovinos a penicilina, ampicilina, ceftiofur, tetraciclina, florfenicol, sulfas y aminoglucósidos (da Silva et al., 2017). En este estudio no se hallaron cepas multiresistentes de *Actinobacillus spp*, sin embargo, todas fueron resistentes a antibióticos de dos familias distintas, presentando mayor resistencia a sulfametoxazol más trimetoprim, penicilinas y cefalosporinas de primera generación y mostrando mayor sensibilidad a aminoglucósidos, polimixina B, ceftiofur y marbofloxacin.

Para *Klebsiella spp*. una de las cepas analizadas fue multiresistente y la otra resistente a antibióticos de dos familias diferentes, mostrando mayor sensibilidad a ceftiofur, gentamicina, neomicina, sulfametoxazol más trimetoprim y a fluoroquinolonas, con respecto a la literatura los resultados fueron similares ya que se reporta sensibilidad a ceftriaxona, gentamicina y enrofloxacin, sin embargo, hubo resistencia a las tetraciclinas contrario a lo que se reporta (Udhayavel et al., 2013).

Para *Shigella spp.*, fueron utilizados datos de aislamientos provenientes de tracto gastrointestinal para comparar. De las 3 cepas de *Shigella spp.* que fueron analizadas en el estudio, dos mostraron multirresistencia y una mostró resistencia a antibióticos de dos familias distintas, demostró susceptibilidad alta a las fluoroquinolonas y mediana susceptibilidad a amoxicilina con ácido clavulánico, neomicina y sulfametoxazol con trimetoprim; estos datos no están de acuerdo con la literatura ya que se demostró resistencia a la gentamicina, tetraciclina y amoxicilina, antibióticos a los que ha mostrado sensibilidad (Diwakar, Joshi, Joshi, & Yadav, 2014).

Las pruebas realizadas a los aislamientos de *P. aeruginosa* dieron como resultado alta sensibilidad a antibióticos de elección para tratar esta bacteria, como ticarcilina con ácido clavulánico, imipenem, gentamicina, polimixina B, enrofloxacin y marbofloxacin; solo una de las cepas (25%) fue resistente a ceftiofur. Estos datos están de acuerdo con estudios anteriores que reportan sensibilidad a gentamicina y fluoroquinolonas (Hossain, Saha, Rahman, Singha, & Mamun, 2013) sin embargo en otros estudios se ha reportado sensibilidad a cefalosporinas de tercera generación como la ceftriaxona (Udhayavel et al., 2013).

Las 3 pruebas realizadas para los aislamientos de *Proteus spp.*, dieron como resultado 2 cepas multirresistentes (66.67%), un porcentaje relativamente bajo respecto a otros estudios que han demostrado el 100% de multirresistencia en aislamientos de *Proteus spp.* Estas cepas mostraron sensibilidad similar a la reportada por la literatura que no muestra resistencia a aminoglucósidos, fluoroquinolonas y sulfametoxazol más trimetoprim sin embargo, en este estudio se halló mayor resistencia a cefalosporinas de tercera y cuarta generación como ceftiofur y cefquinoma (Cayul, 2003).

Para *Enterobacter spp* y *Salmonella spp* se realizó únicamente una prueba de sensibilidad antimicrobiana resultando ambas cepas multirresistentes. *Enterobacter spp.* mostró mayor susceptibilidad a sulfametoxazol más trimetoprim y a ciprofloxacina. Por otro lado *Salmonella spp.* mostró mayor sensibilidad a la gentamicina, sulfametoxazol más trimetoprim, florfenicol y fluoroquinolonas. La literatura reporta sensibilidad a la gentamicina y otros fenicoles como lo hace el presente estudio, sin embargo también reporta un bajo porcentaje de sensibilidad frente a fluoroquinolonas y sensibilidad a oxitetraciclina contrario a los resultados hallados (Diwakar et al, 2014).

Respecto a *Staphylococcus aureus*, se realizó prueba de susceptibilidad para la única cepa aislada la cual no fue multirresistente, sin embargo, se demostró amplia resistencia a penicilinas y cefalosporinas de primera y tercera generación y sensibilidad a sulfametoxazol más trimetoprim y ciprofloxacina. La literatura ha demostrado resistencia a amoxicilina, penicilina y cloxacilina; y sensibilidad a sulfametoxazol más trimetoprim para especies de *Staphylococcus* concordando con los resultados hallados, sin embargo la literatura reporta sensibilidad a cefalosporinas de tercera generación, lo que no fue evidenciado en el estudio (Cayul, 2003).

