

Multirresistencia en bacterias Gram positivas asociadas a mastitis caprina en Venustiano-Carranza, Michoacán, México

Multidrug resistance in Gram-positive bacteria associated with goat mastitis in Venustiano-Carranza, Michoacán, Mexico

Monica Guadalupe Sánchez-Ceja¹, José Antonio Aguilar-López¹, Juan Carlos Coyazo-Aceves¹, Jiménez-Mejía Rafael¹, Pedro Damián Loeza-Lara¹ y Medina-Estrada Ricardo Iván^{*1}.

Abstract:

Goat mastitis is the primary disease affecting dairy livestock. It is characterized by inflammation of the mammary gland, with Gram-positive bacteria being the primary causative agents. Antimicrobial therapies are routinely used to control mastitis; however, their inappropriate use has led to the selection of multidrug-resistant strains (MDR), which represent a public and animal health problem. The objective of this study was to determine antibiotic resistance in Gram-positive bacteria associated with goat mastitis in the municipality of Venustiano Carranza, Michoacán. We obtained thirty-seven isolates, nineteen of which were MRA. We molecularly identified three of these (as *Staphylococcus* spp.) as being resistant to six groups of antibiotics. The highest resistance was observed in penicillin (100%), cephalothin (78.4%), and clindamycin and dicloxacillin (both at 75.7%). This is the first report of *Staphylococcus* MRA in cases of goat mastitis in the study area, which highlights the public health problem associated with the emergence of multidrug-resistant microorganisms.

Keywords:

Mastitis, Drug resistance, Staphylococcus, Public health, Animal health, goat.

Resumen:

La mastitis caprina es la principal enfermedad del ganado lechero. Se caracteriza por la inflamación de la glándula mamaria y las bacterias grampositivas son las principales agentes causales. Las terapias antimicrobianas son rutinarias para el control de la mastitis; sin embargo, su uso inadecuado ha propiciado la selección de cepas resistentes a múltiples antibióticos (RMA), lo que representa un problema de salud pública y animal. El objetivo del presente trabajo fue determinar la resistencia a antibióticos de bacterias Gram positivas asociadas a la mastitis caprina en el municipio de Venustiano Carranza, Michoacán. Obtuvimos 37 aislados y 19 resultaron en RMA; de estos, identificamos molecularmente a tres (*Staphylococcus* spp.) por presentar resistencia a seis grupos de antibióticos. La mayor resistencia se observó en penicilina (100 %),cefalotina (78,4 %) y clindamicina y dicloxacina (75,7 %). Este es el primer reporte de *Staphylococcus* RMA en casos de mastitis caprina en la zona de estudio, lo que evidencia la problemática de salud pública asociada a la aparición de microorganismos multirresistentes.

Palabras Clave:

Mastitis, resistencia a los antibióticos, Staphylococcus, salud pública, salud animal, cabras.

¹Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, Licenciatura en Genómica Alimentaria. Avenida Universidad #3000, Colonia Lomas de La Universidad, C.P. 58103, Sahuayo, Michoacán, México. Mónica G. Sánchez Ceja, <https://orcid.org/0000-0001-7159-0069>, monnysanchezc@hotmail.com; José Antonio Aguilar-López, <https://orcid.org/0000-0003-3208-7828>, jaguilar@ucemich.edu.mx; Juan Carlos Coyazo-Aceves, <https://orcid.org/0009-0008-2296-6777>, coyazojuanCarlos14@gmail.com; Rafael Jiménez-Mejía, <https://orcid.org/0000-0003-0121-3457>, rjimenez@ucemich.edu.mx; Pedro Damián Loeza-Lara, <https://orcid.org/0000-0002-7953-5723>, jaguilar@ucemich.edu.mx.

*Autor de correspondencia: Medina-Estrada Ricardo Iván, <https://orcid.org/0000-0001-7038-1724>, e-mail: rimedina@ucemich.edu.mx

Fecha de recepción: 20/08/2025, Fecha de aceptación: 13/10/2025, Fecha de publicación: 05/01/2026

DOI: <https://doi.org/10.29057/icap.v12i23.15700>



1. Introducción

Méjico es el principal productor de leche de cabra en América. El Estado de Michoacán se posiciona entre los 10 primeros productores de leche, produciendo alrededor de 4 mil toneladas en 2023, destacándose los municipios de Ecuandureo, Coeneo, Tanuato, Villamar, Pajacuarán y Venustiano Carranza [1,2,3]. La mastitis es una enfermedad que afecta la glándula mamaria caprina y las bacterias son los principales agentes causales. Dependiendo de la respuesta inflamatoria ante la infección, pueden derivarse procesos agudos (mastitis clínica) o crónicos (mastitis subclínica) [4]. La identificación de los microorganismos asociados a esta enfermedad es vital para implementar tratamientos adecuados y, a la vez, establecer estrategias de prevención y control de la patología para limitar el daño al tejido mamario y reducir las pérdidas económicas [5].

Al respecto, se ha descrito que las bacterias Gram positivas, particularmente del género *Staphylococcus*, son los principales agentes causales de infecciones intramamarias en pequeños rumiantes, ocupando entre el 60 y el 65 % de los casos de mastitis clínica y entre el 75 y el 80 % de los casos de mastitis subclínica [5,6,7]. Por otra parte, los tratamientos de elección para el control de la mastitis son los antibióticos; sin embargo, su uso sin asesoría del médico veterinario y sin previo conocimiento del agente causal, ha propiciado un manejo indiscriminado e irracional de estos fármacos, reduciendo la eficacia de la terapia antimicrobiana lo que aumenta la mortalidad y los costos de producción, impactando significativamente en la economía del sector lácteo. [8,9]. Lo anterior, aunado a los mecanismos de respuesta al estrés de las bacterias y a la transferencia horizontal de genes, ha propiciado la selección de cepas de *Staphylococcus* spp. resistentes a múltiples antibióticos (RMA) en diversos casos de mastitis [9,10,11,12]. Esto ha complicado el control de la enfermedad, por lo que se ha convertido en un tema delicado de salud pública y animal debido al consumo de leche o de sus derivados [9,11,13,14,15].

