

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCABELICA

(Creada por Ley N° 25265)

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE ZOOTECNIA



TESIS

**SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIOTICA DE *Mannheimia*
haemolytica y *Pasteurella multocida* AISLADA DE CRÍAS
DE ALPACAS CON SIGNOS DE NEUMONÍA**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
SALUD ANIMAL**

**PRESENTADO POR:
Bach. GÓMEZ CCENTE, Alfredo
Bach. LÓPEZ GARCÍA, Miguel Ángel**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
INGENIERO ZOOTECNISTA**

**HUANCABELICA, PERÚ
2021**



UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAMELICA

FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERÍA



ACTA DE SUSTENTACIÓN VIRTUAL DE TESIS

En la ciudad de Huancavelica, a los veintiocho días (28) del mes de diciembre del año 2021, siendo las diez de la mañana (10:00 a.m.), se reunieron los miembros del Jurado Calificador conformado por los docentes: Dr. Manuel Castrejón Valdez (Presidente), Ing. Paul Herber Mayhua Mendoza (Secretario), Dr. Nicasio Valencia Mamani (Asesor), reestructurados con Resolución de Decano N° 197-2021-FCI-UNH, de fecha 13 de agosto del 2021, a fin de proceder con la sustentación y calificación virtual mediante el aplicativo MEET del informe final de tesis titulado: **"SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE *Mannheimia haemolytica* Y *Pasteurella multocida* AISLADA DE CRÍAS DE ALPACAS CON SIGNOS DE NEUMONÍA"**, presentado por los Bachilleres **Alfredo GOMEZ CCENTE y Miguel Angel LOPEZ GARCIA**, a fin de optar el **Título Profesional de Ingeniero Zootecnista**. Finalizada la sustentación virtual a horas **12:50 pm**; se comunicó a los sustentantes y al público en general que los Miembros del Jurado abandonará el aula virtual para deliberar el resultado:

Alfredo GOMEZ CCENTE

APROBADO ☒ POR: MAYORIA

DESAPROBADO ☐

Miguel Angel LOPEZ GARCIA

APROBADO ☒ POR: MAYORIA

DESAPROBADO ☐

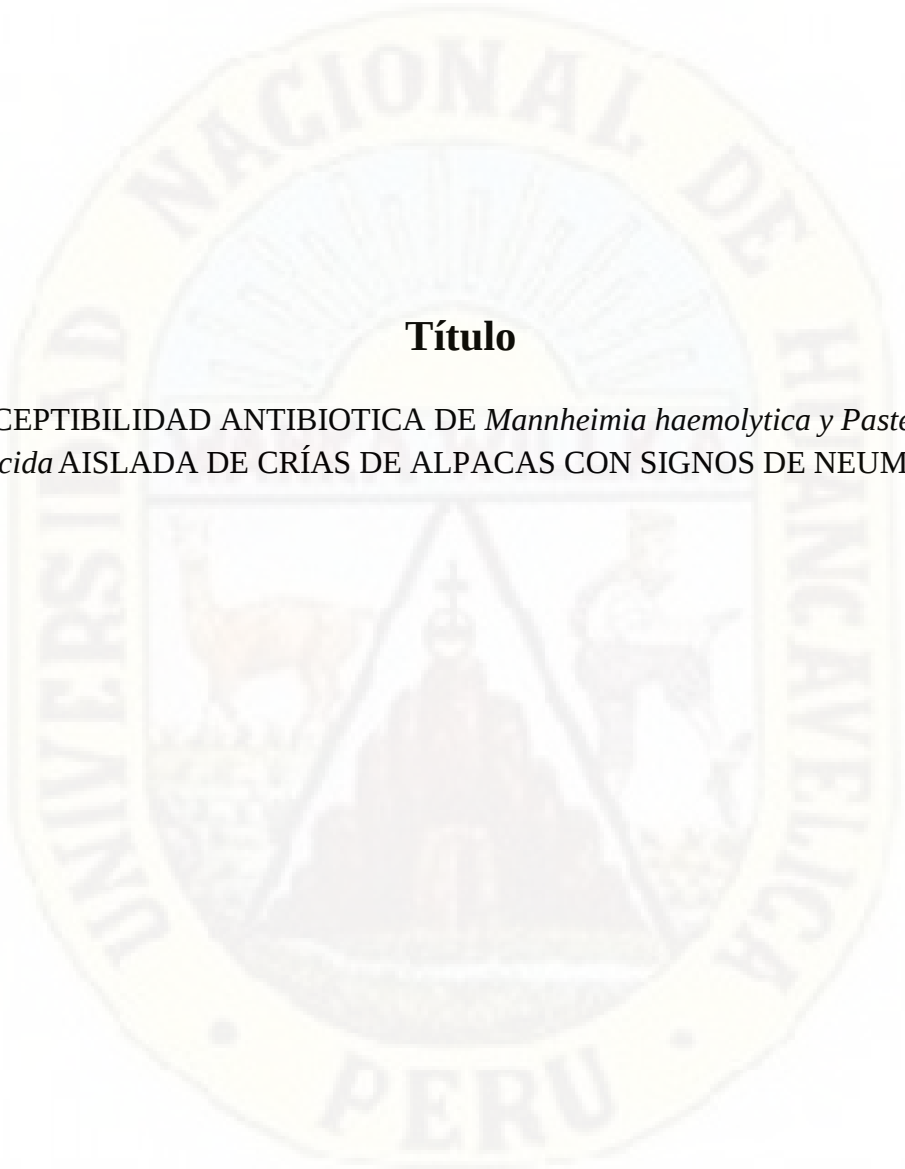
En señal de conformidad, firmamos a continuación:

Presidente

Secretario

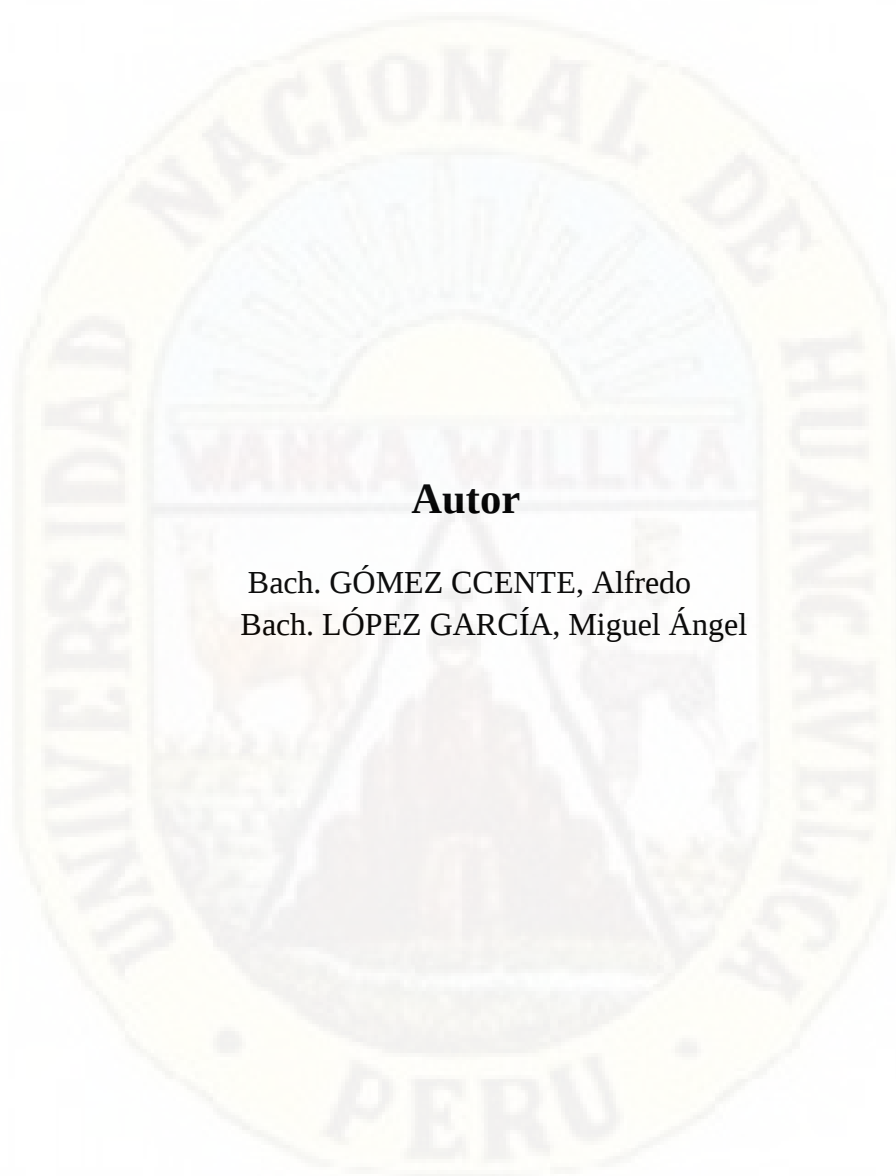
Asesor

Vº Bº Decano



Título

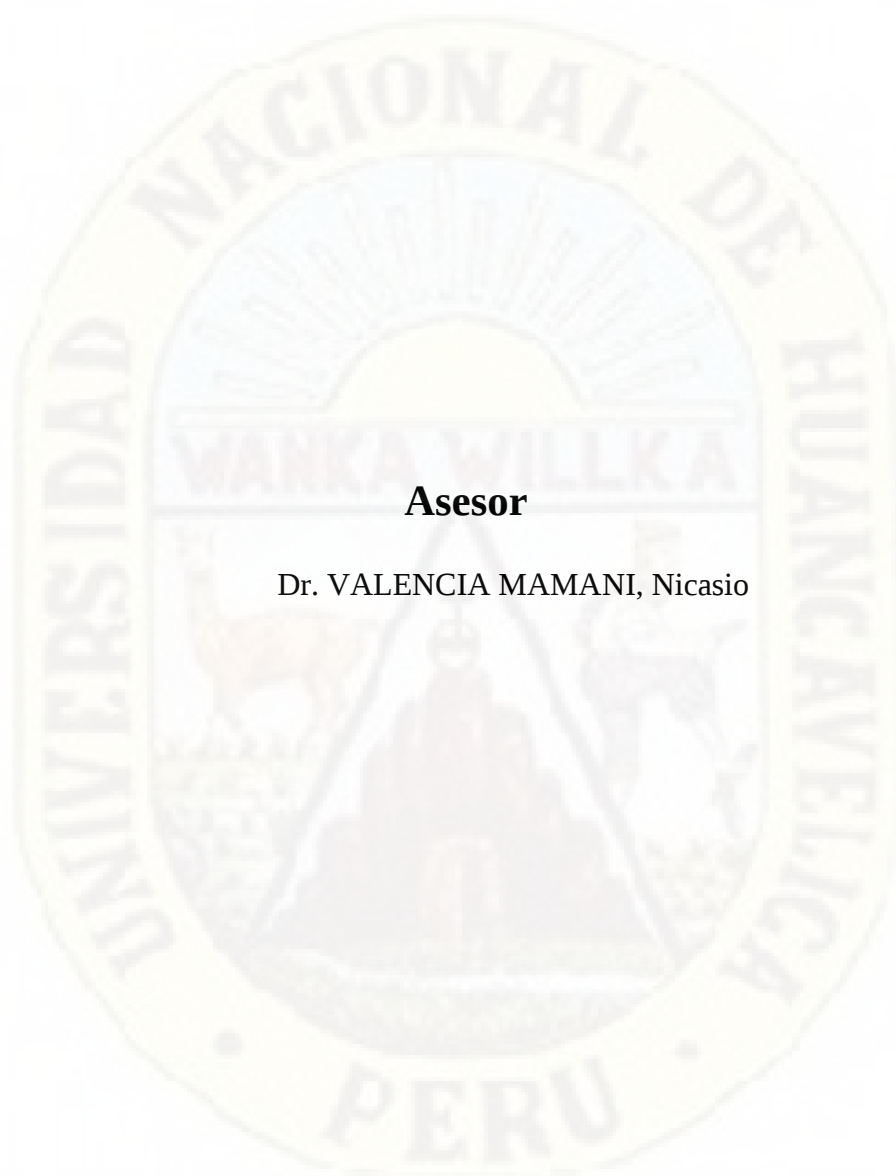
SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIOTICA DE *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* AISLADA DE CRÍAS DE ALPACAS CON SIGNOS DE NEUMONÍA.



Autor

Bach. GÓMEZ CCENTE, Alfredo

Bach. LÓPEZ GARCÍA, Miguel Ángel



Asesor

Dr. VALENCIA MAMANI, Nicasio

Dedicatoria

De: GÓMEZ CCENTE, Alfredo

A mi mamá y familiares, quien me brindó su apoyo en incondicional en mi vida, y nunca dejo de confiar en mi persona para lograr mi objetivo profesional.

De: LÓPEZ GARCÍA, Miguel Ángel

En manera especial al señor, por estar conmigo siempre, por darme salud y sabiduría para culminar mis metas. A mi madre y mis tíos por su apoyo incondicional para lograr mis objetivos.

Agradecimiento

Agradecer nuestro asesor Dr. Nicasio Valencia Mamani, quien se ha dignado en guiarnos el desarrollo de la investigación que emprendimos en la tesis.

Al Centro de Investigación Científica Multidisciplinario de Ingeniería de la Universidad Nacional de Huancavelica, por bríndanos su apoyo y conocimientos prácticos de laboratorio de Microbiología para lograr los objetivos de la investigación emprendida.

Al personal administrativo del Laboratorio de Salud Animal- Área de Microbiología de la Universidad Nacional de Huancavelica por las facilidades brindadas en el desarrollo de la investigación.

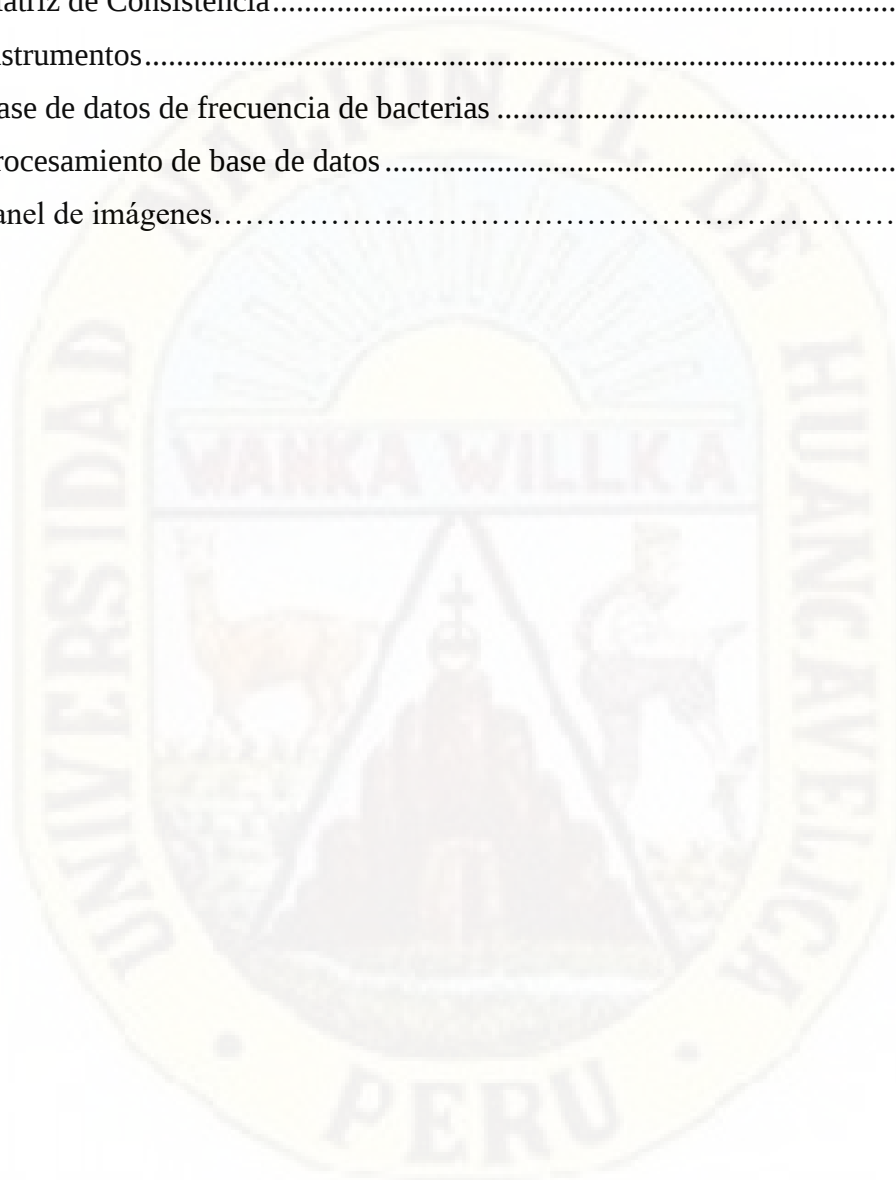
A los productores de alpacas de las comunidades de Tansiri, Alto Andino, Pucapampa y Santa Rosa de Pachaclla. por darnos todas las condiciones y facilidades para realizar la recolección de muestras para lograr los objetivos de la tesis.

Tabla de Contenido

Portada	i
Acta de sustentacion.....	ii
Título.....	iii
Autor	iv
Asesor.....	v
Dedicatoria	vi
Agradecimiento	vii
Tabla de contenido	viii
Índice de Tablas	xi
Índice de acrónimos	xii
Resumen.....	xiii
Abstract	xiv
Introducción	xv
CAPÍTULO I.....	17
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.1. Descripción del problema	17
1.2. Formulación del problema	20
1.3. Objetivos	20
1.3.1. Objetivo general.....	20
1.3.2. Objetivos específicos	21
1.4. Justificación.....	22
1.5. Limitaciones.....	23
CAPÍTULO II	24
MARCO TEÓRICO.....	24
2.1. Antecedentes	24
2.1.1. A nivel internacional.....	24
2.1.2. A nivel nacional	30
2.1.3. A nivel local.....	34
2.2. Bases teóricas	34
2.2.1. Susceptibilidad antibiotica	34

2.2.2. Resistencia antibiotica.....	34
2.3. Tratamiento y resistencia a los antibioticos	38
2.3.1. Generalidades de <i>Mannheimia Haemolytica</i>	39
2.3.2. Generalidades de <i>Pasteurella Multocida</i>	46
2.3.3. Complejo neumonico en alpacas	51
2.3.4. Factores predisponentes de patologias neumonicas en alpacas	53
2.3.5. Mecanismo de acción de los antibioticos.....	56
2.3.6. Mecanismo de resistencia antibiotica	59
2.4. Definición de términos.....	68
2.5. Identificación de variables	70
2.5.1. Definición operacional de la variable	71
CAPÍTULO III.....	72
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	72
3.1. Tipo de investigación.....	72
3.2. Nivel de investigación.....	72
3.3. Método de investigación	72
3.4. Diseño de investigación	72
3.5. Población, muestra y muestreo	73
3.5.1. Población.....	73
3.5.2. Muestra.....	73
3.5.3. Muestreo.....	73
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	74
3.6.1. Técnicas.....	74
3.6.2. Instrumentos.....	74
3.7. Procedimiento de recolección de datos.....	75
3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	77
3.8. Ambito de estudio	77
CAPÍTULO IV.....	78
RESULTADOS Y DISCUCIONES	78
4.1. Presentación de resultados	78
4.2. Discusión de resultados.....	82
Conclusiones	86

Recomendaciones.....	87
Referencias Bibliográficas	88
Apéndice	103
Matriz de Consistencia.....	104
Instrumentos.....	105
Base de datos de frecuencia de bacterias	107
Procesamiento de base de datos	111
Panel de imágenes.....	115



Índice de Tablas

Tabla 1 Separación fenotípica de especies y taxas del género <i>Mannheimia haemolytica</i>	40
Tabla 2 Frecuencia relativa (%) de bacterias aisladas de procesos neumónicos en crías de alpaca	42
Tabla 3 Pruebas bioquímicas para la diferenciación bioquímica de las 4 subespecies de <i>Pasteurella multocida</i>	49
Tabla 4 Operacionalización de variables.	71
Tabla 5 Antibióticos a probar en la prueba de Kirby Bauer y puntos de corte considerados (CLSI, 2019)	77
Tabla 6 Prevalencia de <i>Mannheimia haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> en crías de alpacas con signos de neumonía (n =95).....	78
Tabla 7 Prevalencia de <i>Mannheimia haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> en crías de alpacas con signos de neumonía de acuerdo a la procedencia (n =95).	79
Tabla 8 Susceptibilidad antibiótica de cepas de <i>Mannheimia Heamolytica</i> (n= 50) y <i>Pasteurella Multocida</i> (n= 36) provenientes de crías de alpacas con casos de neumonías.....	81

Índice de acrónimos

OMS: World Health Organization

OIE: Organización Mundial de la Salud Animal

BLEE: Betalactamicos espectro extendido

CLSI: The Clinical & Laboratory Standards Institute

AmpC: Carbapenemasas

CIM: Concentración inhibitoria mínima

EMB: Eosina y azul de metileno

SS: Salmonella-Shigella

XHD: Xilosa lisina desoxicolato

BIH: Caldo de infusión cerebro corazón

TSI: Agar Hierro tres azúcares

LIA: Medio de Lisina y hierro Lisina

H₂S: Citrato de Simmons

SIM: Sulfide Indole Motility

CDC: Centro de Control de Enfermedades

Resumen

El objetivo de la investigación fue evaluar la susceptibilidad antibiótica de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica. Se muestreo a 95 crías de alpacas de raza huacaya con signos de neumonía, crías menores de 60 días de nacidos, de 4 comunidades aledaños a la provincia de Huancavelica, las muestras fueron recolectadas por hisopados nasales en frascos estériles con buffer peptonada. Para obtener cepas de *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* fueron cultivadas en agar Colombia y BIH enriquecidas con sangre de alpaca desfibrinada e identificadas a través de caracterización morfológica, microscópica y pruebas bioquímicas. Para el estudio de sensibilidad antibiótica se realizó mediante el método de Kirby-Bauer, donde fueron cultivados en agar Müller Hilton enriquecidos con caldo BIH y probándose 6 antibióticos más usuales en la veterinaria. Los resultados evidencian donde se determinó alta prevalencia de cepas de *Mannheimia haemolytica* 53%, *Pasteurella multocida* 37%, asociados *Mannheimia haemolytica* - *Pasteurella multocida* 23%; resultando los antibióticos de Estreptomina, Levofloxacin, Ciprofloxacina y Amoxicillin-clavulanic acid con tendencias altas de susceptibilidad y resistencia antibiótica la Penicilina y Tetraciclina para ambas cepas de *Mannheimia Haemolytica* y *Pasteurella Multocida*. En conclusión, se reportan alta prevalencia de bacterias *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* en muestras de crías de alpacas con casos de neumonías y alta susceptibilidad antibiótica frente a los antibióticos más usuales de la veterinaria.

Palabras clave: neumonía, antibiótico, susceptibilidad, resistencia, alpaca.

Abstract

The objective of the research was to evaluate the antibiotic susceptibility of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from alpaca calves with signs of pneumonia in the communities of Huancavelica. We sampled 95 offspring of huacaya alpacas with signs of pneumonia, offspring less than 60 days old, from 4 communities near the province of Huancavelica, the samples were collected by nasal swabs in sterile bottles with pepton buffer. To obtain strains of *Pasteurella multocida*, *Mannheimia haemolytica* were cultured on Colombia agar and BIH enriched with defibrinated alpaca blood and identified through morphological and microscopic characterization and biochemical tests. For the antibiotic sensitivity study, the Kirby-Bauer method was used, where they were cultured on Müller Hilton agar enriched with BIH broth and 6 antibiotics most commonly used in veterinary medicine were tested. The results show a high prevalence of strains of *Mannheimia haemolytica* 53%, *Pasteurella multocida* 37%, associated *Mannheimia haemolytica* - *Pasteurella multocida* 23%; resulting the antibiotics Streptomycin, Levofloxacin, Ciprofloxacin and Amoxicillin-clavulanic acid with high susceptibility trends and antibiotic resistance to Penicillin and Tetracycline for both strains of *Mannheimia Haemolytica* and *Pasteurella Multocida*. In conclusion, we report high prevalence of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* bacteria in samples of alpacas with cases of pneumonia and high antibiotic susceptibility to the most common veterinary antibiotics.

Key words: *pneumonia, antibiotic, susceptibility, resistance, alpaca.*

Introducción

La crianza de alpaca en el Perú, es una actividad de importancia económica para los criadores comunales y empresas asociativas, sin embargo, la actividad es mermada por elevadas mortalidades de crías de alpacas, así como en las épocas de invierno y verano; resultando las patologías neumónicas bacterianas como segunda causa de mortalidad en crías de alpacas y siendo como agentes causales la *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica* dentro de la familia pasteurelas (Rosadio et al. 2011); (Guzmán 2011).