Para el análisis de las concentraciones mínimas inhibitorias fueron comparadas MIC50 reportadas por varios autores con los valores más altos obtenidos en este estudio para *E. coli*, ya que el bajo número de muestras no permitió realizar MIC50 en este estudio. Para Ampicilina se obtuvieron MIC de 16 µg/ml, que es alta frente a valores reportados en la literatura que muestran valores de 4 µg/ml (de Boer et al., 2015; Pohl et al., 2018), igualmente se hallaron valores altos de MIC para amoxicilina con ácido clavulánico ya que dio como resultado MIC de 8 µg/ml y la literatura reporta 4 µg/ml (Pohl et al., 2018). Para cefalotina se obtuvieron valores de MIC

mayores a 64 $\mu\text{g/ml}$ mientras la literatura reporta niveles máximos de 16 $\mu\text{g/ml}$ (Pohl et al., 2018), respecto a ceftiofur la MIC más alta fue mayor o igual a 8 $\mu\text{g/ml}$ mientras la literatura reporta valores de 0.25 $\mu\text{g/ml}$ y 0.5 $\mu\text{g/ml}$ (de Boer et al., 2015; Pohl et al., 2018; Sheldon et al., 2004), los resultados de MIC de cefoperazona dieron valores de 8 $\mu\text{g/ml}$ mientras la literatura reporta valores de 0.25 $\mu\text{g/ml}$ (Pohl et al., 2018) y de cefquinoma se obtuvieron valores de 8 $\mu\text{g/ml}$ cuando la literatura reporta valores de 0.06 $\mu\text{g/ml}$ (Sheldon et al., 2004) evidenciando la emergente resistencia a los betalactámicos.

Otras familias de antibióticos dieron resultados altos para MIC como es el caso de gentamicina que dio valores de 1 $\mu\text{g/ml}$ mientras que la literatura reporta 0.5 $\mu\text{g/ml}$ (Pohl et al., 2018). La enrofloxacin dio valores de 0.5 $\mu\text{g/ml}$ mientras la literatura reporta valores de 0.03 $\mu\text{g/ml}$ y 0.06 $\mu\text{g/ml}$ (de Boer et al., 2015; Pohl et al., 2018; Sheldon et al., 2004) y marbofloxacin dio valores menores de 0.5 $\mu\text{g/ml}$ y la literatura reporta 0.03 $\mu\text{g/ml}$ (Pohl et al., 2018). Para sulfametoxazol más trimetoprim se obtuvieron valores menores o iguales a 20 $\mu\text{g/ml}$ aunque la literatura reporta valores de 0.06 $\mu\text{g/ml}$ (Pohl et al., 2018); sin embargo los valores para fluoroquinolonas y sulfametoxazol más trimetoprim siguen indicando susceptibilidad.

Por último la única familia que presentó valores menores de MIC a los reportados por la literatura fueron las tetraciclinas con valores menores o iguales a 1 $\mu\text{g/ml}$ mientras que la literatura reporta valores de 4 $\mu\text{g/ml}$ (Pohl et al., 2018).

La sensibilidad antimicrobiana por cada antibiótico indicó que el mayor porcentaje de resistencia fue a las cefalosporinas de primera generación (63.64%), esto se debe a que la gran mayoría de las cepas aisladas son microorganismos gram negativos, frente a los cuales esta familia de antibióticos tiene un espectro de acción reducido. La sensibilidad a la penicilina G no

fue probada en todos los microorganismos sin embargo si se hubiera hecho esto, los porcentajes de resistencia serían mucho mayores. La alta resistencia a las cefalosporinas de primera generación es de gran importancia ya que antibióticos de esta familia son altamente recomendados para el tratamiento de endometritis bovina (Denis-Robichaud & Dubuc, 2015; Lefebvre & Stock, 2012), esto debido a que el principal agente causal que se reporta es *T. pyogenes*.

Los resultados de susceptibilidad antimicrobiana para cefalosporinas de tercera generación son de mayor relevancia ya que se evidencio un 40.91% de resistencia a ceftiofur. La resistencia emergente de antibióticos de esta familia ya ha sido estudiada principalmente frente a *E. coli* donde se han reportado porcentajes de resistencia del 54% (San Martín, Bravo & Borie 2005) y se esclarecido mecanismos específicos de resistencia de esta bacteria frente a cefalosporinas mediante la expresión de los genes blaCMY-1 y blaCTX-M-32 para la producción de cefamicinasa y betalactamasas de espectro extendido (Taylor et al., 2019). Esta amplia resistencia se puede deber al uso indebido de este antibiótico ya que es ampliamente administrado al no tener residualidad en leche.

Las familias de antibióticos que presentaron menor resistencia antimicrobiana en el estudio fueron las fluoroquinolonas, aminoglucósidos y tetraciclinas los cuales pueden evaluarse para futuras terapéuticas. Las fluoroquinolonas como la enrofloxacin, de acuerdo a su farmacocinética, han demostrado buena distribución en el útero en especial en vacas con endometritis, ya que la inflamación incrementa la permeabilidad a este medicamento lo que causa aumentos significativos en la concentración a nivel de fluidos uterinos (Kumar, Akhtar &

Jayachandran, 2005); sin embargo no es un antibiótico usado rutinariamente en el tratamiento de endometritis, probablemente por su tiempo de retiro en leche.