Por ello, la identificación del agente causal y la determinación de su perfil de resistencia a antibióticos pueden ser cruciales para establecer terapias antimicrobianas eficientes en los hatos lecheros, ya que en Michoacán son escasos los reportes de este tipo en los municipios de mayor producción de leche de cabra [16,17,18]. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue determinar la resistencia a antibióticos de bacterias Gram positivas asociadas a la

mastitis caprina en el municipio de Venustiano Carranza, Michoacán.

2. Materiales y métodos

2.1 Área de estudio y muestreo en campo

En el periodo de primavera, se realizó un muestreo aleatorio simple en la localidad de Cumuatillo, perteneciente al municipio de Venustiano Carranza, Michoacán, México, ubicada al noroeste del Estado, en las coordenadas 20°15' de latitud norte y 102°62' de longitud oeste, a una altura de 1,520 metros sobre el nivel del mar [19].

Se muestrearon 50 cabras en línea de ordeño, a las cuales se les aplicó la prueba de California para la detección de mastitis con el reactivo Diagmastin (Sanfer®). La interpretación de los resultados de la prueba de California (negativo, positivo subclínico y positivo clínico) se realizó de acuerdo con las instrucciones de la ficha técnica del reactivo. Para el análisis estadístico descriptivo y de medidas de frecuencia, se determinó la prevalencia puntual y se expresó en porcentaje, lo cual se calculó mediante la siguiente ecuación de prevalencia de la enfermedad.

$$\text{Prevalencia} = \frac{\text{Número de casos}}{\text{Población total}}$$

De las cabras diagnosticadas con mastitis, se recolectaron 30 mL de leche en tubos de plástico estériles, los cuales se identificaron y transportaron refrigerados (4 °C) al laboratorio de Biología molecular de la Licenciatura en Genómica Alimentaria de la Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo para su procesamiento.

2.2 Aislamiento bacteriano

Para aislar las bacterias asociadas a la mastitis caprina, se prepararon cajas Petri de 100 mm con agar nutritivo (pH 6.8 ± 0.2). Posteriormente, la leche obtenida del muestreo en campo se homogeneizó por agitación durante 5 s y se depositaron 100 µL de leche sobre las cajas con agar nutritivo para distribuir la muestra mediante la técnica de barrido en placa, con ayuda de un asa de vidrio acodada. A continuación, las muestras se incubaron a 37 °C durante 24 h. Después de observar el crecimiento de las Unidades Formadoras de Colonias (UFCs), los aislados se purificaron mediante subcultivo en agar nutritivo, considerando sus características macroscópicas, tales como tamaño, forma, color, margen, elevación y textura [20]. Finalmente, a los aislados purificados se les

realizó la tinción de Gram para continuar con los siguientes ensayos únicamente con las bacterias Gram-positivas [21].

2.3 Perfiles de resistencia a los antibióticos

La determinación de la resistencia-susceptibilidad a los antibióticos se llevó a cabo siguiendo criterios establecidos, mediante el método de difusión en disco [22]. Previamente, los aislados Gram positivos se sembraron en caldo Mueller-Hilton (MH) a 37 °C, con agitación constante a 180 rpm, durante 24 h. Posteriormente, la densidad óptica se ajustó a 0,1 con ayuda de un espectrofotómetro con filtro de 600 nm (MultiScan, Thermo Fisher®). Despues, se inocularon 100 µL de los aislados en cajas Petri con agar MH y se distribuyeron de manera uniforme. Enseguida, se colocaron los sensidiscos para bacterias Gram positivas (MULTIBAC I.D.®) que contenían los siguientes antibióticos: Ampicilina 10 µg (AM), Cefalotina 30 µg (CF), Cefotaxima 30 µg (CFX), Dicloxacilina 1 µg (DC), Penicilina 10 U (P), Clindamicina 30 µg (CLM), Ciprofloxacino 5 µg (CPF), Eritromicina 15 µg (E), Gentamicina 10 µg (GE), Sulfametazol 25 µg (SXT), Tetraciclina 30 µg (TE) y Vancomicina 30 µg (VA). Finalmente, se dejaron incubar a 37 °C durante 24 h para medir los halos de inhibición con un vernier. Los datos se compararon con los parámetros de interpretación proporcionados en la ficha técnica de los sensidiscos, que incluían 12 antibióticos de distintas categorías. Las pruebas de difusión en disco se realizaron en tres experimentos independientes, por triplicado, y los promedios de los halos de inhibición se utilizaron para interpretar el perfil de resistencia de cada aislado Gram positivo y para obtener evidencia de aquellos con el fenotipo RMA [9,22,23].

2.4 Identificación molecular

Se procedió a extraer el ADN genómico de las bacterias con mayor resistencia a los antibióticos (RMA) mediante el método de fenol-cloroformo [24]. Posteriormente, el material genético se purificó con perlas magnéticas según las instrucciones del proveedor (Beckman Coulter®). Las reacciones de PCR se realizaron con el kit GoTaq PCR Master Mix (PROMEGA®). Se utilizaron los oligonucleótidos específicos para el gen 16s rRNA, UBF (directo: 5'AGAGTTTGATCCTGGCTGAG 3') y 1492 (Reverso: 5'GGTTACCTGTTACGACCTT 3') [25]. Por ultimo, se determinaron la concentración, la pureza y la calidad (a 260/280 y 260/230 nm) de los amplicones mediante un