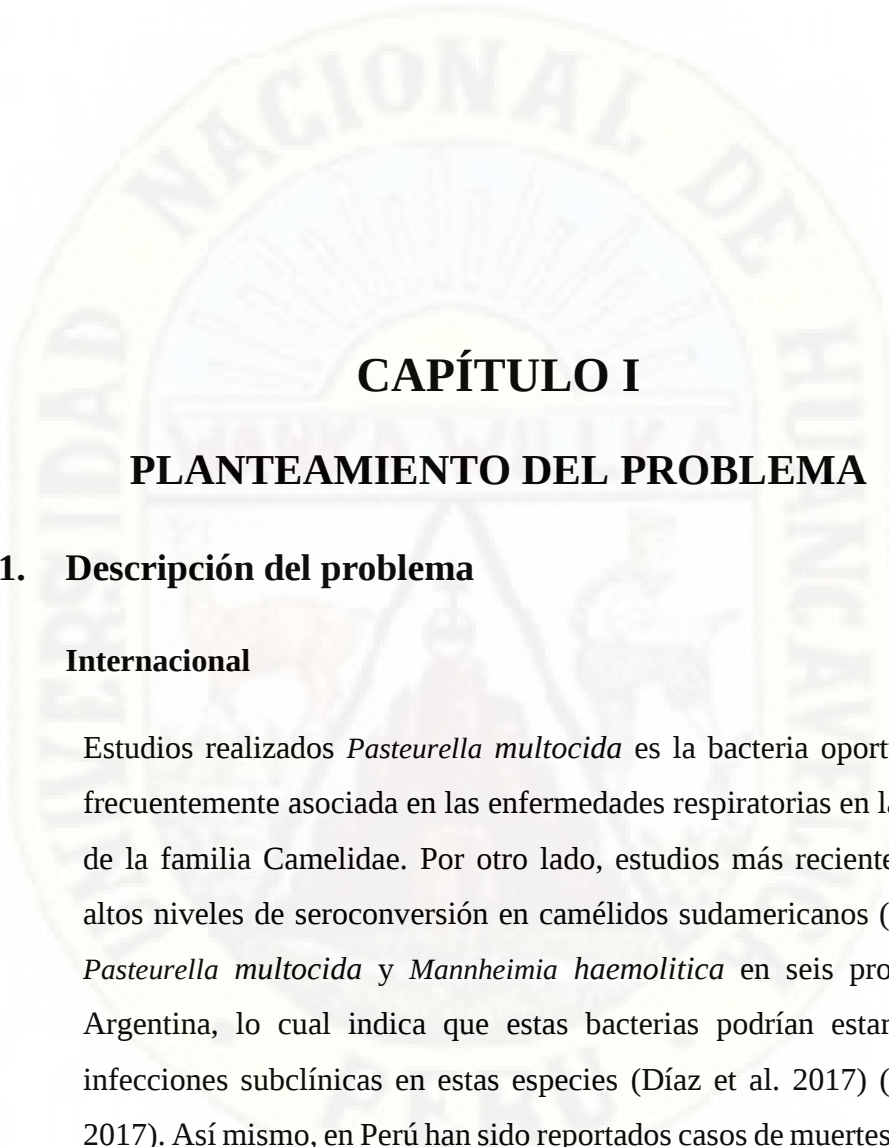
Por otro lado, los agentes patógenos de *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica* tienen una presentación en forma asociada a agentes virales, favorecidos por variaciones factores climatológicos y el estrés del animal Cirilo (2008); lo cual hace su complejidad de tratamientos terapéuticos, además existentes escasos estudios en esta patología con diagnósticos corroborados mediante laboratorio microbiológico y clínico (Rosadio et al. 2011)

Así mismo las tendencias altas de mortalidad, morbilidad de crías de alpacas estarían relacionados a que los productores no asumieran con responsabilidad de realizar los tratamientos oportunos y eficientes bajo estudios de laboratorio para lograr un diagnóstico definitivo (Carhuapoma et al. 2019), solo utilizan de forma tradicional e irresponsable de las diferentes agroveterinarias que tampoco no garantizan la calidad de los productos veterinarios y estos factores estarían como precursores de la resistencia a antibacterianos por las tendencias altas de mortalidades de neonatos de alpacas (Carhuapoma et al. 2020), donde en las alpacas existen escasos estudios y muy promisorios, por tanto no se cuenta con una base de datos actualizado y real sobre la susceptibilidad antibiótica referentes a *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica* en alpacas.

Desde esa perspectiva nace la importancia de la investigación con el fin de evaluar la susceptibilidad antibiótica de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica, así disminuir los altos índices de mortalidad de neonatos, ya que

se traduce en graves pérdidas económicas para el productor alpaquero, de tal forma realicen el buen manejo de los medicamentos veterinarios y minimizar el uso inapropiado de antibióticos que impactan negativamente la salud animal y que no se generen multirresistencia antibiótica.





CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción del problema

Internacional

Estudios realizados *Pasteurella multocida* es la bacteria oportunista más frecuentemente asociada en las enfermedades respiratorias en las especies de la familia Camelidae. Por otro lado, estudios más recientes reportan altos niveles de seroconversión en camélidos sudamericanos (CSA) para *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica* en seis provincias de Argentina, lo cual indica que estas bacterias podrían estar causando infecciones subclínicas en estas especies (Díaz et al. 2017) (Díaz et al. 2017). Así mismo, en Perú han sido reportados casos de muertes de alpacas por neumonía aguda.

Ocasionando una marcada reducción de la ganancia de peso vivo, elevados costos de manejo, medicamentos, servicios veterinarios y la pérdida de material genético (Blood y Radostits 1992) y ello con lleva a la vez importantes pérdidas económicas, la inestabilidad de la producción animal y repercutiendo negativamente la sostenibilidad económica del

criador y siendo el agente patológico bacteriano de importancia clínica la *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica* y *strobotococcus neumoniae* (Wikse 1985).

Con la aparición y el uso de los antibióticos en la producción animal en los países de Colombia, Brasil, Argentina, Uruguay y en otros países latinoamericanos, la resistencia a los antibióticos ha emergido como uno de los principales problemas emergentes terapéuticos en las especies de vacunos, ovinos, porcinos y aves lo que ha obligado a mantener una lucha constante en cuanto al uso adecuado de antibióticos (Fierro et al. 2011) y que la tendencia de la prevalencia e incidencia de patologías neumónicas bacterianas se han incrementado por ello la detección de mecanismos de resistencia se constituye en un reto y una necesidad para la contención de este problema en la producción animal (Arenas y Moreno 2018).

La crianza de alpaca en el Perú, representa un importante recurso económico para los productores de las comunidades campesinas y empresas asociativas, sin embargo, su producción se ve mermada por una elevada mortalidad en crías de alpacas esencialmente en la época de verano con mayor frecuencia; las patologías neumónicas bacterianas se reportan como segunda causa de mortalidad en crías de alpacas, donde se identifica a *Pasteurella multocida* como principal agente involucrado en neumonías agudas (Calsín 2008); (Rosadio et al. 2011) y (Guzmán 2011).

Existen algunos estudios que reportan también a *Mannheimia haemolytica* como causa de neumonías en alpacas (Ameghino 1991), además de afectar a otras especies como vacunos, ovinos y porcinos relacionados a neumonía enzoótica. Estos patógenos (*Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica*) pueden tener una presentación en forma asociada a agentes virales, favorecidos por variaciones climatológicas y el estrés del animal (Cirilo 2008); (Rosadio et al. 2011).

Por otro lado, los productores no asumen con responsabilidad de realizar los tratamientos oportunos y eficientes debido a que no realizan estudios de laboratorio para lograr un diagnóstico definitivo Carhuapoma et al. (2018), además no cuentan con una prescripción correcta de los antibacterianos que deberían utilizar para el tratamiento de sus animales, solo adquieren de forma tradicional e irresponsable de las diferentes agro veterinarias que tampoco garantizan la calidad de los productos veterinarios, por ello se presume que la resistencia a antibacterianos se da de forma permanente y sostenida.

En la región de Huancavelica las patologías neumónicas no son muy estudiados desde la perspectiva epidemiológica y bacteriológica esencialmente de niveles de resistencia antimicrobiana de *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica*, pero existen altos índices de prevalencia de cuadros neumónicos que superan mortalidades de 24% siendo afectadas esencialmente las crías de alpacas, las tendencias altas patologías neumónicas bacterianas se deberían a que los productores no vienen realizando un manejo adecuado sanitario (estudios de laboratorios) y la déficit asistencia técnica por parte de las entidades involucradas (Dircams).

Ello hace que los productores realicen tratamientos inapropiados utilizando productos veterinarios de dudosas procedencias generándoles altos costos terapéuticos inefectivos, además de ello el uso de antibióticos veterinarios no solo estarían relacionados a tratamientos terapéutico si no al uso indiscriminado de profilaxis o para prevenir las infecciones (suministrados en los alimentos o el agua).

Para la promoción de crecimiento y sin la consideración de la aplicación de buenas prácticas en el uso de medicamentos veterinarios (BPMV) ello estaría representado un riesgo de contaminación y exposición a antibióticos y por ello se presume que se está generando la presencia de

patógenos bacterianos multirresistentes a diferentes antibacterianos veterinarios.

1.2. Formulación del problema

Problema general

¿Cuál es la susceptibilidad antibiótica frente a *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica?

Problema Específico

¿Cuanto es la prevalencia de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas en crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica?

¿Cuanto es la resistencia antibiótica de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica?

¿Cuanto es la sensibilidad antibiótica de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

- Evaluar la susceptibilidad antibiótica de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica.

1.3.2. Objetivos específicos

- Comprobar la prevalencia de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* en crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica.
- Comprobar la resistencia antibiótica de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica.
- Comprobar la sensibilidad antibiótica de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica.

1.4. Justificación

El estudio que se realizó adquiere relevancia y se justifica desde 3 aspectos fundamentales toda vez que es una investigación pionera para la zona y en la especie que pretende el estudio.

Desde el aspecto científico los resultados de la investigación contribuirán como bases de datos para futuras investigaciones relacionados al tema de la investigación, así mismo tendrá soporte teórico en la susceptibilidad antibiótica en los agentes bacterianos de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* en alpacas, en vista de que no existen reportes científicos basados en el tema de la investigación.

Desde el aspecto social la aparición de patógenos bacterianos neumónicos como la *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* resistentes a antibióticos se encuentra bien documentado en ámbito de salud pública, pero existen escasos estudios de la resistencia antibacteriana en animales de producción, por ello los resultados de la investigación contribuirán para que pueden diseñar programas de control de vigilancia antibiótica las instituciones involucradas en el sector alpaquero y que pueden utilizar de manera responsable los antibióticos en las granjas o comunidades alto andinos, de tal manera pueden minimizar la mortalidad de crías de alpacas por patologías nemónicas mejorar la sostenibilidad socio económica.

Por ello la susceptibilidad antibiótica frente a cepas de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía y estos resultados contribuirán a la aplicación correcta y el uso adecuado de medicamentos veterinarios y con ello se minimizará el uso inapropiado de los antibióticos que impactan negativamente la salud animal donde no se generen multirresistencia y las instituciones como la DIRCAMS y otros realicen estrategias educativas con los productores para la prevención de agentes infecciosos resistentes a fármacos.

En el contexto socioeconómico la aplicación correcta de buenas prácticas en el uso de medicamentos veterinarios en los procesos terapéuticos contribuirá a mitigar los altos índices de prevalencia de cuadros neumónicos y mortalidades de crías de alpacas y con ello el criador mejorará su condición socio económica y la sostenibilidad de la crianza de las alpacas, así mismo se minimizará la pérdida de material genético.

1.5. Limitaciones

Adquisición de reactivos y materiales de laboratorio ya que son costosos y no se encuentra en los mercados de la región, a pesar de ello se lograron a desarrollar los objetivos de la investigación

Traslado de las muestras para el estudio al laboratorio debido a que los protocolos establece en menos de 6 horas su coprocultivo.

Se tubo muchos inconvenientes en la búsqueda de informaciones por la falta de reportes científicos con relación a la sensibilidad antibiótica de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* en casos de crías de alpacas con signos de neumonía.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. A nivel Internacional

Esaki et al. (2005), realizaron: *Antimicrobial Susceptibility of Mannheimia haemolytica Isolates from Cattle in Japan from 2001 to 2002*- Japón; donde examinaron un total de 27 aislamientos clínicos de *Mannheimia haemolytica* de ganado bovino en Japón desde 2001 hasta 2002 el objetivo fue detectar la susceptibilidad antimicrobiana a 25 agentes antimicrobianos, los resultados fueron de 27 aislamientos, siete aislamientos (26,9%) fueron resistentes al menos uno de los 25 medicamentos y las tasas de resistencia variaron de 3,7 a 18,5%, la tasa de resistencia a la dihidroestreptomicina fue 18,5%, la oxitetraciclina 11,1% y la doxiciclina 11,1%) siendo relativamente altas y los fármacos restantes fueron menos del 10%. Llegaron a la conclusión que para una terapia efectiva y de prevención el aumento de múltiples fármacos debería ser prudente y se debería realizar sobre la base de su antimicrobiano para pruebas de susceptibilidad.

PiJoan y Aguilar (2000), investigaron: *Resistencia y sensibilidad a antimicrobianos en cepas de Pasteurella haemolytica, multocida y Haemophilus somnus, aisladas en becerras lecheras en establos de Tijuana-México*; el objetivo de estudio es la frecuencia de resistencia o sensibilidad in vitro a diferentes antibióticos en 34 cepas de *Pasteurella multocida*, 31

de *Pasteurella haemolytica* y 11 de *Haemophilus somnus*, obtenidas de neumonía pulmones de terneros lecheros de Tijuana y Rosarito en el estado de Baja California en México a partir de enero 1996 a marzo de 1997; los resultados obtenidos fueron una prevalencia muy alta mayor de 90% de resistencia en *Pasteurella spp* frente a kanamicina y lincomicina, *P. haemolytica* mayor de 80% de resistencia a penicilina y estreptomina y *Haemophilus somnus* a penicilina, estreptomina y ampicilina. Además, más del 20% de los aislamientos fueron resistentes a los antibióticos recientemente liberados de tilmicosina y florfenicol, además encontraron que todas las cepas estudiadas fueron sensibles a la cefotaxima, y más del 87% fueron sensibles a la mezlocilina o cefalexime y llegaron a la conclusión que los veterinarios y productores lecheros de la región de Tijuana, sean más responsables en la utilización de antibióticos en el tratamiento de neumonías en becerros, debido al peligro creciente de la diseminación de cepas de *Pasteurella spp* o *Haemophilus somnus* resistentes a la mayoría de los antimicrobianos, lo cual puede complicar en el futuro el tratamiento de estos animales.

Viana et al. (2007), investigaron: *Susceptibilidade in vitro a antimicrobianos da Mannheimia haemolytica e da Pasteurella multocida aisladas de ovinos sadios e com doenças respiratórias* – Brasil; el objetivo fue evaluar la susceptibilidad in vitro de estos microorganismos frente a los antimicrobianos, para ello tomaron muestras de nasofaringe (n = 180) y orofaringe (n = 82) de ovinos con y sin enfermedad respiratoria; los resultados fueron que la sensibilidad mayor fue para enrofloxacin (100%) y florfenicol (100%) y encontraron resistencia de *M. haemolytica* y *P. multocida* a la tetraciclina (15,64% y 17,65%,) y penicilina (1,82% y 4,2%). Llegaron a la conclusión que la Enrofloxacin, florfenicol, ciprofloxacina, sulfametoxazol/trimetoprim fueron los antimicrobianos que presentaron mayor eficiencia contra las cepas de *M. haemolytica* y *P. multocida*.

Samaniego et al. (2012), investigaron: *Resistencia a antimicrobianos en cepas de Mannheimia haemolytica aisladas de exudado nasal de bovinos productores de leche* – México; el objetivo fue evaluar la resistencia antibacteriana en 201 cepas de *Mannheimia haemolytica* provenientes de muestras de exudado nasal de bovinos productores de leche, 123 de bovinos clínicamente sanos (CS) y 78 de bovinos enfermos de neumonía (CE), obtenidas de un complejo lechero en la región de Tizayuca, Hidalgo, México. El resultado se encontró que las frecuencias más altas en la resistencia a antimicrobianos presentaron a la Estreptomicina (81,6%) y Gentamicina (24,4%), además encontraron que todas las cepas fueron susceptibles a la ampicilina y penicilina, llegaron a la conclusión que, no obstante que la mayoría de las cepas aisladas en el CAIT fueron resistentes a la St, sólo en una parte de ellas se confirmó la presencia del gen strA; de igual manera, todas fueron sensibles a la P y la Am.

Moredo et al. (2008), Investigaron: *Biotipos y sensibilidad antimicrobiana de Pasteurella multocida subespecie multocida aisladas de pulmones de cerdos de la provincia de Buenos Aires- Argentina*; el objetivo fue evaluar la sensibilidad antibiótica en 37 aislamientos de *Pasteurella multocida* subespecie *multocida* obtenidas entre los años 2004 – 2007, a partir de pulmones de cerdos de la provincia de Buenos Aires, con diagnóstico de neumonía, mediante el método de difusión en agar; los resultados fueron que todos los aislamientos fueron sensibles a ampicilina y florfenicol, el 94,6 % a enrofloxacin y fosfomicina, el 83,8 % a tetraciclina y el 48,6 % a estreptomicina y detectaron aislamientos resistentes a tetraciclina, enrofloxacin y estreptomicina; llegaron a la conclusión que los establecimientos de producción porcina, debería reconsiderarse la utilización de los antimicrobianos en forma preventiva, para evitar la diseminación de la resistencia presente e inclusive la aparición de nuevos fenotipos resistentes de *Pasteurella multocida*.

Leotta et al. (2006), realizaron la investigación: *Identificación, biotipificación y caracterización de cepas de Pasteurella multocida aisladas en la Argentina- Argentina*; el objetivo fue realizar la identificación, biotipificación y caracterización de cepas de *Pasteurella multocida* aisladas a partir de muestras de origen humano y animal en Argentina, los resultados que se encontraron son el 29 (73%) cepas correspondieron a *P. multocida* subsp. *multocida*; 5 (17%) a *P. multocida* subsp. *gallicida* y tres (10%) a *P. multocida* subsp. *septica*. Todas las cepas están agrupadas en 8 biotipos; el 70% presentó el tipo capsular A y los serotipos somáticos más frecuentes fueron el 1 (n:11) y el 3 (n:9), además encontraron que las cepas de origen porcino fueron resistentes a tiamulina, estreptomicina y tetraciclina, llegaron a la conclusión que la caracterización de las cepas de *Pasteurella multocida* aisladas en la Argentina es el primer paso para concretar futuros estudios destinados a la prevención y al tratamiento de la pasteurelosis en medicina humana y veterinaria.

Singh et al. (2011), realizaron la investigación: *Mannheimia haemolytica: bacteriana-huésped Interacciones en la neumonía bovina- Japón*; el objetivo de estudio fue la revisión literaria sobre la *Mannheimia haemolytica: bacteriana-huésped Interacciones en la neumonía bovina en Oklahoma*; los resultados que se encontraron fueron que el serotipo S1 de *Mannheimia haemolytica* se considera la causa predominante de pasteurelosis neumónica bovina o fiebre de envío y que varios factores de virulencia permiten que *Mannheimia haemolytica* colonice los pulmones y establezca la infección donde la virulencia incluyen leucotoxina (LKT), lipopolisacárido, adhesinas, cápsula, proteínas de membrana externa y diversas proteasas, además los efectos de LKT son especies específicas para rumiantes, que se derivan de su interacción única con el receptor de integrina b2 bovino presente en leucocitos A baja concentración, LKT puede activar los leucocitos bovinos para sufrir estallido respiratorio y desgranulación y estimula la liberación de citoquinas de los macrófagos y la liberación de histamina de los mastocitos. A mayor concentración, LKT induce formación

de poros transmembrana y posterior necrosis de células oncóticas y mediante la activación de estos leucocitos para experimentar un estallido oxidativo y liberar citocinas proinflamatorias como las interleucinas 1, 6, y 8 y factor de necrosis tumoral alfa. El factor de necrosis tumoral alfa otras citocinas proinflamatorias contribuyen a la acumulación de leucocitos en el pulmón y la formación de poros transmembrana y posterior citólisis de leucocitos activados posiblemente causar fugas de productos de explosión respiratoria y otros mediadores inflamatorios en el pulmón circundante parénquima y, por lo tanto, dan lugar a neumonía lobular fibrinosa y necrotizante y llegan a la conclusión que los efectos de LKT son mejorados por lipopolisacárido, que se asocia con la liberación de citocinas proinflamatorias de los leucocitos, la activación de complemento y cascada de coagulación, y citólisis celular. Del mismo modo, adhesinas, cápsulas, proteínas de membrana externa y proteasas. Ayuda en la colonización pulmonar, la evasión de la respuesta inmune y el establecimiento de la infección.

Gutiérrez y Rodríguez (1993), investigaron: *Susceptibilidad in vitro de cepas de Pasteurella multocida subespecies multocida aisladas de cerdos a 42 agentes antimicrobianos-España*; el objetivo de estudio fue evaluar las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) de 42 agentes antimicrobianos contra 59 cepas de *Pasteurella multocida subespecie multocida*, todas aisladas de pulmones porcinos con lesiones indicativas de neumonía. Los resultados encontrados fue que las penicilinas (excepto cloxacilina), aminoglucósidos, tetraciclinas, eritromicina, josamicina, tianfenicol, colistina, rifampicina y mupirocina mostraron buenas actividades, con una resistencia variable entre 0 y 6,8%. Se observó una mayor resistencia a la espiramicina y a la fosfomicina. La tilosina, la vancomicina, el metronidazol, la dapsona y la tiamulina, a las que las cepas mostraron altas tasas de resistencia, no fueron efectivas. Llegaron a la conclusión que las cefalosporinas (especialmente las cefalosporinas de tercera generación) y las quinolonas (especialmente las quinolonas

fluoradas) fueron los agentes antimicrobianos más efectivos contra *P. multocida* subsp. Cepas de *P. multocida* y pueden ser valiosas para uso in vivo.

Petrocchi et al. (2019), realizaron la investigación: *Resistencia a los antimicrobianos de los aislados de Pasteurella multocida recuperados de la neumonía porcina en España durante 2017 y 2018*- España; el objetivo de estudio fue evaluar un total de 32 aislamientos de *Pasteurella multocida* de 60 casos de pulmones de neumonía porcina recolectados en “Castilla y León” (noroeste de España) entre noviembre de 2017 y abril de 2018, donde hubo aislamientos capsulares tipo A del 96,9% de los casos y capsulares tipo D del 3,1% restante y todos sus aislamientos se caracterizaron por su susceptibilidad a ocho agentes antimicrobianos y la presencia de ocho genes de resistencia. Los resultados son que las frecuencias de susceptibilidad son inferiores al 60% en cuatro de las drogas, 84,4% de los aislamientos les mostraron resistencia al menos dos compuestos y 46,9% a una combinación de tres drogas. Los patrones de resistencia sugirieron que la enrofloxacin, el cloranfenicol, la tetraciclina y la cefotaxima fueron los compuestos más activos para *P. multocida*. El uso de PCR reveló que los genes *ermC*, *blaROB1*, *tetB* y *msrE* ocurrieron en más del 37,0% de los aislamientos, lo que sugirió su supuesta responsabilidad en la resistencia de las cepas que los albergan. Sin embargo, la mayoría se detectaron en cepas susceptibles y solo una explicación genética de la resistencia podría estar relacionada con la eritromicina. Llegaron a la conclusión que las resistencias a la cilandamicina, cotrimoxazol, β -lactámicos y tetraciclinas observadas mediante pruebas fenotípicas siguen siendo genéticamente inexplicables y se requieren más investigaciones.

Hosseini et al. (2014), realizaron la investigación: *Prevalencia, caracterización y resistencia a antibióticos de Pasteurella multocida aislada de infección respiratoria bovina*- Irán; el objetivo de estudio es la prevalencia, caracterización y resistencia a los antibióticos de *Pasteurella multocida* aislada de terneros con infección respiratoria en Irán. Donde la

Pasteurella multocida se detectaron en 141/169 casos de infección respiratoria bovina en granjas lecheras y de carne iraníes. *Pasteurella multocida* se agruparon en los serogrupos A (126/141), D (12/141) y B (3/141). De los aislamientos de *Pasteurella multocida*, todos albergaban los genes *psl*, *ompH*, *oma87*, *fimA*, *ptfA*, *nanB* y *nanH*, 139/141 tenían *hsf-2* y 115/141 *pfhA* y *tadD* y los resultados de los aislamientos demostraron con mayor frecuencia resistentes a la penicilina G (aislamientos resistentes 43/141; 30.5%) y estreptomicina (31/141; 22%). Se concluye que los genes de virulencia *toxA* y *tbpA* estuvieron presentes en las cepas de *Pasteurella multocida* de alpacas con signos neumónicos y detectó una baja diversidad entre los aislados de alpaca (homogeneidad genética), evidenciándose como posible causa de la infección, una cepa de *Pasteurella multocida* que se diseminó clonalmente entre los animales afectados por neumonía.

2.1.2. A nivel Nacional

León (2012), realizó la investigación: *Identificación de bacterias de la familia pasteurellaceae causantes de procesos neumónicos en crías de alpacas*- Lima, Perú; el objetivo de estudio fue caracterización fenotípicamente las especies bacterianas pertenecientes a la familia *Pasteurellaceae*, responsables de procesos neumónicos en crías de alpaca, para ello recolecto muestras de pulmones de crías de alpaca que murieron durante la etapa neonatal entre 0 y 30 días, los resultados obtenidos fueron que las crías de la 3° y 4° semana eran las más afectadas por neumonía y entre las bacterias de la familia *Pasteurellaceae* fue 37% de los casos fue por *Pasteurella multocida*, seguido por *Mannheimia haemolytica* en 17% de los casos, igualmente encontró la coexistencia de dos o más especies bacterianas de la familia *Pasteurellaceae*, llegan a la conclusión que existe la asociación entre *P. multocida* y *M. haemolytica* al 10% de los casos estudiados .

Rimac (2016), realizó la investigación: *Caracterización molecular de Pasteurella multocida aislada de alpacas con signos de neumonía*, - Lima, Perú; el objetivo de estudio fue la caracterización molecular de 24 aislados de *P. multocida* provenientes de alpacas con neumonía, mediante pruebas bioquímicas y la prueba de PCR a través de la amplificando del gen kmt1. Los resultados fueron que el 100% de los aislados de *P. multocida* de alpacas son del tipo capsular A, genotipo LPS L6 (serovar 10, 11, 12 y/o 15), concluyen que los genes toxA, tbpA presenta una homogeneidad genética en la mayoría de las cepas, dando una fuerte evidencia de una fuente común de infección y posterior diseminación clonal de la cepa patógena.

Cirilo et al. (2012), realizaron la investigación: *Coexistencia de Virus y bacterias en neumonías agudas en alpacas neonatas* - Lima, Peru; objetivo de estudio fue evaluar 24 muestras fetales de neonatos de 5 a 39 días de edad con neumonías mediante estudios patológicos, virológicos (inmunofluorescencia directa) y bacteriológicos para identificar virus [parainfluenza 3 (PI-3), respiratorio sincitial bovino (BRSV)] y bacterias [*Pasteurella multocida* (PM), *Mannheimia haemolytica* (MH)], buscando posible asociación virus-bacteria en procesos neumónicos. Los resultados encontrados son que en 16/22 casos aislaron bacterias, 11 de los cuales fueron positivos a *P. multocida* y 7 positivos a *M. haemolytica* (en dos casos se aislaron ambas bacterias), además la presencia de patógenos múltiples observaron en 14/22 de los casos con clara predominancia de la asociación virus/bacteria (n=13). La coexistencia de BRSV-PM fue la más frecuente (n=6), seguida de BRVS-MH (n=4) y PI3-PM o MH (n=4), ante ello concluyen la posible interacción patogénica virus bacteria es similar a otros rumiantes en el desarrollo de neumonías agudas en alpacas.

Rocío et al. (2017), investigaron: *Análisis de Diversidad Genética de Cepas de Pasteurella multocida Aisladas de Alpacas con Signos de Neumonía* – Lima, Perú. El objetivo de estudio es la caracterización de las

cepas de *Pasteurella multocida* aisladas de pulmones de alpacas de 1 a 2 meses de edad con signos de neumonía, mediante la técnica de BOX-PCR para demostrar la diversidad genética entre las cepas; y llegaron a aislar 24 cepas de *P. multocida* de 46 animales mediante identificación bioquímica. Los resultados del análisis por BOX-PCR les demostró dos patrones de bandas amplificadas, donde 22 cepas fueron agrupadas en un clúster y dos cepas en otro clúster y concluyen que el estudio demostró una homogeneidad genética en la mayoría de las cepas, evidenciando una fuente común de infección que afectó a los animales.