Los aminoglucósidos, en especial la gentamicina ya han sido probados anteriormente para la terapéutica de endometritis en bovinos mediante infusión intrauterina, sin embargo no se han obtenido resultados satisfactorios para utilizarla como única terapéutica, teniendo porcentajes de resolución más bajos que vacas no tratadas (Moreira & Esquerdo, 2016). Esto es debido a que por las características de la molécula, esta se inactiva en pH ácidos como es en el caso del pus (Moncada, 2017), necesita de un medio con alto potencial de óxido-reducción por lo que no funciona en medios anaerobios como podría serlo el útero (Mella et al., 2004) y además no actúa frente a *T. pyogenes*.

Las tetraciclinas mostraron un porcentaje de resistencia relativamente bajo del 22.73% lo cual concuerda con lo reportado en otros estudios, los cuales han demostrado porcentajes de resistencia menores al 20% para *E. coli*. El uso de oxitetraciclina ya se ha probado para el tratamiento de endometritis mediante el uso de infusión intrauterina de 3g, con resultados muy satisfactorios sobre otros antimicrobianos. La oxitetraciclina tiene además efecto antiinflamatorio, de inhibición de las metaloproteinasas de matriz y de la sintasa de óxido nítrico inducible lo cual contribuye a una mayor eficacia en la terapéutica (Manimaran et al., 2019) además de una baja absorción en el útero lo que facilita que haya altas concentraciones sobre el endometrio y permitiendo un tiempo de retiro más corto (El Korchi, 2006). La literatura también reporta resultados pocos satisfactorios para terapéuticas con oxitetraciclina, sin embargo, esto puede estar relacionado con que la etiología de la endometritis sea *T. pyogenes* que tiene mayor resistencia a oxitetraciclina (Lefebvre & Stock, 2012).

1.9 Conclusiones

De acuerdo a los resultados encontrados las bacterias principalmente aisladas fueron *E. coli*, *Actinobacillus spp.* y *Klebsiella spp.* y de acuerdo a sus susceptibilidad se sugiere que los antibióticos de primera línea para el tratamiento de estas bacterias son oxitetraciclina, enrofloxacin y gentamicina. Los resultados de los aislamientos bacterianos sugieren que en Colombia podríamos tener una prevalencia bacteriana distinta a la de otros países.

Se demostró un alta resistencia a Cefalosporinas de tercera generación como el Ceftiofur en los hatos lecheros en la sabana de Bogotá, la cual es atribuida a su uso indiscriminado, a su bajo volumen de distribución uterino por aplicación subcutánea, a su alto porcentaje de ionización en presencia de pus, a su baja residualidad en leche y a su gran sensibilidad histórica contra organismos Gram negativos, lo cual genera gran preocupación puesto que son antibióticos que deberían tenerse como reserva para infecciones multirresistentes y nunca como antibióticos de primera elección para el tratamiento de la endometritis.

Con respecto a las tetraciclinas se demostró que son antibióticos que poseen una alta susceptibilidad a las principales bacterias aisladas y que siguen siendo una de las principales herramientas para contrarrestar la endometritis en vacas en la sabana de Bogotá.

De acuerdo a los resultados de sensibilidad antimicrobiana se demostró una alta susceptibilidad a la enrofloxacin, medicamento ampliamente utilizado como primera línea para el tratamiento de bacterias gram negativas y teniendo en cuenta que se distribuye muy bien al

útero lo hace uno de los fármacos más recomendables para la terapéutica de endometritis, sin embargo su uso es muy limitado debido a su amplio tiempo de retiro (5 días en leche).

En este estudio se evidenció una alta susceptibilidad microbiana a los aminoglicósidos, sin embargo no se recomiendan como primera línea terapéutica mediante su administración sistémica debido a su alta residualidad, alta ionización a nivel uterino y su potencial riesgo para la salud pública por su elevada nefrotoxicidad. Sin embargo, merece la pena evaluar la eficacia clínica de estos antibióticos vía intrauterina.

De acuerdo a estudios realizados anteriormente donde se sugiere que la principal bacteria aislada en casos de endometritis clínica en vacas es *T. Pyogenes* y donde los antibióticos de primera línea son cefalosporinas de primera generación como la Cefalexina y la Cefapirina debido a su alta sensibilidad, se evidencia la necesidad de realizar más estudios de aislamiento y susceptibilidad antimicrobiana en nuestro país para mejorar la eficacia y disminuir la resistencia de las bacterias a los antibióticos, puesto que estos antibióticos no deberían ser utilizados como primera línea de tratamiento en nuestro país ya que los microorganismos más aislados son Gram negativos frente a los cuales tienen una actividad leve.

Respecto a los resultados microbiológicos, se ven necesarios más estudios a nivel regional o nacional que muestran la importancia de *T. pyogenes* en el desarrollo de endometritis en bovinos con metodologías que no sean dependientes de cultivos, por ejemplo mediante PCR y secuenciación del ARN ribosomal 16S.