espectrofotómetro (Varioskan Flash, Thermo Scientific®). Los amplicones se enviaron a secuenciar al LANGEBIO (CINVESTAV-IRAPUATO), según las instrucciones del prestador de servicios. Para el procesamiento de los datos, se utilizó el programa MEGA V7 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Version 7), en el que se limpiaron las lecturas y se generaron las secuencias consenso para alinearlas mediante la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del NCBI (National Center for Biotechnology Information). Ademas, se elaboró un árbol filogenético con ayuda de MEGA V7. La historia evolutiva se infirió mediante el método de máxima verosimilitud basado en el modelo Tamura-Nei, con 1000 iteraciones de *bootstrap* [26,27]. El análisis incluyó dos secuencias de nucleótidos reportadas en el GenBank del NCBI de *S. aureus* (NC_007795.1 y NR_118997.2), una de *S. caprae* (NZ_AP018587.1), una de *S. epidermidis* (NR_036904.1), tres de *S. equorum* (MT409914.1, NR_027520.1 y NZ_CP066013.1), una de *S. saprophyticus* (NR_074999.2), y tres de *S. xylosus* (MH985213.1, MT353655.1 y NR_036907.1). Adicionalmente, se utilizó una secuencia reportada de *Salmonella enterica* (NR_041696.1), como grupo externo.

3. Resultados y Discusión

3.1 Prevalencia de mastitis y aislamiento de agentes causales

La prevalencia de mastitis caprina en el hato fue del 42 % (Figura 1A). Este indicador suele ser variable y podría deberse a distintos factores, como las prácticas pecuarias, en particular durante el ordeño, y la genética. Inclusive, la temporada del año influye en la prevalencia de la enfermedad, ya que en época de lluvias las condiciones sanitarias de los hatos empeoran debido a la acumulación de estiércol, humedad y altas temperaturas, lo que favorece el crecimiento de microorganismos [28].

De los 24 animales con mastitis se obtuvieron los aislados bacterianos, que se purificaron según las características macroscópicas de las colonias [20]. Se obtuvieron 50 aislados, a los cuales se les realizó la tinción de Gram; de ellos, 37 resultaron Gram positivos y 13 Gram negativos (Figura 1B). El tipo de mastitis (clínica o subclínica) suele estar directamente relacionado con la predominancia de grupos bacterianos, ya que la mastitis subclínica está más asociada a patógenos Gram positivos como *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp. y, por el contrario, en casos de mastitis clínica se han identificado, mayoritariamente, bacterias Gram

negativas como *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. [29]. En el presente estudio, identificamos que de las 24 cabras con mastitis, solo cuatro se consideraron mastitis clínica; el resto (20) presentó mastitis subclínica. Además, de los casos de mastitis clínica, fue de ahí de donde se aislaron los 13 aislados Gram negativos y 5 Gram positivos; el resto (32 Gram positivos) provenía de casos subclínicos. Lo anterior refuerza lo reportado en la literatura, donde se describe que la mayor frecuencia de bacterias Gram positivas se observa en casos subclínicos [29, 30].

Además, el tipo de ordeña también influye en la contaminación de la glándula mamaria caprina por ciertos microorganismos, ya que la ordeña manual puede predisponer a la contaminación por coliformes o por ciertos *Staphylococcus* comensales presentes en las manos del ordeñador. Por otra parte, en sistemas de ordeño automatizados se han identificado géneros como *Staphylococcus* en las pezoneras de los equipos [30]. Incluso bacterias del género *Staphylococcus*, habitantes habituales de las mucosas orales de los animales, pueden llegar al canal del pezón y provocar procesos infecciosos [31].

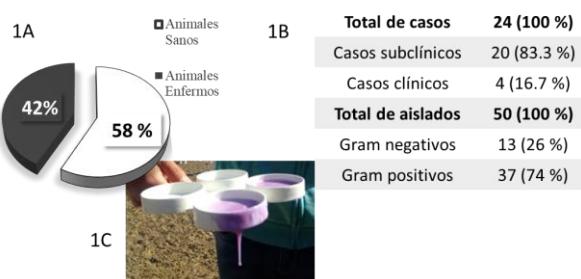


Figura 1. Muestreo y obtención de aislados bacterianos. En 1A se observa una prevalencia de mastitis caprina del 50% en los 50 animales muestreados. En 1B se concentra el total de casos de mastitis caprina y los aislados recuperados de las muestras de leche positivas a la prueba de California. La figura 1C muestra una imagen representativa de una muestra positiva para mastitis caprina.

3.2 Perfiles de resistencia a los antibióticos

Dada la alta frecuencia de aislados Gram positivos, se decidió continuar únicamente con el estudio de estos. Para determinar la susceptibilidad o resistencia de los aislados a determinados antibióticos, se realizaron pruebas mediante antibiogramas. En la tabla 1 se muestran los perfiles de resistencia de cada uno de los aislados Gram positivos, interpretados de acuerdo con las indicaciones del proveedor de los sensidiscos

(MULTIBAC I.D); además, se muestran las frecuencias de resistencia a cada antibiótico evaluado. Al respecto, se identificaron 19 de las 37 bacterias como RMA (Tabla 1), de acuerdo con los criterios establecidos anteriormente [22,32], quienes establecen que los microorganismos no susceptibles (resistentes) a al menos un antibiótico de tres o más categorías se consideran RMA.

La RMA bacteriana está asociada con una alta morbilidad y mortalidad en la medicina humana y veterinaria. Aunado a esto, los factores de virulencia favorecen la formación de biopelícula, lo cual está asociado con una mayor invasión y colonización de los tejidos. La regulación génica es determinante en los mecanismos de resistencia y, recientemente, se sabe que la epigenética desempeña un papel crucial en el encendido y el apagado de genes asociados a este proceso, por lo cual cada vez es más común encontrar poblaciones bacterianas con el fenotipo RMA [33]. Los datos revelados en el presente estudio muestran un alto porcentaje de bacterias RMA (51,35 %) (Tabla 1), lo cual está muy por encima de otros reportes en ganado bovino y caprino, que van del 2,4 al 24 % de bacterias catalogadas como RMA, provenientes de casos de mastitis [34,35]. El elevado número de aislados RMA evidencia el abuso y el uso indebido de antibióticos, lo que representa una amenaza para la salud pública y animal, debido a la posibilidad de que estas bacterias puedan transferir genes de resistencia a otras bacterias asociadas a enfermedades más graves en animales y humanos. Además, la propagación a otras zonas pecuarias o poblaciones rurales a través del consumo de leche contaminada con bacterias RMA representa otro desafío sanitario para el control de la diseminación de dichos microorganismos [36].