Juscamayta et al. (2017), Investigaron: *Análisis Genómico de Mannheimia haemolytica Serotipo A2 para la Identificación de Potenciales Candidatos Vacunas contra la Neumonía en Alpacas* – Lima, Peru: el objetivo de estudio es la identificación de antígenos inmunoprotectivos en la secuencia genómica de *Mannheimia haemolytica* serotipo A2 Ovino, aislado de ovino y disponible en las bases de datos, que puedan ser utilizados como potenciales candidatos vacunales contra la neumonía en alpacas. Los resultados que se encontraron son los factores de virulencia están presentes en la base de datos de factores de virulencia (VFDB) y en la base de datos microbiana de virulencia (MvirDB) y mediante la homología de genes con la base de datos de antígenos protectivos (Protegen) identificaron 23 antígenos potencialmente inmunoprotectivos, conservados entre los serotipos virulentos de *Mannheimia haemolytica* y otros patógenos de la familia *Pasteurellaceae* y concluyen de que los genes identificados están relacionados con la patogénesis, virulencia y evasión del sistema inmune del hospedero y podrían ser grandes candidatos a ser evaluados como potenciales vacunas contra la pasteurelosis neumónica.

Guzmán et al. (2013), realizaron la investigación: *Asociación de agentes virales y bacterianos en cuadros de neumonías agudas en alpacas tuis*- Lima, Peru; el objetivo de estudio fue evaluar en 15/27 muestras patológicas la presencia in situ de antígenos virales, mediante

inmunofluorescencia directa, para los virus Parainfluenza 3 (PI3), respiratorio sincitial bovino (RSB) y adenovirus bovino tipo 3 (BAdV-3) y en las 27 muestras realizaron cultivos bacterianos. Los resultados encontrados de las alteraciones macroscópicas mayoritariamente a neumonía extensiva multilobar (11/27) asociadas con pleuritis fibrinosa (8/27), y cuadros de congestión y edema pulmonar (8/27) e histopatológicos encontraron muy similares a los descritos en la literatura para neumonías agudas de alpacas neonatas. En 9 de las 15 muestras detectaron 14 presencias virales (5 como infecciones únicas, 3 dobles y 1 triple). El virus RSB fue detectado 5 veces, PI3 5 veces y BAdV3 4 veces, y mayoritariamente coexistiendo con infecciones bacteriales, principalmente *Pasteurella multocida* (n=15) y *Mannheimia haemolytica* (n=10) y concluyen que se evidencian los procesos neumónicos agudos en alpacas tuis, de manera similar a los neonatos y otros rumiantes y que son productos de interacciones virus y bacteria.

Maximiliano (2017), realizó la investigación: *Evaluación in vitro de la actividad inmunogénica de una proteína recombinante de Pasteurella multocida aislada de casos de neumonías en alpacas (Vicugna pacos)*-Lima, Perú; el objetivo de estudio fue la evaluación in vitro la actividad inmunogénica de una proteína P6-Like recombinante procedente de un cultivo de *Pasteurella multocida* aislada de cuadros de neumonía en crías de alpacas. Los resultados encontrados son que las citoquinas con perfil Th1 como Th2 expresan un mayor número de veces respecto a PBMC no expuestos a la proteína recombinante, siendo las 24 a 48 horas los momentos de mayor expresión. Asimismo, concluye que existe una aparente tendencia hacia el perfil Th2, pero no en niveles que afecten la expresión de citoquinas del perfil Th1.

2.1.3. A nivel Local

No se encontró ningún reporte científico con respecto al tema de investigación a nivel local, por ello no se han considerado.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Susceptibilidad Antibiótica

La susceptibilidad antibiótica es la resistencia o sensibilidad a los antibióticos, lo cual se ha convertido en un problema de salud pública a nivel mundial, que afecta el campo de la salud humana y animal Ciorba et al. (2015).

Es un fenómeno poco frecuente, que ocurre de forma espontánea, se transmite por herencia a los descendientes y no suele constituir un problema importante en el contexto clínico de la resistencia bacteriana, a no ser que dicha mutación vaya seguida de un proceso de selección de los mutantes como consecuencia de la administración del antibiótico para el cual han aparecido dichos mutantes resistentes Ciorba et al. (2015).

2.2.2. Resistencia antibiótica

a). Definiciones de resistencia antibiótica

La resistencia antibiótica es considerada como un fenómeno progresivo caracterizado por una defensa parcial o completa de los microorganismos al efecto del antibiótico; el origen de esta se deberá principalmente al uso indiscriminado e irracional de los antibióticos, así como la implementación de dosis incorrectas o aplicaciones con una duración inapropiada en las terapias Ciorba et al. (2015).

En la actualidad la resistencia de microorganismos se puede considerar de manera innata o adquirido, por ello la resistencia innata existen microorganismos que suelen ser resistentes a diferentes antibióticos ya que los procesos celulares para la susceptibilidad antibiótica no existen en la célula (debida a la ausencia de una diana óptima para que los

antibióticos toman la reacción respectiva). Por ejemplo, los microorganismos del género *Mycoplasma* son tolerantes a la bencilpenicilina G porque no presentan pared celular; también *Escherichia coli* es tolerante a la penicilina G, ya que el medicamento no resulta ingresar al interior de la célula. Por lo tanto, este tipo de resistencia está codificada cromosómicamente y se relaciona con la fisiología general de un organismo que surge de sus propiedades existentes como la complejidad de su pared celular, los mecanismos de expulsión o la inactivación enzimática de un antibiótico Ciorba et al. (2015).

La resistencia por transformación se origina por una variación del cromosoma bacteriano, específicamente sobre los genes que verifican la sensibilidad a un antibiótico. Es un fenómeno poco frecuente, que ocurre de forma espontánea, se transmite por herencia a los descendientes y no suele constituir un problema importante en el contexto clínico de la resistencia bacteriana, a no ser que dicha mutación vaya seguida de un proceso de selección de los mutantes como consecuencia de la administración del antibiótico para el cual han aparecido dichos mutantes resistentes Ciorba et al. (2015).

b). Multirresistencia bacteriana

Los cuerpos multirresistentes se precisan como aquellos que son resistentes al menos a un antibiótico en tres o más formas de antibióticos a los que universalmente son susceptibles. Por ejemplo, dos cepas de *Escherichia coli*, *salmonella ssp* u otra bacteria presenta una resistente a trimetoprim-sulfametoxazol, cefazolina y ciprofloxacino y la otra a ertapenem, gentamicina y tigeciclina, se caracterizarán como MDR a pesar de que los antibióticos son diferentes (Rodríguez et al. 2011).

Desde una perspectiva, el concepto debe contener al menos dos contextos: que exista tenacidad a más de un linaje o grupo de antimicrobianos usuales, y que esa resistencia tenga notabilidad clínica (es decir, que suponga o pueda suponer una problema para el tratamiento) y epidemiológica (posibles brotes epidémicos, y transmisión del mecanismo

de resistencia, etc.), el término “microorganismo multirresistente” se ha utilizado sobre todo los microorganismos habituales hospitalarios que han desarrollado resistencia a varios antibióticos, y que son capaces de generar brotes, como *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM), *Enterococcus spp.* Resistentes a glucopéptidos, enterobacterias productoras de β - lactamasas de espectro extendido (BLEE) y *Acinetobacter baumannii* o *Pseudomonas aeruginosa* resistentes a distintos grupos de antimicrobianos y existiendo muy pocas informaciones promisorias de multirresistencia en el campo de la veterinaria (Rodríguez et al. 2011).

c). Causas de resistencia antibiótica

Por tener una dimensión simple los microorganismos suelen ser comparados con organismos multicelulares por ello se ve reflejada de pequeño tamaño en su estructura genómico. Sin embargo, son considerados como comunidades microbianas de gran capacidad de adaptarse al medio de manera exponencial y efectiva.

La adaptabilidad de microorganismos está considerada por presentar en pequeños volúmenes y su rápida propagación, que suelen ser de 20 minutos como es el caso de *Escherichia coli*, así mismo ligeros cambios a nivel genómico suele ser raros. De manera similar, la rápida generación de células asegura que los cambios que permitan alguna ventaja serán prevalentes rápidamente en una comunidad en constante crecimiento (Moreno et al. 2018).

Un informe de la OMS en 2014 reconoció que las causas de la resistencia a los antibióticos, es la utilización incontrolada e inapropiada de los antibióticos en la población. Además, la versatilidad y adaptabilidad de los microorganismos han impedido la eficacia de la terapia antimicrobiana. A pesar de ser un proceso evolutivo natural, la crisis de la resistencia antibiótica se ha atribuido al uso excesivo y mal uso de estos medicamentos, así como la falta de desarrollo de nuevas drogas por la industria farmacéutica debido al reducido incentivo económico y requerimientos regulatorios engorrosos en todo el mundo (Jiménez et al. 2016).

(Munita & Arias 2016), sostienen la causa de la resistencia antibiótica se originaría por una fuente de variabilidad genética que son las mutaciones, como cambios aleatorios en las secuencias genéticas de los organismos que generalmente no tienen efectos beneficiosos o perjudiciales. Sin embargo, al involucrarse inmensas cantidades de organismos, la chance de que existan cambios raros y ventajosos es inevitable y para (Blondeau 2004).

Las causas de resistencia serían por casos de variaciones que está disponible en grandes almacenes de genomas que pueden movilizarse de manera intra y extra celular de especies bacterianas por ello los genes son considerados movedizos que están ubicados en grupos microbianos mediante variados mecanismos de transferencia horizontal de genomas donde varios de los genes llevan información útil para la existencia del microorganismo bacteriano.

La literatura científica argumenta que varios países para el tratamiento terapéutico a diferentes cuadros infecciosos y como profiláctico. Inclusive, en la producción animal, los antibióticos son utilizados como parte del alimento para aumentar la ganancia de peso de los animales, uso conocido como promotores de crecimiento y estos casos estarían generando la resistencia antibiótica (Bush 2013) y el uso inapropiado de antibióticos en productos derivados de animales contribuirían de que los microorganismos sean resistentes y potencialmente patógenos pueden entrar a la cadena alimenticia y podría diseminarse ampliamente en productos alimenticios (Chopra & Roberts 2001).

d). Tipos de resistencia bacteriana

Existen varios mecanismos para la adquisición de genes de resistencia, tales como impedir que el antibiótico entre a la célula, producir enzimas que destruyen al antibiótico, alterar su estructura de modo que el antibiótico no se adhiera a ellas, o expulsar el antibiótico (Castro et al. 2015).

Resistencia natural o intrínseca. - La resistencia natural es un carácter constante de cepas de una misma especie bacteriana, y es un mecanismo permanente determinado genéticamente y sin correlación con la dosis de antibiótico (Poole 2005).

Resistencia Adquirida. - Es un tipo de resistencia evolutiva y la frecuencia depende a menudo de la utilización de antibióticos. Los procesos básicos de la transferencia de genes son la transducción, transformación y conjugación, mediante elementos genéticos como son los plásmidos, los transposones e integrones (Sun et al. 2014).

Conjugación: En este mecanismo la célula donadora transfiere a la célula receptora, mediante el pili sexual copias de genes resistentes mediados por plásmidos (Sánchez et al. 2012).

Transformación: Es la transferencia de genes desde un ADN desnudo de una bacteria previamente lisada a otra que lo recibe y lo incorpora a su genoma (Ciorba et al. 2015).

Transducción: En este mecanismo se transfiere DNA de una célula a otra mediante la participación de bacteriófagos (Rodríguez et al. 2011); (Sánchez et al. 2012).

2.3. **Tratamientos y resistencia a los antibióticos**

El tratamiento con antibióticos es muy común y de uso frecuente en casos de cólera aviar, pero en la actualidad ya se viene dando en otras especies. Los tratamientos suelen dar resultados variables, dependiendo principalmente de la droga utilizada y de la resistencia de la cepa actuante en el brote. Cabe señalar que el incremento de la administración de antibióticos, particularmente con dosis preventivas en el alimento balanceado, reduce sensiblemente su eficacia como sostienen (Sánchez et al. 2012).

La resistencia de las bacterias a los antibióticos puede ser transferida por material genético intercambiado entre los microorganismos, aunque los mismos no necesariamente pertenezcan a la misma especie bacteriana. Además, el desarrollo de la resistencia es un proceso por el cual predominan

las bacterias que adquieren nuevas resistencias debido a la presión de selección a la que están sometidas por la administración (terapéutica o profiláctica) de los antibióticos (Kehrenberg et al. 2001).

Independientemente de su acción terapéutica, el uso inadecuado de los antibióticos es preocupante, por un lado, por los residuos en la carne, huevos, leche y, por otro lado, por un incremento en la resistencia de los antibióticos o quimioterapéuticos de las bacterias patógenas que pueden ser transmitidas a los seres humanos.

Además, debido a la gran variedad en los patrones de resistencia de *Pasteurella multocida* a los antibióticos se recomienda a los laboratorios de diagnóstico enfatizar los estudios de los mismos para recomendar el uso adecuado de los antibióticos (Wilkie et al. 2012).

2.3.1. Generalidades de *Mannheimia haemolytica*

Mannheimia haemolytica resulta ser bacteria del grupo Gram-negativa, que resulta ser de la familia Pasteurellaceae, y primordial agente patógeno de neumonía o pasteurelosis neumónica en vacunos y corderos. Esta bacteria causa grandes pérdidas económicas en la industria ganadera a nivel mundial (Mohamed & Abdelsalam 2008) y ha sido asociada, junto con *Pasteurella multocida*, a casos de neumonía en camélidos sudamericanos domésticos, siendo la segunda causa más importante de mortalidad de alpacas en Perú (Rosadio et al. 2011).

Dando así inicio a un nuevo género, *Mannheimia*, el cual alberga el biotipo A de los organismos del viejo complejo *Pasteurella haemolytica* con 5 especies: *Mannheimia haemolytica*, *Mannheimia glucosida*, *Mannheimia granulomatis*, *Mannheimia ruminalis* y *Mannheimia varigena*, así como en la actualidad una taxa sin nombre (Blackall et al. 2001).

La *Mannheimia haemolytica* es el agente que comúnmente se asocia a problemas neumónicos de rumiantes, la primera información del problema apareció en 1921, donde se aisló el germen de rumiantes, y en 1932 se

propuso el nombre de *Pasteurella haemolytica* (Merchant & Pecker 1994); (Carter 1985).

Otros estudios bacteriológicos indican que es posible que ocurra la transferencia entre géneros de *Mannheimia haemolytica* a partir de animales domésticos a animales silvestres (Villard et al. 2006). Son cocobacilos Gram negativos, no móviles pequeños y redondos (Blackall et al. 2001). Las colonias tienen formas lisas con coloración gris en agar sangre y con dimensiones de 1-2mm de diámetro, posterior a 24 horas de incubación. Generalmente las cepas producen β -hemólisis en agar sangre de bovino (Blackall et al. 2001), en cuanto a características bioquímicas de disertan en la tabla 1.

Tabla 1

Separación fenotípica de especies y taxas del género Mannheimia haemolytica.

Prueba	<i>Mannheimia</i>	<i>Actinobacillus</i>	<i>Pasteurella</i>	<i>Haemophilus</i>	<i>Lonepinella</i>
Hemolisis	d	D	-	D	-
Facotor de dependencia v	-	D	d	+	-
Facotor de dependencia x	-	-	-	+	-
VP.37 °C	-	-	-	-	+
Ureasa	-	+	d	D	-
Ornitina					
descarbolixasa	d	-	d	D	-
Indol	-*	-	+	D	-
L- Arabinosa	d	D	-	-	D
Glucosidasa	d	D	-	-	D
Mannitol	+	D	d	-	-
D-Manosa	-	D	+	D	desconocido
D-Melibiosa	-*	D	-	-	D
Meso-Inositol	d	-	-	-	-
D-sorbitol	d	-§	d	-	desconocido
Trealosa	-	D	d	-	desconocido
ONPF (& - fucosidasa)	d	-	-	-	desconocido

Fuente: Angen et al. (1999); Leyenda: (+) Solo reacción positiva; (-) sólo reacción negativa; (d) + ó -; *Puede haber varación; +P. avium indol negativo; §Taxon 9 de Bisgard positivo tardío.

Tipologías microbiológicas del género *Mannheimia*

La *Mannheimia* fue denominado en honor a Walter Mannheim que es biólogo alemán, pero existen controversias en cuanto a su taxonomía, resulta ser de la familia *Pasteurellaceae* (Villard et al. 2006).

Mannheimia es un género perteneciente a la familia *Pasteurellaceae* y es un cocobacilo no móvil Gram negativo que no presenta endosporas, con desarrollo mesófilo y anaeróbico facultativo o microaerofílico, degrada glucosa sin producción de gas, reacciona a oxidasa, positivo a test de fosfatasa y reduce nitrato. Ala prueba de citrato de Simmon's es negativo, así también a arginina deshidrolasa y son cultivados en medios de manitol (Vadillo et al. 2002).

Resultan ser negativa a pruebas de rojo de metilo, gelatinasa, Voges-Proskauer y pueden desmallarse en medios de MacConkey, enriquecidos con agar chocolate o agar sangre, donde presentan colonias lisas de color blanco grisáceo de tamaños de 1 a 2 mm de diámetro a las 24 h de incubación. No son fermentadores a arabinosa o glucósidos ni ornitina descarboxilasa, pero positivas a ONPF (α -fucosidasa) y NPG (β -glucosidasa) (Boyce et al. 2004).

Epidemiología de *Mannheimia haemolytica*

Ameghino (1991) y Bustinza (2001), sostienen que la alta incidencia de neumonías en los primeros días de nacidos hace pensar que quizás podrían deberse a la aspiración de líquido amniótico al momento del parto, o de leche por falsa deglución; o quizás también por el pasaje de medicamentos, a través de la tráquea, en los casos en que se emplean administraciones orales contra ciertas afecciones de los neonatos estos aspectos podría ser el inicio de la epidemiología neumónico en alpacas por ello hay mucha controversia porque no hay estudios bien definidos.

Ameghino (1988), reportaron que en muchas empresas alpaqueras de Puno se registran como causa de mortalidad por cuadros de septicemia y procesos infecciosos acompañados de fiebre, que en realidad no han sido

muy bien estudiados, y quizás podrían corresponder a verdaderos procesos de pasteurelosis en su forma septicémica esta controversia todavía se mantiene hasta la actualidad.

Ante lo mencionado en la anterior (Ameghino & Calle 1989), mencionan que, para las empresas alpaqueras de Puno, las neumonías constituyen la principal causa de muerte de las crías de alpaca y un estudio realizado por (Fernández 1991), demuestra que en (Lima-Perú) hay mayor prevalencia de *Mannheimia haemolytica* (tabla 2).

Además, un estudio realizado por (Ameghino & Calle 1989), en las empresas asociativas del departamento de Puno, encontraron en 26 muestras de casos diagnosticados de crías de alpaca muertos por neumonía aislaron *Pasteurella multocida* en 11 de ellas (42,3%), por ello estarían comprometido en la ocurrencia de los procesos pulmonares con la participación de *Mannheimia haemolytica* como sostuvieron (Ameghino & De Martini 1991).

Tabla 2.

Frecuencia relativa (%) de bacterias aisladas de procesos neumónicos en crías de alpaca.

Bacteria	Frecuencia	Localidad	Referencia
<i>Pasteurella multocida</i>	42%	Puno	Ameghino & Calle (1989)
	55%	Puno	Barsallo et al.
<i>Pasteurella haemolytica</i>	100%	Lima	Ramírez, Común. Personal (1990)

Fuente. Fernández (1991)

Patogenia transmisión de *Mannheimia haemolytica*

(Rodríguez & Mimbela 1981), (Barsallo 1985), mencionan que la transmisión del Género *Pasteurella* esencialmente la *Mannheimia Haemolytica* son de localización pulmonar y que son transmitidos a través del aire, a partir de los portadores sanos, que pueden ser las propias madres de las crías y que generalmente se albergan en la región naso-faríngea y una

vez que afecta un animal, ya que es vía aerógena, se transmitirá vía horizontal, es decir de una cría a la otra (Ramírez et al. 1998).

Patogenicidad de *Mannheimia haemolytica*

Rice et al. (2008), menciona que las infecciones generadas por *Mannheimia haemolytica* es el agente responsable de la neumonía que ocasiona la leucotoxina que afecta en la respuesta inmune del animal, algunas literaturas han intentado comprender sus mecanismos de acción del *Mannheimia haemolytica*, pero no lograron confirmarla como acción patológica, pero confirma la existencia de los factores predisponentes y las infecciones con virus y *Mycoplasmas spp.*

Por ello los mecanismos de patogenicidad de algunos de los miembros de la familia *Pasteurellaceae* no están aún muy claramente definidos ya que algunos de los mecanismos que le permiten a *Mannheimia haemolytica* establecerse y diseminarse durante la infección, no están esclarecidos satisfactoriamente, incluso existe la posibilidad de que haya diferencias en dichos mecanismos entre las cepas aisladas de diversos cuadros neumónicos, así como de cepas procedentes de animales sanos (Highlander et al. 2000), por ello sostienen que una vez que la *Mannheimia haemolytica* desciende al pulmón y se instaura la infección y los factores de patogenicidad de las bacterias y la respuesta inmune generan una bronconeumonía fibrinosa.

Evolución de *Mannheimia haemolytica*

En la crianza de alpacas el origen de los agentes infecciosos aún no es muy conocida, los casos neumónicos se inician con algún tipo de estrés en el animal vulnerable, lo cual se complica con infecciones microbianas. De igual forma sucede en otras infecciones en microorganismos. Gran negativas, es innegable que las endotoxinas cumplen un rol en la patogenia (Rosadio et al. 2011).

Tanto *Pasteurella multocida* como *Mannheimia haemolytica* forman parte de la flora bacteriana de los revestimientos de la mucosa oral y nasofaríngea normales, con el predominio en la primera normalmente. Los

brotos de estas enfermedades se producen cuando fallan los mecanismos de defensas locales o sistémicas y cepas virulentas de pasteurelas desarrollan una proliferación masiva previa invasión de la mucosa nasofaríngea o a la inhalación numerosa hacia el pulmón y se multiplican de forma logarítmica, el animal que ya se encuentra bajo alguna situación de estrés, bajas defensas o cualquier otro factor que lo desate, puede desarrollar la neumonía (Yates 1982).

La propagación de pasteurelas origina y secreta una leucotoxina que forma como un modulador de leucocitos. En pocas proporciones activa los neutrófilos y monocitos generando que se liberen mediadores inflamatorios y superóxidos al producirse la desgranulación, se incitan a los macrófagos alveolares, capaz de masificar los almacenes de fibrina. En cantidades elevadas ocasiona apresuradamente la hinchazón y lisis de leucocitos. Como resultado de todo ello se produce una grave inflamación pulmonar, que forma parte del complejo respiratorio.

Signos clínicos de *Mannheimia haemolytica*

En animales menores de tres semanas, la presentación generalmente es hiperaguda (Pizarro 1999), el curso que sigue la enfermedad es muy rápido, con congestión variable según la intensidad con que actúan los microorganismos, se puede observar respiración disneica, salivación espumosa, fluye una secreción por la nariz y boca (Rodríguez and Mimbela 1981).

En caso de los camélidos se presenta a pocos días o semanas de edad (Ramírez et al. 1998), generalmente los animales amanecen muertos, no obstante haber estado aparentemente saludables el día anterior (Ameghino 1991); (Bustinza 2001), mayormente después de un día lluvioso o después de una fuerte helada, las crías que sobreviven, presentan respiración dificultosa y generalmente respiran con la boca abierta (Bustinza 2000).

En casos no severos pueden observarse algunos signos como depresión, anorexia, orejas dirigidas hacia atrás o caídas; puede o no haber secreción nasal, tos, elevación de temperatura (40 – 41°C) y respiración

superficial (Huanca 1991); (Pizarro 1999); (Bustinza 2001). Otros animales se rehúsan a comer, además se puede observar exudado mucopurulento en las fosas nasales (Ramírez et al. 1998). Al diagnóstico se aprecia fatigas por la presencia de exudado en los canales aéreos. La muerte de los animales afectados puede ocurrir entre 1 y 3 días después de aparecer las manifestaciones clínicas, y ésta se produce probablemente debido a la toxemia a partir de las lesiones pulmonares o por hipoxia pulmonar (Ameghino 1991); (Bustinza 2001).

Las expresiones clínicas mayormente se relacionan con su localización pulmonar, que podría equivocarse con lo que también ocurre en la neumonía necrótica por *Fusobacterium necrophorum*, pero en esta última además existen lesiones en la boca, glotis, lengua, carrillos internos y otras partes.

De tal forma la neumonía pasteurelósica puede ser equivocada con la falsa deglución principalmente en crías huérfanas o abandonadas, alimentadas artificialmente con biberón, por tal motivo tener en cuenta los antecedentes clínicos (Novoa & Florez 1991). En las crías mayores de edad, podemos observar respiraciones roncadas a la auscultación, que mayormente es de origen parasitario (*Dyctiocaulus filaria*), conocida como “ichu kuru” en quechua y de “ichu lago” en Aymará (Bustinza 2000).

Diagnóstico macroscópico de *Mannheimia haemolytica*

El diagnóstico de la neumonía aguda con la presencia de *Mannheimia haemolytica* siempre está basado en los aspectos clínicos, patológicos y microbiológicos (Fernández 1991); (Ramírez et al. 1998); (Bustinza 2001), esta, producen en el animal afectado, síntomas que pueden ser identificados por los Criadores, Pastores, Sanitarios y Médicos Veterinarios, para poder hacer un diagnóstico presuntivo (Bustinza 2000), Estos casos se presentan en camélidos de pocos días o semanas de edad (Huanca et al. 2011).

Diagnóstico bacteriológico de *Mannheimia haemolytica*

El examen bacteriológico de laboratorio permitirá identificar al microorganismo responsable y dará el diagnóstico definitivo Ameghino &

(Ameghino & De Martini 1991); (Ramírez et al. 1998). Esto se logra cultivando, aislando y tipificando al agente bacteriano, así como describiendo las lesiones microscópicas y macroscópicas, que han producido en el hospedero (Bustinza 2000).

Para el diagnóstico bacteriológico, tienen que ser muestras idóneas para el examen de laboratorio a partir de animales vivos que pueden ser mediante los aspirados traqueos bronquiales, hisopos nasales. En caso de animales muertos, la remisión de muestras tomadas asépticamente, para el examen bacteriológico, deben enviarse en refrigeración, glicerina tamponada estéril en tubos o torundas conteniendo medios de transporte (Bustinza 2001). Las muestras consistirán en pedazos de pulmones, corazón y ganglios linfáticos mediastínicos. Si fuera posible, es mejor remitir un animal enfermo al laboratorio especializado más cercano (Ameghino 1991).