1.10 Referencias bibliográficas

- Amiridis, G., Fthenakis, G., Dafopoulos, J., Papanikolau, T., & Mavrogianni, V. (2003). Use of cefquinome for prevention and treatment of bovine endometritis. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* Vol. 26, 387-390.
- Barajas, J., Hernández, J., García, A., Martínez, E., Juárez, N., Bedolla, M., & Luzbel, R. (2018). Endometritis subclínica y tasa de gestación en vacas lecheras en México. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* Vol. 9 No 1, 135-146.
- Bicalho, M. L., Lima, S., Higgins, C. H., Machado, V. S., Lima, F. S., & Bicalho, R. C. (2017). Genetic and functional analysis of the bovine uterine microbiota. Part II: Purulent vaginal discharge versus healthy cows. *Journal of Dairy Science* Vol. 100 No. 5, 3863-3874.
- de Boer, M., Heuer, C., Hussein, H., & McDougall, S. (2015). Minimum inhibitory concentrations of selected antimicrobials against *Escherichia coli* and *Trueperella pyogenes* of bovine uterine origin. *Journal of Dairy Science* No 98, 1-12.
- Bogado-Pascottini, O., Van-Schyndel, S., Spricigo, J., Rousseau, J., Weese, J., & LeBlanc, S. (2020). Dynamics of uterine microbiota in postpartum dairy cows with clinical or subclinical endometritis. *Scientific Reports* 10:12353, 1-11.
- Brodzki, P., Bochniarz, M., Brodzki, A., Wrona, Z., & Wawron, W. (2014). *Trueperella pyogenes* and *Escherichia coli* as an etiological factor of endometritis in cows and the susceptibility of these bacteria to selected antibiotics. *Polish Journal of Veterinary Sciences* Vol. 17 No 4, 657-664.
- Calcina, J. (2018). Prevalencia de la endometritis subclínica en vacas post parto del CIP Chuquibambilla. Universidad Nacional del Altiplano.
- Cayul, A. (2003). Estudio de resistencia a antimicrobianos de uso frecuente en medicina veterinaria, de patógenos bacterianos aislados de metritis bovina en rebaños lecheros de la Décima Región. Universidad Austral de Chile.
- CLSI. (2018) *Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals*. 4th ed. CLSI supplement VET08. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- CLSI. (2020) *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*. 30th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

- Credille, B., Woolums, A., Giguère, S., Robertson, T., Overton, M., & Hurley, D. (2014). Prevalence of Bacteremia in Dairy Cattle with Acute Puerperal Metritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine Vol. 28*, 1606-1612.
- Denis-Robichaud, J., & Dubuc, J. (2015). Randomized clinical trial of intrauterine cephalosporin infusion in dairy cows for the treatment of purulent vaginal discharge and cytological endometritis. *Journal of Dairy Science Vol. 98 No. 10*, 1-9.
- Diwakar, R., Joshi, N., Joshi, R., & Yadav, V. (2014). Isolation and AntibioGram of Enterobacteria associated with Bovine calf Diarrhea. *Advances in Animal and Veterinary Sciences 2 (2S)*, 43-45.
- Dubarry, J., Alvarez, A., Errea, A., Maria, A., Vera, O., Vespolipucheu, V., & Galeano, M. (2004). Actinomycosis y Actinobacilosis: una causa frecuente de lesiones granulomatosas en los bovinos del Departamento Maracó de la provincia de La Pampa - República de Argentina. *Ciencias Veterinarias Vol. 6 No. 1*, 34-41.
- El Korchi, G. (2006). Farmacocinética y eficacia de oxitetraciclina tras su administración intramuscular en bovino. depleción tisular. *Universidad Autònoma de Barcelona*.
- Farca, A., Nebbia, P., Robino, P., & Re, G. (1997). Effects of the combination antibiotic—EDTA—tris in the treatment of chronic bovine endometritis caused by antimicrobial-resistant bacteria. *Pharmacological Research Vol. 36 No. 1*, 35-39.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2016). *The FAO action plan on antimicrobial resistance*. Obtenido de <http://www.fao.org/3/a-i5996e.pdf>
- Gilbert, R., Shin, S., Guard, C., Erb, H., & Frajblat, M. (2005). Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology Vol. 64*, 1879-1888.
- Gleerup, K., Andersen, P., Munksgaard, L., & Forkman, B. (2015). Pain evaluation in dairy cattle. *Applied Animal Behaviour Science No. 171*, 25-32.
- González, M., Ríos, R., & Mattar, S. (2007). Prevalencia de bacterias asociadas a la infertilidad infecciosa en bovinos de Montería, Colombia. *Revista MVZ Córdoba Vol. 12 No. 2*, 1028-1035.
- Haimerl, P., Heuwieser, W., & Arlt, S. (2013). Therapy of bovine endometritis with prostaglandin F_{2α}: A meta-analysis. *Journal of Dairy Science Vol. 96*, 2973–2987.
- Hossain, M., Saha, S., Rahman, M., Singha, J., & Mamun, A. (2013). Isolation, Identification and AntibioGram Study of Pseudomonas Aeruginosa from Cattle in Bangladesh. *Journal of Veterinary Advances Vol. 3 No. 7*, 180-185.

Hott, R. (1997). Evaluación clínica del uso del Ceftiofur, vía intramuscular e intrauterina, en el tratamiento de afecciones uterinas en vacas de lechería y su posterior detección como inhibidor en leche. Universidad Austral de Chile.