Por otra parte, se observó resistencia a la penicilina en el 100 % de los aislados, seguida de un 78,4 % para la cefalotina y de un 75,7 % para la clindamicina y la dicloxacilina (para ambos). Por el contrario, solo el 8.1 % de los aislados mostró resistencia a tetraciclina y sulfametazol (Tabla 1). Lo anterior indica que las bacterias asociadas a mastitis caprina presentan perfiles diferenciales de resistencia a los antibióticos; sin embargo, existe una correlación entre la resistencia y los antibióticos más empleados en el manejo de dicha enfermedad, apuntando a que, las terapias antimicrobiana empleadas han sido deficientes o mal empleadas, lo cual propicia el fracaso terapéutico, teniendo como consecuencia el aumento de los costos de producción y el incremento en la mortalidad del rebaño [10].

3.3 Identificación molecular de bacterias RMA

Para la identificación parcial, se seleccionaron los tres aislados considerados RMA y que, en términos cuantitativos, presentaron una mayor resistencia a los antibióticos. Las secuencias obtenidas se subieron a la base de datos de GenBank con los siguientes números de acceso: PP525158.1 (ACC+17), PP525159.1 (ACC+18) y PP525160.1 (ACC+20). En la figura 2 se muestra el árbol filogenético de las secuencias obtenidas y su parentesco con algunas especies de *Staphylococcus* (*S. xylosus* para ACC+20 y *S. equorum* para ACC+17 y ACC+18). Los resultados de la identificación molecular coinciden con los reportes sobre mastitis caprina, que, en su mayoría, establecen que *Staphylococcus* spp. es el grupo de bacterias Gram positivas que con mayor frecuencia se asocia con casos de mastitis subclínica [37,38].

Staphylococcus spp. tiene la capacidad de causar enfermedades en humanos y animales y se ha vuelto un patógeno exitoso al colonizar, invadir e invadir la respuesta inmune del hospedero [39]. Adicionalmente, los crecientes reportes de *Staphylococcus* spp. RMA en casos de mastitis, sugieren una alarma en los servicios de salud pública, puesto que el problema de la resistencia a los antibióticos se ha considerado un tema de interés mundial por las perspectivas a futuro, que posicionan a las enfermedades bacterianas de tipo RMA, como la principal causa de muerte para el 2050, además de la complejidad que tendrá encontrar terapias antimicrobianas eficientes [40]. Al respecto, se han descrito cepas de *Staphylococcus* spp. RMA en casos de mastitis caprina en diversas partes del mundo [41,42,43]; sin embargo, en la región de estudio no se han reportado aislados de mastitis caprina con el fenotipo RMA.

Diversas especies de *Staphylococcus* han sido reportadas como agentes causales de mastitis caprina [30,44,45]. Sin embargo, *S. aureus* es el principal *Staphylococcus* asociado a la mastitis caprina. Especies de *Staphylococcus*, como *S. equorum*, forman parte de la microbiota de la piel de las cabras, junto con *S. xylosus* y *S. succinus*. Algunos reportes muestran que estas bacterias comensales presentan perfiles de resistencia a antibióticos betalactámicos (penicilinas y cefalosporinas) y pueden ser acarreadas a la glándula mamaria por malas prácticas de higiene del ordeñador, así como por el comportamiento habitual de las cabras [31,46,47,48].

Los primeros reportes de *Staphylococcus* spp. en cabras resistentes a antibióticos de uso rutinario en la medicina veterinaria datan de 2006; sin embargo, no

fue hasta 2008 cuando se registró la presencia de cepas RMA en caprinos [49]. La resistencia a los antibióticos ha ido en aumento; no obstante, en México no existen suficientes reportes sobre bacterias asociadas a mastitis caprina y su resistencia a los antibióticos, siendo este un tema de interés común por la posibilidad de la transferencia zoonótica de RMA, la cual ha sido demostrada en bacterias residentes en equinos y bovinos, por ejemplo [50,51]. Finalmente, es necesario robustecer esta investigación para conocer en detalle los mecanismos de resistencia a los antibióticos de los *Staphylococcus* spp. RMA han estado generando y desarrollando estrategias de identificación oportuna para implementar tratamientos adecuados y eficientes para el control de la mastitis caprina y la contención de la dispersión de cepas RMA. Finalmente, también es necesario realizar caracterizaciones moleculares más robustas que evidencien el genotipo de las RMA, con el fin de identificar los genes de resistencia contenidos en los plásmidos y sus mecanismos de diseminación. Lo anterior contribuiría a comprender cómo estas bacterias están dispersando su material genético e identificar puntos clave en el enfoque de One Health de la Organización Mundial de la Salud, que correlaciona la salud ambiental, humana y animal [52].

Tabla 1. Perfiles de resistencia a antibióticos de los aislados Gram positivos.