Para el aislamiento y fenotipificación se utiliza el cultivo ‘in vitro’ en medios a base de agar sangre, además de pruebas bioquímicas, todo lo cual permite determinar la morfología de las colonias, la producción de hemólisis, así como su comportamiento bioquímico para efectos de su identificación y biotipificación (Blackall et al. 2001), además se pueden cultivar en agar Mc Conkey en placas en anaerobiosis a 37°C durante 24-48 horas. Se puede recurrir al empleo de agar sangre, suplementado con neomicina, bacitracina y actidiona, para el aislamiento de *Pasteurella Multocida* a partir de muestras muy contaminadas.

2.3.2 Generalidades de *Pasteurella multocida*

En el año 1879, Henri Toussaint identificó a la especie bacteriana que causa el cólera de las gallinas y le dio el nombre del género en honor a Louis Pasteur, su descubridor: *Pasteurella* (Bergey’s 2008).

Desde entonces, *Pasteurella multocida* ha sido reconocida como el agente causal de infecciones en diferentes especies animales y seres humanos. Es por esto que la especie tiene el nombre latino “*multocida*” palabra compuesta por el sufijo “cida” que significa que extermina o mata

y la palabra “multo” que refiere a muchos, que se puede interpretar como que es una especie bacteriana que es capaz de enfermar y matar a muchas especies animales.

A pesar de su importancia como patógeno, es sorprendente que los conocimientos básicos sobre la patogenicidad a nivel celular y molecular de *Pasteurella multocida* sean muy pocos, particularmente si se los compara con lo que se sabe sobre los de otras enfermedades bacterianas. Sólo durante los últimos años, gracias a la incorporación y aplicación de nuevas técnicas moleculares, se ha facilitado el avance en estas investigaciones lo que nos permite comprender la biología y algunos de los mecanismos de patogenicidad de esta enigmática bacteria (Aktoris et al. 2012).

Características morfológicas, culturales y bioquímicas de *Pasteurella multocida*.

Pasteurella multocida, es una bacteria Gram negativa, pleomórfica, cocoide o cocobacilar de 0,3–2 µm y en los frotis se observan células separadas, dispuestas en pares o en cortas cadenas. En cultivos envejecidos a veces se forman filamentos cuyos extremos se disocian en forma cocoides que se disponen en cortas cadenas. Por otro lado, en frotis o improntas de tejidos se puede observar una clásica coloración bipolar.

Pasteurella multocida, es una bacteria anaerobia facultativa. Para su desarrollo el pH óptimo varía entre 7,2 y 7,8, pero también puede crecer en pH variables entre 6,2 a 10 según el medio de cultivo que se utilice.

Para el aislamiento de *Pasteurella multocida* el medio de cultivo debe estar suplementado con extracto de levadura, suero o sangre. Además, debe contener alguna fuente de nitrógeno orgánico, aminoácidos, vitaminas del grupo B, hematina o protoporfirina Harper et al. (2007), además el ácido pantoténico y la nicotinamida resultan esenciales para el crecimiento.

Los medios de cultivo que se utilizan son, entre otros, agar almidón-dextrosa, caldo cerebro-corazón, agar sangre Columbia. Este último, permite el desarrollo de colonias típicas de *Pasteurella multocida* al cabo de 18 a 24 horas de incubación a 37°C; son colonias pequeñas, de 2-3 mm de diámetro, opacas y adherentes al medio. El agar base sin el agregado de sangre (AB) permite diferenciar colonias de *Pasteurella multocida* de los contaminantes pues en ese medio las colonias son iridiscentes, con diferencias en la intensidad en partes de la colonia, o bien son más pequeñas y azuladas con muy poca o ninguna iridiscencia (Carter y Genus 1984).

Por otro lado, se han desarrollado diferentes medios selectivos para aislar *Pasteurella multocida* a partir de muestras de orofaringe de cerdos (Avril et al. 1990), de narices de conejos, de hisopados bucales de perros, gatos, seres humanos e hisopados del tracto digestivo de aves (Lee et al. 2000), de hisopados laringotraqueales y cloacales de pollos y patos (Muhairwa et al. 2001) y de hisopados del medio ambiente (Moore et al. 1994).

Estas bacterias también pueden hallarse en estado viable, aunque no cultivable (Bull et al. 2010), lo que dificulta su desarrollo en los medios de cultivo.

Pasteurella multocida es oxidasa y catalasa positiva y reduce nitratos a nitritos. Produce indol a partir del triptófano, aunque sólo se puede detectar su producción en medios líquidos, pero no en medios sólidos. La mayoría de las cepas desarrollan independientemente de la coenzima nicotín-adenín dinucleótido (NAD). Con la excepción de algunas cepas, produce ácido de la glucosa, galactosa, fructosa, manosa y sacarosa, pero no de la lactosa (Mutters et al. 2005), por otro lado, carece de la enzima β -galactosidasa, por lo que no es fermentadora lenta de lactosa. No utiliza el citrato como única fuente de carbono en agar Simmons y no hidroliza la urea (Mutters et al. 2005).

Tabla 3.

Pruebas bioquímicas para la diferenciación bioquímica de las 4 subespecies de Pasteurella multocida.

Prueba	Subespecie			
	Multocida	Séptica	Gallicida	Tigris
Sacarosa	+	+	+	-
Dulcitol	-	-	+	+
Manitol	+	+	+	-
Sorbitol	+	-	+	+
Trehalosa	+	+	-	+
Arabinosa	-	-	+	+
Xilosa	+	+	-	-

Fuente: Bull et al. (2010).

Biotipos de *Pasteurella multocida*

Mediante la fermentación de los hidratos de carbono *Pasteurella multocida* se divide en tres subespecies: multocida, séptica y gallicida (Tabla 3). La subespecie multocida causa diversas enfermedades de importancia en varias especies de animales domésticos.

La subespecie séptica se ha aislado de varias especies de caninos, felinos, aves y también de seres humanos mientras que la subespecie gallicida es reconocida como el agente causal del cólera aviar, aunque también ha sido encontrada en bovinos (Blackall et al. 2001), diferenciaron a las 3 subespecies utilizando la fermentación combinada de la arabinosa y el sorbitol: 1) *Pasteurella multocida* subsp. gallicida - positiva a ambos azúcares, 2) *Pasteurella multocida* subsp. septica - negativa a ambos, y 3) *Pasteurella multocida* subsp. multocida - negativa a la arabinosa y positiva al sorbitol.

Estas tres subespecies oficialmente reconocidas tienen una muy alta correlación genética pues mediante la secuenciación del gen 16SrADN se encontró un porcentaje de similitud muy cercano entre las 3 subespecies: 98,4%, 99,1% y 98,9% para *séptica*, *gallicida* y *multocida*,

respectivamente. Además, propuso la existencia de una cuarta subespecie: *Pasteurella multocida* subsp. *tigris* para denominar a cepas de *Pasteurella multocida* distintas que habían sido aisladas de heridas infectadas de mordeduras de tigres en seres humanos (Tabla 3).

Factores de virulencia

Se han identificado algunos factores de virulencia de *Pasteurella multocida*. Como esta bacteria puede ser parte del microbiota del tracto respiratorio superior del hospedador, puede comportarse como un patógeno secundario o bien como un patógeno primario invasivo, de acuerdo con el modo en que los factores de virulencia de las pasteurelas se expresen y actúen contrarrestando la respuesta inmune de los hospedadores (Van et al. 2011).

Además, también hay evidencias de que algunos factores de virulencia son críticos para determinar la patogenicidad de ciertas cepas en algunos hospedadores, pero no en otros. Entre los factores de virulencia se pueden citar la cápsula, los lipopolisacáridos, las toxinas, el sistema de adquisición de hierro y algunas adhesinas. Sin embargo, todavía no han sido descritos los mecanismos moleculares en las células del hospedador ni la relación de las pasteurelas con el sistema inmune (Yoshimura et al. 2001).

Genes relacionados con la virulencia

Se reconocen varios genes asociados con la virulencia 43. Entre ellos se describen algunos que codifican para la producción de proteínas de membrana externa, fimbrias de tipo 4 (pftA), filamentos de la hemoaglutinina (pfhA), neuraminidasas (nanB y nanH), sistema de adquisición de hierro (exbBD-tonB, tbpA, hgbA, hgbB), dermonecrotina (toxA) y superóxido dismutasas (sodA, sodC) (Van et al. 2011).

Actualmente Rimac (2016), realizó la caracterización molecular de 24 aislados de *Pasteurella multocida* provenientes de alpacas con

neumonía, que en las cepas de *Pasteurella multocida* provenientes de alpacas están presentes el tipo capsular A, genotipo LPS L6 (serovar 10, 11, 12 y/o 15) y los genes *toxA*, *tbpA* que son genes que ocasionan una fuente común de infección y posterior diseminación clonal de la cepa patógena que afecta directamente a los animales.

Enfermedades causadas por *Pasteurella multocida*

Pasteurella multocida afecta tanto a los seres humanos como a los animales domésticos que sufren diferentes presentaciones de pasteurelisis: cólera aviar, neumonía y septicemia hemorrágica en bovinos y rinitis atrófica o neumonía en porcinos. También se describen infecciones que afectan a conejos, cabras y ovejas (Biberstein 1990). Estas enfermedades tienen un gran impacto económico, principalmente en los animales de cría intensiva como los porcinos y las aves.

En Argentina, realizaron en 1939 el primer aislamiento de *Pasteurella* y en los años 1970 se reconoció a *Pasteurella multocida* como el agente etiológico de la pasteurelisis de las aves, los porcinos, los conejos y los bovinos (Rimac 2016).

2.3.3 Complejo neumónico en alpacas

Según los estudios sostienen que los procesos neumónicos suelen constituir una de las principales causas de muerte en crías de alpaca Ameghino and De Martini (1991), además con mayor frecuencia la enfermedad puede generalizarse debido a deficiencias en el sistema inmune de la cría, desarrollando procesos septicémicos Ramírez et al. (1998). Estos cuadros septicémicos deben ser diferenciados en cuanto a su causa determinante; dentro de ellas debe considerarse los cuadros de onfaloflebitis, cuya presentación se asocia a deficiente desinfección umbilical e higiene Fernández (1991); Ramírez et al. (1998) y las colisepticemias Bustinza (2000).

Además, las neumonías fisiopatológicamente son procesos inflamatorios pulmonares generalmente de curso rápido Bustinza (2001); Ramírez (1980); que ocasionan el proceso inflamatorio pulmonar y generalmente con compromiso de los bronquios, alveolos y pleura Ameghino and De Martini (1991). Generalmente la neumonía ocurre después de ciertos periodos de estrés fisiológicos en animales de poca vitalidad y por efecto de los cambios bruscos de las condiciones del medio ambiente (Bustinza 2001).

En algunas oportunidades cursan con problemas septicémicos y la muerte de animales Bustinza (2001).siendo muy frecuentes en neonatos y animales jóvenes como sostienen Huanca (1991), (Ramírez et al. 1998), especialmente en crías jóvenes Bustinza (2001), hasta generando al momento del destete de las crías pudiendo alcanzar su tasa de mortalidad, entre 2-27% del total Bustinza (2001); Ramírez et al. (1998).

Las mayores frecuencias de las neumonías son afectadas principalmente a las crías de alpaca, generalmente después de ciertos periodos de estrés fisiológicos durante los procesos de manejos inadecuados y en animales de poca vitalidad y por efecto de cambios bruscos de las condiciones del medio ambiente Bustinza (2001), además Rodríguez y Mimbela (1981), Barsallo (1985), sostuvieron que también constituyéndose una de las principales causas de muerte en alpacas adultas y en los tuis generalmente que fueron sometidos a los baños de inmersión y esquila Bustinza (2001)

Estos casos de neumonía estarían relacionaos a causas por presencia de diferentes agentes bacterianos y virales que interactúan entre sí generando infecciones mixtas (PI3 y BRSV coexistentes con *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica*), favoreciendo la proliferación bacteriana Calsín (2008).

Este hecho nos muestra que las crías de alpacas entre el nacimiento y los dos primeros meses de vida exigen mayor cuidado y un adecuado programa de prevención y control de sus enfermedades infecciosas, que

constituyen los principales problemas sanitarios y a partir del año 2000 hasta 2019 no se tiene reportes científicos de la mortalidad de crías de alpacas por causas de neumonía ni en la sierra central y ni en el sur que son de mayor producción alpaquera del Perú

2.3.4 Factores predisponentes de patologías neumónicas en alpacas

Bustinza (2000), Sostiene que en la presentación de los procesos neumónicos concurren factores predisponentes, los cuales son múltiples y a veces difíciles de identificar como: el medio ambiente, el estado del animal y unos diversos agentes infecciosos como se detalla.

a) Factores intrínsecos

La edad

(Pizarro 1999) y Bustinza (2000), mencionan que la edad de las alpacas juega un papel muy importante en la sobrevivencia, así las crías son más susceptibles que los tuis y estas más que las adultas y la mortalidad en los primeros 30 días es mayor cuanto más joven es el animal y que generalmente la mortalidad neonatal es de causa infecciosa, pero puede variar de acuerdo al lugar, lo mismo que el índice de mortalidad Ameghino and De Martini (1991).

La Raza

Ameghino & De Martini (1991) y Bustinza (2000), reportan que los animales de Raza Suri son más susceptibles que los de Raza Huacaya y esto se debe a que las alpacas de Raza Suri son portadoras de genes semiletales.

a). Factores extrínsecos

El estrés

Pizarro (1999), menciona que en el sistema de manejo como la época del destete provoca el estrés en los animales jóvenes por el cambio de ambiente, alimentación debido a que estos animales dejan de mamar Bustinza (2000).

Malnutrición de las madres.

Huanca et al. (2011), reportaron que el hábitat natural de la alpaca son los ecosistemas andinos localizados entre los 3800 y 5000 metros sobre el nivel del mar, cuyos pastos son muy pobre en nutrientes debido a las condiciones del suelo con la erosión y esto se sumaría la mala selección de campos o en su defecto la selección de campos pobres, lo cual ocasiona una falta de producción de leche en la madre y por lo que nacen crías débiles Pizarro (1999),; Bustinza (2000), además existen una predominancia de un sistemas de crianza extensiva en los cuales se practica la crianza mixta incluyendo llamas y ovinos Quispe et al. (2009).

Condiciones de los dormideros.

Para Bustinza (2000), las malas condiciones higiénicas de los dormideros, especialmente en época de parición, en donde los canchones están llenos de barro o con mucho guano son determinantes para la presencia de casos de neumonía, además de ello sostiene que el suministro de biberón es muy frecuente en caso de las crías huérfanas o “chitas” que es un factor predisponente inadecuado en malas condiciones higiénicas.

Transporte.

Las rotaciones de dormideros, viajes largos, caminatas, transporte para los repoblamientos en áreas o zonas diferentes causan tensión y estrés en los animales, lo cual también los hace predisponentes Zavaleta (1991), ya que en las caminatas las crías siguen a sus madres, acompañándolas así en las diferentes actividades ganaderas ya sean baños, dosificaciones, esquila, entre otras Ameghino y De Martini (1991) y Bustinza (2000)

Suministro de calostro.

Las crías, debido al excesivo frío, lluvia o nieve no pueden lactar a las madres esencialmente el calostro Pizarro (1999), Bustinza (2000), lo cual ocasiona debilidad y deficiente inmunidad pasiva en la cría Ramírez et al.

(1998). Se debe tener especial atención con el consumo de calostro y leche en las crías, procurando que sea adecuado, de lo contrario suplementar y disponer de pastos para los adultos Sepúlveda (2011).

La ingestión del calostro debe ser dentro de las primeras 72 horas de vida del recién nacido Pizarro (1999); se ha encontrado asociación entre los procesos neumónicos y niveles bajos de Ig G (9-15mg/ml) en crías menores de 21 días de edad Ramírez et al. (1998).

Registraron niveles de Ig relativamente bajos. Es decir que hubo fallas completa o parcial en la transferencia de dichas inmunoglobulinas a través del calostro, con este caso existe una estrecha correlación entre la mortalidad de crías por estas neumonías en particular, y la concentración de anticuerpos en el suero sanguíneo Ameghino y De Martini (1991).

Época del año.

Para Pizarro (1999), Bustinza (2000), sostiene que el periodo de parición de las alpacas es en los meses de enero a marzo, por las condiciones de clima de puna, es en esa época en donde hay fuertes vientos, haciéndose más resistentes a partir de los dos meses de edad por el desarrollo del vellón que las protege.

Condiciones medioambientales.

Estrés por frío excesivo, lluvias excesivas, nevadas, heladas Ramírez et al. (1998); Pizarro (1999), Bustinza (2000), con llevan a un enfriamiento ambiental y partos distócicos Ramírez et al. (1998); Bustinza (2001) especialmente en las crías recién nacidas, que son las más susceptibles, pues se ha observado que por esta causa mueren el 1,96 de las crías de alpacas Bustinza (2000).

Por otro lado, algunos estudios realizados en el año 1972 la mortalidad de las crías fue mayor que en 1973, no obstante, en aquel año llovió más, en consecuencia, se deberían por deficiencia de pasto y las

madres no podían alimentar mejor a sus crías Bustinza (2000). Es necesario señalar, que las alpacas normalmente no paren en días lluviosos, y sólo lo hacen por la mañana, hasta la 1 p.m., nunca de noche, ni por la tarde, como un mecanismo de adaptación biológico, a las condiciones extremas de clima, ya que en la alta puna, la temperatura puede descender por debajo de los 15°C, inclusive en época de lluvias, donde la diferencia térmica no es tan extrema, como ocurre, en épocas de secas, en donde la temperatura ambiental, baja por debajo de los - 5°C por la noche, además de correr fuertes vientos Bustinza (2000).

2.3.5 Mecanismo de acción de los antibióticos

Existen diversos mecanismos de acción por los cuales los antibióticos actúan como bacterioestáticos o bactericidas. En el trabajo, se agruparán a los antibióticos más importantes según la función que inhiben: síntesis de pared bacteriana, síntesis de proteínas, replicación del ADN e inhibición del metabolismo.

Síntesis de pared bacteriana

El peptidoglucano proporciona a la célula estabilidad rígida debido a su estructura altamente reticulada y su síntesis tiene 3 etapas. La primera y segunda tienen lugar en el citoplasma. Inicialmente, hay un enlace de amino azúcar seguido de la adición de aminoácidos específicos (L-alanina, ácido D-glutámico, L-lisina, seguido de un dipéptido, D-alanil-D-alanina) en un orden prescrito para formar difosfato de uridina (UDP) -acetilmuramil-pentapéptido. La etapa final se produce fuera de la célula para completar el enlace cruzado, cuando se agregan nuevas subunidades al peptidoglucano en crecimiento. El residuo de glicina terminal del puente de pentaglicina está relacionado con el cuarto residuo del pentapéptido (Dalanina), liberando el quinto residuo (D-alanina) Typas et al. (2011).

Los β -lactámicos (cefalosporinas, penicilinas, carbapenems) interfieren con el último paso en la síntesis de peptidoglucano al actuar

como un análogo de la porción de D-alanina-D-alanina del residuo N-acetilmurámico. La conformación de penicilina es muy similar a la de D-alanina-D-alanina, por lo que las transpeptidasas (PBP: proteínas fijadoras de penicilinas) reaccionan con el núcleo del β -lactámico, inactivando la reacción de transpeptidasa y dando como resultado la formación de nuevas cadenas de peptidoglucano con poca resistencia a la tracción.

Los puntos débiles se desarrollan en la pared celular en crecimiento, lo que da como resultado la ruptura celular debido a la lisis osmótica Josephine et al. (2004). Por otro lado, los glucopéptidos como la vancomicina inhiben la síntesis de peptidoglucano mediante la unión al dipéptido D-alanina-D-alanina y bloqueando la actividad transglicosilasa y transpeptidasa Kahne et al. (2005).

Los β -lactámicos pueden ser usados contra bacterias Gram-positivas o Gram negativas, mientras que los glucopéptidos son efectivos sólo contra Gram-positivas, debido a la baja permeabilidad que posee Kohanski et al. (2010).

Síntesis de proteínas

El proceso de traducción del ARNm se produce en tres fases secuenciales (iniciación, elongación y terminación) que involucran al ribosoma y un conjunto de factores accesorios citoplasmáticos Lodish et al. (2000). El ribosoma está compuesto por dos subunidades: 50S y 30S. Los fármacos que inhiben la síntesis de proteínas se encuentran entre las clases más amplias de antibióticos y se pueden dividir en dos subclases: los inhibidores de subunidad 50S y los de subunidad 30S Kohanski et al. (2010).

Los inhibidores de ribosoma 50S incluyen las clases de antibióticos macrólidos (p. Ej., Eritromicina), lincosamidas (p. Ej., Clindamicina), estreptogramina (p. Ej., Dalfopristina / quinupristina), amfenicoles (p. Ej., Cloranfenicol) y oxazolidinona (por ejemplo, linezolid) Katz y Ashley, (2005). Estos antibióticos funcionan bloqueando físicamente la iniciación

de la traducción de proteínas (como es el caso de las oxazolidinonas) (Patel et al. 2001), o la translocación de peptidil-ARNt, lo que sirve para inhibir la reacción de la peptidiltransferasa que elonga la cadena del péptido naciente Menninger & Otto (1982); Kohanski et al. (2010).

Los inhibidores de ribosomas 30S incluyen las familias de antibióticos como tetraciclinas y aminociclitolos. Las tetraciclinas funcionan bloqueando el acceso de aminoacil-ARNt al ribosoma Chopra & Roberts (2001). Los aminociclitols están compuestos por espectinomicina y aminoglucósidos (por ejemplo, estreptomicina, kanamicina y gentamicina), que se unen al componente ARNr 16S de la subunidad ribosómica 30S. La espectinomicina interfiere con la estabilidad de la unión del peptidil-tRNA al ribosoma mediante la inhibición de la translocación catalizada por el factor de elongación, pero no causa una mala traducción de la proteína Hancock & Brinkman (2002). Por el contrario, la interacción entre los aminoglucósidos y el ARNr 16S puede inducir una alteración en la conformación del complejo formado entre un codón de ARNm y su aminoacil-ARNt cargado análogo en el ribosoma, promoviendo el desacoplamiento de ARNt que puede dar lugar a una mala traducción de proteínas (Pape et al. 2000).

Replicación del ADN

El ADN girasa es una de las topoisomerasas de ADN que actúa durante la replicación del ADN para reducir la tensión molecular causada por el super enrollamiento. El ADN girasa produce cortes de doble cadena y después son unidos por la ligasa Lodish et al. (2000), Espeli (2004). Las quinolonas son un grupo de antibióticos cuyo objetivo es interferir en la síntesis del ADN, interactuando con dos enzimas: ADN girasa (genes *gyrA* y *gyrB*) y topoisomerasa IV (genes *parC* y *parE*). Generalmente, el blanco en bacterias gram-negativas es el ADN girasa y la topoisomerasa IV en gram-positivas Belland et al. (1994); (Blondeau 2004).

Metabolismo bacteriano

Un ejemplo típico de este mecanismo de resistencia es el empleado por las sulfonamidas. Su acción se basa en la selectividad a la enzima dihidropteroato sintetasa (DHPS) que cataliza la condensación de ácido p-aminobenzoico (PABA) y 7,8- dihidro-6-hidroximetilpterin-pirofosfato (DHPPP) para formar ácido dihidropteroico, que es el penúltimo paso en la formación de ácido dihidrofólico Ola (2000).

Las células de los mamíferos no dependen de la síntesis endógena de ácido fólico, y generalmente carecen de DHPS, por lo que es consumido en la dieta. Los eucariotas superiores pueden utilizar folatos dietéticos por absorción a través de un sistema de transporte, que la mayoría de los procariotas y algunos eucariotas menores no poseen. Estos tienen que sintetizar folatos de novo a partir de moléculas pequeñas, incluida la formación de ácido dihidropteroico catalizado por DHPS. Esta es la base del efecto selectivo de las sulfonamidas sobre las bacterias y su amplio espectro de actividad antibacteriana Ola (2000).

2.3.6 Mecanismos de resistencia antibiótica

Las bacterias han evolucionado con el paso de los años y han adquirido diversos mecanismos de resistencia a múltiples antibióticos. Mediante el uso de mecanismos intrínsecos o adquiridos, las bacterias pueden sobrevivir el efecto de los antibióticos Giedraitienė et al. (2011); Munita y Arias (2016).

Modificaciones de la molécula antibiótica

Una de las estrategias más exitosas por parte de las bacterias es la producción de enzimas que destruyan a los antibióticos, impidiendo su acción Munita y Arias (2016).

Alteraciones químicas

La producción de enzimas capaces de generar cambios químicos en la molécula antibiótica es un mecanismo ampliamente estudiado en bacterias Gram-negativas y Gram-positivas. La mayoría de los antibióticos afectados por este mecanismo son aquellos que ejercen su acción inhibiendo la síntesis de proteínas de la bacteria a un nivel ribosomal (Wilson 2014). Se han descrito muchos tipos de enzimas capaces de desarrollar múltiples reacciones bioquímicas: acetilación (aminoglucósidos, cloranfenicol, estreptograminas), fosforilación (aminoglucósidos, cloranfenicol) y adenilación (aminoglucósidos, lincosamidas). Cualquiera de estos mecanismos genera una disminución de la avidez del antibiótico por su diana Munita y Arias (2016). Un ejemplo de este mecanismo de resistencia son las enzimas que actúan sobre los aminoglucósidos, que son ampliamente utilizados en todo el mundo, y son un componente esencial en el tratamiento de infecciones (Kotra et al. 2000). Su eficacia se ve disminuida notablemente por el surgimiento de las enzimas modificadoras de aminoglucósidos (AME) presentes en prácticamente en casi todos los géneros bacterianos Ramirez y Tolmasky (2010). La nomenclatura de clasificación considera su actividad bioquímica (Figura 3): ACC (Acetiltransferasas), ANT (Adeniltransferasas) y APH (Fosfotransferasas) Munita y Arias (2016).

La familia APH se encuentra ampliamente distribuida en gram-positivos y gramnegativos y altera la estructura de la kanamicina y estreptomycin, pero no afecta a la Gentamicina o tobramicina Diaz et al. (2005). Por otro lado, la familia AAC se encuentra principalmente en Gram-negativos incluyendo Enterobacteriaceae, Pseudomonas y Acinetobacter, y afecta a más aminoglucósidos, incluyendo a la Amikacina y Gentamicina Ramirez y Tolmasky (2010). Por otro lado, la familia ANT afecta a Gentamicina y Tobramicina y los genes que la codifican pueden estar

presentes en Gram-positivos y Gram-negativos Ramirez y Tolmasky (2010).

Algunas de estas enzimas han evolucionado para tener más de una actividad bioquímica, como AAC (6') APH (2'') presente en Gram-positivos Hollenbeck y Rice (2012).