Jeon, S., Vieira-Neto, A., Gobikrushanth, M., Daetz, R., Mingoti, R., Parize, A., . . . Galvão, K. (2015). Uterine microbiota progression from calving until establishment of metritis in dairy cows. *Applied and Environmental Microbiology Vol. 81*, 6324–6332.

Kumar, A., Akhtar, M., & Jayachandran, C. (2005). Distribution studies of enrofloxacin and gentamicin in plasma and uterine fluid of healthy cows and cows suffering from endometritis following intravenous administration. *Indian Journal of Animal Research Vol. 39 No. 2*, 102-106.

Lagos, B., & Narváez, J. (2016). Prevalencia de endometritis diagnosticada por ultrasonido en vacas de pequeños productores de leche de seis municipios del departamento de Nariño, Colombia. *Investigación Pecuaria Vol. 4 No. 1*, 23-30.

LeBlanc, S., Duffield, T., Leslie, K., Bateman, K., Keefe, G., Walton, J., & Johnson, W. (2002). Defining and Diagnosing Postpartum Clinical Endometritis and its Impact on Reproductive Performance in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science Vol. 85 No. 9*, 2223-2236.

LeBlanc, S., Duffield, T., Leslie, K., Bateman, K., Keefe, G., Walton, J., & Johnson, W. (2002). The Effect of Treatment of Clinical Endometritis on Reproductive Performance in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science Vol. 85*, 2237-2249.

Lefebvre, R., & Stock, A. (2012). Therapeutic Efficiency of Antibiotics and Prostaglandin F2 α in Postpartum Dairy Cows with Clinical Endometritis: An Evidence-Based Evaluation. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice Vol. 28*, 79–96.

Liu, M., Wu, C., Liu, Y., Zhao, J., Yang, Y., & Shen, J. (2009). Identification, susceptibility, and detection of integron-gene cassettes of *Arcanobacterium pyogenes* in bovine endometritis. *Journal of Dairy Science No 92*, 3659-3666.

Magiorakos, A., Srinivasan, A., Carey, R., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., Harbarth, S., Hindler, J.F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D.L., Rice, L.B., Stelling, J., Struelens, M.J., Vatsopoulos, A., Weber, J.T., & Monnet, D.L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection Vol. 18 No. 3*, 268-281.

Malinowski, E., Lassa, H., Markiewicz, H., Kaptur, M., Nadolny, M., Niewitecki, W., & Zięta. (2011). Sensitivity to antibiotics of *Arcanobacterium pyogenes* and *Escherichia coli* from the uteri of cows with metritis/endometritis. *The Veterinary Journal Vol. 187*, 234–238.

- Mandhwani, R., Bhardwaz, A., Kumar, S., Shivhare, M., & Aich, R. (2017). Insights into bovine endometritis with special reference to phytotherapy. *Veterinary World Vol. 10*, 1529-1532.
- Manimaran, A., Raghu, H., Kumaresan, A., Sreela, L., Yadav, A., Layek, S., . . . Sivaram, M. (2019). Oxytetracycline is more suitable antibiotic for clinical endometritis cows. *Indian Journal of Animal Sciences Vol. 89 No. 5*, 501-505.
- Mella, S., Sepúlveda, M., González, G., Bellot, H., Domínguez, M., Zemelman, R., & Ramirez, C. (2004). Aminoglucósidos-aminociclitolos: Características estructurales y nuevos aspectos sobre su resistencia. *Revista chilena de infectología Vol. 21 No. 4*, 330-338.
- Méndez, D. (2008). Determinación de la microflora bacteriana uterina en vacas donantes de embriones. Pontificia Universidad Javeriana.
- Meng-Ling, W., Ming-Chao, L., Jin, X., Li-Gang, A., Jiu-Feng, W. & Yao-Hong, Z. (2018). Uterine Microbiota of Dairy Cows With Clinical and Subclinical Endometritis. *Frontiers in Microbiology Vol. 9 Article 2691*, 1-11
- Moncada, L. (2017). Farmacocinética y Farmacodinamia intracelular de antimicrobianos utilizados en la terapia de la mastitis subclínica bovina producida por *Staphylococcus aureus*. Universidad Nacional de La Plata.
- Montoya, D., & Reyes, G. (2005). *Geología de la Sabana de Bogotá*. Obtenido de Ministerio de Minas y Energía, Instituto Colombiano de Geología y Minería INGEOMINAS:
https://choconta.files.wordpress.com/2007/12/informe_geologia_sabana_bta.pdf
- Moreira, G., & Esquerdo, J. (2016). Avaliação da antibioticoterapia por via intrauterina em vacas com infecções uterinas. *Saber Digital Vol. 9 No. 2*, 81-97.
- Pohl, A., Lübke-Becker, A., & Heuwieser, W. (2018). Minimum inhibitory concentrations of frequently used antibiotics against *Escherichia coli* and *Trueperella pyogenes* isolated from uteri of postpartum dairy cows. *Journal of Dairy Science No 101*, 1-10.
- Plöntzke, J., Madoz, L., De la Sota, R., Heuwieser, W., & Drillich, M. (2011). Prevalence of Clinical Endometritis and its Impact on Reproductive Performance in Grazing Dairy Cattle in Argentina. *Reproduction in Domestic Animals Vol. 46*, 520–526.
- Prunner, I., Wagener, K., Pothmann, H., Ehling-Schulz, M., & Drillich, M. (2014). Risk factors for uterine diseases on small- and medium- sized dairy farms determined by clinical, bacteriological, and cytological examinations. *Theriogenology Vol 82*, 857-865.