Código del aislado	Antibióticos a los que son resistentes								hma	Frecuencia de resistencia total			
ACC+20 (Subclínica)	¹ AM	¹ DC	¹ P	¹ CF	¹ CFX	² CLM	⁴ E	⁵ GE	⁶ SXT	⁷ TE	⁸ VA	+	P: 100 %
ACC+17 (Subclínica)	¹ AM	¹ DC	¹ P	¹ CF	¹ CFX	² CLM	³ CPF	⁴ E	⁶ SXT	⁸ VA		+	
ACC+18 (Subclínica)	¹ AM	¹ DC	¹ P	¹ CF	¹ CFX	² CLM	⁴ E	⁵ GE	⁷ TE	⁸ VA		+	
ACC+4 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	¹ CFX	² CLM	³ CPF	⁴ E	⁸ VA				CF: 78.4 %	
ACC+11 (Clínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	¹ CFX	² CLM	⁴ E	⁵ GE	⁸ VA				CLM: 75.7 %	
ACC+29 (Subclínica)	¹ AM	¹ DC	¹ P	¹ CF	¹ CFX	² CLM	⁴ E						
ACC+7 (Subclínica)	¹ AM	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM	³ CPF	⁸ VA					DC: 75.7 %	
ACC+8 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	¹ CFX	² CLM	⁵ GE	⁸ VA						
ACC+9 (Subclínica)	¹ AM	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM	⁸ VA						AM: 40.5 %	
ACC+10 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM	⁵ GE	⁸ VA							
ACC+5 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM	³ CPF	⁸ VA						E: 37.8 %	
ACC+22 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM	⁴ E	⁷ TE							
ACC+30 (Subclínica)	¹ AM	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM							- VA: 32.4 %	
ACC+14 (Clínica)	¹ P	¹ CF	² CLM	⁴ E	⁸ VA							+	
ACC+15 (Clínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	¹ CFX	⁸ VA							-	
ACC+16 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM	⁶ SXT							CFX: 24.3 %	
ACC+1 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM	⁴ E							+	
ACC+3 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM	⁴ E							GE: 13.5 %	
ACC+19 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM	⁴ E							+	
ACC+2 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM	⁴ E							CPF: 10.8 %	
ACC+21 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM	⁴ E							+	
ACC+12 (Clínica)	¹ AM	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM							- SXT: 8.1 %	
ACC+23 a ACC+27 (Subclínicas)	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM								- TE: 8.1 %	
ACC+28 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	⁴ E								-	
ACC+6 (Subclínica)	¹ DC	¹ P	¹ CF	² CLM								-	
ACC+13 (Clínica)	¹ P	¹ CFX	² CLM									-	
ACC+31 a ACC+37 (Subclínicas)	¹ AM	¹ P	⁴ E									-	

Los aislados se clasificaron con las siglas ACC (Asilado-Cumiatiillo-Cabras), seguidas del signo "+" (Gram positivas) y de un número (del 1 al 37). Además, se indicó el tipo de mastitis al que se le asocia: clínica o subclínica. Los antibióticos evaluados fueron betalactámicos: ampicilina (AM), cefalotina (CF), cefotaxima (CFX), dicloxacilina (DC) y penicilina (P). Lincosánidos: clindamicina (CLM). Fluoroquinolonas: Ciprofloxacino (CPF). Macrólidos: Eritromicina (E). Aminoglucósidos: gentamicina (GE). Sulfonamidas: sulfametazol (SXT). Tetraciclinas: tetraciclina (TE). Glicopéptidos: Vancomicina (VA) (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2024). La consideración como RMA se realizó conforme a los criterios de Rafailidis & Kofteridis (2022). La frecuencia de resistencia se basa en el total de aislados Gram positivos obtenidos (37).

