



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

IDENTIFICACIÓN DE DOS GÉNEROS BACTERIANOS Y SU RESISTENCIA
A ANTIBIÓTICOS EN MUESTRAS DE LECHE CRUDA BOVINA CON
MASTITIS CLÍNICA Y SUBCÍNICA OBTENIDA DEL NOROCCIDENTE DE
PICHINCHA

Autor

David Sebastián Arroba Endara

Año
2019



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

IDENTIFICACIÓN DE DOS GÉNEROS BACTERIANOS Y DE SU
RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS EN MUESTRAS DE LECHE CRUDA
BOVINA CON MASTITIS CLÍNICA Y SUBCLÍNICA OBTENIDA DEL
NOROCCIDENTE DE PICHINCHA

Trabajo de Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Médico Veterinario y Zootecnista

Profesor Guía

David Francisco Andrade Ojeda

Autor

David Sebastián Arroba Endara

Año

2019

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido el trabajo, Identificación de dos géneros bacterianos y de su resistencia a antibióticos en muestras de leche cruda bovina con mastitis clínica y subclínica obtenida del noroccidente de pichincha, a través de reuniones periódicas con el estudiante David Sebastián Arroba Endara, en el semestre 2019-20, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”.

David Francisco Andrade Ojeda
Médico Veterinario Zootecnista, MgSc.
C.I. 1712693165

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

"Declaro haber revisado este trabajo, Identificación de dos géneros bacterianos y de su resistencia a antibióticos en muestras de leche cruda bovina con mastitis clínica y subclínica obtenida del noroccidente de pichincha, David Sebastián Arroba Endara, en el semestre 2019-20, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación".

Joar Marcelino García Flores

Médico Veterinario Zootecnista, MgSc.

C.I. 170865475

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.”

David Sebastián Arroba Endara

CI: 1719733899

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis padres, Alfredo y Silvia, por siempre brindarme el apoyo en los momentos más difíciles de la carrera; a mi tía Helena por siempre permitirme aprender y poner en práctica mis conocimientos en la hacienda Dolores del Carmen; a mi compañero de todas las locuras Francisco Seguí por siempre motivarme a seguir adelante con la carrera y ayudarme en cualquier momento, gracias por ser ese amigo que siempre estuvo ahí; a Karla Bucheli que durante toda la carrera estuvo conmigo apoyándome con su amistad y su gran habilidad de maestra, gracias por esos trabajos imposibles y pruebas difíciles que me ayudaste a pasar; a María José Arias por ser una gran compañera durante todo este proceso, quien siempre estuvo dispuesta a enseñarme un poquito más de lo necesario, al final todo dio frutos. A David Andrade, mi tutor, quien supo guiarme de la manera adecuada para el desarrollo de este trabajo.

DEDICATORIA.

A mi familia y sobre todo a mi madre y padre quienes con su constante lucha me motivaron a seguir adelante, me enseñaron que si se toma una decisión hay que pelearla hasta el final, nunca rendirse y siempre mirar hacia adelante, porque todo lo puedo conseguir.

A mis amigos del alma, Francisco, José Daniel, Sebastián, Diego, Karla, Majo, Pao, Lily, José, Ana Paula y Gen; su amistad ha logrado que haga y aprenda cosas maravillosas durante todo este proceso, gracias por sacar la mejor versión de mí.

Finalmente, a mi tía Nancy y a mi primeishon Sole, gracias por entenderme como sólo ustedes me entienden y no dejarme caer en los momentos más difíciles de esta vida de aprendizaje, las quiero con todo mi corazón.

RESUMEN

La mastitis clínica es una de las enfermedades con mayor impacto económico a nivel nacional en el ganado bovino enfocado a la producción de leche. El cantón San Miguel de los Bancos es uno de los mayores productores de leche en el noroccidente de Pichincha y por ende un lugar donde esta enfermedad puede afectar gravemente el área ganadera.

En la presente investigación, el principal objetivo fue identificar la presencia de dos géneros bacterianos comunes en mastitis clínicas y subclínicas grado 3 y determinar su resistencia a antibióticos. Para esto se recolectaron 60 muestras de leche cruda bovina positiva a mastitis clínica y subclínica grado 3 durante el periodo de un mes, las mismas que fueron procesadas en el laboratorio clínico MediLab y en las que mediante un aislamiento en los agares Manitol y Sangre se identificó las bacterias del género *Streptococcus* y *Staphylococcus*. Dichos patógenos fueron posteriormente sembrados en agar Müller Hinton con el propósito de realizar un antibiograma y determinar su resistencia a antibióticos.

En 46 muestras se aisló *Staphylococcus spp.* doce *Staphylococcus Aureus* y tan solo dos muestras *Streptococcus spp.* A la vez, los resultados del antibiograma, mediante el uso de sensidiscos según el método de Kirby Bauer, arrojaron que, de los 8 antibióticos analizados, la Lincomicina, Neomicina, Gentamicina y Tetraciclina tuvieron porcentajes elevados de resistencia con respecto a dichos géneros bacterianos los mismos valores se obtuvieron mediante el uso de métodos estadísticos descriptivos.

Finalmente, los patógenos más prevalentes que afectan a la zona del Cantón San Miguel de los bancos fueron del género *Staphylococcus spp.*, el lugar donde existió mayor cantidad de muestras fue en la Cooperativa 9 de octubre, a su vez los animales con mayor prevalencia de mastitis fueron aquellos que tenían características fenotípicas de Holstein con promedios de producción mayores a los 8 litros diarios.

ABSTRACT

Clinical mastitis is one of the diseases with the greatest economic impact at a national level in cattle focused on milk production. San Miguel de los Bancos canton is one of the largest producers of milk in the northwest of Pichincha and therefore a place where this disease can seriously affect the livestock area.

In the present investigation, the main objective was to identify the presence of two common bacterial genera in clinical and subclinical grade 3 mastitis and determine their resistance to antibiotics. For this, 60 samples of bovine raw milk positive for clinical and subclinical grade 3 mastitis were collected during the period of one month, which were processed in the MediLab clinical laboratory and in which, through isolation in the Manitol and Blood agar were identified the bacteria of the genus *Streptococcus* and *Staphylococcus*. These pathogens were subsequently seeded on Müller Hinton agar for the purpose of performing an antibiogram and determining their resistance to antibiotics.

In 46 samples, *Staphylococcus* spp, Twelve *Staphylococcus Aureus* and only two samples *Streptococcus* spp. At the same time, the results of the antibiogram, through the use of sensitivities according to the Kirby Bauer method, showed that, of the 8 antibiotics analyzed, Lincomycin, Neomycin, Gentamicin and Tetracycline had high percentages of resistance with respect to said bacterial genera. Same values were obtained through the use of descriptive statistical methods.

Finally, the most prevalent pathogens that affect the area of the San Miguel Canton of the banks were of the genus *Staphylococcus* spp, the place where there was the greatest number of samples was in the Cooperativa 9 de Octubre, in turn the race with the highest prevalence of mastitis were of Holstein breed with production averages greater than 8 liters per day.

ÍNDICE

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Problema	1
1.2 Objetivos.....	2
1.2.1. Objetivo General	2
1.2.2. Objetivos Específicos.....	2
1.3 Hipótesis:.....	3
2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	4
2.1 Mastitis	4
2.2 Anatomía y fisiología de la glándula mamaria	5
2.2.1 Inmunología de la Glándula Mamaria	6
2.2.2 Alteraciones en glándula mamaria.....	7
2.2.3 Tipos de mastitis de acuerdo con los agentes causales.....	7
2.3 Diagnóstico	8
2.4 Medios de Cultivos Bacterianos.....	9
2.4.1 Aislamiento e identificación.....	9
2.4.2 Agar sangre	10
2.4.3 Agar Manitol.....	10
2.4.4 Agar Müller Hinton	11
2.5 Antibiograma.....	11
3. CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS	14
3.1 Unidad de estudio de la investigación.....	14
3.2 Materiales	14
3.3 Variables.....	16
3.4 Criterios de Inclusión y Exclusión	16

3.5	Metodología	17
3.5.1	Determinación de variables	19
3.5.2	Muestreo.....	20
4.	CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
4.1	Resultados.....	21
4.2	Univariados.....	21
4.2.1	Bacterias aisladas mediante el cultivo	21
4.2.2	Resultados del antibiograma.....	22
4.2.3	Ampicilina	22
4.2.4	Amoxicilina + Clavulánico	22
4.2.5	Penicilina G.....	23
4.3	Lincomicina.....	24
4.3.1	Neomicina	25
4.3.2	Vancomicina	26
4.3.3	Gentamicina.....	27
4.3.4	Tetraciclina.....	28
4.3.5	Resultados obtenidos por encuesta.....	29
4.3.6	Edad del animal	30
4.3.7	Raza del animal según sus características fenotípicas.....	31
4.3.8	Rango de producción.....	31
4.3.9	Número de partos	32
4.3.10	Antibióticos parenterales	33
4.3.11	Antibióticos intramamarios.....	34
4.4	Bivariados.....	35
4.4.1	Análisis de resistencia antimicrobiana según el patógeno.....	35
4.4.2	Ampicilina	35

4.4.3	Amoxicilina + A. Clavulánico	36
4.4.4	Penicilina G.....	37
4.4.5	Lincomicina.....	38
4.4.6	Neomicina.....	39
4.4.7	Vancomicina	40
4.4.8	Gentamicina.....	41
4.4.9	Tetraciclina.....	42
4.4.10	Análisis cruzado de Fármacos parenterales x Raza animal según sus características fenotípicas.	43
4.4.11	Ubicación x Rango de producción	44
4.4.12	Raza del animal x Edad.....	46
4.5	Discusión	47
4.6	Limitaciones.....	49
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	50
5.1.	Conclusiones	50
5.2.	Recomendaciones.....	51
	REFERENCIA.....	52
	53
	ANEXOS.....	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Acino glandular	6
Figura 2. Siembra por Estría simple. (Pineda, 2018).....	9
Figura 3. Distribución de discos con antimicrobiano en una caja Petri.....	12
Figura 4. Colecta de muestras y levantamiento de información.....	17
Figura 5. Proceso de aislamiento, identificación y antibiograma.....	19
Figura 6. Patógenos presentes en muestras de leche cruda bovina.....	21
Figura 7. Valoración de sensibilidad y resistencia a Ampicilina.....	22
Figura 8. Valoración de sensibilidad y resistencia a Amoxicilina + A. Clavulánico.....	23
Figura 9. Valoración de sensibilidad y resistencia a Penicilina G.....	24
Figura 10. Valoración de sensibilidad y resistencia a Lincomicina.....	25
Figura 11. Valoración de sensibilidad y resistencia a Neomicina.....	26
Figura 12. Valoración de sensibilidad y resistencia a Vancomicina.....	27
Figura 13. Valoración de sensibilidad y resistencia a Gentamicina.....	28
Figura 14. Valoración de sensibilidad y resistencia a Tetraciclina.....	29
Figura 15. Número de muestras obtenidas según su ubicación.....	30
Figura 16. Número de muestras obtenidas según la edad del animal.....	30
Figura 17. Número de muestras obtenidas según la raza del animal.....	31
Figura 18. Número de muestras obtenidas según el rango de producción.....	32
Figura 19. Número de muestras obtenidas según el número de partos.....	33
Figura 20. Número de muestras obtenidas según los fármacos más usados.....	34
Figura 21. Número de muestras obtenidas según Antibióticos intramamarios.....	35
Figura 22. Valoración de sensibilidad y resistencia a Ampicilina frente al total de patógenos encontrados.....	36
Figura 23. Valoración de sensibilidad y resistencia a Amoxicilina + A. Clavulánico frente al total de patógenos encontrados.....	37
Figura 24. Valoración de sensibilidad y resistencia a Penicilina G frente al total de patógenos encontrados.....	38

Figura 25. Valoración de sensibilidad y resistencia a Lincomicina frente al total de patógenos encontrados.	39
Figura 26. Valoración de sensibilidad y resistencia a Neomicina frente al total de patógenos encontrados.	40
Figura 27. Valoración de sensibilidad y resistencia a Vancomicina frente al total de patógenos encontrados.	41
Figura 28. Valoración de sensibilidad y resistencia a Gentamicina frente al total de patógenos encontrados.	42
Figura 29. Valoración de sensibilidad y resistencia a Tetraciclina frente al total de patógenos encontrados.	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Halos de Inhibición según el antibiótico.....	13
Tabla 2 Variables	16
Tabla 3 Raza del animal comparada con los fármacos parenterales.....	44
Tabla 4 Chi Cuadrado de la tabla 3.....	44
Tabla 5 Ubicación x rango de producción	45
Tabla 6 Chi Cuadrado de tabla 5.....	45
Tabla 7 Raza del animal comparada con la edad	46
Tabla 8 Chi Cuadrado de tabla 7.....	46

1. CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Los estudios que abarcan la investigación de los distintos tipos de patógenos causantes de las mastitis clínicas y subclínica grado 3 son extensos. Gracias a estos aportes científicos los agentes causales han sido clasificados como contagiosos y ambientales, oportunos y otros, *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* son los más mencionados al hablar de patógenos contagiosos (Calvinho, 2002).