- Rinaudo, A. (2012). Endometritis subclínica en vacas lecheras: diagnóstico, tratamiento e incidencia productiva y reproductiva. Universidad Nacional del Rosario.
- Rodríguez, V., Almario, G., & Verjan, N. (2015). Trueperella pyogenes (Arcanobacterium pyogenes), un patógeno oportunista: Una revisión. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, Vol. 8, No. 1, 86-95.
- Sánchez, M., González, C., Castañeda, R., Pulido, A., Guáqueta, H., Aranda, M., & Rueda, M. (2011). Evaluación citológica y microbiológica de lavados uterinos en bovinos con problemas reproductivos (estudio preliminar). *Revista MVZ Córdoba Vol 16 No 3*, 2711-2720.
- San Martín, B., Bravo, V., & Borie, C. (2005). Evaluación de la resistencia antimicrobiana en ganado bovino en Chile, utilizando E. coli como bacteria indicadora. *Archivos de medicina veterinaria Vol. 37 No. 2*, 117-123.
- Sheldon, I., & Dobson, H. (2004). Postpartum uterine health in cattle. *Animal Reproduction Science Vol. 82–83*, 295–306.
- Sheldon, I., Bushnell, M., Montgomery, J., & Rycroft, A. (2004). Minimum inhibitory concentrations of some antimicrobial drugs against bacteria causing uterine infections in cattle. *The Veterinary Record No 155*, 383-387.
- Sheldon, I., Lewis, G., LeBlanc, S., & Gilbert, R. (2006). Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology Vol. 65*, 1516–1530.
- da Silva, Y., de Souza, W., Martins, A., das Chagas, F., Solano, F., & Galda, T. (2017). Actinobacilose bovina: Revisão. *PUBVET Vol. 11 No. 6*, 775-580.
- Taylor, E., Jordan, E., Garcia, J., Hagevoort, G., Norman, K., Lawhon, S., . . . Scott, H. (2019). Effects of two-dose ceftiofur treatment for metritis on the temporal dynamics of antimicrobial resistance among fecal Escherichia coli in Holstein-Friesian dairy cows. *PLOS ONE Vol. 14 No. 7*, 1-20.
- Udhayavel, S., Malmarugan, S., Palanisamy, K., & Rajeswar, J. (2013). Antibioqram pattern of bacteria causing endometritis in cows. *Veterinary World*, 100-102.
- Wagener, K., Grunert, T., Prunner, I., Ehling-Schulz, M., & Drillich, M. (2014). Dynamics of uterine infections with Escherichia coli, Streptococcus uberis and Trueperella pyogenes in post-partum dairy cows and their association with clinical endometritis. *The Veterinary Journal Vol. 202*, 527–532.
- Wang, M.-L., Liu, M.-C., Xu, J., An, L.-G., Wang, J.-F., & Zhu, Y.-H. (2018). Uterine Microbiota of Dairy Cows With Clinical and Subclinical Endometritis. *Frontiers in Microbiology 9:2691*, 1-11.

Williams, E., Fischer, D., Noakes, D., England, G., Rycroft, A., Dobson, H., & Sheldon, M. (2007). The relationship between uterine pathogen growth density and ovarian function in the postpartum dairy cow. *Theriogenology Vol. 68 No. 4*, 549-559.

World Health Organization . (2015). *Global Action Plan on Antimicrobial Resistance*.
Obtenido de
http://www.wpro.who.int/entity/drug_resistance/resources/global_action_plan_eng.pdf

Zhao, H., Zhao, J., Shen, J., Fan, H., Guan, H., An, X., & Li, P. (2014). Prevalence and Molecular Characterization of Fluoroquinolone Resistance in *Escherichia coli* Isolates from Dairy Cattle with Endometritis in China. *Microbial Drug Resistance (MDR)*, 657–664.

1.11 Anexos

1.11.1 Anexo 1: Concepto comité de bioética



Comité de Bioética
Facultad de Ciencias Agropecuarias

Bogotá, FEBRERO 21 DE 2020

SRES.
ESTUDIANTES DE MEDICINA VETERINARIA
JUAN FERNANDO CASTILLO
NICOLAS AMAYA MEDINA
Ciudad

REF: 0063 – CONCEPTO SOBRE SOLICITUD DE AVAL DE PROYECTO

Estimados estudiantes:

Una vez revisada la respuesta a las aclaraciones solicitadas por el Comité sobre la propuesta de investigación titulada "DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA CONTRA CEPAS BACTERIANAS CAUSANTES DE ENDOMETRITIS CLÍNICA BOVINA", los miembros del Comité de Bioética emitieron, en consenso, el siguiente concepto:

CONCEPTO DEL COMITE DE BIOETICA:		
AVALADO/APROBADO	Fecha: 20 de febrero de 2020	Observaciones: Ninguna

De igual forma, el Comité le recuerda que cualquier cambio en la propuesta que fue aprobada debe ser informado a este comité para su evaluación y posterior concepto.