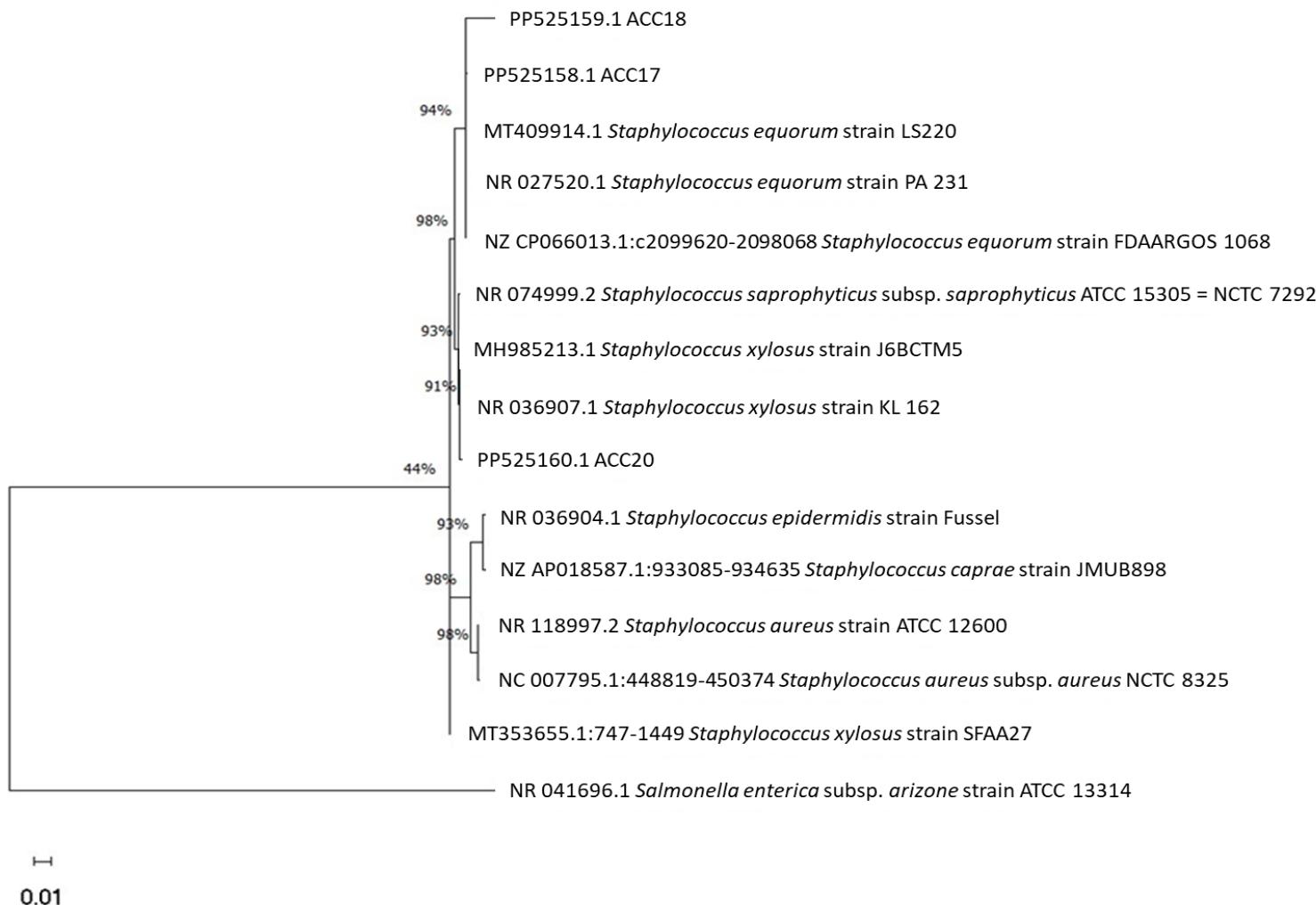


Figura 3. Árbol filogenético de las bacterias RMA's. Se muestra el parentesco de los tres aislados RMA con mayor resistencia a los antibióticos evaluados en el presente estudio (códigos de GenBank y de los aislados: PP525159.1 ACC18, PP525158.7 ACC17 y PP525160 ACC20). El control externo corresponde a una cepa de *Salmonella enterica* (NR 041696.1). "cut-off value" de 90 %.

5. Conclusiones

Este es el primer reporte de *Staphylococcus* spp. RMA, asociados a mastitis caprina en la región Ciénega de Chapala, Michoacán, México. La alta prevalencia de mastitis caprina en la zona de estudio puede estar relacionada con la multirresistencia observada en los aislados bacterianos, siendo la penicilina el antibiótico con 100 % de resistencia, lo que evidencia la ineficiencia del diagnóstico y el mal manejo farmacológico. Sin embargo, los aislados mostraron sensibilidad a antibióticos como la tetraciclina y el sulfametazol, lo que representa una ventana de oportunidad para el manejo adecuado de la enfermedad. Finalmente, las bacterias RMA representan un desafío de salud pública, ya que limitan las opciones de tratamiento disponibles, lo que aumenta la morbilidad, la mortalidad y los costos asociados al padecimiento. Por ello, es necesario robustecer estas investigaciones para implementar programas de identificación oportuna y de control de la enfermedad.

Agradecimientos

Se reconoce el apoyo financiero otorgado por la Universidad de La Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo (Convocatoria 2019 de proyectos de investigación con impacto regional, proyecto “Bacterias Asociadas a Mastitis Caprina en la Ciénega de Chapala y sus Repercusiones en la Calidad de la Leche”).

Se agradece al Módulo 3 del Centro Multidisciplinario de Estudios en Biotecnología, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, por las facilidades para el uso del espectrofotómetro Varioskan Flash de Thermo Scientific (Dra. Alejandra Ochoa Zarzosa, Dr. Joel Edmundo López Meza y Dra. Marisol Báez Magaña).

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existe ningún conflicto de interés respecto de la presente investigación, la autoría y/o la publicación de este artículo.

Referencias

- 1.- Lu CD, Miller BA. Current status, challenges, and prospects for dairy goat production in the Americas. *Asian-Australasian Journal of Animal Science* 2019;32(8):1244-1255. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0256>
- 2.- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Avance de la producción pecuaria por estado. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. México. 2023.
- 3.- Tajonar K, López Díaz, CA, Sánchez Ibarra LE, Chay-Canul AJ, Gonzalez-Ronquillo M, Vargas-Bello-Pérez E. A brief update on the challenges and prospects for goat production in Mexico. *Animal: An Open Access Journal from MDPI* 2022;12(7): 837. <https://doi.org/10.3390/ani12070837>
- 4.- Medina-Estrada I, Alva-Murillo N, López-Meza JE, Ochoa-Zarzosa A. Immunomodulatory effects of 17 β -Estradiol on epithelial cells during bacterial infections. *Journal of Immunology Research* 2018;2018:6098961. <https://doi.org/10.1155/2018/6098961>
- 5.- León-Galván MAF, Barboza-Corona JE, Lechuga-Arana AA, Valencia-Pasadas M, Aguayo DD, Cedillo-Peláez C, Martínez-Ortega EA, Gutiérrez-Chávez AJ. Molecular detection and sensitivity to antibiotics and bacteriocins of pathogens isolated from bovine mastitis in family dairy herds of Central Mexico. *BioMed Research International* 2015;2015:615153. <https://doi.org/10.1155/2015/615153>
- 6.- Praja RN, Yudhana A, Saputro AL, Hamonangan JM. The first study on antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw goat milk associated with subclinical mastitis in Siliragung Subdistrict, East Java, Indonesia. *Veterinary World* 2023;16(4):786-791. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2023.786-791>
- 7.- Michael CK, Lianou DT, Vasileiou NGC, Mavrogianni VS, Petinaki E, Fthenakis GC. Longitudinal study of subclinical mastitis in sheep in Greece: An investigation into incidence risk, associations with milk quality and risk factors of the infection. *Animal: An Open Access Journal from MDPI* 2023;13(20):3295. <https://doi.org/10.3390/ani13203295>
- 8.- McEwen SA, Collignon PJ. Antimicrobial resistance: A one health perspective. *Microbiology Spectrum* 2018;6(2). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.ARBA-0009-2017>
- 9.- Camacho-Silvas LA, Portillo-Gallo JH, Rivera-Cisneros AE, Sánchez-González JM, Franco-Santillán R, Duque-Rodríguez J, Velo-Méndez G, Ishida-Gutiérrez C. Multidrug, extended and pan-resistance to antimicrobials at the North of México. *Cirugía y Cirujanos* 2021;89(4): 426-434. <https://doi.org/10.24875/CIRU.20000304>
- 10.- Andrade NC, Laranjo M, Costa MM, Queiroga MC. Virulence factors in *Staphylococcus* associated with small ruminant mastitis: biofilm production and antimicrobial resistance genes. *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 2021;10(6):633. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060633>
- 11.- Polveiro RC, Granja MMC, Roldão TCB, Da Silva Lopes I, Vidigal PMP, Lima MC, Moreira MAS. Multilocus sequence analysis reveals genetic diversity in *Staphylococcus aureus* isolate of goat with mastitis persistent after treatment with Enrofloxacin. *Scientific Reports* 2021;11(1):17252. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-96764-z>
- 12.- Suwito W, Nugroho WS, Adji RS, Andriani A, Kusumaningtyas E, Martini T. Phenotypic characteristic of *Staphylococcus aureus* from subclinical mastitis in Etawah-crossbreed goats in Yogyakarta, Indonesia. *Veterinary World* 2022;15(11): 2587-2592. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2022.2587-2592>
- 13.- Alós JI. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2015;33(10):692-699. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2014.10.004>
- 14.- Lima MC, de Barros M, Scatamburlo TM, Polveiro RC, de Castro LK, Guimarães SHS, da Costa SL, da Costa MM, Moreira MAS. Profiles of *Staphylococcus aureus* isolated from goat persistent mastitis before and after treatment with Enrofloxacin. *BMC Microbiology*, 2020;20(1):127. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01793-9>
- 15.- Javed MU, Ijaz M, Durrani AZ, Ali MM. On-farm epidemiology, virulence profiling, and molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at goat farms. *Microbial Pathogenesis* 2023;185:106456. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2023.106456>
- 16.- De Vliegher S, Fox LK, Piepers S, McDougall S, Barkema HW. Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *Journal of Dairy Science* 2021; 95(3):1025-1040. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-4074>