Los patógenos contagiosos son aislados en muestras de leche cruda bovina positivas a mastitis clínica, pero a su vez existen patógenos ambientales que pueden ser aislados en el medio donde se encuentran los animales (Reyes, Valero-Lea y Cagnasso, 2005).

Los patógenos ambientales (entorno del animal) llegan a ser los mayores causantes de este tipo de patologías, demostrando que los patógenos con mayor prevalencia en muestras de leche fueron *S. aureus* (30,5%), *S. dysgalactiae* (19,8%), *S. uberis* (10%), *S. agalactiae* (7,7%). (Calvinho L, 2007).

Además, se ha mencionado la presencia de este tipo de patógenos ambientales en vaquillas primíparas con mayor frecuencia relacionada al género *Streptococcus Agalactiae* (S.C. Nickerson, Owens, y Boddie, 1995).

1.1 Problema

El cantón San Miguel De Los Bancos se encuentra en el noroccidente de Pichincha. La mayoría de su gente está dedicada a la producción ganadera y elaboración de derivados lácteos, los cuales son comercializados tanto en el cantón como en sus inmediaciones, siendo la industria lechera el principal sustento de muchas familias por lo cual es importante el conocimiento y la prevención de patologías que puedan afectar a la producción láctea en el sector. (Gobierno Provincial Pichincha, 2012).

Según la *Comisión Europea*, (2015) menciona que el uso de antibióticos de manera inadecuada puede ser uno de los causantes principales para que las bacterias presentes en mastitis clínicas tengan un alto grado de resistencia.

La misma Comisión menciona que se deben aplicar buenas prácticas, evitar el uso de antibióticos y promover el uso de métodos profilácticos.

1.2 Objetivos

1.2.1. Objetivo General

- Aislar agentes patógenos presentes en mastitis clínica y mastitis subclínica grado 3 de vacas en el cantón San Miguel de los Bancos, con el fin de realizar un cultivo y antibiograma para determinar la resistencia a antibióticos.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Identificar dos géneros bacterianos presentes en muestras positivas de mastitis para realizar cultivo y antibiograma.
- Realizar una valoración sobre la resistencia a antibióticos en los microorganismos más frecuentes presentes en las muestras de leche cruda bovina.
- Realizar un análisis comparativo según la ubicación de la muestra, raza del animal según sus características fenotípicas, rangos de producción y patógenos encontrados.

1.3 Hipótesis:

La mastitis clínica y subclínica grado 3 presente en el cantón San Miguel de los Bancos es causada por los grupos bacterianos Staphylococcus y Streptococcus resistentes a los antibióticos de uso frecuente.

2. CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Mastitis

Mastitis se define como una enfermedad que causa la inflamación de las glándulas mamarias del animal, desencadenando de esta forma cambios en la bioquímica de la leche (Pedro Cano Celada, 2006; Romero y Ruiz, 2014).

Esta enfermedad tiene dos categorías: mastitis clínica y mastitis subclínica; en la mastitis clínica se evidenciará signos clínicos notorios en la ubre del animal, o como tal, en la leche del mismo; por otro lado, en la mastitis subclínica el animal no tendrá signos clínicos evidentes, la literatura menciona que pueden llegar a ser “invisibles”, por lo que en esta clasificación el diagnóstico es complicado, necesitando el uso de herramientas diagnósticas tales como el CMT (California mastitis test) (Concha, 2009; Nickerson et al, 1995).

En cuanto a la mastitis subclínica, la presentación de la enfermedad afecta con mayor frecuencia a bovinos que han tenido varios ciclos de lactación y de larga duración, ya que la misma no es notoria y no afecta en la composición de la leche (Romero y Ruiz, 2014).

Chaves (2010) menciona que, en casos de mastitis clínica, existe una infección intramamaria causada por patógenos mayores tales como: *Staphylococcus*, *Streptococcus* y coliformes.

La mastitis clínica a su vez tiene estados y se lo puede categorizar de la siguiente manera: Mastitis clínica subaguda, aguda e hiperaguda:

- Mastitis clínica subaguda: alteraciones menores en leche tales como grumos, el cuarto puede o no presentar una leve hinchazón sin presencia de calor al tacto.

- Mastitis clínica aguda: enrojecimiento, hinchazón y endurecimiento repentino del cuarto afectado, sensible al tacto, con leche de aspecto poco normal: purulento, sanguinolento y seroso además de estar acompañada con signos clínicos muy marcados tales como: fiebre, pérdida de apetito, debilidad, diarrea y deshidratación.
- Mastitis hiperaguda: poco frecuente, similar a la mastitis clínica aguda pero su expresión es muy severa, puede presentar fibrosis de ubre, septicemia y shock (Chaves, 2010).

2.2 Anatomía y fisiología de la glándula mamaria

La glándula mamaria se localiza en la porción caudal del abdomen, hacia ventral del piso de la pelvis en la zona inguinal ubicada entre los muslos. La ubre cuenta con un sistema suspensorio formado por 3 ligamentos.

El más importante es el ligamento suspensorio medio (LSM), el cual es esencial para conformación de la ubre, un LSM débil provocará que la ubre este más caída, incluso por debajo de los corvejones causando que la GM llegue a tocar suciedad cuando se encuentra llena, facilitando el ingreso de bacterias (Rodrigo Arias, 2016).

Además, alrededor del 60% de la producción total recae en los cuartos traseros volviéndolos más propensos a sufrir enfermedades causadas por distintos patógenos (Gómez-Quispe, Santivañez-Ballón, Arauco Villar, Espezua Flores y Manrique Meza, 2015).

La glándula mamaria es, en concepto, una glándula de tipo exocrina cuya unidad funcional es el alvéolo mamario, cuando existen inflamaciones producidas por *Staphylococcus Aureus*, dicho patógeno ingresa profundamente a los tejidos celulares provocando pequeños abscesos generalizados incapacitando en su totalidad a la glándula mamaria (Mellenberger y Kirk, 2016).

La glándula se encuentra en contacto directo con el medio ambiente haciéndola más propensa a sufrir infecciones por patógenos contagiosos tales como *Staphylococcus Aureus*, ya que dicho patógeno habita en la piel de los animales (Jiménez, 2012).

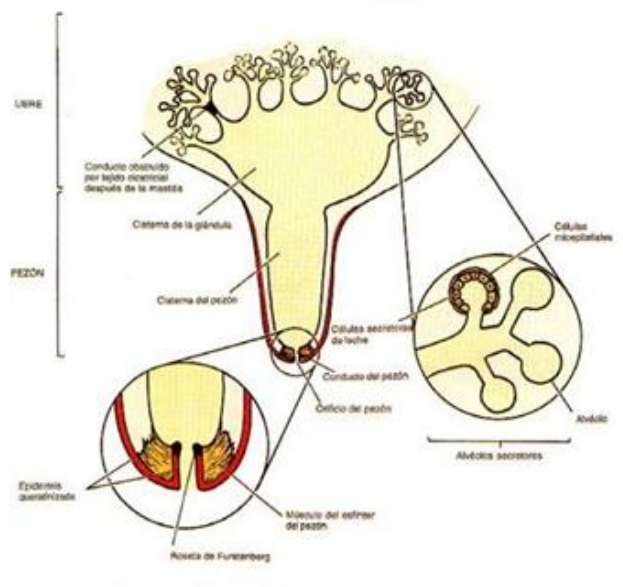


Figura 1. Acino glandular. Tomado de (Gonzales, 2018).

2.2.1 Inmunología de la Glándula Mamaria

Los mecanismos inmunológicos empleados por la glándula mamaria para la defensa contra los patógenos pueden ser no inmunológicos o inmunológicos.

Los mecanismos no inmunológicos están conformados por anatómicos y solubles, en el caso de los anatómicos está el canal del pezón y la piel, siendo esta última de suma importancia, ya que una piel sana evita la proliferación de bacterias dándole protección contra la penetración de agua hacia el interior de la glándula (Bascuñán, 2004).

El canal del pezón este revestido por músculo liso, lo que le permite tener una elasticidad adecuada para mantener cerrado el canal, limitando así el ingreso

de bacterias hacia el interior.

En el caso de los mecanismos solubles, actúa la lactoperoxidasa y la lactoferrina, estas sustancias son producidas por células epiteliales y siempre están presentes en la leche, tanto la lactoperoxidasa como lactoferrina actúan como bacteriostáticos evitando el crecimiento de patógenos como *Staphylococcus* y *Coliformes* (Meglia y Mata, 2001).

Finalmente, los mecanismos inmunológicos son cuando actúan Inmunoglobulinas, principalmente IgG, IgE, IgM y IgA las cuales activan el complemento y facilitan el proceso de fagocitosis de los microorganismos, de igual manera que hacen los neutrófilos polimorfonucleados y finalmente las citoquinas son las encargadas de que exista una respuesta inmunitaria (Cruz, 2014).

2.2.2 Alteraciones en glándula mamaria

Cuando se habla de alteraciones en la glándula mamaria, la mastitis es la causante de la mayor cantidad de problemas. En casos de hipertelia o politelia, se recomienda la extracción, puesto que las bacterias causantes de mastitis pueden ingresar por dichos pezones supernumerarios y al final terminará en una mastitis clínica o subclínica grado 3 (Vicente González, 2014).

También se encuentran afecciones de tipo traumáticas o químicas que, con el transcurso del tiempo causaran una inflamación en la ubre y dará como resultado una mastitis clínica o subclínica grado 3 (Jiménez, 2012).

2.2.3 Tipos de mastitis de acuerdo con los agentes causales

Las mastitis pueden ser clasificadas en cuatro tipos: ambiental, contagiosa, mastitis por agentes oportunos y otros. En cada una de ellas actúan varios agentes patógenos, los cuales pueden ser de un mismo género, pero con

ciertas excepciones, esto debido principalmente a su etiología (Mera, 2017) .

Bailey, Rietze, Moroso, y Szilva, 2011 mencionan que la principal causa de la enfermedad es a causa de patógenos contagioso, y dependiendo del patógeno podrá observarse una mayor severidad en la enfermedad.

La mastitis ambiental es ocasionada por bacterias tales como *E coli*, las cuales pueden ingresar por el canal del pezón cuando entran en contacto con alguna superficie contaminada. Es un tipo de mastitis con una prevalencia muy baja en hatos ganaderos, su porcentaje con relación a otras mastitis no excede el 10 % (Acuña y Rivadeneira, 2008; Gómez, 2008).

2.3 Diagnóstico

Para la detección de mastitis existen varios métodos. Se la puede detectar a simple vista siempre y cuando sea mastitis clínica, mediante el uso de una malla oscura.

En el caso de mastitis subclínicas en general las pruebas biológicas son las predilectas de muchos veterinarios debido a que son sencillas de realizar, efectivas para obtener un diagnóstico certero en el campo (Fernández Bolaños, Trujillo Graffe, Peña Cabrera, Cerquera Gallego, y Granja Salcedo, 2012).

La CMT es una prueba para detectar mastitis subclínica sin proporcionar un valor numérico. Es decir, esta prueba indica si el recuento de células somáticas es alto o bajo.

La interpretación de los resultados puede ser medible en una escala de cinco grados donde el resultado será negativo cuando la leche, junto con el reactivo, se mantiene en un estado acuoso, hasta un grado 5 donde la leche junto con el reactivo se podría casi solidificar, indicando una presencia elevada de células somáticas (Beltrán et al, 2013).