Les reiteramos nuestra disposición para resolver cualquier inquietud al respecto.

Atentamente,

COMITE DE BIOETICA
Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad de La Salle
eticaagropecuaria@lasalle.edu.co
Bogota, Colombia

*Ernesto Andrés Dalmau B., M.V.
Coordinador Comité Bioética (E)
Universidad de La Salle*

1.11.2 Anexo 2: Resultados sensibilidad antimicrobiana VITEK 2 Comapet

Bacteria	<i>Shiguelia spp</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE		
Ampicilina	≥ 32	R
Amoxicilina / Ácido Clavulánico	≤ 2	S
Ticarcilina / Ácido Clavulánico		
Cefalexina		
Cefalotina	16	R
Cefoperazon	≥ 64	R
Ceftiofur	≥ 8	R
Cefquinoma	4	I
Imipenem	1	S
Gentamicina	≤ 1	R
Neomicina	≤ 2	S
Flumequina	≤ 1	S
Enrofloxacina	0.25	S
Marbofloxacina	≤ 0.5	S
Tetraciclina	≤ 1	S
Florfenicol	4	S
Polimixina B		
Trimetoprim / sulfametoxazol	≤ 20	S

Bacteria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE		
Ampicilina		
Amoxicilina / Ácido Clavulánico		

Ticarcilina / Ácido Clavulánico	<= 8	S
Cefalexina		
Cefalotina		
Cefoperazon		
Ceftiofur	<= 1	S
Cefquinoma		
Imipenem	0.5	S
Gentamicina	<=1	S
Neomicina		
Flumequina		
Enrofloxacina	<= 0.12	S
Marbofloxacina	<= 0.5	S
Tetraciclina		
Florfenicol		
Polimixina B	2	S
Trimetoprim / sulfametoxazol		

Bacteria	<i>Actinobacillus spp.</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE		
Ampicilina		
Amoxicilina / Ácido Clavulánico		
Ticarcilina / Ácido Clavulánico		
Cefalexina		
Cefalotina		
Cefoperazon		
Ceftiofur	>= 8	R
Cefquinoma		
Imipenem	1	S
Gentamicina	<= 1	S
Neomicina		
Flumequina		

Enrofloxacina	2	I
Marbofloxacina	<= 0.5	S
Tetraciclina	2	S
Florfenicol		
Polimixina B	2	
Trimetoprim / sulfametoxazol	160	R

Bacteria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE		
Ampicilina		
Amoxicilina / Ácido Clavulánico		
Ticarcilina / Ácido Clavulánico	<= 8	S
Cefalexina		
Cefalotina		
Cefoperazon		
Ceftiofur	<= 1	S
Cefquinoma		
Imipenem	0.5	S
Gentamicina	<= 1	S
Neomicina		
Flumequina		
Enrofloxacina	<= 0.12	S
Marbofloxacina	<= 0.5	S
Tetraciclina		
Florfenicol		
Polimixina B	2	S
Trimetoprim / sulfametoxazol		

Bacteria	<i>Proteus mirabilis</i>	

Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE		
Ampicilina	>= 32	R
Amoxicilina / Ácido Clavulánico	4	S
Ticarcilina / Ácido Clavulánico		
Cefalexina		
Cefalotina	16	R
Cefoperazon	>= 64	R
Ceftiofur	>= 8	R
Cefquinoma	4	I
Imipenem	1	S
Gentamicina	<=1	S
Neomicina	<= 2	S
Flumequina	<= 1	S
Enrofloxacina	0.25	S
Marbofloxacina	<= 0.5	S
Tetraciclina	<= 1	R
Florfenicol	4	S
Polimixina B		
Trimetoprim / sulfametoxazol	<= 20	S

Bacteria	<i>Actinobacillus spp.</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE		
Ampicilina		
Amoxicilina / Ácido Clavulánico		
Ticarcilina / Ácido Clavulánico		
Cefalexina		
Cefalotina		
Cefoperazon		
Ceftiofur	2	S
Cefquinoma		

Imipenem	<= 0.25	S
Gentamicina	<= 1	S
Neomicina		
Flumequina		
Enrofloxacina	1	I
Marbofloxacina	1	S
Tetraciclina	>=16	R
Florfenicol		
Polimixina B	2	
Trimetroprim / sulfametoxazol	>= 320	R

Bacteria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE		
Ampicilina		
Amoxicilina / Ácido Clavulánico		
Ticarcilina / Ácido Clavulánico	32	S
Cefalexina		
Cefalotina		
Cefoperazon		
Ceftiofur	2	S
Cefquinoma		
Imipenem	0.5	S
Gentamicina	2	S
Neomicina		
Flumequina		
Enrofloxacina	0.25	S
Marbofloxacina	<= 0.5	S
Tetraciclina		
Florfenicol		
Polimixina B	2	S
Trimetroprim / sulfametoxazol		