Destrucción de la molécula antibiótica

La destrucción del antibiótico mediante el uso de enzimas es el principal mecanismo de resistencia a los β -lactámicos, por la acción de las β -lactamasas. Estas enzimas destruyen el enlace amida del anillo de β -lactámico como penicilinas, monobactams, y carbapenems Öztürk et al. (2015). Las β -lactamasas se describieron por primera vez a principios de la década de 1940, un año antes de que se introdujera la penicilina en el mercado Abraham y Chain (1988). Sin embargo, diversos estudios han señalado que estas enzimas o precursores relacionados, han estado presentes en fuentes naturales mucho antes, proveyendo un ambiente protector para los microorganismos capaces de producirlos Medeiros (1997). Es indiscutible que la prevalencia y variedad de β -lactamasas se han multiplicado dramáticamente en los últimos años con el uso de β -lactámicos de manera terapéutica Knapp et al. (2010).

Como un ejemplo, las infecciones causadas por *Staphylococcus aureus* resistente a penicilina se volvieron clínicamente relevantes después de que la penicilina se hizo ampliamente disponible y se descubrió que el mecanismo de resistencia era una penicilinasas codificada por plásmido que se transmitía fácilmente entre cepas, lo que producía una diseminación rápida del rasgo de resistencia Bush (2013).

Para superar este problema, se fabricaron nuevos compuestos de β -lactámicos con un espectro de actividad más amplio y una menor susceptibilidad a las penicilinasas (como la ampicilina). Sin embargo, durante la década de 1960 se encontró una nueva β -lactamasa codificada

por plásmido capaz de hidrolizar la ampicilina entre gramnegativos (denominada TEM-1 después del nombre del paciente en el que se encontró originalmente [Temoneira]) Paterson and Bonomo (2005). A partir de entonces, el desarrollo de nuevas generaciones de β -lactámicos ha seguido a la rápida aparición de enzimas capaces de hidrolizarlos, debido a la presión selectiva que nosotros realizamos sobre las comunidades microbianas Munita y Arias (2016).

Se han descrito más de 1,000 β -lactamasas diferentes y es probable que se sigan encontrando más, como parte normal del proceso de evolución bacteriana Lahey (2015). En los años 80 se introdujeron al mercado antibióticos β -lactámicos de amplio espectro e inhibidores de β -lactamasas Bradford (2001). Sin embargo, ocurrió una rápida emergencia de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) con resistencia a cefalosporinas como ceftazidima y cefotaxime Knothe et al. (1983), Paterson and Bonomo (2005).

Existen dos esquemas de clasificación de β -lactamasas mundialmente aceptados. En primer lugar, la clasificación se basa en la identidad de la secuencia de aminoácidos y separa las β -lactamasas en 4 grupos (A-D). Por otro lado, la clasificación de Bush-Jacoby divide β -lactamasas en 3 categorías de acuerdo con su función bioquímica, basada principalmente en la especificidad del sustrato Bush (2013).

El Grupo 1 contiene a las cefalosporinasas (correspondiente a la Clase C), el Grupo 2 contiene a las serin β -lactamasas (Clases A y D) y el Grupo 3 a las metalo β -lactamasas (Clase B), cada una dividida en varios grupos Bush et al. (1995).

Ingreso del antibiótico: Disminución de la permeabilidad

La mayoría de los antibióticos se dirigen a procesos/moléculas intracelulares y deben tener la capacidad penetrar la membrana citoplasmática o la membrana externa de las células bacterianas. En

particular, la membrana externa de bacterias Gram-negativas proporciona una barrera formidable Delcour (2009). Las bacterias han desarrollado mecanismos para evitar que el antibiótico alcance su objetivo al disminuir la absorción de la molécula antimicrobiana. Este mecanismo es particularmente importante en las bacterias Gram-negativas, lo que limita la afluencia de sustancias del medio externo. De hecho, la membrana externa actúa como la primera línea de defensa contra la penetración de múltiples compuestos tóxicos, incluidos varios agentes antimicrobianos Munita y Arias (2016).

Existen esencialmente dos vías que los antibióticos pueden tomar a través de la membrana externa: una vía mediada por lípidos para antibióticos hidrófobos, y otra por porinas de difusión general para antibióticos hidrófilos. Las composiciones de lípidos y proteínas de la membrana externa tienen un fuerte impacto en la sensibilidad de las bacterias a muchos tipos de antibióticos, y la resistencia a los medicamentos que implican modificaciones de estas macromoléculas es común Delcour (2009).

La membrana externa en bacterias Gram-negativas es considerada la primera línea de defensa contra componentes tóxicos Nikaido (2003). Esta barrera está compuesta por una bicapa fosfolipídica impermeable a moléculas grandes y con carga. El paso de moléculas del exterior al espacio intracelular es mediado por porinas, permitiendo la penetración pasiva de moléculas hidrofílicas Nikaido (2003); Delcour (2009). (Figura 6). Los β -lactámicos, tetraciclinas y algunas fluoroquinolonas son ejemplos de antibióticos hidrofílicos que son afectados por cambios en la permeabilidad de la membrana externa Pagès et al. (2008).

El principal ejemplo de la eficacia de esta barrera natural es el hecho de que la vancomicina, un antibiótico glucopéptido, no es activo contra organismos gramnegativos debido a la falta de penetración a través de la membrana externa. Del mismo modo, la resistencia natural de *Pseudomonas* y *Acinetobacter baumannii* a los β -lactámicos (en comparación con

Enterobacteriaceae) puede explicarse, al menos en parte, a un número reducido y/o expresión diferencial de porinas Hancock and Brinkman (2002).

Este mecanismo de resistencia se ha encontrado en diversas especies bacterianas como *Enterococcus cloacae*, *Salmonella* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Acinetobacter baumannii* entre otros. Un ejemplo es *Pseudomonas aeruginosa* que posee una proteína de membrana externa aberrante denominada OprD, normalmente utilizada para la absorción de aminoácidos básicos y antibióticos (como el imipenem, un potente antibiótico utilizado contra cepas de *Pseudomonas aeruginosa*).

Las mutaciones del gen *oprD* surgen en aislados clínicos de *P. aeruginosa* durante el tratamiento. Otro ejemplo demuestra las cepas de *Klebsiella pneumoniae* posterior a una terapia antibiótica. Se ha encontrado que aislados posttratamiento exhiben un cambio en expresión de porinas OmpK35 y Omp36, evento relacionado con la disminución de 4-8 veces en la sensibilidad a una amplia gama de β -lactámicos (Doménech et al. 2003) y (Hasdemir et al. 2004).

Bombas de eflujo

La producción de maquinarias bacterianas complejas capaces de transportar un compuesto tóxico fuera de la célula también puede producir resistencia a los antimicrobianos. Estas bombas no sólo transportan al exterior las moléculas antibióticas, también llevan a la adquisición de mecanismos de resistencia disminuyendo la concentración del antibiótico intracelular y promoviendo el acúmulo de mutaciones Sun et al. (2014) y Munita y Arias (2016).

Adicionalmente, existe evidencia que sugiere que las bombas de eflujo también tienen funciones fisiológicas y que su expresión va ligada a una respuesta a señales ambientales y fisiológicas Sun et al. (2014). En 1980 se describió en *Escherichia coli* la capacidad de bombear al exterior

tetraciclina mediante una bomba de eflujo. Desde entonces, muchas clases de estas bombas han sido caracterizadas en bacterias gram-positivas y gram-negativas. Estos sistemas pueden ser sustrato-específicos o con capacidad de movilizar una amplia variedad de moléculas, como en las bacterias multirresistentes (MDR) Poole (2005).

Hay 5 familias principales de bombas de eflujo (Figura 7), que incluyen 1) la superfamilia facilitadora principal (MFS), 2) la familia de resistencia a múltiples fármacos (SMR), 3) la familia de división de células nodulares de resistencia (RND), 4) familia de cassettes de unión a ATP (ABC), y 5) la familia de extrusión de compuestos múltiples y tóxicos (MATE). Estas familias difieren en términos de conformación estructural, fuente de energía, rango de sustratos que pueden extruir y en el tipo de organismos bacterianos en los que se distribuyen Piddock (2006).

Cambios en la molécula diana

Una estrategia común para que las bacterias desarrollen resistencia antimicrobiana es evitar la acción del antibiótico interfiriendo con su molécula diana objetivo. Para lograr esto, las bacterias han desarrollado diferentes tácticas, que incluyen la protección del objetivo (evitando que el antibiótico llegue a su sitio de unión) y modificaciones del sitio objetivo que resultan en una disminución de la afinidad por la molécula de antibiótico Munita y Arias (2016).

Protección de antibióticos

Los antibióticos afectados por este mecanismo son la tetraciclina (Tet [M] y Tet [O]), fluoroquinolonas (Qnr), ácido fusídico (FusB y FusC) entre otros. Por ejemplo, Tet (M) fue descrito inicialmente en *Streptococcus* spp. y Tet (O) en *Campylobacter jejuni*. En la actualidad se encuentran ampliamente distribuidos entre diferentes especies bacterianas, probablemente debido a su ubicación en plásmidos y transposones conjugativos Connell et al., (2003). Ambos interactúan a nivel ribosomal y ‘desalojan’ a la tetraciclina

de su sitio de unión utilizando GTP impidiendo así su acción Dönhöfer et al. (2012). Otro ejemplo es la proteína Qnr, un determinante de resistencia a fluoroquinolonas mediado por plásmidos. Fue inicialmente descrito en un aislado de *Klebsiella pneumoniae* en 1990 Martínez et al. (1998). Actúa como un homólogo de ADN que compite por el sitio de unión de ADN de la ADN-girasa y topoisomerasa IV. La disminución de esta interacción disminuye las oportunidades de la quinolona para formar y estabilizar el complejo ADN-quinolona Rodríguez et al. (2011).

Modificación

La introducción de modificaciones en el sitio objetivo es uno de los mecanismos más comunes de resistencia a antibióticos en patógenos bacterianos. Estos cambios diana pueden consistir en 1) mutaciones puntuales en los genes que codifican el sitio diana, 2) alteraciones enzimáticas del sitio de unión y 3) reemplazo o derivación del objetivo original. El resultado es la disminución de la afinidad del antibiótico con su diana Munita y Arias (2016).

Mutaciones del sitio blanco

Un ejemplo bien caracterizado de resistencia son las mutaciones de resistencia a fluoroquinolonas. Esta familia de antibióticos interrumpe la replicación del ADN mediante la inhibición de dos enzimas cruciales: ADN girasa y topoisomerasa IV. El desarrollo de mutaciones cromosómicas en los genes *gyrA* (ADN girasa) y *parC*/*parE* (topoisomerasa IV) es el mecanismo más frecuente de resistencia adquirida a las fluoroquinolonas Vakili et al. (2014).

Alteración enzimática del sitio blanco

Un ejemplo es la metilación del ribosoma catalizado por una enzima codificada por los genes *erm* (metilación ribosómica de la eritromicina), que da como resultado resistencia a los macrólidos. Estas enzimas son capaces de mono o dimetilar un residuo de adenina en la posición A2058 del

dominio V del ARN 23r de la subunidad ribosómica 50S. Debido a este cambio bioquímico, la unión de la molécula antimicrobiana a su objetivo se ve afectada. Es importante destacar que, dado que los antibióticos macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B tienen sitios de unión superpuestos en el ARNr 23S, la expresión de los genes *erm* confiere resistencia cruzada a todos los miembros del grupo MLSB (macrólidos-lincosamidas estreptogramina B) Leclercq (2002).

Estos genes están ampliamente distribuidos y ahora se han encontrado en más de 30 géneros bacterianos diferentes. La resistencia mediada por *Erm* conlleva un importante costo de aptitud bacteriana debido a una traducción menos eficaz por parte del ribosoma metilado. Por lo tanto, aunque el fenotipo de MLSB puede expresarse de manera constitutiva, en la mayoría de los casos está sujeto a un control estricto a través de una compleja regulación génica post-transcripcional Leclercq (2002).

A través de este mecanismo, las bacterias que crecen en ausencia de antibióticos producen un transcrito de ARNm inactivo que no se puede traducir en la proteína deseada (en este caso, una metilasa). Por el contrario, en presencia de antibiótico, la transcripción se activa y el sistema está preparado para conferir resistencia rápida Katz y Ashley (2005).

Reemplazo completo del sitio blanco

Usando esta estrategia, los ejemplos más relevantes incluyen la resistencia a la meticilina en *Staphylococcus aureus* debido a la adquisición de una PBP (proteína fijadora de penicilina) exógena (PBP2a) y resistencia a la vancomicina en los enterococos mediante modificaciones de la estructura del peptidoglicano mediada por los grupos de genes *van* Munita y Arias (2016). Los β -lactámicos tienen la capacidad de alterar la síntesis del peptidoglucano de la pared celular bacteriana mediante la inhibición de las PBP, responsables de la transpeptidación y transglicosilación del peptidoglucano Heesemann (1993); (Koch 2000); (Kong et al. 2010).

La resistencia a la meticilina en *S. aureus* es el resultado de la adquisición de un gen extraño (probablemente de *Staphylococcus sciuri*) designada *mecA* a menudo localizado en un fragmento de ADN denominado casete cromosómico estafilocócico (SCCmec). El gen *mecA* codifica PBP2a, una PBP que tiene baja afinidad por todos los β -lactámicos, incluidas las penicilinas, las cefalosporinas (excepto los compuestos de última generación) y los carbapenémicos Arêde et al. (2012) Munita y Arias (2016).

Otro ejemplo importante de la estrategia de sustitución y derivación para lograr resistencia está relacionado con la resistencia a vancomicina. De forma similar a los β -lactámicos, los glucopéptidos (vancomicina y teicoplanina) inhiben la síntesis de la pared celular. Los glucopéptidos no interactúan directamente con los PBP, se unen al terminal D-alanina-D-alanina (D-Ala-D-Ala) de la fracción de pentapéptido de los precursores de peptidoglicano nacientes, resultando en la inhibición de la síntesis de la pared (Gardete y Tomasz 2014); Faron et al. (2016).

2.4 Definición de términos

Análisis de sensibilidad a antibióticos (ASA): Término genérico para la determinación en el laboratorio de la prueba de difusión en disco o la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI).

Antibiograma: Resultado del análisis de laboratorio para determinar la sensibilidad de una cepa bacteriana aislada a diferentes antibióticos. Los antibiogramas se pueden recopilar para obtener antibiogramas acumulativos, que pueden ayudar a elaborar recomendaciones de prescripción en el ámbito nacional, regional o de un hospital.

Antibiótico: Sustancia química; en particular, producida por un microorganismo que mata o inhibe el crecimiento de bacterias a muy baja concentración.

Antimicrobiano: Sustancia química que mata o inhibe el crecimiento de microorganismos como bacterias, virus u hongos.

Antimicrobianos de amplio espectro: Antimicrobianos que presentan actividad frente a varios microorganismos con distintos mecanismos de resistencia.

Bacteriemia: Infección en la que se produce (y se identifica) la presencia de bacterias en la sangre.

Cepa: Variante genética o subtipo de microorganismo de virus, bacteria u hongo.

Cepa bacteriana aislada: Separación de cepas bacterianas mezcladas en cepas individuales para permitir su identificación.

CMB (Concentración Mínima Bactericida): La concentración más baja de un antibiótico que mata a una cepa bacteriana.

CMI (concentración mínima inhibitoria): Medición cuantitativa (expresada en mg/l o µg/ml) de la actividad de un antibiótico específico frente a una cepa aislada particular.

Difusión en disco: Método de laboratorio ampliamente utilizado para medir la actividad de un antibiótico específico frente a una cepa aislada particular.

Farmacodinámica (FD): Estudio de los efectos bioquímicos y fisiológicos de los fármacos sobre el organismo o sobre los microorganismos o parásitos que se encuentran en él, y los mecanismos de acción del fármaco.

Farmacocinética (FC): Las interacciones características entre un fármaco y el organismo, en lo que respecta a su absorción, distribución, metabolismo y excreción.

Resistencia bacteriana: La resistencia bacteriana es la capacidad que tienen las bacterias de soportar los efectos de los antibióticos o biocidas destinados a eliminarlas o controlarlas.

Resistencia múltiple o multirresistencia: Es cuando una cepa bacteriana es resistente a varios antimicrobianos o tipos de antimicrobianos distintos. Por ejemplo, la tuberculosis multirresistente es resistente de forma simultánea a diversos antibióticos que pertenecen a diferentes grupos químicos.

2.5 Identificación de Variables

La investigación es univariable: Susceptibilidad antibiótica frente a agentes bacterianos neumónicos de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*.

2.5.1 Definición operacional de la variable

Tabla 4
Operacionalización de variables

VARIABLE	DIMENSIONES	SUBDIMENSIONES	INDICADOR	INSTRUMENTO DE MEDICIÓN
Susceptibilidad antibiótica frente a agentes bacterianos neumónicos	<i>Mannheimia haemolytica</i>	Levofloxacin Ciprofloxacina Penicilina Tetraciclina Amoxicillin-clavulanic acid Estreptomycin	Antibióticos que presenten halos de inhibición y los puntos de corte según la tabla de estándares de antibióticos por el CLSI (2019) serán denominados: sensibles (S), Intermedio (I) y resistentes (R) frente a las Cepas de <i>Mannheimia haemolytica</i> como se detalla a continuación: Levofloxacin: $S \geq 27$; $R \leq 26$ Ciprofloxacina: $S \geq 27$; $R \leq 26$ Penicilina: $S \geq 17$; $R \leq 16$ Tetraciclina: $S \geq 24$; $R \leq 23$ Amoxicillin-clavulanic acid: $S \geq 15$; $R \leq 14$ Estreptomycin: $S \geq 22$; $R \leq 21$	Test de pruebas bioquímicas
	<i>Pasteurella multocida</i>	Levofloxacin Ciprofloxacina Penicilina Tetraciclina Amoxicillin-clavulanic acid Estreptomycin	Antibióticos que presenten halos de inhibición y los puntos de corte según la tabla de estándares de antibióticos por el CLSI (2019) serán denominados: sensibles (S), Intermedio (I) y resistentes (R) frente a las Cepas de <i>Pasteurella multocida</i> como se detalla a continuación: Levofloxacin: $S \geq 27$; $R \leq 26$ Ciprofloxacina: $S \geq 27$; $R \leq 26$ Penicilina: $S \geq 17$; $R \leq 16$ Tetraciclina: $S \geq 24$; $R \leq 23$ Amoxicillin-clavulanic acid: $S \geq 15$; $R \leq 14$ Estreptomycin: $S \geq 22$; $R \leq 21$	Test de pruebas bioquímicas

Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de investigación

El tipo de investigación es básica, debido a que nos permitió encontrar el perfil de susceptibilidad antibiótica de cepas de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aislados de crías de alpacas con signos de neumonía Carrasco (2006).

3.2. Nivel de investigación

El estudio es de nivel de investigación descriptivo Transversal Hernández et al. (2014) y Carrasco (2006), debido a que se llegó a conocer el perfil susceptibilidad antibiótica de cepas de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía.

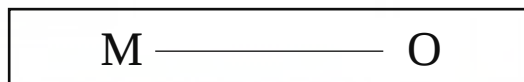
3.3. Método de Investigación

En la investigación se utilizó el método científico para lograr los objetivos de la investigación Carrasco (2006) y como específicos se realizó mediante los métodos analíticos y explicativo.

3.4. Diseño de investigación

En el estudio se utilizó el diseño descriptivo simple, debido a que en la investigación se buscó y recogió información en base a una situación previamente determinada de los objetivos y no presentándose ninguna

administración a control de tratamiento Carrasco (2006), para ello se muestra el modelo del diseño.



M = Grupo de estudios: cepas de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía.

O = Resultados de la susceptibilidad antibiótica en los antibióticos veterinarios más usuales frente a cepas de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aislados de crías de alpacas con signos de neumonía

3.5. Población, muestra y muestreo

3.5.1. Población

La población de estudio se consideró como referencial 4 comunidades campesinas con tendencias altas de mortalidades de crías de alpacas aparentemente por causas de neumonías aledaños al distrito de Huancavelica, haciendo un total referencial mínimo 95 muestras de hisopados nasales aislados de crías de alpaca.

3.5.2. Muestra

Se consideró de tipo no probabilístico basado según el teorema del límite central Camacho (2002). Considerando un mínimo de 60 muestras positivas de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* presentes en crías de alpacas con signos de neumonía, debido a que no se conoce la tendencia de la prevalencia de estos agentes bacterianos.

3.5.3. Muestreo

Se llevó a cabo un muestreo no probabilístico, tipo intencional, donde tuvimos 95 muestras de hisopados nasales, aislados de crías de alpacas huacaya con casos de neumonía menores de 60 días de nacidos, de la población formaron parte de la muestra.

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.6.1. Técnicas

Técnica de observación: Son procesos sistemáticos que permitieron la recopilación y registro de datos significativos para el investigador lo cual estuvo acompañado a través de las fichas de evaluación y registro Carrasco (2006) y Aceituno et al. (2020) por ello utilizamos esta técnica porque nos permitió observar los procesos de experimentación en laboratorio y en base a ello pudimos obtener datos reales y objetivas planteados en la investigación.

Pruebas bioquímicas: Permitió aislar e identificar cepas puras de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* que fueron provenientes de las muestras de crías de alpacas con signos de neumonía y referencia al Manual de Bacteriología Bergey's (2008).

Test de Kirby Bauer y puntos de corte considerados (CLSI, 2019).- Permitió evaluar e identificar los valores de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los halos y los puntos de corte de categorías de: R[resistencia], S[sensible], que presento las cepas de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía frente a los diferentes antibióticos probados que se tuvo en consideración el Manual de Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (CLSI, 2019) & De Toro et al. (2014).

3.6.2. Instrumentos

Cuenta colonias

Placas Petri de 30 ml

Agar nutritivo

Aza de kolle

3.7. Procedimiento de recolección de datos

1) A nivel de campo

a) Recolección de muestras

Se identificaron crías de alpacas que presenten signos de neumonía de las diferentes comunidades más predominantes de esta especie y aledaños a la provincia de Huancavelica, Perú (Tansiri, Alto Andino, Pucapampa y Santa Rosa de Pachaclla), de ello se muestrearon según el teorema del límite central considerando un mínimo de 60 muestras de hisopados nasales, las muestras se recolectaron por hisopos en criobales estériles con búfer peptonada en horarios de madrugada (6:00 am a 7:30 am) sin la presencia de rayos solares con eficiente manejo de bioseguridad, rotulados y registrados Carhuapoma et. al. (2018), transportados en un medio refrigerante a temperatura 8-12°C (caja tecnopor con hielo biológico) al Laboratorio de Salud Animal de la Universidad Nacional de Huancavelica.

2) A nivel de laboratorio

a) Aislamiento e identificación bacteriológica.

Las muestras extraídas por hisopos nasales de las crías de alpacas con signos de neumonía fueron cultivadas en Agar Base Columbia enriquecido con sangre de alpaca desfebrinada estéril al 5% (SAD) y como inhibido de microorganismos se agregó Gentamicina (0,75 µg/mL) para la *Pasteurella multocida* y la *Mannheimia haemolytica* fueron cultivados en agar de infusión Cerebro Corazón (BIH) enriquecidos con sangre de alpaca desfebrinada estéril al 5% (SAD) y adicionamos Gentamicina (0,75 µg/ml) como inhibido de microorganismos e incubados a 37°C/ 24 horas a procesos aeróbicos, según Moore et al. (1994) & Avril et al. (1990).

b) Identificación bacteriana

Morfología celular

Para la identificación morfológica de las cepas de *Pasteurella multocida* y la *Mannheimia haemolytica*, se realizó a través de extendidos de tinción de Gram, que incluye la solución de colorante: violeta cristal, safranina y solución de lugol, además se realizó la identificación macroscópica donde las Cepas fueron identificados según la morfología que presentaron como: cilíndrico, elevación, convexa, cremosa, microscópica (grupo y tención Gram) y las pruebas de hemolíticas (β hemolítica, α hemolítica y hemolítica).

Pruebas Bioquímicas

Para una mejor identificación de las cepas de *Pasteurella multocida* y la *Mannheimia haemolytica* se inocularon en medios de agar Hierro tres azúcares (TSI), Lisina (LIA), Citrato de Simmons (HS4), SIM, Caldos úrea e incubados a 37° c / 24 horas, además se realizarán las pruebas de Voges-Proskauer, MIO y catalasa según el Manual de Bacteriología Bergey's (2008).

c) Estudios de sensibilidad

La sensibilidad antibiótica se realizó mediante el Método de Kirby Bauer para ello se preparó suspensiones bacterianas en solución salina 0,9% a una turbidez de 0,5 en la escala de Mc Farland a partir del cultivo fresco y enriquecida en caldo infusión Cerebro Corazón (BIH) e incubados a 37°C / 3 horas De Toro et al. (2014): Carhuapoma et. al. (2018). Con un hisopo estéril, se inocularon de manera homogénea sobre la superficie de una placa de Agar Mueller Hilton, y se colocó los discos de antimicrobianos con las concentraciones recomendados por el Manual de Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (CLSI. 2019). Las placas se incubaron a 37°C/12 horas y los halos de inhibición producidos por las cepas de *Pasteurella multocida* y la *Mannheimia haemolytica* se hicieron lectura e interpretamos siguiendo los puntos de corte propuestos por el CLSI (tabla 5).

Tabla 5

Antibióticos a probar en la prueba de Kirby Bauer y puntos de corte considerados (CLSI, 2019).

ANTIBIÓTICO A PROBAR	HALO DE INHIBICIÓN (CMI)	
	R	S
Levofloxacin	≤26	≥ 27
Ciprofloxacin	≤ 26	≥ 27
Penicilina	≤16	≥17
Tetraciclina	≤23	≥24
Amoxicillin-clavulanic acid	≤14	≥18
Estreptomicina	≤21	≥22

Fuente: (CLSI, 2019).

3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Los datos fueron procesados con el paquete estadístico SPSS Vers. 23.0, los análisis de los resultados se realizaron con estadística descriptiva (Medias y Distribución de Frecuencia) y los datos están presentados en tablas de frecuencias absolutas y relativas, debido a que la investigación buscó y recogió informaciones en base a una situación previamente determinada de los objetivos y no presentándose ninguna administración a control de tratamiento Carrasco (2006).

3.9. Ámbito de estudio

El ámbito de estudio para la recolección de muestras se realizó en las comunidades campesinas de la provincia de Huancavelica y el estudio del perfil de la susceptibilidad antibiótica de cepas de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*, asiladas de crías de alpacas con signos de neumonía, se realizó en el Laboratorio de Salud Animal – Área de Microbiología de la Universidad Nacional de Huancavelica.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. Presentación de resultados

De un total de 95 muestras analizadas, se encontró 53% positivos a *Mannheimia haemolytica*, 37% positivos a *Pasteurella multocida* y asociados *Mannheimia haemolytica* - *Pasteurella multocida* 23% en las 4 comunidades campesinas estudiados, de ese total se encontraron 3 comunidades con mayor prevalencia de ambas bacterias y asociados, siendo la comunidad de Alto Andino (71%, 71%, 43%), Pucapampa (81%, 31%, 31%), Pachaclla (71 %, 64%, 43%) como se muestra en la tabla 6 y 7.