- 17.- Novac CS, Andrei S. The impact of mastitis on the biochemical parameters, oxidative and nitrosative stress markers in goat's milk: A review. *Pathogens* (Basel, Switzerland) 2020;9(11):882. <https://doi.org/10.3390/pathogens9110882>
- 18.- Menzies P. Udder health for dairy goats. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 2021;37(1):149–174. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2020.12.002>
- 19.- INEGI. Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Panorama Sociodemográfico de México 2020. México 2020.
- 20.- Rivas-Zuñiga SC, Giraldo-Aristizábal CI. Manual práctico de microbiología básica 1^a ed. Editorial Universidad del Cauca. Colombia. 2021;15-57.
- 21.- Casasola-Bado MJ. Importance of a correct Gram stain in identifying bacteria. *RCMQCCR* 2022;27(2):89-98.
- 22.- Humphries RM, Ambler J, Mitchell SL, Castanheira M, Dingle T, Hindler JA, Koeth L, Sei K, CLSI Methods Development and Standardization Working Group of the Subcommittee on Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI methods development and standardization working group best practices for evaluation of antimicrobial susceptibility tests. *Journal of Clinical Microbiology* 2018;56(4):e01934-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.01934-17>
- 23.- The European Committee On Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, 2024.
- 24.- Javadi A, Shamaei M, Mohammadi Ziazi L, Pourabdollah M, Dorudinia A, Seyedmehdi SM, Karimi S. Qualification study of two genomic DNA extraction methods in different clinical samples. *Tanaffos* 2014;13(4):41–47.
- 25.- Frutis-Murillo M, Sandoval-Carrillo MA, Alva-Murillo N, Ochoa-Zarzosa A, López-Meza JE. Immunomodulatory molecules regulate adhesin gene expression in *Staphylococcus aureus*: Effect on bacterial internalization into bovine mammary epithelial cells. *Microbial Pathogenesis* 2019;131:15-21. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.03.030>
- 26.- Tamura K, Stecher G, Kumar S. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. *Molecular Biology and Evolution* 2021;38(7): 3022-3027. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
- 27.- Robles-Yerena L, Rodríguez-Mendoza J, Santoyo G, Ochoa-Alvarado XI, Medina-Estrada RI, Jiménez-Mejía R, Loeza-Lara PD. Phylogenetic identification of fungi isolated from strawberry and papaya fruits and their susceptibility to fatty acids. *Canadian Journal of Plant Pathology* 2022;44(6):828–835. <https://doi.org/10.1080/07060661.2022.2084457>
- 28.- Arteche-Villasol N, Fernández M, Gutiérrez-Expósito D, Pérez V. Pathology of the mammary gland in sheep and goats. *Journal of Comparative Pathology* 2022;193: 37–49. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2022.02.007>
- 29.- Abdalhamed AM, Zeidan GSG, Zeina HAAA. Isolation and identification of bacteria causing mastitis in small ruminants and their susceptibility to antibiotics, honey, essential oils, and plant extracts. *Veterinary World* 2018;11(3):355–362. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2018.355-362>
- 30.- Michael CK, Lianou DT, Vasileiou NGC, Tsilipounidaki K, Katsafadou AI, Politis AP, Kordalos NG, Ioannidi KS, Gougioulis DA, Trikalinou C, Orfanou DC, Frangou IA, Kontou PI, Liagka DV, Mavrogianni VS, Petinaki E, Fthenakis GC. Association of Staphylococcal populations on teatcups of milking parlours with vaccination against Staphylococcal mastitis in sheep and goat farms. *Pathogens* (Basel, Switzerland) 2021;10(4):385. <https://doi.org/10.3390/ani13203295>
- 31.- Exel CE, Geus Y, Spaninks M, Koop G, Benedictus L. Colonization of extramammary sites with mastitis-associated *S. aureus* strains in dairy goats. *Pathogens* (Basel, Switzerland) 2023;12(4):515. <https://doi.org/10.3390/pathogens12040515>
- 32.- Rafaيلidis PI, Kofteridis D. Proposed amendments regarding the definitions of multidrug-resistant and extensively drug-resistant bacteria. *Expert Review of Anti Infective Therapy* 2022;20(2):139–146. <https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1945922>
- 33.- Bar-Gal GK, Blum SE, Hadas L, Ehricht R, Monecke S, Leitner G. Host-specificity of *Staphylococcus aureus* causing intramammary infections in dairy animals assessed by genotyping and virulence genes. *Veterinary Microbiology* 2015;176(1-2):143–154. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.01.007>
- 34.- Boireau C, Cazeau G, Jarrige N, Calavas D, Madec JY, Leblond A, Haenni M, Gay É. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from mastitis in dairy cattle in France, 2006-2016. *Journal of Dairy Science* 2018;101(10):9451–9462. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-14835>
- 35.- Sharifi A, Sobhani K, Mahmoudi P. A systematic review and meta-analysis revealed a high-level antibiotic resistance of bovine mastitis *Staphylococcus aureus* in Iran. *Research in Veterinary Science* 2023;161: 23–30. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2023.05.016>
- 36.- Garcia-Bustos V, Cabañero-Navalón MD, Salavert Lletí M. Resistance to beta-lactams in Gram-negative bacilli: relevance and potential therapeutic alternatives. *Revista Española de Quimioterapia* 2022;Suppl 2(Suppl 2):1-15. <https://doi.org/10.37201/req/s02.01.2022>
- 37.- Gabli Z, Djerrou Z, Gabli AE, Bensalem M. Prevalence of mastitis in dairy goat farms in Eastern Algeria. *Veterinary World* 2019;12(10):1563–1572. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.1563-1572>
- 38.- Kotzamanidis C, Vafeas G, Giantzi V, Anastasiadou S, Mygdalias S, Malousi A, Loukia E, Daniel S, Zdragias A. *Staphylococcus aureus* isolated from ruminants with mastitis in Northern Greece dairy herds: Genetic relatedness and phenotypic and genotypic characterization. *Toxins* 2021;13(3):176. <https://doi.org/10.3390/toxins13030176>
- 39.- Medina-Estrada I, López-Meza JE, Ochoa-Zarzosa A. Non-classical effects of prolactin on the innate immune response of bovine mammary epithelial cells: Implication during *Staphylococcus aureus* internalization. *Microbial Pathogenesis* 2015;89:43-53. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2015.08.018>
- 40.- Tang KWK, Millar BC, Moore JE. Antimicrobial Resistance (AMR). *British Journal of Biomed Science* 2023;80: 11387. <https://doi.org/10.3389/bjbs.2023.11387>
- 41.- Bhattacharyya D, Banerjee J, Bandyopadhyay S, Mondal B, Nanda PK, Samanta I, Mahanti A, Das AK, Das G, Dandapat P, Bandyopadhyay S. First report on vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* in bovine and caprine milk. *Microbial Drug Resistance* (Larchmont, N.Y.) 2016;22(8):675–681. <https://doi.org/10.1089/mdr.2015.0330>
- 42.- Gutiérrez-Chávez JA, Martínez-Ortega EA, Valencia-Posadas M, León-Galván MF, de la Fuente-Salcido NM, Bideshi DK, Barboza-Corona JE. Potential use of *Bacillus thuringiensis* bacteriocins to control antibiotic-resistant bacteria associated with mastitis in dairy goats. *Folia Microbiologia* 2016;61(1):11-9. <https://doi.org/10.1007/s12223-015-0404-0>
- 43.- Liu X, Zuo J, Teng J, Yang L, Guo J, Liu L, Li P. Antibiofilm potential of luteolin against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from dairy goats and farm environments. *Environ Pollut* (Barking, Essex: 1987) 2023;335:122274. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122274>
- 44.- Danmallam FA, Pimenov NV. Study on prevalence, clinical presentation, and associated bacterial pathogens of goat mastitis in Bauchi, Plateau, and Edo states, Nigeria. *Veterinary World* 2019;12(5):638–645. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2019.638-645>
- 45.- Rosa NM, Penati M, Fusar-Poli S, Addis MF, Tola S. Species identification by MALDI-TOF MS and gap PCR-RFLP of non-aureus *Staphylococcus*, *Mammallicoccus*, and *Streptococcus* spp. associated with sheep and goat mastitis. *Veterinary Research* 2022;53(1):84. <https://doi.org/10.1186/s13567-022-01102-4>
- 46.- Bernier GV, Dufour S, Adkins PRF, Middleton JR. Persistence of coagulase negative Staphylococcal intramammary infections in dairy