2.4 Medios de Cultivos Bacterianos

2.4.1 Aislamiento e identificación

El aislamiento en cultivos bacterianos es la base fundamental para el estudio específico de los distintos microorganismos que pueden estar presentes en una muestra contaminada. Para realizar este proceso se pueden emplear varias técnicas mediante el uso de agares mixtos que inducirán el crecimiento de microorganismos para su posterior identificación (Bernal y Guzman, 2018).

Una de las técnicas más utilizadas para el aislamiento de agentes patógenos es la técnica de siembra por "Estría simple" la cual consiste en tomar un asa bacteriológica, flamearla y tomar una muestra del cultivo, la cual posteriormente se deberá extender suavemente en el agar deseado. El patrón a seguir para esta técnica se inicia desde la parte superior de la caja petri y se distribuye ampliamente, cubriendo la mayor superficie del agar tal y como se puede observar en la figura n 2



Figura 2. Siembra por Estría simple. Tomado de (Pineda, 2018).

Por otro lado, existen otros tipos de técnicas que permitirán identificar con mayor exactitud el tipo de microorganismo presente en el cultivo, por mencionar algunas se encuentran las siguientes:

- Siembra por Agotamiento de Asa.
- Siembra por Estrías escocesas.

- Técnica de los cuatro cuadrantes
- Siembra por Punción o picadura.
- Siembra por Estrías Múltiples

Cada una de las técnicas mencionadas anteriormente permitirá evaluar de manera distinta los tipos de colonias que crecerán en el agar. En el caso del presente estudio se utilizó dos técnicas: Siembra por estría simple y por estrías múltiples, ya que son las indicadas para obtener colonias aisladas y bien identificadas de un medio que se presume tener una alta cantidad de gérmenes. Sumado a esto, es fundamental el uso de agares enriquecidos para favorecer el crecimiento bacteriano y para este estudio se decidió el uso de Agar sangre y Agar Manitol (Aquiahuatl y Perez, 2004).

2.4.2 Agar sangre

Es un agar utilizado para el aislamiento e identificación de varios organismos, los cuales pueden ser aerobios o anaerobios. Gracias a su formulación, para elaborar dicho agar es necesario el uso de sangre de cordero desfibrilada, con el objetivo de observar los distintos patrones de hemólisis que puedan generar los distintos microorganismos. Existen 3 tipos de hemólisis: Beta, Gama y Alfa. Estos patrones permiten la identificación de los distintos organismos de importancia y debido a esta razón es un agar empleado para la identificación de (Laboratorios Britania S.A, 2015):

- *Staphylococcus Aureus*
- *Streptococcus spp*
- *Streptococcus Pyogenes*
- *Staphylococcus Epidermitis.*

2.4.3 Agar Manitol

Este agar es utilizado como un medio de cultivo selectivo para bacterias Gram positivas. Debido a su composición, este medio inhibe el crecimiento de bacterias Gram negativas gracias a su alta concentración de NaCl. Además, permite distinguir microorganismos en un periodo de tiempo realmente corto y,

dependiendo del color de las colonias que se formen, permite distinguir si son coagulasa negativos o positivos, haciéndolo de esta manera el medio perfecto para identificar la presencia de *Staphylococcus Aureus* (Usar, 2013).

2.4.4 Agar Müller Hinton

Es un medio no selectivo de elección universal para realizar pruebas de sensibilidad en a los antibióticos, el cual promueve el desarrollo microbiano y es utilizado rutinariamente para realizar antibiogramas ya que la mayoría de los microorganismos crecen satisfactoriamente, además, este agar es recomendado por la CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (HiMedia, 2016).

2.5 Antibiograma

También conocida como pruebas de sensibilidad microbiana, es utilizada para determinar la resistencia a distintos tipos de antibióticos. Es decir, mide la capacidad de un antibiótico para contrarrestar el crecimiento microbiano.

El antibiograma ha sido estandarizado de manera tal que todos los laboratorios utilizan el mismo procedimiento, el método más usado a nivel mundial es mediante la normalización de la técnica de Kirby Bauer, que pese a ser una técnica antigua, se mantiene como estándar hasta la actualidad. Esta técnica especifica el uso adecuado de antimicrobianos, con el objetivo de usar únicamente los recomendados dependiendo si los patógenos son Gram positivos o Gram negativos (Bernal y Guzman, 2018).

El uso de antibióticos específicos permite obtener resultados confiables cuando se los agrupa por familias, tal y como sucede con la Penicilina G ya que es utilizada para determinar sensibilidad o resistencia con respecto a todas las penicilinas. De igual manera sucede con las tetraciclinas, donde el antibiótico recomendado siempre será la tetraciclina para evaluar la inhibición del

crecimiento microbiano (Coyle, Cavalieri, Rankin, Harbeck y Sautter, 2006).

Por otro lado, para poder realizar un antibiograma adecuado se deben seguir ciertos pasos, sobre todo para la siembra del cultivo, colocación de los discos empapados de antibióticos y el tipo de agar.

La siembra se la realiza mediante el uso de hisopos estériles que permitirán distribuir adecuadamente toda la muestra en el agar Müller-Hinton, evitando zonas muy concentradas o diluidas para finalmente, mediante el uso de pinzas estériles colocar los discos realizando una pequeña presión para que estos tomen contacto con el agar (UTN, 2009).

La forma de distribución de estos debe ser la correcta, colocándolos a la periferia de la caja Petri, sin exceder el número de 6 discos y recordando colocar siempre uno en la zona de la mitad.

La elección de los discos será de acuerdo al halo que produzcan, es decir, antibióticos que generen halos de mayor tamaño deberán ser colocados estrictamente en la periferia mientras que los que generen halos de poco tamaño serán ubicados en el medio del cultivo, en la figura 3 se podrá observar la distribución de los discos en la caja Petri (Ramon-Pardo, Sati, y Galas, 2018).

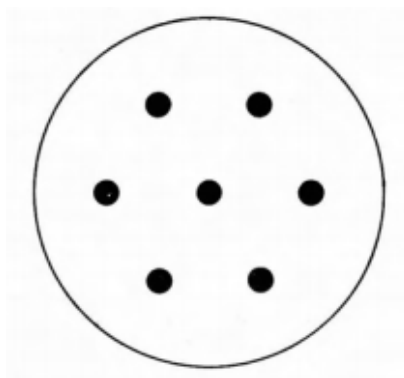


Figura 3. Distribución de discos con antimicrobiano en una caja Petri. Tomado de (Bernal y Guzman, 2018).

A continuación, en la Tabla 1 “Halos de Inhibición según el Antibiótico” se encontrará una lista con los fármacos utilizados, conjuntamente con el tamaño de sus halos en mm donde son aceptados como antibióticos sensibles o resistentes para los géneros bacterianos como *Staphylococcus* y *Streptococcus*, los mismos que han sido registrados por la CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

Tabla 1
Halos de Inhibición según el antibiótico.

Antibiótico	Staphylococcus		Poco Resistente	Streptococcus	
	Sensible	Resistente		Sensible	Resistente
Gentamicina	Mayor a 15 mm	Menor a 12 mm	13 a 15 mm	Mayor a 15 mm	Menor a 12 mm
Penicilina g	Mayor a 29 mm	Menor a 25 mm	26 a 27 mm	Mayor a 29 mm	Menor a 24 mm
Vacomicina	Mayor a 17 mm	Menor a 14 mm	15 a 16 mm	Mayor a 17 mm	Menor a 14 mm
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	Mayor a 21 mm	Menor a 15 mm	18 mm	Mayor a 24 mm	Menor a 15 mm
Lincomicina	Mayor a 21 mm	Menor a 14 mm	15 a 19 mm	Mayor a 19 mm	Menor a 15 mm
Neomicina	Mayor a 17 mm	Menor a 12 mm	13 a 16 mm	Mayor a 17 mm	Menor a 12 mm
Tetraciclina	Mayor a 19 mm	Menor a 14 mm	15 a 18 mm	Mayor a 23 mm	Menor a 18 mm
Ampicilina	Mayor a 24 mm	Menor a 23 mm		Mayor a 24 mm	-

Tomado de (Dolinsky, 2018).

3. CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Unidad de estudio de la investigación

Esta investigación de campo se realizó en la zona del noroccidente de Pichincha en diferentes cooperativas que tienen ganado bovino para la producción de leche, los distintos lugares donde fueron tomadas las muestras fueron en:

- Cooperativa 9 de octubre
- Cooperativa Grupo de Cristianos
- Barrio Santa Isabelle
- Barrio Montereal
- Cooperativa Los Andes
- Cooperativa Ganaderos Orenses
- Cooperativa Luz de América

El cantón San Miguel de los Bancos cuenta con una temperatura anual que puede variar entre los 19 a 20.6°C con precipitaciones anuales de 3493 mm y está situado a una altura de 1100 metros sobre el nivel del mar. (Loya, 2014).

3.2 Materiales

- | | |
|--------------------------------------|----------------------------|
| — Material utilizado en campo | — Alcohol al 30% |
| — Botas de caucho | — Esfero negro marca Pilot |
| — Guantes de látex M | — Libreta de apuntes |
| — Marcador permanente marca Sharpie® | — Gasas estériles |
| — Cooler | — Reactivo CMT |
| — VanTubos de 10ml | — Paleta para CMT |
| | — Ligas de caucho |

Materiales utilizados en laboratorio:

- Guantes de látex M
- Refrigerador para muestras.
- Refrigerador para cultivos
- Incubadora
- Microscopio
- Esfero negro marca Pilot
- Cuaderno de Anotaciones
- Cámara fotográfica
- Autoclave
- Cajas Petri con tapa
- Mechero de gas
- Encendedor
- Muestra de Leche
- Asa de siembra de platino
- Agua
- Alcohol
- Agar Sangre
- Pinzas
- Agar Manitol
- Agar Müller Hinton
- Van tubos Rojos
- Discos de antibióticos:
- Gentamicina
- Penicilina G
- Vacomicina
- Amoxicilina más ácido clavulánico
- Lincomicina
- Neomicina
- Tetraciclina
- Ampicilina
- Desinfectante
- Jabón de manos
- Tijeras

3.3 Variables

Tabla 2
Variables

Variables	Tipo de variable	Definición	Indicador	Unidad de medida	Ítem	Instrumento
Rangos de Edad	Cualitativa	Años de vida del animal	Rangos hasta la toma de muestra	2-3 4-6 8-9 No se conoce la edad.	rangos	Medición directa
Raza	Cualitativa/ Nominal	Características fenotípicas del animal.	Razas Holstein Gyr Jersey	Razas	#	Medición directa
Rangos de producción	Cualitativa	Producción por lactancia	Escalas de producción	2-3 4-6 8-12 Más de 15	#	Medición indirecta
Ubicación de la muestra	Cualitativa	Donde fue tomada la muestra	Localidad	Localización	#	Medición directa
Antimastítico	Cualitativa	Medicamento para control de mastitis	Nombre de Fármaco	Nombre de Fármaco	nombre de fármaco	Medición directa
Tipo de Bacteria	Cualitativa/ dicotómica	Es Streptococo o Staphilococo	Tipo de bacteria	Tipos de bacterias	#	Medición directa

3.4 Criterios de Inclusión y Exclusión

- **Criterios de inclusión:** se tomaron en cuenta:
 - Todos los animales que se encuentren en periodo de lactancia sin importar su fase o el número de lactancias que hayan tenido.
 - Se aceptaron muestras de leche de animales que hayan sido tratados con antimastíticos 10 días previos a la toma.
- **Criterios de exclusión:**
 - Mediante encuesta, todos los propietarios que hayan tratado a sus animales con antibióticos para el control de mastitis u otras enfermedades en un periodo menor a 3 días serán excluidos dichos animales del estudio.
 - Muestras contaminadas con heces, pelo u otros agentes.

3.5 Metodología

En la figura 4 se detalla el procedimiento a seguir para la obtención de las muestras de leche conjuntamente con el proceso de selección de los bovinos aptos para este estudio mediante el uso de CMT (California Mastitis Test).