Tabla 6

Prevalencia de Mannheimia haemolytica y Pasteurella multocida en crías de alpacas con signos de neumonía (n = 95).

Bacterias	Total	Positivo			Negativo		
		F	%	$\pm$ IC95%	F	%	$\pm$ IC95%
<i>Mannheimia haemolytica</i>	95	50	53%	$\pm$ 10%	45	47%	$\pm$ 10%
<i>Pasteurella multocida</i>	95	35	37%	$\pm$ 10%	60	63%	$\pm$ 10%
<i>Mannheimia haemolytica</i> *	95	22	23%	$\pm$ 8%	73	77%	$\pm$ 8%
<i>Pasteurella multocida</i>							

Fuente: Elaboración propia.

Tabla 7

Prevalencia de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida* en crías de alpacas con signos de neumonía de acuerdo a la procedencia (n = 95).

Procedencias	N	<i>Mannheimia haemolytica</i>						<i>Pasteurella multocida</i>						<i>Mannheimia haemolytica</i> * <i>Pasteurella multocida</i>					
		Positivo			Negativo			Positivo			Negativo			Positivo			Negativo		
		F	%	± IC95%	F	%	± IC95%	F	%	± IC95%	F	%	± IC95%	F	%	± IC95%	F	%	± IC95%
Tansiri	51	17	33%	± 13%	34	67%	± 13%	11	22%	± 11%	40	78%	± 11%	5	10%	8.2%	46	90%	8.2%
Alto Andino	14	10	71%	± 24%	4	29%	± 24%	10	71%	± 24%	4	29%	± 24%	6	43%	25.9%	8	57%	25.9%
Pucapampa	16	13	81%	± 19%	3	19%	± 19%	5	31%	± 23%	11	69%	± 23%	5	31%	22.7%	11	69%	22.7%
Pachaclla	14	10	71%	± 24%	4	29%	± 24%	9	64%	± 25%	5	36%	± 25%	6	43%	25.9%	8	57%	25.9%
Total	95	50			45			35			60			22			73		

Fuente: Elaboración propia.

Los resultados muestran que de un total de 6 antibióticos evaluados: 4 antibióticos presentaron susceptibilidad antibiótica y 2 antibióticos resultan ser resistentes para ambos microorganismos evaluados; así mismo los antibióticos de Estreptomicina, Levofloxacina, Ciprofloxacina y Amoxicillin-clavulanic acid demostraron tendencias altas de susceptibilidad antibiótica (50 a 84% ; 50 a 81%) y resistencia antibiótica la Penicilina y Tetraciclina (58 a 64% ; 58 a 69%) frente a cepas de *Mannheimia Haemolytica* y *Pasteurella Multocida* (Tabla 8).

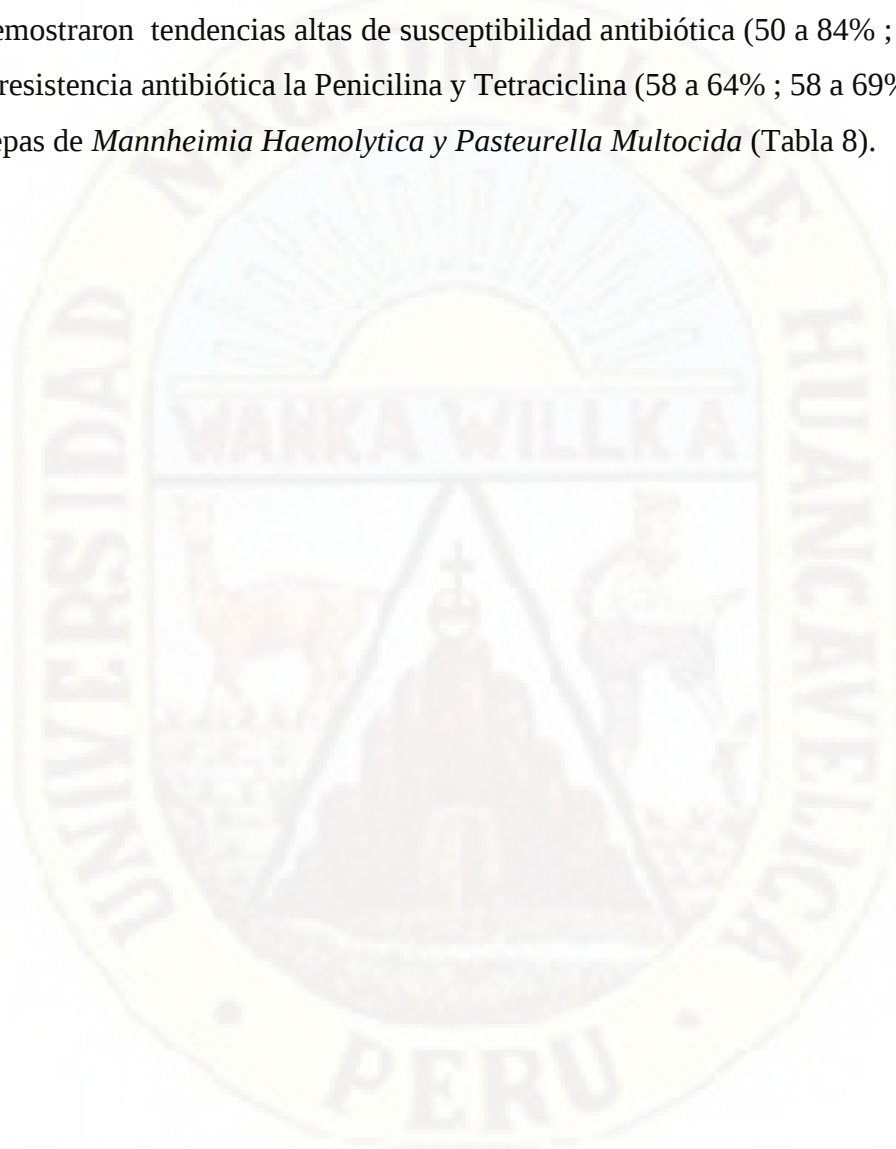


Tabla 8

Susceptibilidad antibiótica de cepas de *Mannheimia Haemolytica* (n= 50) y *Pasteurella Multocida* (n= 36) provenientes de crías de alpacas con casos de neumonías.

ANTIBIOTICOS	<i>Mannheimia haemolytica</i>										<i>Pasteurella multocida</i>									
	N	S			I			R			N	S			I			R		
		F	%	%IC95	F	%	%IC95	F	%	%IC95		F	%	%IC95	F	%	%IC95	F	%	%IC95
TET	50	11	22%	±11%	7	14%	±10%	32	64%	±13%	36	6	17%	±12%	5	14%	±11%	25	69%	±15%
STP	50	25	50%	±14%	5	10%	±8%	20	40%	±14%	36	18	50%	±16%	1	3%	±5%	17	47%	±16%
LV	50	30	60%	±14%	3	6%	±7%	17	34%	±13%	36	19	53%	±16%	3	8%	±9%	14	39%	±16%
CIP	50	25	50%	±14%	4	8%	±8%	21	42%	±14%	36	28	78%	±14%	3	8%	±9%	5	14%	±11%
P	50	19	38%	±13%	2	4%	±5%	29	58%	±14%	36	10	28%	±15%	5	14%	±11%	21	58%	±16%
ACX	50	42	84%	±10%	3	6%	±7%	5	10%	±8%	36	29	81%	±13%	1	3%	±5%	6	17%	±12%

Leyenda: S = Sensible, I= Intermedio, R = Resistencia; CIP= Ciprofloxacina, P= Penicilina, TET=Tetraciclina, ACX= Amoxicillin-clavulanic acid, STP= Estreptomicina, LV= Levofloxacina.

4.2. Discusión de resultados

a. Prevalencia de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*.

Los resultados obtenidos en el presente estudio evidencia, predominancias altas de 53% (50/95) *Mannheimia haemolytica*, 37% (35/95) *Pasteurella multocida* y 23% (21/95) asociados *Mannheimia haemolytica* - *Pasteurella multocida*, en las 4 comunidades campesinas estudiados, se encontraron 3 comunidades con mayor prevalencia de ambas bacterias y asociados, siendo la comunidad de Alto Andino (71%, 71%, 43%), Pucapampa (81%, 31%, 31%), Pachaclla (71 %, 64%, 43%) como se muestra en la (tabla 6), donde estos agentes bacteriológicos neumónicos reportados en el estudio estarían muy relacionados a factores predisponentes como la edad y la raza, factores intrínsecos, siendo generalmente muy susceptibles las crías de alpacas y en algunos casos crías de la raza suri, que estas bacterias son muy frecuentes en animales de edad temprana Ameghino & De Martini (1991); Ramírez et al. (1998); Bustinza (2000).

Por otro lado, las predominancias de agentes bacterianos neumónicos encontrados en el estudio estarían ligados y de mayor preocupación por los factores extrínsecos, así como el estrés, malnutrición de las madres, condiciones de los dormideros, suministro de calostro, época del año y condiciones medioambientales que resultan ser como predisponentes causales determinantes para los cuadros neumónicos y la activación de las bacterias neumónicos originándose con mayor frecuencia en animales menores de 4 meses nacidos como se han encontrado en el estudio Ramírez et al. (1998); Pizarro (1999); Ameghino & De Martini (1991), además estarían muy relacionados por las malas prácticas de usos de fármacos veterinarios sin las garantías su prescripción causalmente originándose la resistencia antibiótica Carhuapoma et al. (2021).

Coincidiendo con la Investigación realizado por León (2012), encontró bacterias de la familia *Pasteurellaceae* en 37% la *Pasteurella multocida* y *Mannheimia haemolytica* en 17% en crías de alpaca a 3° y 4° semana con casos de neumonía, Rímac (2016), reporto de 24 muestras analizadas el 100% presencia de *P. multocida* de tipo capsular A, genotipo LPS L6 (serovar 10, 11, 12 y/o 15), en alpacas con neumonía, por otra lado, Cirilo et al., (2012), encontraron 16 muestras positivas a *P. multocida* y 7 a *M. haemolytica* de 22 muestras de neonatos de alpacas entre 5 a 59 días de edad, es similar a otros rumiantes en el desarrollo de neumonías agudas en alpacas y Guzmán et al. (2013), reportan *Pasteurella multocida* (n=15) y *Mannheimia haemolytica* (n=10), de 27 muestras de alpacas recién destetadas con neumonías agudas.

Un estudio muy reciente por Rocio et al. (2017), aislaron 24 cepas de *Pasteurella multocida* con una diversidad genética de 46 crías de alpacas con Signos de Neumonía y Juscamayta et al. (2017), orientado a un análisis Genómico, donde identificaron 23 antígenos potencialmente inmuno protectivos, conservados entre los serotipos virulentos de *Mannheimia haemolytica* y aislados de serotipos de ovinos como candidatos vacúnales contra la neumonía en alpacas y Maximiliano (2017), identifico citoquinas con perfil Th1 como Th2 expresan un mayor número de veces respecto a PBMC no expuestos a la proteína recombinante de *Pasteurella multocida* aislada de casos de neumonías en alpacas; estos reportes resultan similares a los resultados encontrados en el estudio, lo cual nos dan a entender cuanta importancia es conocer la etiología de estos microorganismos como potenciales patógenos en las alpacas para poder diseñar ciertos tratamientos o programas para minimizar su propagación patógena.

b. Resistencia y susceptibilidad antibiótica de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*.

Según el resultado del estudio muestran presencia de tendencias porcentuales altas de susceptibilidad antibiótica en 4 antibióticos (Estreptomina, Levofloxacina, Ciprofloxacina y Amoxicillin-clavulanic acid y 2 antibióticos de resistencia (Penicilina y Tetraciclina) para ambas bacterias estudiadas (*Mannheimia Haemolytica* y *Pasteurella Multocida*), estos reportes encontrados en el estudio demuestran que posiblemente que los 4 antibióticos mostrados la susceptibilidad antibiótica serían muy usuales para los tratamientos terapéuticos para casos de neumonías en las crías de alpacas de las 4 comunidades muestreadas, mientras que los dos antibióticos que demostraron resistencia antibiótica resultarían inversamente a los sostenido y añadiéndose a ello como diciente diagnóstico para el control de infecciones, malas prácticas de bioseguridad y deficiente saneamiento de los dormideros que estarían practicando los productores resultado como precursores para la resistencia antibiótica como suelen ocurrir en otras bacterias de patologías infecciosas Carhuapoma et al. (2020)

Hosseini et al. (2014), reportaron resistencia antibiótica de penicilina G (30.5%) y estreptomina (22%) frente a cepas de *Pasteurella multocida* aislada de infección respiratoria bovina, Petrocchi et al. (2019), Encontraron frecuencias de susceptibilidad inferiores al 60% en Enrofloxacin, el Cloranfenicol, Tetraciclina, Cefotaxima y resistentes por encima de 84.4% y 46.9% resistencias a más de dos compuestos y a combinación de tres drogas frente *P. multocida* aislados de porcinos con neumonía.

Estudio realizado en España por Gutiérrez & Rodríguez (1993), encontraron en cepas de *Pasteurella multocida* aisladas de cerdos

resistencia variable entre 0 y 6,8% a tetraciclinas, Eritromicina, Josamicina, Tianfenicol, Colistina, Rifampicina, Mupirocina y altas tasas de resistencia la Aespiramicina, Fosfomicina, Tilosina, Vancomicina, Metronidazol, la Dapsona y Tiamulina, así mismo en Argentina Leotta et al. (2006), reportan resistentes la *Pasteurella multocida* a Tiamulina, Streptomycin y Tetraciclina que fueron aisladas de origen de porcino, Moredó et al. (2008), encontraron sensibles a Ampicilina y Fluorfenicol, mientras el Enrofloxacin, Fosfomicina, Tetraciclina, Estreptomycin, resultaron ser resistentes a *Pasteurella multocida* provenientes de pulmones de cerdos

Samaniego et al. (2012), hallaron frecuencias altas de resistencia antibiótica de Estreptomycin (81,6%), Gentamicina (24,4%) y susceptibles la ampicilina y penicilina en cepas de *Mannheimia haemolytica* aisladas de exudado nasal de bovinos, en Japón, Esaki et al. (2005), reportaron tasa de resistencia a Dihidroestreptomycin (18,5%), Oxitetraciclina (11,1%) y Doxiciclina (11,1%) frente a *Mannheimia haemolytica* de ganado bovino y Viana et al. (2007), apreciaron comportamiento de sensibilidad de Enrofloxacin (100%) y Florfenicol (100%) y resistencia a Tetraciclina (15,64% y 17,65%) y Penicilina (1,82% y 4,2%) frente a *M. haemolytica* y *P. multocida* aislados de ovinos con y sin enfermedad respiratorio ; los estudios antecesores muestran tendencias altas de resistencia antibiótica y baja susceptibilidad antibiótica frente a cepas *M. haemolytica* y *P. multocida* provenientes de ovino, porcino, vacuno y resultando los resultados encontrados similar comportamiento frente a las bacterias de *M. haemolytica* y *P. multocida* provenientes de crías de alpacas con casos neumónicos resultado ser investigación pionero debido a que no existen estudios en este especie con referencia al tema que se investigó, donde el estudio nos muestran que en este especie animal ya se estaría masificando la resistencia antibiótica en este tipo de bacterias neumónicos.

CONCLUSIONES

- El estudio demostró altas tendencias de prevalencia de *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida* y asociados *Mannheimia haemolytica* - *Pasteurella multocida* en crías de alpacas con cuadros de neumonías en 4 comunidades campesinas estudiados, siendo las comunidades de Alto Andino, Pucapampa y Santa Rosa de Pachaclla con tendencias que superan por encima del 56.2% de presencia de estas bacterias neumónicas.
- En cuanto a la susceptibilidad antibiótica los antibióticos: Estreptomicina, Levofloxacin, Ciprofloxacina y Amoxicillin-clavulanic acid demostraron sensibilidad antibiótica, frente a cepas de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*.
- Por otro lado, los antibióticos: Penicilina y Tetraciclina demostraron resistencia antibiótica frente a cepas de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*.

RECOMENDACIONES

- Los productores alpaqueros deben realizar un manejo adecuado en sus unidades productivas e incorporar un adecuado control sanitario con el fin de minimizar la prevalencia de los agentes patógenos como: *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*.
- Masificar estudios en el tema con el fin de diseñar los patrones de susceptibilidad a antibióticos para contrarrestar la aparición de nuevas variantes, que resultarían ser altamente resistentes en la salud pública y en ciertos animales domésticos.
- De acuerdo al estudio realizado, recomendar a los productores alpaqueros, utilizar los antibióticos: Estreptomicina, Levofloxacin, Ciprofloxacina y Amoxicillin-clavulanic acid, para el tratamiento de casos de neumonía, mientras que los antibióticos: Penicilina y Tetraciclina, no es recomendable por que muestran tendencias altas de resistencia antibiótica frente a casos neumónicos en crías de alpacas.
- La Dirección Regional de Camélidos Sudamericanos (DIRCAMS) del Gobierno regional de Huancavelica que no deben promover el uso de los fármacos veterinarios sin los resultados de laboratorio así mismo a las agroveterinarias, por otro lado, ambas instancias deben promover talleres de sensibilización a los productores sobre el uso apropiado de los antibióticos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abraham E, Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. 1940. *Reviews of Infectious Diseases*, 10(4): 677-678. 1988.
- Aceituno H, Silva M, Cruz C. Mitos y realidades de la investigación científica. Alpha Servicios Gráficos S.R.L. Cusco – Perú. <http://hdl.handle.net/20.500.12390/2179>. 2020.
- Aktoris K, Orth J, Adler B. *Pasteurella multocida*. Molecular biology, toxins and infection. En: Aktoris K, Orth JHC, Adler B, editors. *Current Topics in Microbiology and Immunology* vol 361. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012, preface. 2012.
- Ameghino E. Algunos aspectos sobre la mortalidad perinatal en alpacas. Curso Post Congreso (Panamericano) de Camélidos Sudamericanos Domésticos. XI Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Lima, Perú. 1988.
- Ameghino E. Causas de Mortalidad en crías de Alpaca en Producción de Rumiantes Menores: Alpacas. Edit. César Novoa y Arturo Flórez. Perú. 1991.
- Ameghino E, Calle S. Aislamiento de *Pasteurella multocida* de Procesos Neumónicos de crías de Alpacas. XII Reunión Científica Anual. Asociación Peruana de Producción Animal. Lima, Perú. Memo 1989 p.99 (Abs.). 1989.
- Ameghino E, De Martini J. Mortalidad en crías de alpacas. Perú: IVITA-UNMSM. 1991.
- Arêde P, Milheiro C, Lencastre H, De Oliveira D. The Anti-Repressor MecR2 Promotes the Proteolysis of the *mecA* Repressor and Enables Optimal Expression of β -lactam Resistance in MRSA. *PLOS Pathogens*, 8(7): e1002816. 2012.
- Arenas N, Moreno M. Producción pecuaria y emergencia de antibiótico resistencia en Colombia: Revisión sistemática. *Infectio* 2018; 22(2): 110-119. 2018.

- Avril J, Donnio P, Pouedras P. Selective medium for *Pasteurella multocida* and its use to detect oropharyngeal carriage in pig breeders. *Journal of Clinical Microbiology*. 28, 1438-1440. 1990.
- Barsallo J. Agentes bacterianos encontrados en el aparato respiratorio de alpacas adultas aparentemente normales. *Anales de la V Conven. Internac. Sobre Camel. Sudamer.* 36 p. 1985.
- Belland R, Morrison S, Ison C, Huang W. *Neisseria gonorrhoeae* acquires mutations in analogous regions of *gyrA* and *parC* in fluoroquinolone-resistant isolates. *Molecular Microbiology*, 14(2): 371-380. 1994.
- Bergey's. *Manual of Systematic Bacteriology*. Second Edition Volume Three The Firmicutes. Bourhy H, Perrot A, Cavaillon JM. Rabies. En: Artenstein AW, editors. *Vaccines: A biography*. Springer Science + Business Media, Londres, Reino Unido. 2010, p. 73-85. doi: 10.10. 2008.
- Biberstein. EL. *Pasteurella*. En: Biberstein EL, Zee YC, editors. *Review of Veterinary Microbiology*. Oxford, Blackwell Scientific Publication, 1990, p. 175-180. 1990.
- Blackall P, Angen O, Fegan N, Blackall L, Mutters R, Bisgaard M. Characterisation of a novel *Mannheimia* sp from Australian feedlot cattle. *Aust. Vet J.* 79, 634–639. 2001.
- Blondeau J. Fluoroquinolones: mechanism of action, classification, and development of resistance. *Survey of Ophthalmology*, 49 Suppl 2: S73-78. 2004.
- Blood D, Radostits O. *Medicina veterinaria*. 7 a Edición. Editorial Interamericana M.C. Graw-Hill. México, D.F. Acceso el 25 de julio del 2019. 1992.
- Boyce J, Lo R, Wilkie I, Adler B. *Pasteurella* and *Mannheimia*. In: Giles Cl, Prescott Jf, Songer Jg, Thoen Co, editors. *Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals*. Carlton, Australia: Blackwell Publishing. pp. 273-294. 2004.

- Bradford P. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev.*; 14:933–51. 2001.
- Bull J, Jessop T, Whiteley M. Deathly Drool: Evolutionary and Ecological Basis of Septic Bacteria in Komodo Dragon Mouths. *PLoS ONE* 2010; 5: e11097. doi: 10.1371/journal.pone.0011097. 2010.
- Bush K. Proliferation and significance of clinically relevant β - lactamases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1277: 84-90. 2013.
- Bush K, Jacoby G, Medeiros A. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39(6): 1211-1233. 1995.
- Bustinza M. *Enfermedades de Alpacas*. 2da. Ed. Lima, Perú. 2000.
- Bustinza V. *Conocimiento del Gran Potencial Andino*. Primera Edición. Instituto de Investigación y Promoción de Camélidos Sudamericanos. Puno – Perú. p 15. 2001.
- Calsín E. Identificación de agentes virales y bacterianos causantes de neumonías agudas en crías de alpacas. Tesis pregrado. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima- Peru. 48-69 p. 2008.
- Camacho F. “Probabilismo Y Toma de Decisiones En La Escolástica Española.” In *Historia de La Probabilidad Y de La Estadística/Ahepe*, 81–102. Acceso 25 de julio del 2019. 2002.
- Carhuapoma D, Valencia M, Huaman G, Paucar C, Hilario L, Huere P. Resistencia antibiótica de *Salmonella* sp, *Escherichia coli* aisladas de alpacas (*Vicugna pacus*) con y sin diarrea. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida* , 31(1), 98-109. <https://doi.org/10.17163/lgr.n31.2020.08>. 2020.
- Carhuapoma D, Valencia M, Nicasio, Paucar C, Mayhua M, Paul H, et al. Efecto de *Escherichia coli* y *Salmonella* spp en el crecimiento y mortalidad de crías

de alpacas (*Vicugna pacos*). *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(2), 946-953. 2019.

Carrasco S. *Metodología de la Investigación científica*. Lima, Perú: San Marcos. 2006.

Carter G. *Bacteriología y Micología Veterinaria. Aspectos esenciales*. Ed. El manual Moderno. México, D. F. 1985.

Carter G, Genus I. *Pasteurella Trevisan* 1877, 94AL Nom. Cons. Opin. 13, Jus. Comm. 1954, 153. En: Krieg NR, Holt JG, editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology Vol 1*. Williams & Wilkins, Baltimor, MD, 1984, p. 552-558. 1984.

Castro L, Torres M, Castañeda L, López D, Prada C. Caracterización fenotípica de bacilos Gram negativos con betalactamasas de espectro extendido y carbapenemasas. *Revista Investig. Salud Univ. Boyacá*. 2015; Carrillo M. (2011) Inhibición in situ de la adhesión de *pasteurella multocida* a receptores del epit. 2015.

Chopra I, Roberts M. Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 65(2): 232-260. 2001.

Ciorba V, Odone A, Veronesi L, Pasquarella C, Signorelli C. Antibiotic resistance as a major public health concern: epidemiology and economic impact. *Annali Di Igiene: Medicina Preventiva E Di Comunità*, 27(3): 562-579. 2015.

Cirilo C, Manchego E, Rivera A, Hermelinda, Rosadio A. Coexistencia de virus y bacterias en neumonías agudas en alpacas neonatas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 23(3), 317-335. 2012.

Cirilo E. Identificación de agentes virales y bacterianos causantes de neumonías agudas en crías de alpacas. Tesis de Maestría. Univ Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Peru. 93 p. 2008.

- Delcour A. Outer Membrane Permeability and Antibiotic Resistance. *Biochimica et biophysica acta*, 1794(5): 808-816. 2009.
- Díaz A, Ledesma M, Calcagno M, Leoni J, Manghi M, Canellada A. Serological survey of antibodies to *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* in camelids from Argentina. *Ann Infect Dis Epidemiol* 2: 1-6. 2017.
- Diaz C, Zimmer S, Klein M, Jernigan J. Comparison of mortality associated with vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible enterococcal bloodstream infections: a meta-analysis. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 41(3): 327-3. 2005.
- Doménech S, Martínez M, Hernández A, Del Carmen C, Pascual Á, Tomás J, et al. Role of *Klebsiella pneumoniae* OmpK35 Porin in Antimicrobial Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(10): 3332-3335. 2003.
- Esaki H, Asai T, Kojima A, Ishihara K, Morioka A, Tamura Y, et al. Antimicrobial Susceptibility of *Mannheimia haemolytica* Isolates from Cattle in Japan from 2001 to 2002. *J. Vet. Med. Sci.* 67(1): 75-77. 2005.
- Espeli M. Untangling intracellular DNA topology. *Molecular Microbiology*, 52(4): 925-931. 2004.
- Faron M, Ledeboer N, Buchan B. Resistance Mechanisms, Epidemiology, and Approaches to Screening for Vancomycin-Resistant *Enterococcus* in the Health Care Setting. *Journal of Clinical Microbiology*, 54(10): 2436-2447. 2016.
- Fernández B. Avances y Perspectivas del conocimiento de los Camélidos Sudamericanos. ONU - FAO- Oficina Regional de Producción Animal. Santiago, Chile. 1991.
- Fierro A, Osorio A, Fandiño D, Rondón B. Resistencia Antibiótica en *Salmonella enterica* serovar Typhimurium aisladas de granjas porcícolas en el departamento del Tolima Orinoquia, vol. 15, núm. 1, junio, 2011, pp. 71-78. 2011.