Bacteria	<i>Salmonella spp.</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE		
Ampicilina	16	R
Amoxicilina / Ácido Clavulánico	16	R
Ticarcilina / Ácido Clavulánico		
Cefalexina		
Cefalotina	8	R
Cefoperazon	32	R
Ceftiofur	≥ 8	R
Cefquinoma	≥ 8	R
Imipenem	≥ 16	R
Gentamicina	≤ 1	R
Neomicina	≤ 2	S
Flumequina	16	R
Enrofloxacin	0.25	S
Marbofloxacin	≤ 0.5	S
Tetraciclina	≥ 16	R
Florfenicol	4	S
Polimixina B		
Trimetoprim / sulfametoxazol	≤ 20	S

Bacteria	<i>Proteus vulgaris</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE		
Ampicilina	16	R
Amoxicilina / Ácido Clavulánico	16	R
Ticarcilina / Ácido Clavulánico		
Cefalexina		

Cefalotina	8	R
Cefoperazon	≥ 64	R
Ceftiofur	≥ 8	R
Cefquinoma	≥ 8	R
Imipenem	≥ 16	R
Gentamicina	≤ 1	S
Neomicina	≤ 2	S
Flumequina	≤ 1	S
Enrofloxacin	0.25	S
Marbofloxacin	≤ 0.5	S
Tetraciclina	≥ 16	R
Florfenicol	4	S
Polimixina B		
Trimetoprim / sulfametoxazol	≤ 20	S

Bacteria	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE	Pos	
Ampicilina	4	R
Amoxicilina / Ácido Clavulánico	4	S
Ticarcilina / Ácido Clavulánico		
Cefalexina		
Cefalotina	16	R
Cefoperazon	≤ 4	R
Ceftiofur	2	S
Cefquinoma	2	S
Imipenem	≤ 0.25	S
Gentamicina	2	S
Neomicina	≤ 2	S
Flumequina	≤ 1	S
Enrofloxacin	≤ 0.12	S
Marbofloxacin	≤ 0.5	S

Tetraciclina	≥ 16	R
Florfenicol	8	I
Polimixina B	2	
Trimetroprim / sulfametoxazol	≤ 20	S

Bacteria	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE		
Ampicilina		
Amoxicilina / Ácido Clavulánico		
Ticarcilina / Ácido Clavulánico	≤ 8	S
Cefalexina		
Cefalotina		
Cefoperazon		
Ceftiofur	≥ 8	R
Cefquinoma		
Imipenem	0.5	S
Gentamicina	≤ 1	S
Neomicina		
Flumequina		
Enrofloxacina	0.5	S
Marbofloxacina	≤ 0.5	S
Tetraciclina		
Florfenicol		
Polimixina B	2	S
Trimetroprim / sulfametoxazol		

Bacteria	<i>Escherichia coli</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE	Neg	

Ampicilina	16	I
Amoxicilina / Ácido Clavulánico	8	S
Ticarcilina / Ácido Clavulánico		
Cefalexina		
Cefalotina	16	I
Cefoperazon	<= 4	S
Ceftiofur	<= 1	S
Cefquinoma	<= 0.5	S
Imipenem	<= 0.25	S
Gentamicina	<= 1	S
Neomicina	<= 2	S
Flumequina	<= 1	S
Enrofloxacina	0.5	S
Marbofloxacina	<= 0.5	S
Tetraciclina	<= 1	S
Florfenicol	8	I
Polimixina B	2	
Trimetoprim / sulfametoxazol	<= 20	S

Bacteria	<i>Shigella spp.</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE		
Ampicilina	4	S
Amoxicilina / Ácido Clavulánico	8	S
Ticarcilina / Ácido Clavulánico		
Cefalexina		
Cefalotina	16	R
Cefoperazon	<= 4	S
Ceftiofur	<= 1	S
Cefquinoma	<= 0.5	S
Imipenem	<= 0.25	S
Gentamicina	<= 1	R

Neomicina	<= 2	S
Flumequina	<= 1	S
Enrofloxacina	0.25	S
Marbofloxacina	<= 0.5	S
Tetraciclina	<= 1	S
Florfenicol	8	I
Polimixina B		
Trimetoprim / sulfametoxazol	<= 20	S

Bacteria	<i>Escherichia coli</i>	
Antibiótico	CMI	Interpretación
BLEE	Pos	
Ampicilina	16	R
Amoxicilina / Ácido Clavulánico	8	S
Ticarcilina / Ácido Clavulánico		
Cefalexina		
Cefalotina	>= 64	R
Cefoperazon	8	R
Ceftiofur	>= 8	R
Cefquinoma	>= 8	R
Imipenem	<=0.25	S
Gentamicina	<= 1	S
Neomicina	<= 2	S
Flumequina	<= 1	S
Enrofloxacina	0.25	S
Marbofloxacina	<= 0.5	S
Tetraciclina	<= 1	S
Florfenicol	4	S
Polimixina B	2	
Trimetoprim / sulfametoxazol	<= 20	S