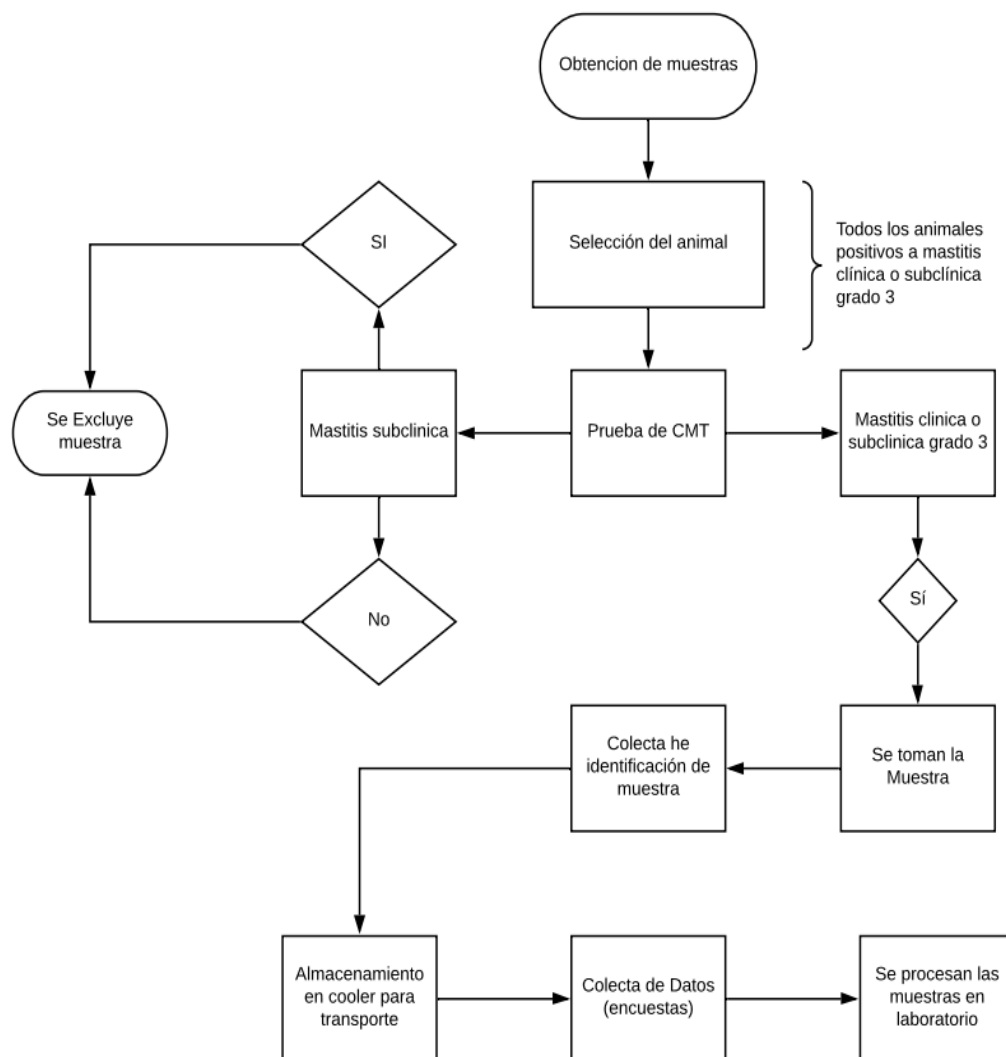


Figura 4. Colecta de muestras y levantamiento de información. Tomado de (Aquiahuatl y Pérez, 2004).

Posteriormente se coloca la muestra de leche previamente centrifugada por 5 minutos en un medio enriquecido durante un periodo de 24h a una temperatura de 37 grados para observar el crecimiento bacteriano, esto se realiza principalmente en agar sangre, el mismo que nos ayudará a diferenciar los

distintos tipos de colonias bacterianas presentes en la muestra (Dolinsky, 2018).

La identificación de las colonias se da gracias a su forma, color, o el tipo de hemólisis que cause dicha bacteria, donde comúnmente las colonias de *Staphylococcus* tienden a crecer en racimos, tiene una forma esférica de un tamaño similar a 1 a 4 mm, generalmente con una tonalidad blanco crema.

Por otro lado, los *Streptococcus* en sus colonias presentará un halo transparente debido a la hemólisis producida y en otros casos se identificará debido a sus colonias de color verde causadas por una hemólisis de tipo Alpha (Emilia Cercenado y Rafael Cantón, 2010).

Además, en el protocolo establecido en MediLab se realiza la tinción Gram con el fin de determinar si las bacterias son Gram positivas o Gram negativas, para el presente estudio solo se tomarán en cuenta a las bacterias Gram positivas, a continuación, se realizará una prueba de catalasa para identificar *Streptococcus* (catalasa negativa) de *Staphylococcus* (Catalasa positiva).

Una vez culminado con esto se procederá a realizar el antibiograma donde se colocarán las colonias previamente aisladas en Agar Müller Hinton para realizar el antibiograma según el método Kirby Bauer. Todo este proceso fue elaborado según el protocolo establecido en el Laboratorio Clínico MediLab para las aislamiento, cultivo y antibiograma de bacterias (Dolinsky, 2018).

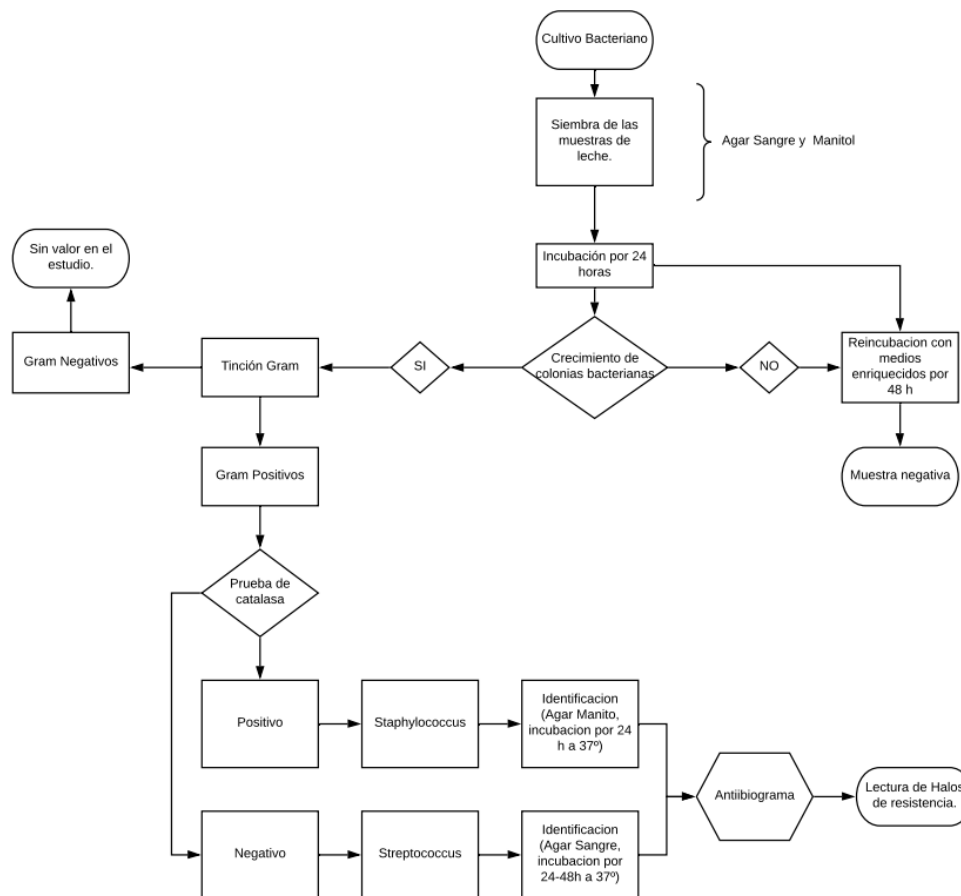


Figura 5. Proceso de aislamiento, identificación y antibiograma. Tomado de (Aquiahuatl y Pérez, 2004).

3.5.1 Determinación de variables

Para poder determinar las variables del estudio, fue necesario realizar una encuesta (Anexo 9), el fin de analizar esto, fue determinar los rangos de producción más común en la zona, a su vez determinar la edad y la cantidad de partos que tenían los animales ya que dicho valor es importante en casos de mastitis recurrentes (Andrade et al, 2017).

También se tomó en cuenta la raza de los animales según sus características fenotípicas, sumado a esto se aceptó todos los datos proporcionados por los propietarios para determinar si el animal tenía características fenotípicas adecuadas a la raza.

Finalmente, mediante la encuesta se determinó los fármacos de mayor uso en los predios visitados con el fin de poder realizar en antibiograma, todas las variables fueron de carácter cualitativo y debido a esta misma razón se decidió usar métodos estadísticos descriptivos.

3.5.2 Muestreo

En cuanto al muestro, se lo realizó de manera aleatoria en el Cantón San Miguel de los bancos, durante el periodo de 4 semanas, las muestras fueron tomadas de los lugares donde los propietarios reportaban tener casos de mastitis.

4. CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Resultados

Los resultados obtenidos en esta investigación corresponden a la toma de 60 muestras de leche cruda bovina durante un periodo de 4 semanas, provenientes de San Miguel de los Bancos, las mismas que corresponden de distintos productores, ubicados en diversas cooperativas del cantón.

4.2 Univariados

4.2.1 Bacterias aisladas mediante el cultivo

Mediante el cultivo se logró determinar los patógenos más frecuentes presentes en muestras de leche cruda bovina con mastitis clínica y subclínica grado 3. Se obtuvieron los resultados expuestos en la figura 6, notando que la presencia de Staphylococcus spp fue predominante con un 76,6% (n=46) mientras que los géneros bacterianos como Streptococcus y Staphylococcus Aureus tuvieron valores de 3.3%(n=2) y 20%(n=12) respectivamente.

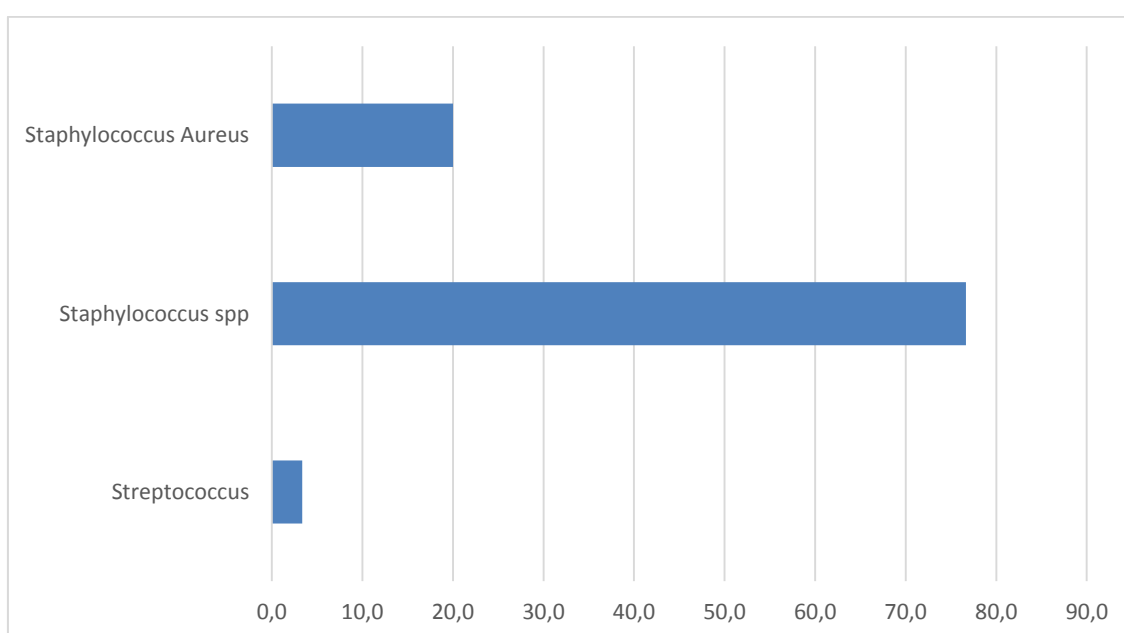


Figura 6. Porcentaje de patógenos presentes en 60 muestras de leche cruda bovina.

4.2.2 Resultados del antibiograma.

4.2.3 Ampicilina

Con el antibiograma y la medición del diámetro de los halos según cada antibiótico se determinó si el mismo era resistente, poco resistente o sensible con respecto al género *Streptococcus* o *Staphylococcus*.

Los resultados para ampicilina se observan a continuación en la figura 7, donde el 80%(n=48) de muestras fueron sensibles a la ampicilina y tan solo 20%(n=12) resistente.