- Gardete, Tomasz. Mechanisms of vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Clinical Investigation*, 124(7): 2836-2840. 2014.
- Giedraitienė A, Vitkauskienė A, Naginienė R, Pavilonis A. Antibiotic resistance mechanisms of clinically important bacteria. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 47(3): 137-146. 2011.
- Gutiérrez M, Rodríguez F. Susceptibilidad in vitro de cepas de *Pasteurella multocida* subespecies *multocida* aisladas de cerdos a 42 agentes antimicrobianos. *Zentralblatt für Bakteriologie*. Volumen 279, Número 3, julio de 1993, páginas 387-393. [https://doi.org/10.1016/S0934-8840\(11\)8](https://doi.org/10.1016/S0934-8840(11)8). 1993.
- Guzmán K. Identificación de polimorfismos del gen *tlr4* en crías de alpacas con cuadros de neumonías por *Pasteurella multocida*. Tesis de pregrado Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima –Peru. 2011.
- Guzmán M, Rosadio A, Maturrano H, Manchego S. Asociación de agentes virales y bacterianos en cuadros de neumonías agudas en alpacas tuis. *Rev. Inv. Vet Perú* 2013; 24(4): 524-536. 2013.
- Hancock, Brinkman. Function of pseudomonas porins in uptake and efflux. *Annual Review of Microbiology*, 56: 17-38. 2002.
- Hasdemir U, Chevalier J, Nordmann P, Pagès J. Detection and Prevalence of Active Drug Efflux Mechanism in Various Multidrug-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Strains from Turkey. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(6): 2701-2706. 2004.
- Heesemann J. Mechanisms of resistance to beta-lactam antibiotics. *Infection*, 21 Suppl 1: S4-9. 1993.
- Hernández R, Fernández C, Baptista LMP. Metodología de la investigación. Vol. 53. 2014.
- Highlander K, Fedorova N, Dusek D, Panciera R, Alvarez L, Rinehart C. Inactivation of *Pasteurella (Mannheimia) haemolytica* leukotoxin causes

partial attenuation of virulence in a calf challenge model. *Infect Immun.* 68:3916-3922. 2000.

Hollenbeck B, Rice L. Intrinsic and acquired resistance mechanisms in enterococcus. *Virulence*, 3(5): 421-569. 2012.

Hosseini J, Mojtaba R, Sepideh F, Arezoo D, Shamini C, Rita D, et al. Prevalencia, caracterización y resistencia a antibióticos de *Pasteurella multocida* aislada de infección respiratoria bovina. 2014.

Huanca T. Manual de Sanidad en la crianza de Alpacas. Proyecto Alpacas INIAA – CORPUNO – COTESUIIC. Puno, Perú. 1991.

Huanca T, Cárdenas O, Gonzales M, Apaza N, Sapana R, Cabrera M, et al. INIA presentó primicia tecnológica mundial: Transferencia interespecífica de embriones en camélidos. En. *AgroInnova*. Año 2. Ed. 7. marzo 2011. 2011.

Jiménez G, Hoyos Y, Rodríguez J, Navarro J, Gutiérrez J. Método rápido para la detección de la sensibilidad a cefotaxima en Enterobacterias. *Rev Argent Microbiol.* 2016;48(4): 2016.

Josephine H, Kumar I, Pratt R. The perfect penicillin? Inhibition of a bacterial DD-peptidase by peptidoglycan-mimetic beta-lactams. *Journal of the American Chemical Society*, 126(26): 8122-8123. 2004.

Juscamayta L, Maturrano H, Rosadio A. Análisis Genómico de *Mannheimia haemolytica* Serotipo A2 para la Identificación de Potenciales Candidatos Vacunales contra la Neumonía en Alpacas. 2017.

Kahne D, Leimkuhler C, Lu W, Walsh C. Glycopeptide and lipoglycopeptide antibiotics. *Chemical Reviews*, 105(2): 425-448. 2005.

Katz L, Ashley G. Translation and protein synthesis: macrolides. *Chemical Reviews*, 105(2): 499-528. 2005.

- Kehrenberg C, Schulze T, Martel J, Chaslus D, Schwarz S. Antimicrobial Resistance in *Pasteurella* and *Mannheimia*: epidemiology and genetic basis. *Vet Res* 2001b; 32:323-339. 2001.
- Knapp C, Dolfing J, Ehlert P, Graham D. Evidence of Increasing Antibiotic Resistance Gene Abundances in Archived Soils since 1940. *Environmental Science & Technology*, 44(2): 580-587. 2010.
- Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical Isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*, 11(6): 315-317. 1983.
- Koch A. Penicillin binding proteins, beta-lactams, and lactamases: offensives, attacks, and defensive countermeasures. *Critical Reviews in Microbiology*, 26(4): 205-220. 2000.
- Kohanski M, Dwyer D, Collins J. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nature reviews. Microbiology*, 8(6): 423-435. 2010.
- Kong K, Schneper L, Mathee K. Beta-lactam Antibiotics: From Antibiosis to Resistance and Bacteriology. *APMIS: acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*, 118(1): 1-36. 2010.
- Kotra L, Haddad J, Mobashery S. Aminoglycosides: Perspectives on Mechanisms of Action and Resistance and Strategies to Counter Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 44(12): 3249-3256. 2000.
- Lahey C. β -Lactamase Classification and Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant Enzymes. Acceso 15 de mayo del 2019. 2015.
- Leclercq R. Mechanisms of resistance to macrolides and lincosamides: nature of the resistance elements and their clinical implications. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 34(4): 482-492. 2002.

- Lee C, Wilkie I, Townsend K, Frost A. The demonstration of *Pasteurella multocida* in the alimentary tract of chickens after experimental oral infection. *Vet Microbiol* 2000; 72:47- 55. 2000.
- León C. Identificación de bacterias de la familia pasteurellaceae causantes de procesos neumónicos en crías de alpacas. Tesis de pregrado, Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima-Peru. 2012.
- Leotta G, Vigo G, Chinen I, Prieto M, Callejo R, Rivas M. Identificación, biotipificación y caracterización de cepas de *Pasteurella multocida* aisladas en la Argentina. *Revista Argentina de Microbiología* (2006) 38: 125-129. 2006.
- Lodish H, Berk A, Zipursky S, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. The Role of Topoisomerases in DNA Replication. 2000.
- Martínez M, Pascual A, Jacoby G. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* (London, England), 351(9105): 797-799. 1998.
- Maximiliano J. Evaluación in vitro de la actividad inmunogénica de una proteína recombinante de *Pasteurella multocida* aislada de casos de neumonías en alpacas (*Vicugna pacos*). Tesis posgrado. Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Lima –Perú. 2017.
- Medeiros A. Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by generations of beta-lactam antibiotics. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 24 Suppl 1: S19-45. 1997.
- Merchant I, Pecker A. Bacteriología y Virología Veterinaria. España. Acribia. In: Whitt DD. Bacterial PATHOGENESIS. A molecular approach. USA: American society for Microbiology. 348 p. 1994.
- Mohamed R, Abdelsalam E. A review on pneumonic pasteurellosis (respiratory mannheimiosis) with emphasis on pathogenesis, virulence mechanisms and predisposing factors. *Bulg J Vet Med* 11: 139-160. 2008.

- Moore M, Cicnjak C, Gates R. A New Selective Enrichment Procedure for Isolating *Pasteurella multocida* from Avian and Environmental Samples. *Avian Diseases*. 38, 317-324. 1994.
- Moredo F, Vigo G, Leotta G. Biotipos y sensibilidad antimicrobiana de *Pasteurella multocida* subespecie *multocida* aisladas de pulmones de cerdos de la provincia de Buenos Aires. *Ana lecta Veterina ria* 2008; 28 (2): 27-30. 2008.
- Moreno M, Castillo M, Ferrebuz A, Osorio W, Torres M, López D. Resistencia bacteriana en pequeños animales, potencial riesgo para la salud humana. *REDVET - ISSN 1695-7504. Volumen 19*. 2018.
- Muhairwa A, Mtambo M, Christensen J, Bisgaards M. Occurrence of *Pasteurella multocida* and related species in village free ranging chickens and their animal contacts in Tanzania. *Vet Microbiol* 2001; 78:139-153. 2001.
- Munita J, Arias C. Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology spectrum*. Acceso 16 de octubre del 2018. Disponible en: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>. 2016.
- Mutters R, Christensen H, Bisgaard M, Genus I. *Pasteurella Trevisan* 1887, 94AL Nom. Cons. Opin. 13, Jud. Comm. 1954b, 153. En: Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, editors. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2nd edition. Springer, New York, 2005, p. 851-912. 2005.
- Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews: MMBR*, 67(4): 593-656. 2003.
- Novoa C, Florez A. Mortalidad Neonatal de crías Muertas por Causas Infecciosas en: *Producción de Rumiantes Menores: Alpacas*. Edit. César Moro – Arturo Florez. Perú. 1991.
- Ola S. Sulfonamide resistance: mechanisms and trends. *Drug Resistance Updates: Reviews and Commentaries in Antimicrobial and Anticancer Chemotherapy*, 3(3), 155-160. 2000.

- Öztürk H, Ozkirimli E, Özgür A. Classification of Beta-Lactamases and Penicillin Binding Proteins Using Ligand-Centric Network Models. Acceso 10 de octubre del 2018. 2015.
- Pagès J, James C, Winterhalter M. The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *Nature Reviews. Microbiology*, 6(12): 893-903. 2008.
- Pape T, Wintermeyer W, Rodnina M. Conformational switch in the decoding region of 16S rRNA during aminoacyl-tRNA selection on the ribosome. *Nature Structural Biology*, 7(2): 104-107. 2000.
- Patel U, Yan Y, Hobbs F, Kaczmarczyk J, Slee A, Pompliano D, et al. Oxazolidinones mechanism of action: inhibition of the first peptide bond formation. *The Journal of Biological Chemistry*, 276(40): 37199-37205. 2001.
- Paterson D, Bonomo R. Extended Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(4): 657-686. 2005.
- Petrocchi R, Gutiérrez M, Méndez H, Rodríguez F. Antimicrobial resistance of *Pasteurella multocida* isolates recovered from swine pneumonia in Spain throughout 2017 and 2018. 2019.
- Piddock L. Clinically Relevant Chromosomally Encoded Multidrug Resistance Efflux Pumps in Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(2): 382- 402. 2006.
- Pijoan P, Aguilar F. Resistencia y sensibilidad a antimicrobianos en cepas de *Pasteurella haemolytica*, *P. multocida* y *Haemophilus somnus*, aisladas en becerras lecheras en establos de Tijuana. *Vet. Méx.*, 31 (2) 2000. Acceso 4 de junio del 2019. 2000.
- Pizarro R. Sanidad animal. Enfermedades de los Camélidos Domésticos en Camelidotecnia. CONCYTEC. 1era Ed. Perú. 1999.
- Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. *The Journal of Antimicrobial*

Chemotherapy, 56(1): 20-51. 2005.

Quispe R, Alfonso L, Montes M, Quicaño I, Quispe E. Quality characteristics of Huacaya alpaca fiebre produced in the Peruvian Andean Plateau region of Huancavelica. Spanish Journal of Agricultural Research 6(1): p.33-38. 2009.

Ramírez A. Aspectos Sanitarios de la Alpaca. En: Curso Sistemas de Producción Pecuaria en los Altos Andes. Asociación Peruana de Producción Animal. Lima, Perú. P87-101. 1980.

Ramírez A, Franco E, García W. Diagnóstico y Control de enfermedades en Camélidos Sudamericanos. Estación Experimental Marangani – La Raya. Cusco, Perú. Pub. Tec. Fac. Med. Vet. Univ. Nac. Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 1998.

Ramirez M, Tolmasky M. Aminoglycoside Modifying Enzymes. Drug resistance updates: reviews and commentaries in antimicrobial and anticancer chemotherapy, 13(6): 151-171. 2010.

Rice J, Carrasco M, Hodgins D, Shewen P. Mannheimia haemolytica and bovine respiratory disease. Anim Health Res Rev 2008; 8 117-128. 2008.

Rimac R. Caracterización molecular de Pasteurella multocida aislada de alpacas con signos de neumonía. Tesis posgrado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima Perú. 2016.

Rocío R, Raquel H, Luna L, Rosadio R, Lenin M. Análisis de Diversidad Genética de Cepas de Pasteurella multocida Aisladas de Alpacas con Signos de Neumonía. Rev. Inv. Vet Perú 2017; 28(3):723-729. <http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i3.13358>. 2017.

Rodríguez H, Mimbela M. Microbiología de secreción nasal y bucal de alpacas. Resúmenes de proyectos de investigación realizados por la UNMSM. Periodo 1980- 1981. Tomo III. 1981.

Rodríguez M, Cano M, Velasco C, Martínez M, Pascual A. Plasmid-mediated

quinolone resistance: an update. *Journal of Infection and Chemotherapy: Official Journal of the Japan Society of Chemotherapy*, 17(2): 149-182. 2011.

Rosadio R, Cirilo E, Manchego A, Rivera H. Respiratory syncytial and parainfluenza type 3 viruses coexisting with *Pasteurella multocida* and *Mannheimia hemolytica* in acute pneumonias of neonatal alpacas. *Small Ruminant Res.* doi: 10.1016/j.smallrumres. 2011.02.001. 2011.

Samaniego M, Contreras J, Jaramillo C, Aguilar F, Vázquez J, Hernández R, et al. Resistencia a antimicrobianos en cepas de *Mannheimia haemolytica* aisladas de exudado nasal de bovinos productores de leche. *Vet. Méx.*, 43 (2) 2012. 2012.

Sánchez P, Muñoz R, Gutiérrez N. Resistencia bacteriana a los antibióticos: mecanismos de transferencia. *Revista Spei Domus*, 8, 31–37. 2012.

Singh K, Ritchey J, Confer A. *Mannheimia haemolytica: Bacterial–Host Interactions in Bovine Pneumonia*. 2011.

Sun J, Deng Z, Yan A. Bacterial multidrug efflux pumps: Mechanisms, physiology and pharmacological exploitations. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 453(2): 254-267. 2014.

Typas A, Banzhaf M, Gross C, Vollmer W. From the regulation of peptidoglycan synthesis to bacterial growth and morphology. *Nature reviews. Microbiology*, 10(2): 123-136. 2011.

Vadillo S, Píriz S, Mateos E. *Manual de Microbiología Veterinaria*. Ed. Mc Graw Hill-Interamericana. España. 1era Edición. Madrid. 2002.

Vakili B, Khorvash F, Fazeli H, Khaleghi M. Detection of quinolone resistance mutations of *parC* gene in clinical isolates of *Acinetobacter baumannii* in Iran. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 19(6): 567-570. 2014.

Van S, Ribbensa S, Ducheyneb E, Goossensb E, Dewulfa J. Assessing biosecurity

practices, movements and densities of poultry sites across Belgium, resulting in different farm risk-groups for infectious disease introduction and spread. *Prevent Vet Med* 2011; 98:259-270. 2011.

Viana L, Gonçalves R, Oliveira F, Paes A, Chiacchio S, Ribeiro M. Susceptibilidade in vitro a antimicrobianos da *Mannheimia haemolytica* e da *Pasteurella multocida* isoladas de ovinos sadios e com doenças respiratórias. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 44(supl.), 111-114. <https://doi.org/10.116.2007>.

Villard L, Gauthier D, Lacheretz A, Abadie G, Game Y, Maurin F. Serological and molecular comparison of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella trehalosi* strains isolated from wild and domestic ruminants in the French Alps. *Vet. J.* 171:545-550. 2006.

Wikse S. Feedlot cattle pneumonias. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 1: 974-980. 1985.

Wilkie I, Harper M, Boyce J, Adler B. *Pasteurella multocida*: Diseases and Pathogenesis. En: Aktoris K, Orth JHC, Adler B, editors. *Current Topics in Microbiology and Immunology* vol 361. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2012, p: 1-22. 2012.

Wilson D. Ribosome-targeting antibiotics and mechanisms of bacterial resistance. *Nature Reviews. Microbiology*, 12(1): 35-48. 2014.

Yates W. A review of infectious bovine rhinotracheitis shipping fever pneumonia and viral bacterial synergism in respiratory disease of cattle. *Can J. Med.* 46: 225-263. 1982.

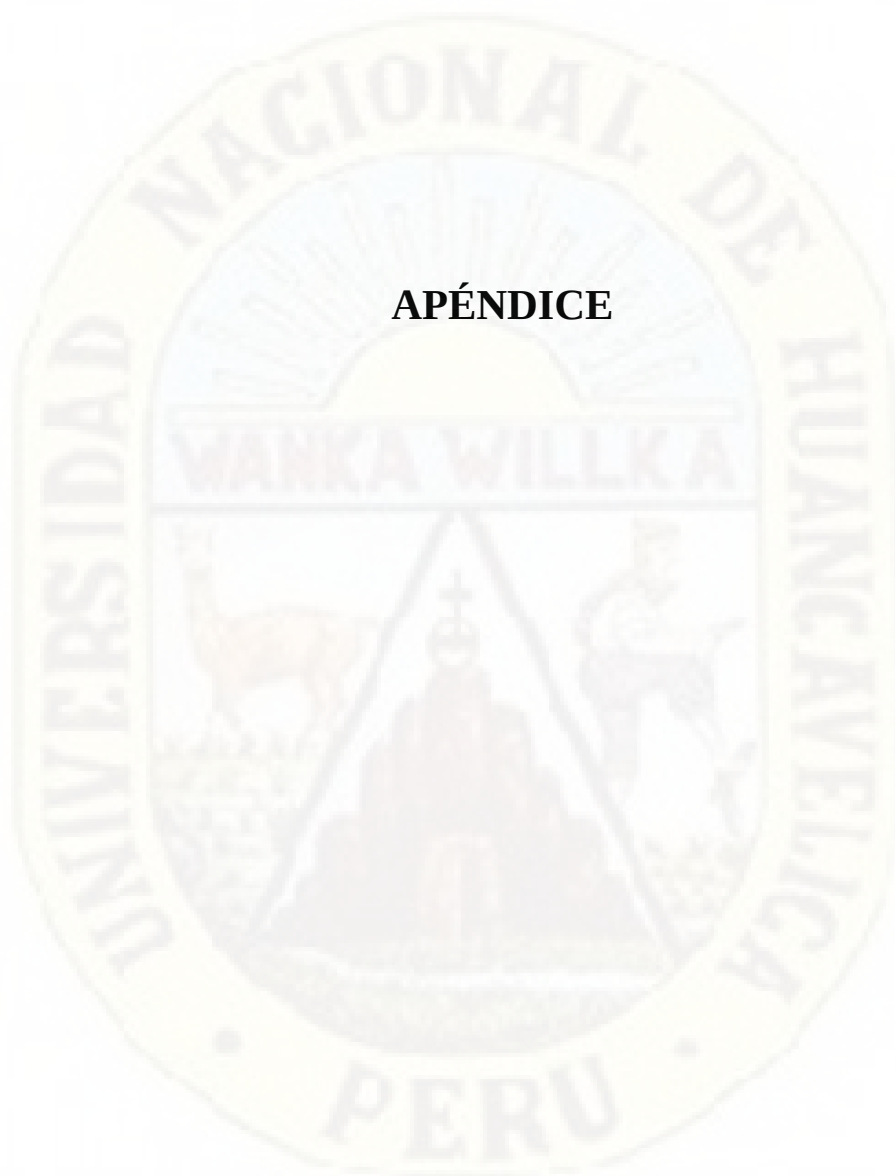
Yoshimura H, Ishimaru M, Endoh Y, Kojima A. Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolated from cattle and pigs. *J Vet Med Ser B, Infect Dis Vet Public Health* 2001; 48:555- 560. 2001.

Zavaleta R. Crianza de Alpacas, Capacitación y Asistencia Técnica en la Explotación de Alpacas – Comunidad Campesina de Aquia – Ancash- Perú.

Fundación para el Desarrollo Nacional. Fondo Coop. PU – 259/FDN/IAF.
Puno, Perú. 1991.



APÉNDICE



APÉNDICE 1

“SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIOTICA de Mannheimia haemolytica y Pasteurella multocida ASILADAS DE CRIAS DE ALPACAS CON SIGNOS DE NEUMONÍA”

Matriz de Consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	VARIABLE	INDICADORES	METODOLOGÍA
¿Cuál es la susceptibilidad antibiótica frente a <i>Mannheimia haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica?	OBJETIVO GENERAL. Evaluar la susceptibilidad antibiótica de <i>Mannheimia haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> aislados de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica. OBJETIVOS ESPECÍFICOS. Evaluar la incidencia de cepas de <i>Mannheimia haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica. Determinar la resistencia antibiótica de <i>Mannheimia haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica. Determinar la sensibilidad antibiótica de <i>Mannheimia haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía de las comunidades de Huancavelica.	Existen la presencia de susceptibilidad antibiótica frente a las cepas de <i>Mannheimia haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> aisladas de crías de alpacas con signos de neumonía.	Susceptibilidad antibiótica frente a agentes bacterianos neumónicos	Antibióticos que presenten halos de inhibición y los puntos de corte según la tabla de estándares de antibióticos por el CLSI (2019) serán denominados: sensibles (S) Intermedio (I) y resistentes (R) frente a las cepas de <i>Mannheimia haemolytica</i> como se detalla a continuación: Levofloxacina: $S \geq 27$; $R \leq 26$ Ciprofloxacina: $S \geq 27$; $R \leq 26$ Penicilina: $S \geq 17$; $R \leq 16$ Tetraciclina: $S \geq 24$; $R \leq 23$ Amoxicillin-clavulanic acid: $S \geq 15$; $R \leq 14$ Estreptomycin: $S \geq 22$; $R \leq 21$	TIPO DE INVESTIGACION: Básico. NIVEL DE INVESTIGACION: Descriptivo POBLACION: 60 muestras nasales de crías de alpacas MUESTRA: tipo no probabilístico considerando un mínimo de 60 muestras positivas a <i>Mannheimia haemolytica</i> y <i>Pasteurella multocida</i> MÉTODO DE INVESTIGACIÓN: método científico DISEÑO ESTADISTICO: M – O TECNICAS E INSTRUMENTOS TÉCNICA: Técnica de observación INSTRUMENTO: Pruebas bioquímicas y prueba de Kirby Bauer

APÉNDICE 2

Instrumentos

Instrumento N° 01 “fichas de evaluación aislamiento e identificación de bacterias

FACULTAD CIENCIAS DE INGENIERIA
LABORATORIO DE SALUD ANIMAL - AREA MICROBIOLOGIA

TEST DE FICHA DE REGISTRO DE RECOLECCION DE MUESTRAS EN CRÍAS DE ALPACAS PARA ESTUDIO DE MICROORGANISMOS RESPIRATORIOS (NEUMÓNICOS)

Lugar de procedencia: TUNJUNI Zona de procedencia: EGUILLO
 Fecha de recepción: 21/02/20 Decepcionado por: VICTOR C. D.
 Propietario: PERCINI CECILIA ROHRE Temperatura de lugar de muestreo: _____
 Patología presuntiva del paciente (alpaca): NEUMONICO Paciente: crías de alpaca
 Altitud de lugar de muestreo: _____

REGISTRO DE INFORMACIONES DEL PACIENTE EN ESTUDIO													
Nº	COD. MUESTRA	EDAD	RAZA	COLOR	SEXO	FECHA NACIMIENTO	TIPO DE MUESTRA	FECHA DE MUESTREO	CONDICION DEL PACIENTE	CON DIARREA	SIN DIARREA	CANTIDAD DE MUESTRAS	OBSERVACIONES
M1		40	A	B	♂	13/01/20	H. N.	22/02/20	R	X		5	
M2		45	H	B	♂	08/01/20	H. N.	22/02/20	R	X		5	
M3		30	H	B	♂	03/01/20	H. N.	22/02/20	M	X		5	
M4		30	H	B	♀	23/01/20	H. N.	22/02/20	M	X		5	
M5		30	H	B	♀	23/01/20	H. N.	22/02/20	M	X		5	
M6		60	H	B	♀	24/12/19	H. N.	22/02/20	R	X		5	
M7		45	H	B	♂	08/01/20	H. N.	22/02/20	R		X	5	
M8		40	H	B	♂	12/01/20	H. N.	22/02/20	R		X	5	
M9		40	H	B	♂	13/01/20	H. N.	22/02/20	R	X		5	
M10		35	H	B	♀	16/01/20	H. N.	22/02/20	R		X	5	
M11		45	H	B	♀	08/01/20	H. N.	22/02/20	R	X		5	
M12		35	H	B	♀	12/01/20	H. N.	22/02/20	R		X	5	
M13		25	H	CNR	♀	28/01/20	H. N.	22/02/20	M	X		5	
M14		45	H	B	♂	08/01/20	H. N.	22/02/20	M	X		5	
M15		60	H	B	♀	24/12/19	H. N.	22/02/20	M	X		5	
M16		30	H	B	♂	03/01/20	H. N.	22/02/20	M	X		5	
M17		40	H	B	♀	13/01/20	H. N.	22/02/20	M	X		5	

Instrumento N° 02

“Fichas de Caracterización macroscópica y microscópica de bacterias”

FACULTAD CIENCIAS DE INGENIERIA
LABORATORIO DE SALUD ANIMAL - AREA MICROBIOLOGIA

TEST DE IDENTIFICACION MACROSCOPICA Y MICROSCOPICA DE MACROORGANISMOS RESPIRATORIOS (NEUMÓNICOS)

Lugar de procedencia: TUNJUNI Zona de procedencia: EGUILLO
 Fecha de prueba: 23/02/2020 Horas de prueba: 7:00 horas
 Tipo de muestra: Hisopado Nasal Recepción: VICTOR C. D.
 Patología del paciente o muestras: NEUMONICO Paciente: crías de Alpaca

Microorganismo en estudio: Mannheimia haemolytica

Nº Muestra	Código muestra	Raza	Edad	Sexo	CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS				CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS		Caracterización hemolítica		
					FORMA	COLOR	BORDE	ELEVACION	CONSISTENCIA	Grupo bacteria	Tinción Gram	α Hemo.	β hemo.
E 25		H	30	♀									
E 26		H	20	♂						bacilos	+		
E 27		H	25	♂						bacilos	+		
E 28		H	30	♂						bacilos	+		
E 29		H	30	♀						bacilos	+		
M 1		H	40	♂						cocos	+		
M 2		H	45	♂						coco-bacilos	+		
M 3		H	50	♂						coco-bacilos	+		
M 4		H	30	♀						coco-bacilos	+		
M 5		H	30	♀						coco-bacilos	+		
M 6		H	60	♀						cocos	+		

Encargado de estudio: _____

Instrumento N° 03

“Fichas de evaluación de pruebas bioquímicas”

FACULTAD CIENCIAS DE INGENIERIA
LABORATORIO DE SALUD ANIMAL - AREA MICROBIOLOGIA
TEST DE PRUEBAS BIOQUIMICAS DE MICROORGANISMOS RESPIRATORIOS (NEUMONICOS)

Lugar de procedencia: Pachacalla Zona de procedencia: Pachacalla
Fecha de prueba: 16-03-20 Horas de prueba: 24 horas
Tipo de muestra: 7 Nasal Recepción: _____
Patología del paciente o muestras: Neumonia Paciente: crías de Alpaca