goats. *Journal of Dairy Research* 2019;86(2):211–216.
<https://doi.org/10.1017/S0022029919000311>

47.- Abboud Z, Galuppo L, Tolone M, Vitale M, Puleio R, Osman M, Loria GR, Hamze M. Molecular characterization of antimicrobial resistance and virulence genes of bacterial pathogens from bovine and caprine mastitis in Northern Lebanon. *Microorganisms* 2021;9(6):1148.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9061148>

48.- Wesolowska M, Szczuka E. Occurrence and antimicrobial resistance among *Staphylococci* isolated from the skin microbiota of healthy goats and sheep. *Antibiotics (Basel, Switzerland)* 2023;12(11): 1594.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics12111594>

49.- Chu C, Yu C, Lee Y, Su Y. Genetically divergent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and sec-dependent mastitis of dairy goats in Taiwan. *BMC Veterinary Research* 2012;8:39.
<https://doi.org/10.1186/1746-6148-8-39>

50.- Álvarez-Narváez S, Huber L, Giguère S, Hart KA, Berghaus RD, Sanchez S, Cohen ND. Epidemiology and molecular basis of multidrug resistance in *Rhodococcus equi*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR* 2021;85(2):e00011-21.
<https://doi.org/10.1128/MMBR.00011-21>

51.- Nada HG, El-Tahan AS, El-Didamony G, Askora A. Detection of multidrug-resistant Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in some food products and cattle faeces in Al-Sharkia, Egypt: One health menace. *BMC Microbiology* 2023;23(1):127.
<https://doi.org/10.1186/s12866-023-02873-2>

52.- OMS. Organización Mundial de la Salud. One Health. Organización Mundial de la Salud. 2017. <https://www.who.int/news-room/questions-and-answers/item/one-health>