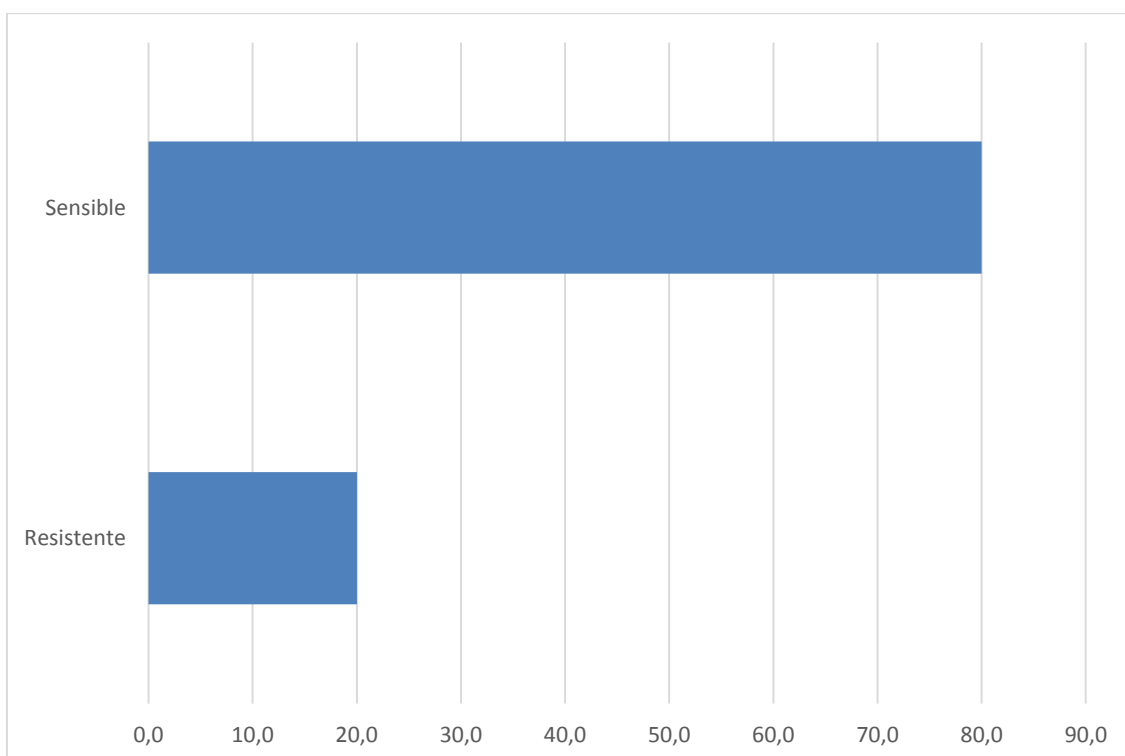


Figura 7. Porcentaje de sensibilidad y resistencia a Ampicilina en 60 muestras de leche cruda bovina.

4.2.4 Amoxicilina + Clavulánico

Los resultados para amoxicilina + A. Clavulánico se exponen a continuación en la figura 8, donde el 6.6%(n=4), 11.7%(n=7) y el 81.7%(n=49) de muestras

fueron resistente, poco resistente y sensible al fármaco respectivamente.

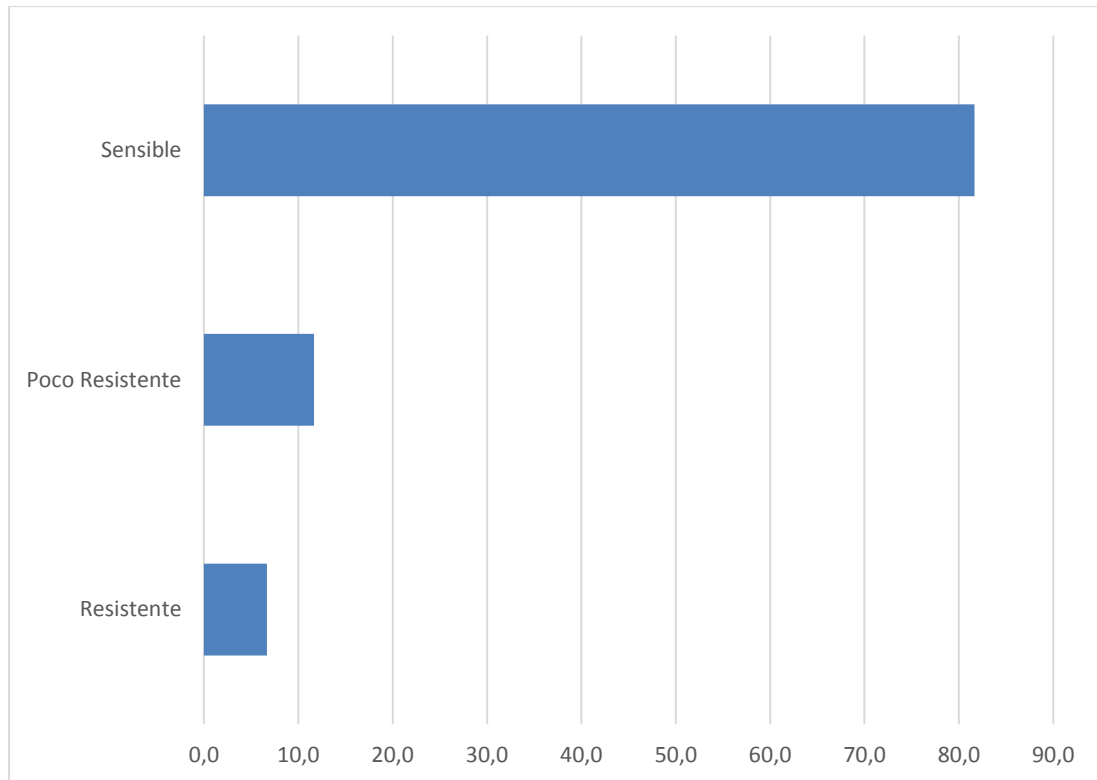


Figura 8. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Amoxicilina + A. Clavulánico en 60 muestras de leche cruda bovina.

.

4.2.5 Penicilina G

Los resultados para penicilina g se observan a continuación en la figura 9, donde el 21.7%(n=13), 1.7%(n=1) y el 76.6%(n=46) de muestras fueron resistente, poco resistente y sensible al fármaco respectivamente.

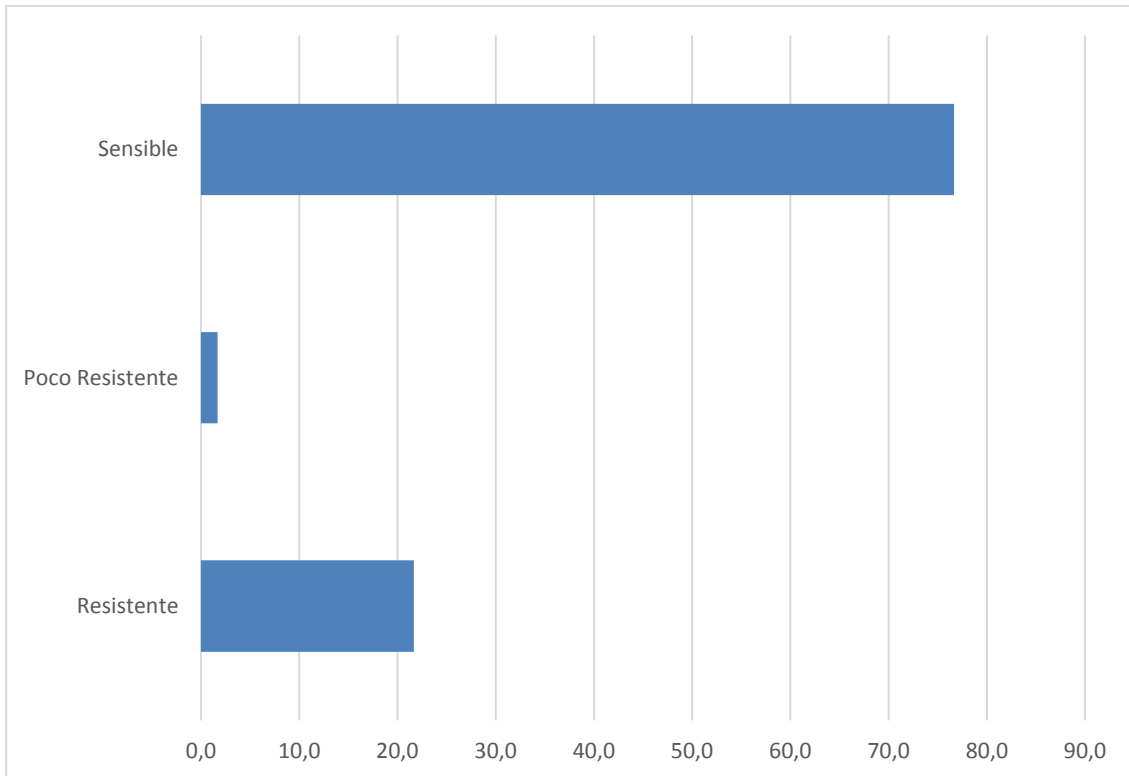


Figura 9. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Penicilina G en 60 muestras de leche cruda bovina.

4.3 Lincomicina

Los resultados para Lincomicina se observan a continuación en la figura 10, donde el 80%(n=48), 6.7%(n=4) y el 13.3%(n=8) de muestras fueron resistente, poco resistente y sensible al fármaco respectivamente.

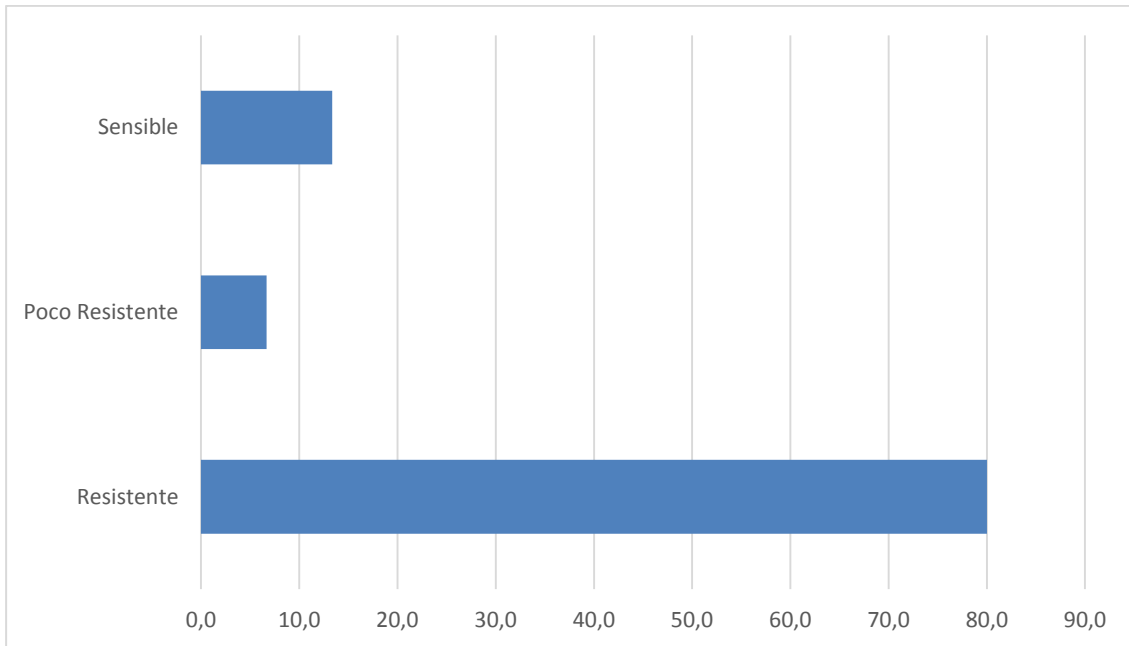


Figura 10. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Lincomicina en 60 muestras de leche cruda bovina.

4.3.1 Neomicina

Los resultados para Neomicina se observan a continuación en la figura 11, donde el 4% (n=2) de muestras fueron sensibles a la ampicilina mientras que 96% (n=58) resistente.