Microorganismo en estudio: Mannheimia haemolytica

N° de muestra	Código	Sexo	Edad	Pruebas bioquímicas							Carga bacteriana x10 ⁵
				SIM	CITRATO - SIMONS	MIO - INDOL	TSI	CATALASA	LIA	VOGES - PROSKAUER	
1 ✓	1			+	-	+	+	+	+	+	210
2 ✓	2			-	+	+	+	+	+	+	339
3	3			-	-	+	+	+	+	+	361
4 ✓	4			+	+	-	+	+	+	+	339
5 ✓	5			-	+	+	+	+	+	+	260
6 ✓	6			+	+	+	+	+	+	+	388
7	7										
8 ✓	8			+	+	+	+	+	+	+	244
9 ✓	9			-	+	+	+	+	+	+	330
10	10			+	+	-	+	+	+	+	328
11 ✓	11			+	+	+	+	+	+	+	402
12	12										
13 ✓	13			+	+	+	+	+	+	+	573
14 ✓	14			+	+	+	+	+	+	+	477
15	15										

Encargado de estudio: _____

Instrumento N° 04

“Fichas de evaluación de Sensibilidad antibiótica”

FACULTAD DE CIENCIAS DE INGENIERIA
LABORATORIO DE SALUD ANIMAL-AREA MICROBIOLOGIA
TEST DE EVALUACION DE SENSIBILIDAD - RESISTENCIA ANTIBIOTICA (ANTIBIOGRAMA) DE MICROORGANISMOS RESPIRATORIOS (NEUMONICOS)

Lugar de procedencia: TABALLARI Zona de procedencia: CAVILPABO
Fecha de prueba: 01/03/2020 Horas de prueba: _____
Tipo de muestra: Huevo Nasal Tabla de puntos de corte: CLSI- 2020
Patología del paciente o muestras: NEUMONIA

Microorganismo en estudio: Mannheimia haemolytica
Método de Kirby-Bauer (difusión en agar)

N°	Cod. Muestra	Edad	Sexo	ATB	S	R	ATB	S	R	ATB	S	R	ATB	S	R	ATB	S	R	ATB	S	R	ATB	S	R	
E10	35	♀	TET	22	STP	16	LV	12	CIP	24		P	22		AXC	20									
E12	35	♀	STP	22	TET	18	LV	11	CIP	20		P	21		AXC	21									
E13	40	♂	LV	27	AXC	23	STP	20	TET	12	P	20			CIP	29									
E14	30	♀	CIP	26	TET	18	STP	21	AXC	16	P	20			AXC	24									
E12	45	♂	STP	23	TET	17	LV	10	CIP	12	P	10			AXC	21									
E19	20	♂	P	14	CIP	21	STP	16	TET	10	AXC	18			LV	30									
E21	20	♂	TET	20	CIP		STP	18	P	20		LV	29		AXC	21									
M1	40	♂	CIP	28	LV	27	STP	12	P	22		AXC	17		TET	29									
M2	40	♂	CIP	29	LV	29	STP	10	TET	12	AXC	20			P	20									
M8	40	♂	P	12	TET	14	STP	24	LV	10	AXC	21			P	21									
M10	35	♀	STP	24	AXC	28	P	18		LV	07	TET	18		CIP	30									
M11	45	♀	P	14	LV	28	STP	20	TET	10	AXC	15			CIP	29									
M12	35	♀	TET	20	STP	19	P	20	LV	12	AXC	14			CIP	29									
M13	25	♀	LV	27	AXC	16	STP	12	TET	11	P	20			CIP	11									
M14	45	♂	CIP	28	STP	12	P	10	TET	12	AXC	10			LV	30									
M17	40	♀	CIP	24	P	10	STP	25	TET	27	AXC	10			LV	11									
M18	30	♀	TET	19	STP	23	P	21	LV	30	AXC	11			CIP	10									

Encargado de estudio: _____

Leyenda: ATB- Antibiótico, S- Sensibilidad, R- Resistente

Penicilina (P) ≥ 17
Amoxicilina (AXC) ≥ 15
Clavulánico acid
TETRACICLINO (TET) ≥ 25
ESTREPTOMICINA (STP) ≥ 22
LEVOFLOXACINA (LV) ≥ 27
CIPROFLOXACINA (CIP) ≥ 27

S = 17
I 16Z 14
R 1 ≤ 13

APÉNDICE 3

Base de datos de frecuencia de bacterias

PROCEDENCIA	COD. DE MUESTRA	EDAD	EDAD (DÍAS)	RAZA	COLOR
TANSIRI	E10	3	35	1	1
TANSIRI	E15	2	30	1	1
TANSIRI	E19	2	20	1	1
TANSIRI	E25	2	30	1	1
TANSIRI	E28	3	35	1	1
TANSIRI	E29	2	30	1	1
TANSIRI	M3	4	50	1	1
TANSIRI	M6	4	60	1	1
TANSIRI	M9	3	40	1	1
TANSIRI	M10	3	35	1	1
TANSIRI	M11	3	45	1	1
TANSIRI	M17	3	40	1	1
ALTO ANDINO	C1	2	30	1	1
ALTO ANDINO	C3	2	20	1	1
ALTO ANDINO	C4	2	18	1	1
ALTO ANDINO	C7	3	40	1	1
ALTO ANDINO	C8	1	15	1	1
ALTO ANDINO	C9	2	18	1	1
ALTO ANDINO	C10	2	25	2	2
ALTO ANDINO	C11	3	32	1	2
ALTO ANDINO	C12	2	30	1	1
ALTO ANDINO	C13	2	24	1	2
ALTO ANDINO	C15	3	35	2	1
PUCAPAMPA	H5	1	7	1	1
PUCAPAMPA	H6	2	21	1	1
PUCAPAMPA	H7	2	30	1	1
PUCAPAMPA	H10	1	8	1	1
PACHACLLA	P1	2	30	1	1
PACHACLLA	P2	2	30	2	1
PACHACLLA	P3	3	45	1	1
PACHACLLA	P6	2	28	2	1
PACHACLLA	P7	4	90	1	1
PACHACLLA	P8	2	30	1	1
PACHACLLA	P12	2	30	1	1
PACHACLLA	P13	1	5	2	1
PACHACLLA	P14	2	28	2	1

SEX O	CONDICI ON DE PACIENT E	PRESENC IA DE DIARREA	CANT. DE MUESTR A (ML)	MANNHEIMI A HAEMOLYTI CA	CARGA BATERIA NA x10*5	PASTEUREL LA MULTUCID A	CARGA BATERIA NA x10*5
2	1	1	5 ML	1	1936	1	2550
1	2	2	5 ML	2		1	2139
1	2	1	5 ML	1	2565	1	2472
2	2	2	5 ML	2		1	322
1	2	1	5 ML	2		1	342
2	2	1	5 ML	2		1	684
1	1	1	5 ML	2		1	102
2	2	2	5 ML	2		1	182
1	2	2	5 ML	2		1	471
2	2	1	5 ML	1	1232	1	942
2	2	2	5 ML	1	1848	2	
2	1	1	5 ML	1	1148	1	626
1	2	2	5 ML	2		1	560
2	2	2	5 ML	1	546	1	342
1	2	2	5 ML	1	342	1	462
2	2	2	5 ML	2		1	314
1	2	1	5 ML	2		1	460
2	2	2	5 ML	2		1	512
2	2	2	5 ML	1	384	1	312
2	2	1	5 ML	1	468	1	382
1	2	2	5 ML	1	340	1	412
2	2	2	5 ML	1	344	1	482
1	2	2	5 ML	1	305	1	512
1	2	2	5 ML	1	286	1	242
2	2	2	5 ML	1	448	1	182
2	2	2	5 ML	1	216	1	180
2	2	2	5 ML	1	246	1	220
2	2	1	5 ML	1	339	1	292
2	2	1	5 ML	1	260	1	416
1	2	1	5 ML	2		1	552
1	2	1	5 ML	1	330	1	780
1	1	1	5 ML	2		1	656
2	1	1	5 ML	1	244	1	236
1	2	1	5 ML	2		1	512
1	1	1	5 ML	1	573	1	300
2	2	1	5 ML	1	477	1	740

RESISTENCIA BACTERIANA DE MANNHEIMIA HAEMOLITICA											
TET ≥25	S/R	STP ≥22	S/R	LV ≥27	S/R	CIP ≥27	S/R	P ≥17	S/R	ACX ≥15	S/R
26	1	16	3	12	3	29	1	22	1	20	1
10	3	16	3	30	1	29	1	14	2	18	1
18	3	24	1	9	3	30	1	18	1	28	1
10	3	23	1	28	1	29	1	14	2	18	1
27	1	25	1	11	3	24	2	10	3	10	3
15	3	23	1	10	3	30	1	10	3	16	1
17	3	23	1	26	2	14	3	21	1	19	1
19	3	11	3	27	1	9	3	20	1	21	1
21	2	10	3	27	1	11	3	22	1	25	1
27	1	23	1	12	3	26	2	10	3	19	1
30	1	26	1	10	3	10	3	10	3	26	1
17	3	23	1	29	1	30	1	10	3	18	1
12	3	10	3	28	1	10	3	10	3	21	1
26	1	23	1	12	3	32	1	11	3	17	1
27	1	25	1	26	2	14	3	9	3	20	1
10	3	11	3	11	3	28	1	11	3	25	1
12	3	24	1	13	3	30	1	10	3	14	2
27	1	20	2	31	1	30	1	19	1	12	2
12	3	12	3	28	1	12	3	22	1	17	1
16	3	10	3	31	1	30	1	10	3	17	1
16	3	16	3	16	3	28	1	10	3	18	1
18	3	20	2	28	1	12	3	10	3	20	1

RESISTENCIA BACTERIANA PASTEURRELLA MULTUCIDA											
TET ≥25	S/R	STP ≥22	S/R	LV ≥27	S/R	CIP ≥27	S/R	P ≥17	S/R	ACX ≥15	S/R
10	3	12	3	30	1	30	1	12	3	18	1
22	2	10	3	0	1	29	1	10	3	19	1
12	3	26	1	30	1	28	1	19	1	16	1
10	3	12	3	29	1	28	1	11	3	20	1
10	3	24	1	22	3	29	1	10	3	14	2
11	3	24	1	27	1	18	3	30	1	19	1
12	3	12	3	27	1	20	3	11	3	21	1
11	3	25	1	12	3	14	3	10	3	15	1

20	2	10	3	27	1	29	1	10	3	19	1
12	3	10	3	28	1	30	1	11	3	21	1
10	3	24	1	20	3	28	1	10	3	25	1
10	3	24	1	12	3	28	1	10	3	18	1
17	3	24	1	24	2	29	1	10	3	19	1
17	3	26	1	24	2	27	1	9	3	21	1
12	3	25	1	12	3	29	1	10	3	18	1
10	3	12	3	18	3	32	1	12	3	22	1
11	3	26	1	10	3	31	1	12	3	17	1
10	3	26	1	12	3	29	1	13	3	19	1
18	3	12	3	28	1	30	1	19	1	10	3
12	3	12	3	28	1	27	1	10	3	19	1
15	3	10	3	10	3	31	1	10	3	19	1
10	3	23	1	29	1	29	1	20	1	11	3
26	1	30	1	11	3	30	1	19	1	18	1
26	1	14	3	29	1	29	1	12	3	24	1
22	2	12	3	27	1	29	1	0	3	24	1
22	2	10	3	30	1	30	1	10	3	22	1
20	2	28	1	28	1	28	1	12	2	17	1
27	1	20	2	29	1	12	3	19	1	21	1
18	3	24	1	28	1	30	1	21	1	17	1
30	1	24	1	30	1	30	1	10	1	19	1
28	1	25	1	24	2	29	1	21	1	19	1
10	3	16	3	11	3	26	2	12	2	22	1
9	3	9	3	29	1	30	1	10	2	13	3
27	1	26	1	20	3	11	3	21	1	12	3
13	3	12	3	10	3	24	2	12	2	12	3
13	3	12	3	10	3	24	2	12	2	12	3

Apéndice 4

Procesamiento de base de datos

Tabla cruzada PROCEDENCIA *MANNHEMIA HAEMOLYLITICA

			MANNHEMIA HAEMOLYLITICA		
			POSITIVO	NEGATIVO	Total
PROCEDENCIA	TANSIRI	Recuento	17	34	51
		% dentro de PROCEDENCIA	33,3%	66,7%	100,0%
	ALTOANDINO	Recuento	10	4	14
		% dentro de PROCEDENCIA	71,4%	28,6%	100,0%
	PUKAPAMPA	Recuento	13	3	16
		% dentro de PROCEDENCIA	81,3%	18,8%	100,0%
	PACHCCLLA	Recuento	10	4	14
		% dentro de PROCEDENCIA	71,4%	28,6%	100,0%
Total	Recuento	50	45	95	
	% dentro de PROCEDENCIA	52,6%	47,4%	100,0%	

Tabla de frecuencia

MANNHEMIA HAEMOLYLITICA

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	POSITIVO	50	52,6	52,6	52,6
	NEGATIVO	45	47,4	47,4	100,0
	Total	95	100,0	100,0	

PASTEURELLA MULTUCIDA

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	POSITIVO	36	37,9	37,9	37,9
	NEGATIVO	59	62,1	62,1	100,0
	Total	95	100,0	100,0	

MANNHEMIA HEAMOLYTICA_PASTEURELLA MULTUCIDA

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SI	22	23,2	23,2	23,2
	NO	73	76,8	76,8	100,0
	Total	95	100,0	100,0	

Tabla cruzada PROCEDENCIA *MANNHEMIA HEAMOLYTICA_PASTEURELLA MULTOCIDA

			MANNHEMIA HEAMOLYTICA_PASTEURELLA A MULTOCIDA		Total
			SI	NO	
PROCEDENCIA	TANSIRI	Recuento	5	46	51
		% dentro de PROCEDENCIA	9,8%	90,2%	100,0%
	ALTOANDINO	Recuento	6	8	14
		% dentro de PROCEDENCIA	42,9%	57,1%	100,0%
	PUKAPAMPA	Recuento	5	11	16
		% dentro de PROCEDENCIA	31,3%	68,8%	100,0%
	PACHCCLLA	Recuento	6	8	14
		% dentro de PROCEDENCIA	42,9%	57,1%	100,0%
	Total	Recuento	22	73	95
		% dentro de PROCEDENCIA	23,2%	76,8%	100,0%

Tabla de frecuencia

TET

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	11	22,0	22,0	22,0
	INTERMEDIO	7	14,0	14,0	36,0
	RESISTENTE	32	64,0	64,0	100,0
	Total	50	100,0	100,0	

STP

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	25	50,0	50,0	50,0
	INTERMEDIO	5	10,0	10,0	60,0
	RESISTENTE	20	40,0	40,0	100,0
	Total	50	100,0	100,0	

LV

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	30	60,0	60,0	60,0
	INTERMEDIO	3	6,0	6,0	66,0
	RESISTENTE	17	34,0	34,0	100,0
	Total	50	100,0	100,0	

CIP					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	25	50,0	50,0	50,0
	INTERMEDIO	4	8,0	8,0	58,0
	RESISTENTE	21	42,0	42,0	100,0
	Total	50	100,0	100,0	

P					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	19	38,0	38,0	38,0
	INTERMEDIO	2	4,0	4,0	42,0
	RESISTENTE	29	58,0	58,0	100,0
	Total	50	100,0	100,0	

ACX					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	42	84,0	84,0	84,0
	INTERMEDIO	3	6,0	6,0	90,0
	RESISTENTE	5	10,0	10,0	100,0
	Total	50	100,0	100,0	

Tabla de frecuencia

TET					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	6	16,7	16,7	16,7
	INTERMEDIO	5	13,9	13,9	30,6
	RESISTENTE	25	69,4	69,4	100,0
	Total	36	100,0	100,0	

STP					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	18	50,0	50,0	50,0
	INTERMEDIO	1	2,8	2,8	52,8
	RESISTENTE	17	47,2	47,2	100,0
	Total	36	100,0	100,0	

LV					
		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	19	52,8	52,8	52,8
	INTERMEDIO	3	8,3	8,3	61,1
	RESISTENTE	14	38,9	38,9	100,0
	Total	36	100,0	100,0	

CIP

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	28	77,8	77,8	77,8
	INTERMEDIO	3	8,3	8,3	86,1
	RESISTENTE	5	13,9	13,9	100,0
	Total	36	100,0	100,0	

P

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	10	27,8	27,8	27,8
	INTERMEDIO	5	13,9	13,9	41,7
	RESISTENTE	21	58,3	58,3	100,0
	Total	36	100,0	100,0	

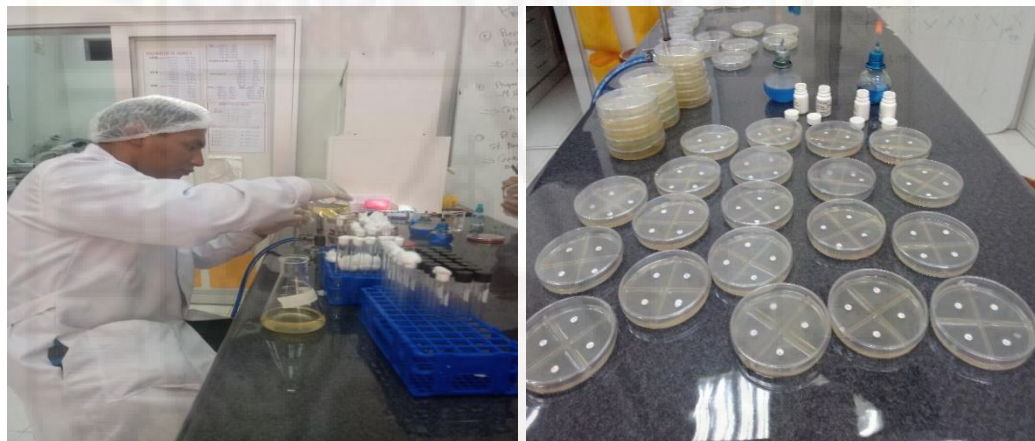
ACX

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válido	SENSIBLE	29	80,6	80,6	80,6
	INTERMEDIO	1	2,8	2,8	83,3
	RESISTENTE	6	16,7	16,7	100,0
	Total	36	100,0	100,0	

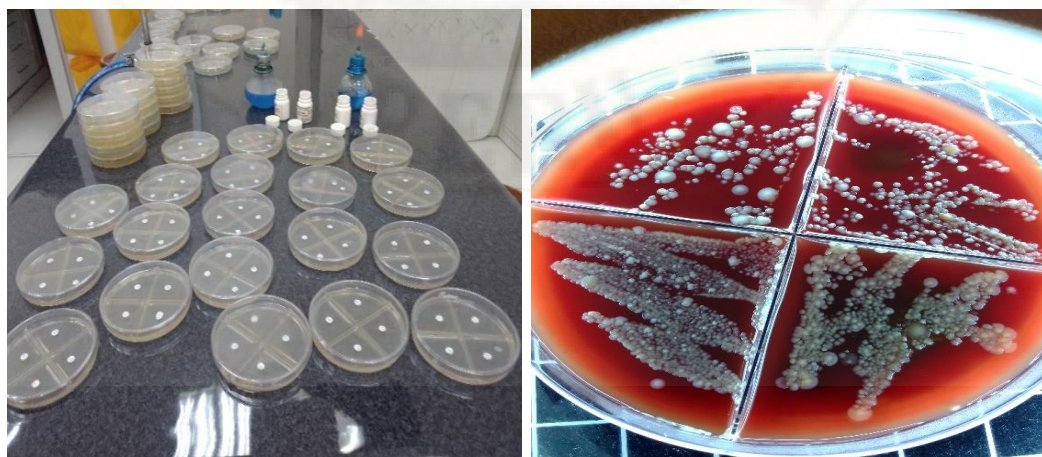
Panel de imágenes



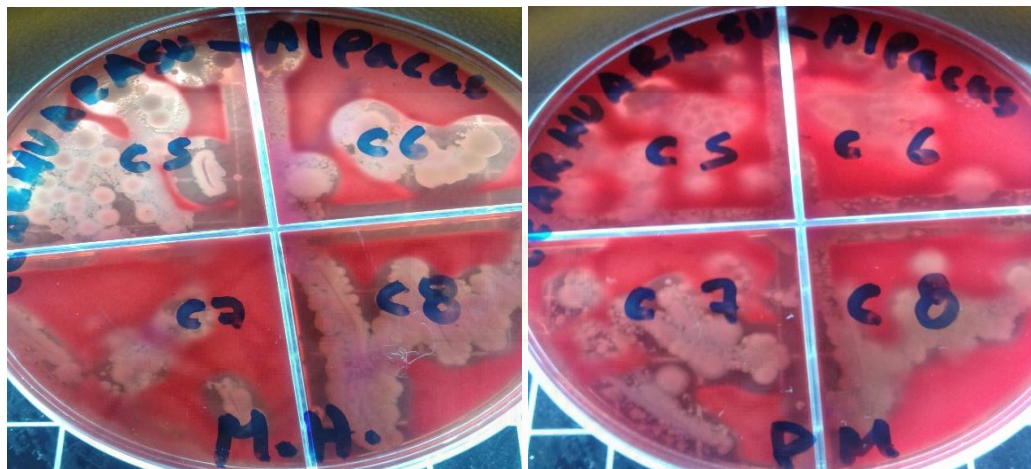
Recolección de muestras de Hisopados nasales de crías de alpaca



Preparacion de medios de cultivo



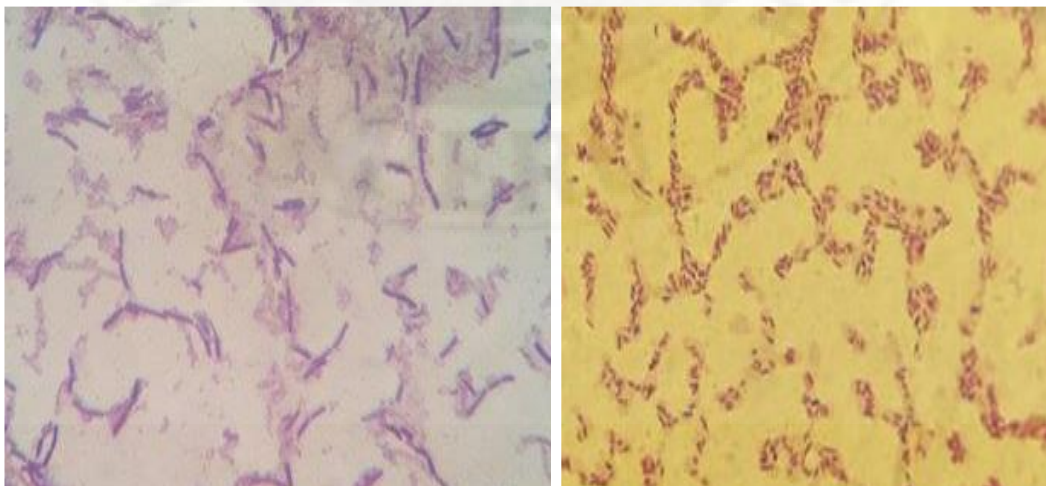
Cultivos de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*



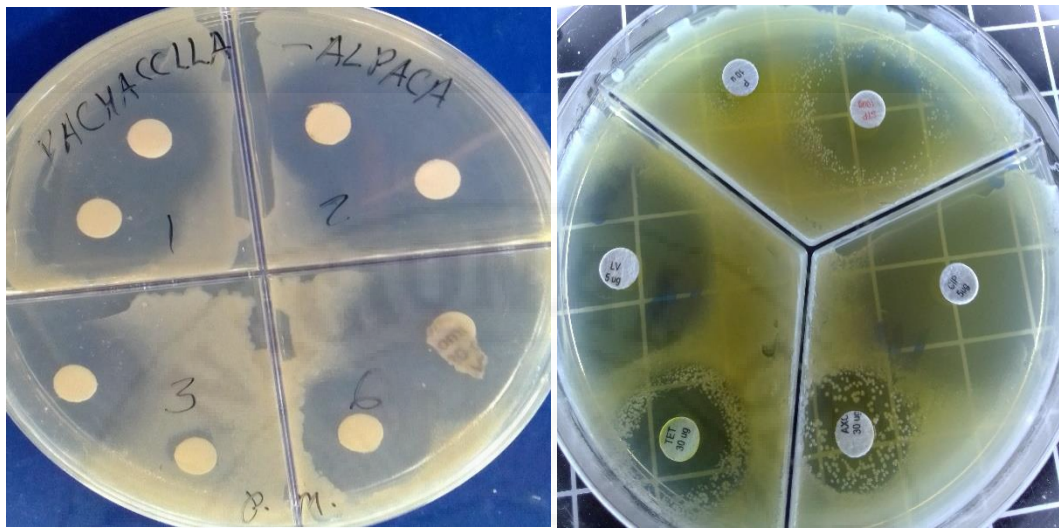
Pruebas de hemolisis de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*



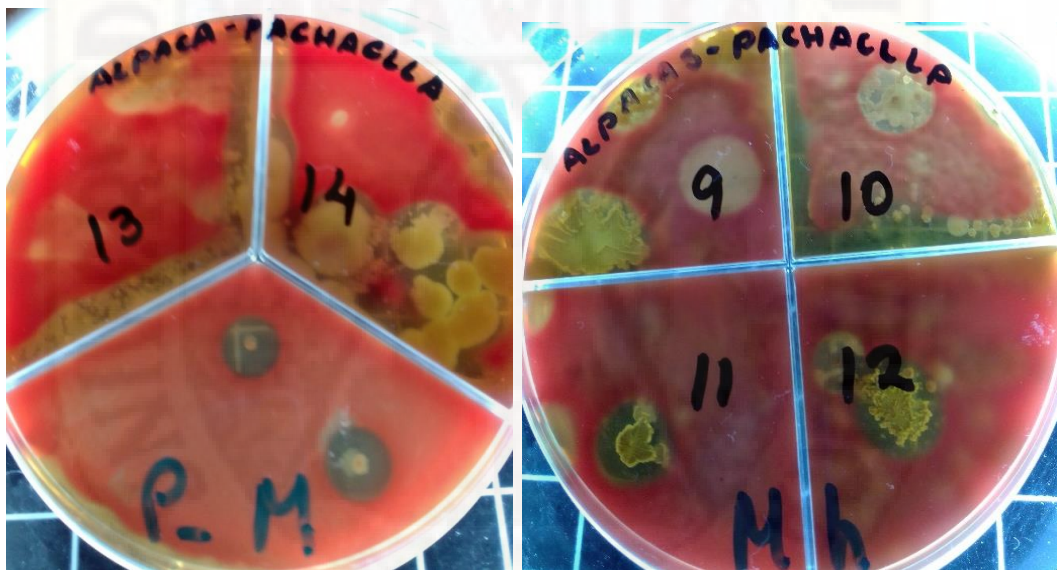
Pruebas bioquímicas de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*



Coloración Gram *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*



Antibiograma de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*



Cepas puras de *Mannheimia haemolytica* y *Pasteurella multocida*