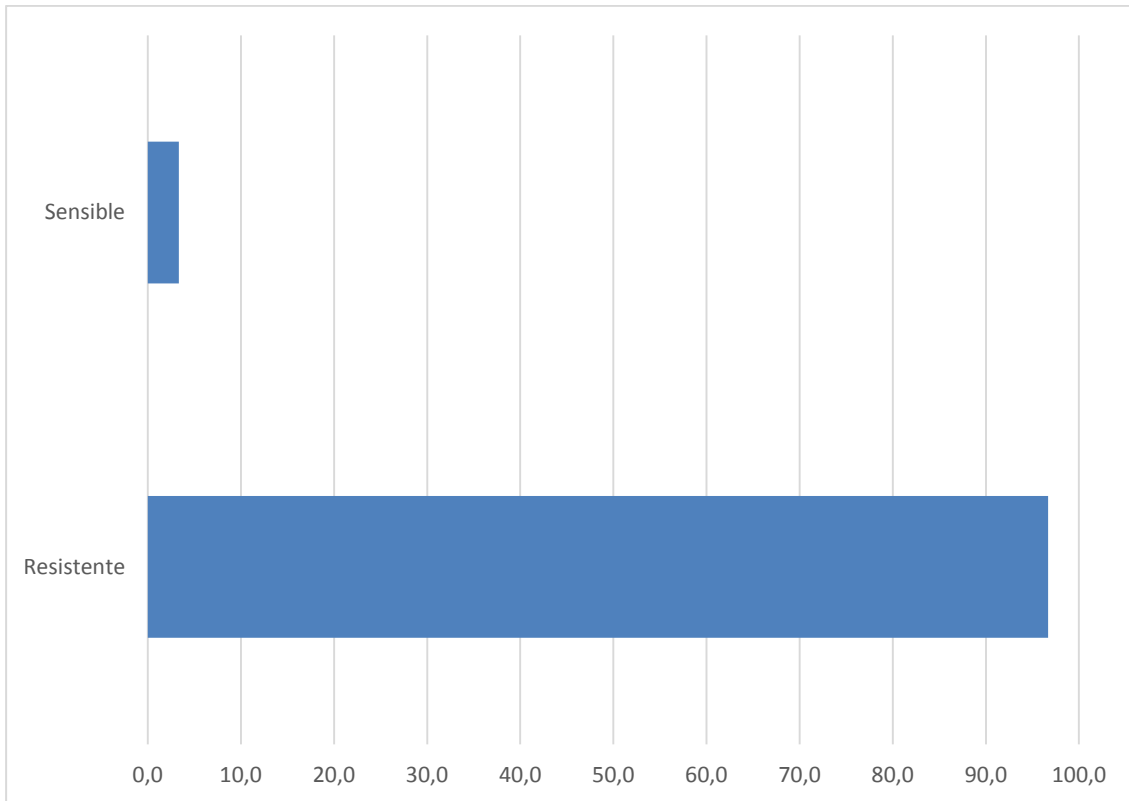


Figura 11. Porcentaje de sensibilidad y resistencia a Neomicina.

4.3.2 Vancomicina

Los resultados para Vancomicina se observan a continuación en la figura 12, donde el 8.3%(n=5), 43.3%(n=26) y el 48.4%(n=29) de muestras fueron resistente, poco resistente y sensible respectivamente.

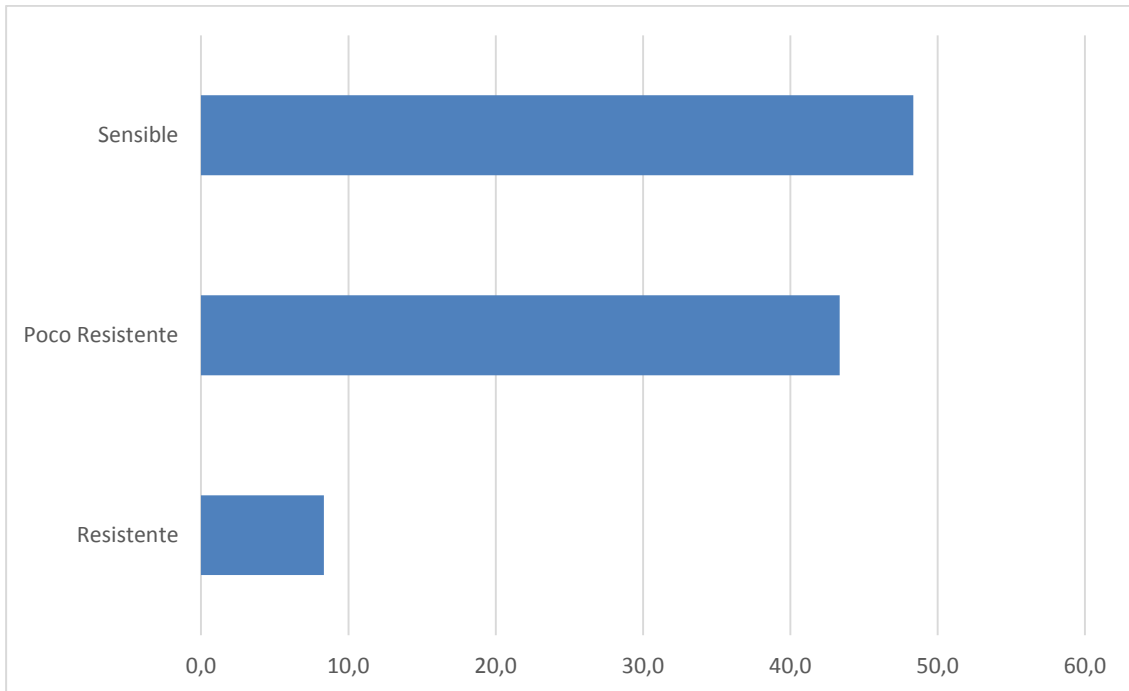


Figura 12. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Vancomicina en 60 muestras de leche cruda bovina.

4.3.3 Gentamicina

Los resultados para Gentamicina se observan a continuación en la figura 13, donde el 85.3%(n=51), 6.7%(n=4) y el 8%(n=5) de muestras fueron resistente, poco resistente y sensible respectivamente.

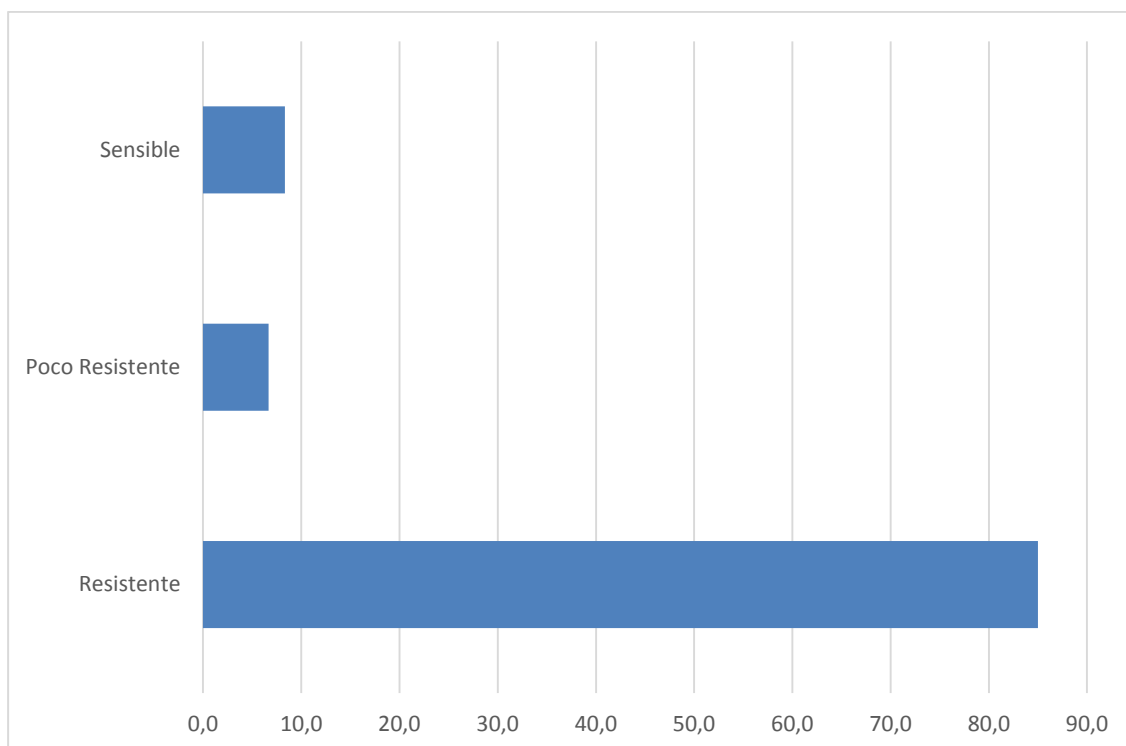


Figura 13. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Gentamicina en 60 muestras de leche cruda bovina.

4.3.4 Tetraciclina

Los resultados para Tetraciclina se observan a continuación en la figura 14, donde el 88,3%(n=53), 3,3%(n=2) y el 8,4%(n=5) de muestras fueron resistente, poco resistente y sensible respectivamente.

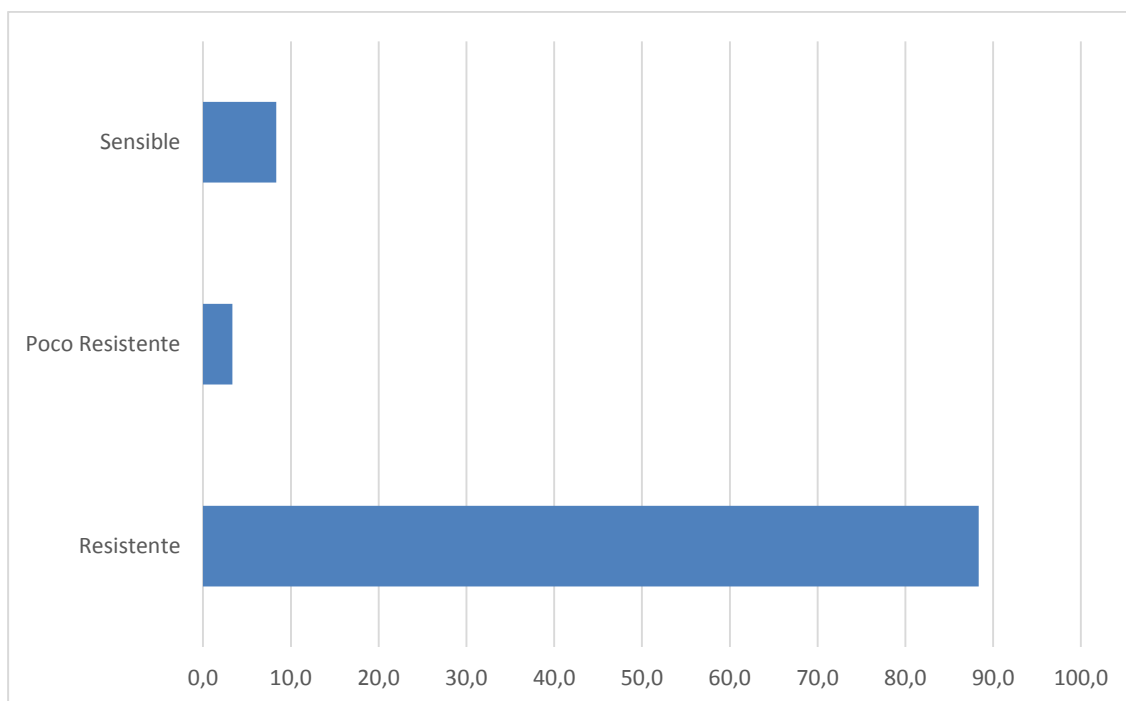


Figura 14. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Tetraciclina en 60 muestras de leche cruda bovina.

4.3.5 Resultados obtenidos por encuesta

La encuesta constó de 7 preguntas simples para el levantamiento de información de cada animal y del lugar donde fue recolectada la muestra. En la figura 15 se pueden apreciar los porcentajes de las muestras positivas a mastitis clínica o subclínica grado 3, donde la Cooperativa 9 de octubre tuvo un 26.7%, Cooperativa Grupo de los Cristianos 3.3%, Barrio Santa Isabelle 16.7%, Barrio Montreal 21.7%, Cooperativa Luz de América 11.7%, Cooperativa Ganaderos Orenses 10% y finalmente Cooperativa los Andes 10%.

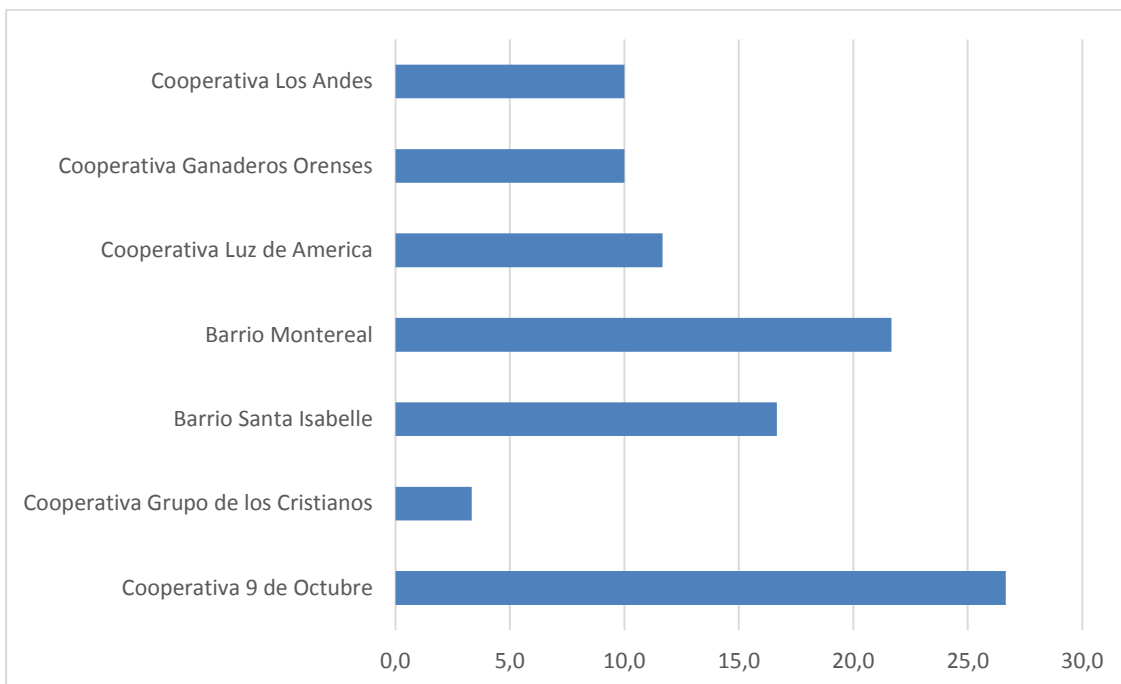


Figura 15. Porcentaje de muestras obtenidas según su ubicación.

4.3.6 Edad del animal

En cuanto a la edad del animal, es notable señalar que el 66.7%(n=40) de animales oscilan las edades entre 4 y 6 años, 23.3% están entre 7 a 9 años y 10% entre 2 a 3 años tal y como se puede observar en la figura 16.

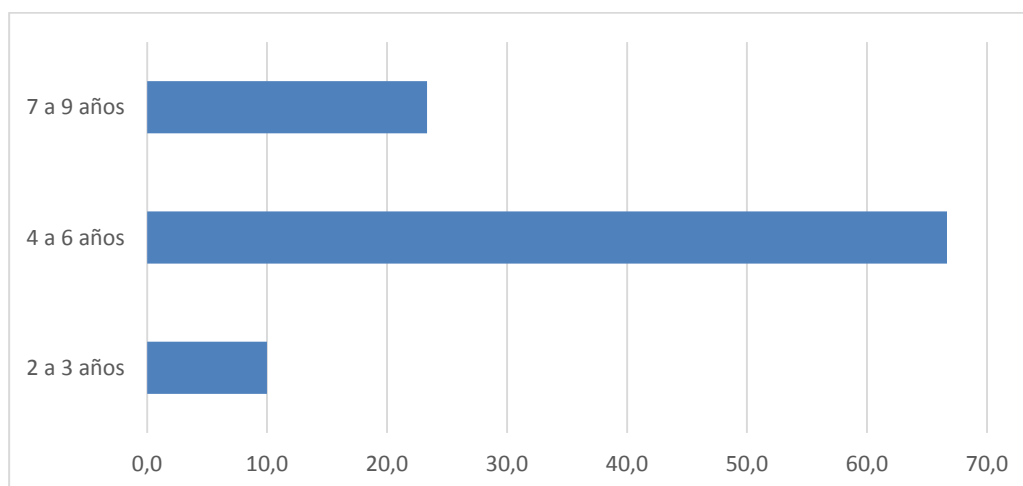


Figura 16. Porcentaje de muestras obtenidas según la edad del animal entre 2 a 3 años, 4 a 6 años y 7 a 9 años.

4.3.7 Raza del animal según sus características fenotípicas

En cuanto a las razas señaladas por los propietarios, es notable señalar que el 76.7%(n=46) de animales tienen características fenotípicas de raza Holstein, teniendo porcentajes menores con respecto a los animales con características fenotípicas de Jersey, Gyr, Gyrolando y cruces F1 que tienen porcentajes de 10%(n=6), 3.3%(n=2), 8.3%(n=5) y 1.7%(n=1) respectivamente. Esto se puede observar a continuación en la figura 17.

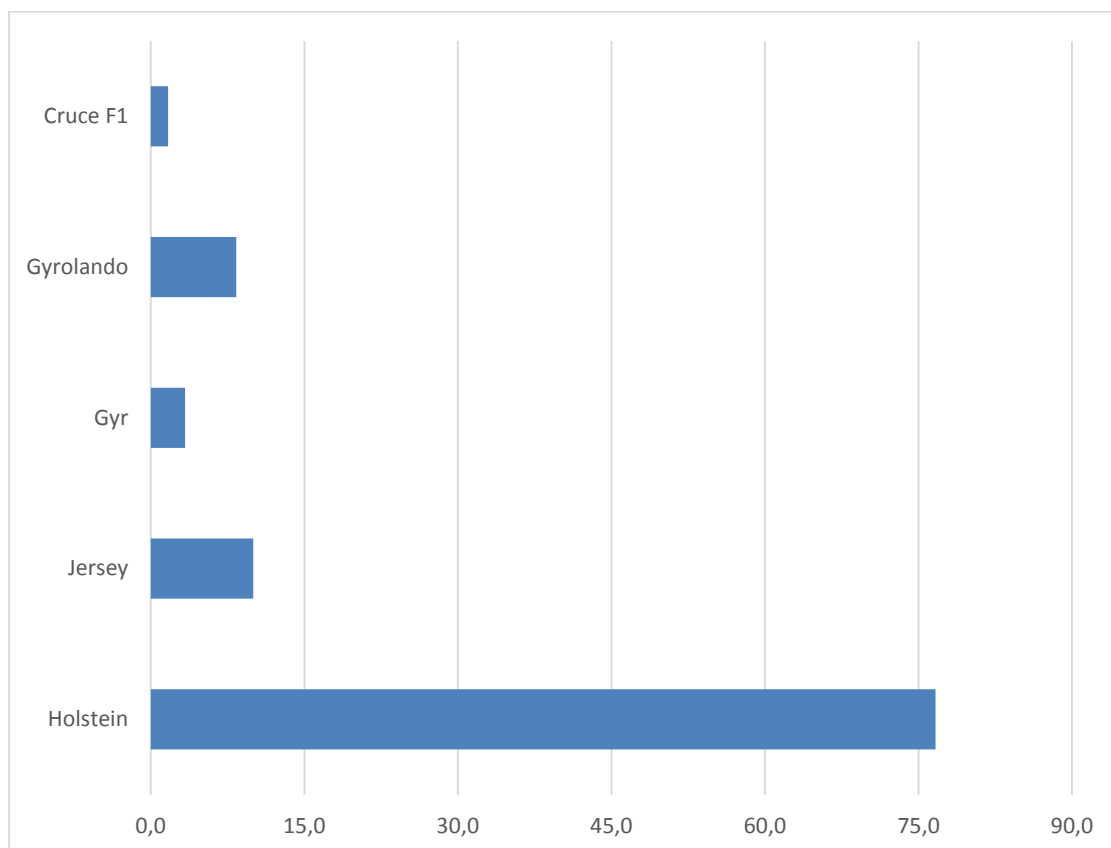


Figura 17. Porcentaje de muestras obtenidas según las características fenotípicas de Gyr, Jersey, Gyrolando y Holstein.

4.3.8 Rango de producción

En cuanto a los rangos de producción se obtuvo que el 56.7%(n=34) de animales producían alrededor de 8 a 12 litros, seguidos de un 20%(n=12) que superaban los 15 litros diarios, mientras que los animales que producían menos de 2-3 litros tuvieron un porcentaje de 6.7% y aquellos que producían 4-6 litros

llegan al 16.7%. A continuación, en la figura 18 se observan los resultados de la encuesta directa realizada a los propietarios de los animales positivos a mastitis clínica y subclínica grado 3.

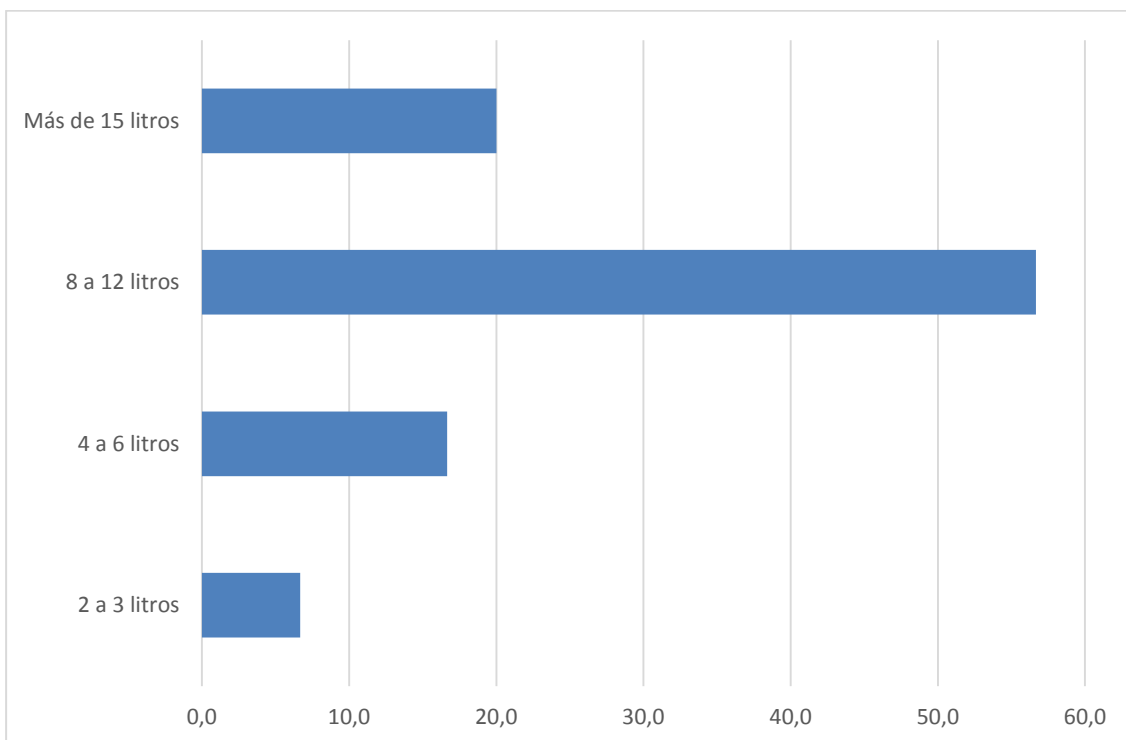


Figura 18. Porcentaje encuestas obtenidas según los rangos de producción entre 2 a 3 litros, 4 a 6 litros, 8 a 12 litros y más de 15 litros.

4.3.9 Número de partos

El 66%(n=40) de animales muestreados ha tenido por lo menos de 3 a 4 partos, 1 a 4 partos han tenido 34%(n=14) y tan solo el 10%(n=6) de los animales ha tenido entre 5 a 6 partos. A continuación, en la figura 19 se detallan los resultados.

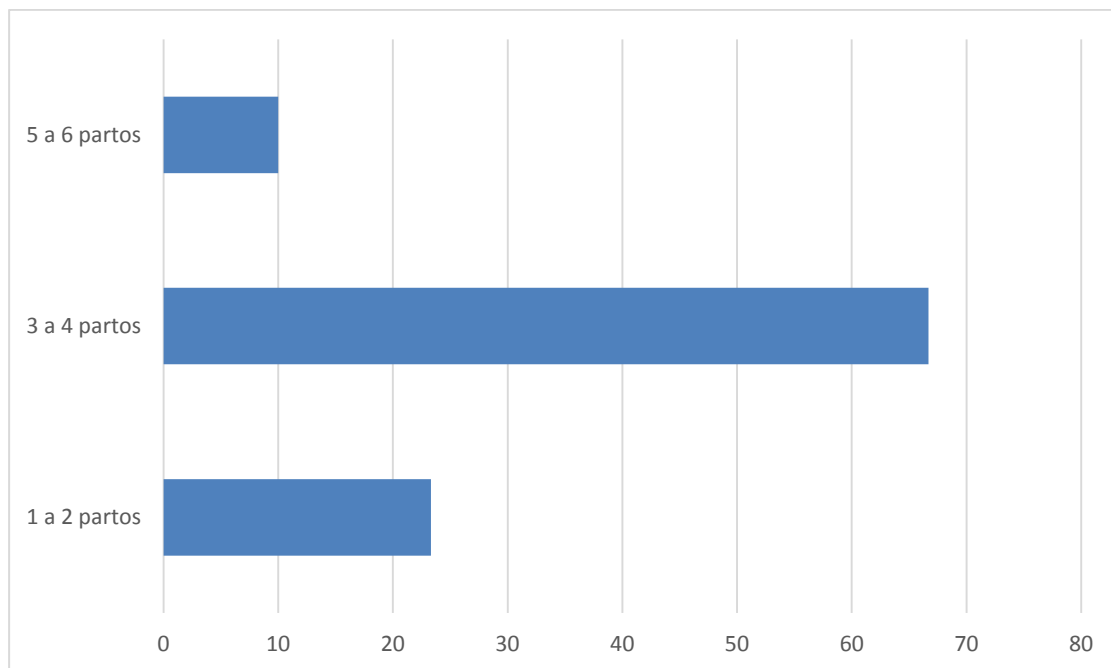


Figura 19. Porcentaje de encuestas obtenidas según el número de partos entre 1 a 2 partos, 3 a 4 partos y 5 a 6 partos.

4.3.10 Antibióticos parenterales

Por otro lado, los resultados de fármacos utilizados fueron realmente parejos, demostrando que muchos de los productores están acostumbrados al uso de los mismos antibióticos. En la figura 20 se puede observar que el uso de penicilina (Shotapen y Class) suman un total del 71.7% y el fármaco Cefaspor (Cefalexina) únicamente fue utilizado en un 28.3%.

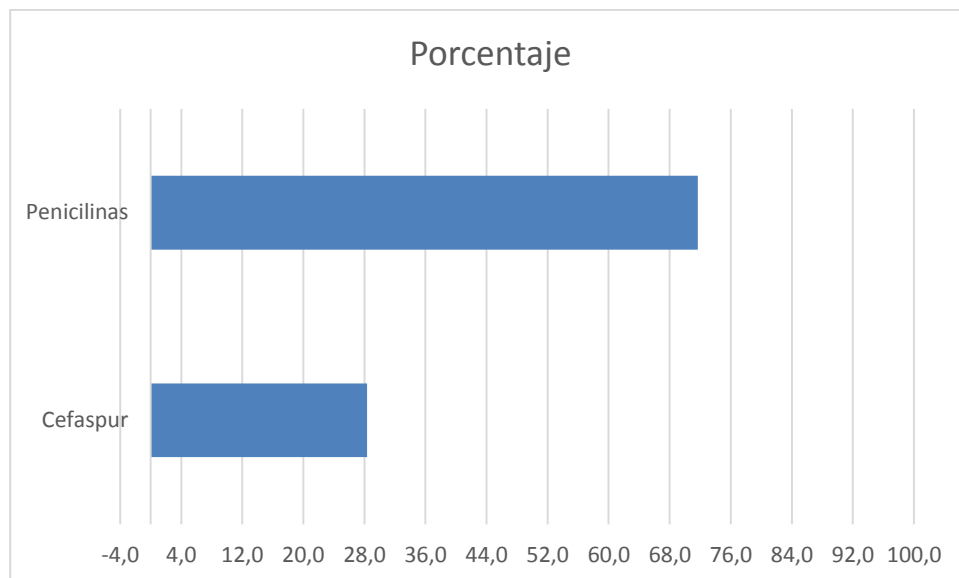


Figura 20. Porcentaje de encuestas favorables al uso de Shotapen, Class y Cefaspur.

4.3.11 Antibióticos intramamarios

Finalmente, en cuanto a antibióticos intramamarios se observa que el fármaco a elección, tal y como se observa en la figura 21 será Neoclordeline (Lincomicina, Neomicina y Betametazona) con un 51.7%(n=31) seguido del Rilexine (Cefalexina) con un 26.7%(n=16) y finalmente el Clavamox (Amoxicilina + Ac. Clavulánico) que tal solo tiene el 3.3%(n=2).

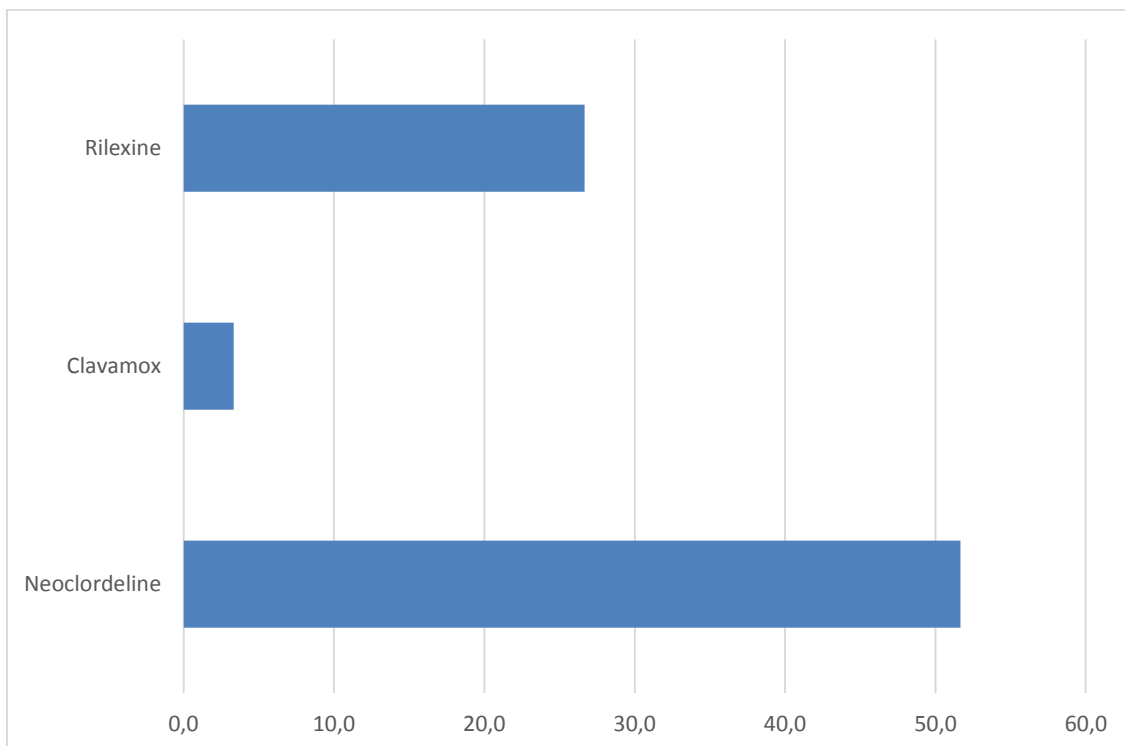


Figura 21. Porcentaje de encuestas favorables al uso de antibióticos intramamarios como Rilexine, Clavamox y Neoclordeline.

4.4 Bivariados

4.4.1 Análisis de resistencia antimicrobiana según el patógeno

4.4.2 Ampicilina

En este caso se expondrán los resultados de la ampicilina frente a los distintos patógenos presentes en las muestras de leche.

Se observa en la figura 22 con respecto al género bacteriano *Streptococcus*, que la ampicilina fue sensible en un 100% de los casos hallados, mientras que el mismo antibiótico tuvo una sensibilidad del 76% y una resistencia del 24% con respecto al género bacteriano *Staphylococcus* spp. Finalmente, con respecto al género bacteriano *Staphylococcus Aureus*, dicho fármaco contó con un 91.6% de sensibilidad y una resistencia del 8.4%. Además, el análisis estadístico confirma que estos datos no tienen dependencia el uno del otro.

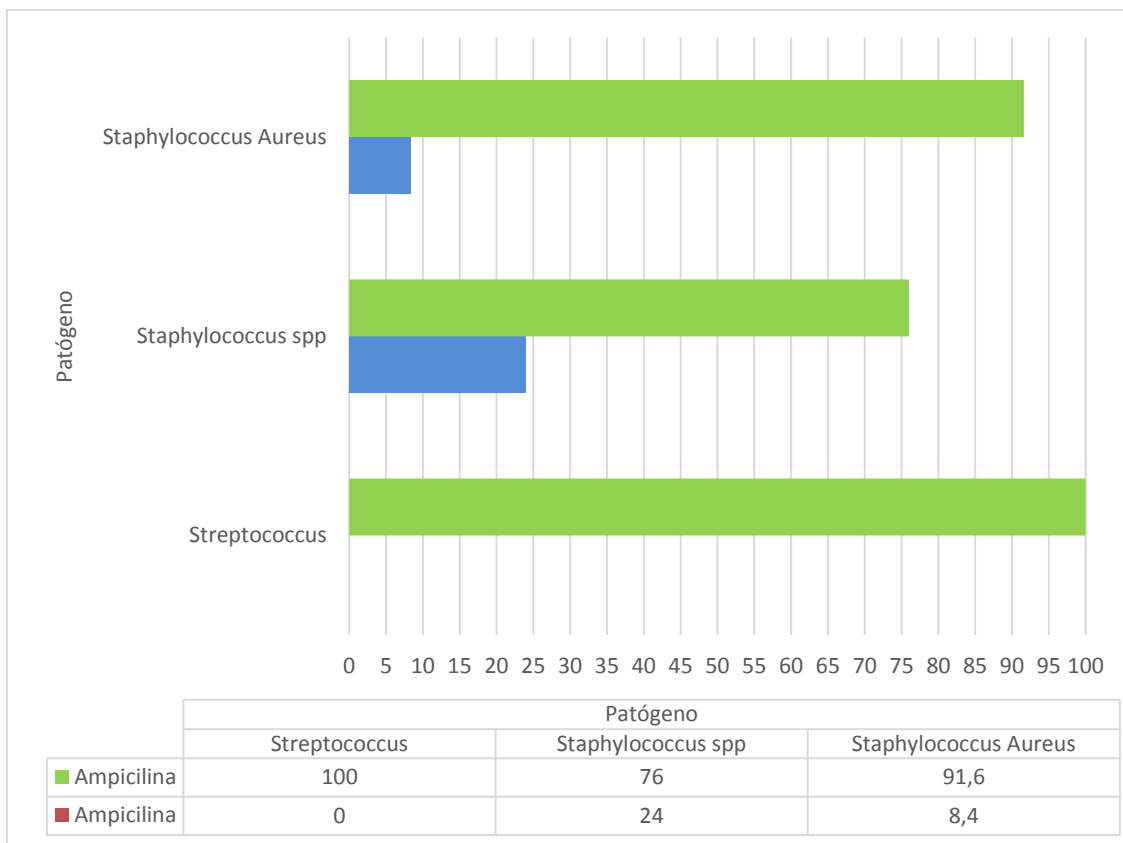


Figura 22. Porcentaje de sensibilidad y resistencia a Ampicilina frente al total de patógenos encontrados.

4.4.3 Amoxicilina + A. Clavulánico

Se observa en la figura 23 con respecto al género bacteriano *Streptococcus*, que la Amoxicilina + A. Clavulánico fue sensible en un 100% de los casos hallados, mientras que el mismo antibiótico tuvo una sensibilidad del 78.2%, una resistencia del 8.6% y un 13.2% medianamente sensible con respecto al género bacteriano *Staphylococcus spp*. Con respecto al género bacteriano *Staphylococcus Aureus*, dicho fármaco contó con un 97.8% de sensibilidad, una resistencia del 0% y un 2.2% medianamente sensible. Además, el análisis estadístico confirma que estos datos no tienen dependencia el uno del otro.

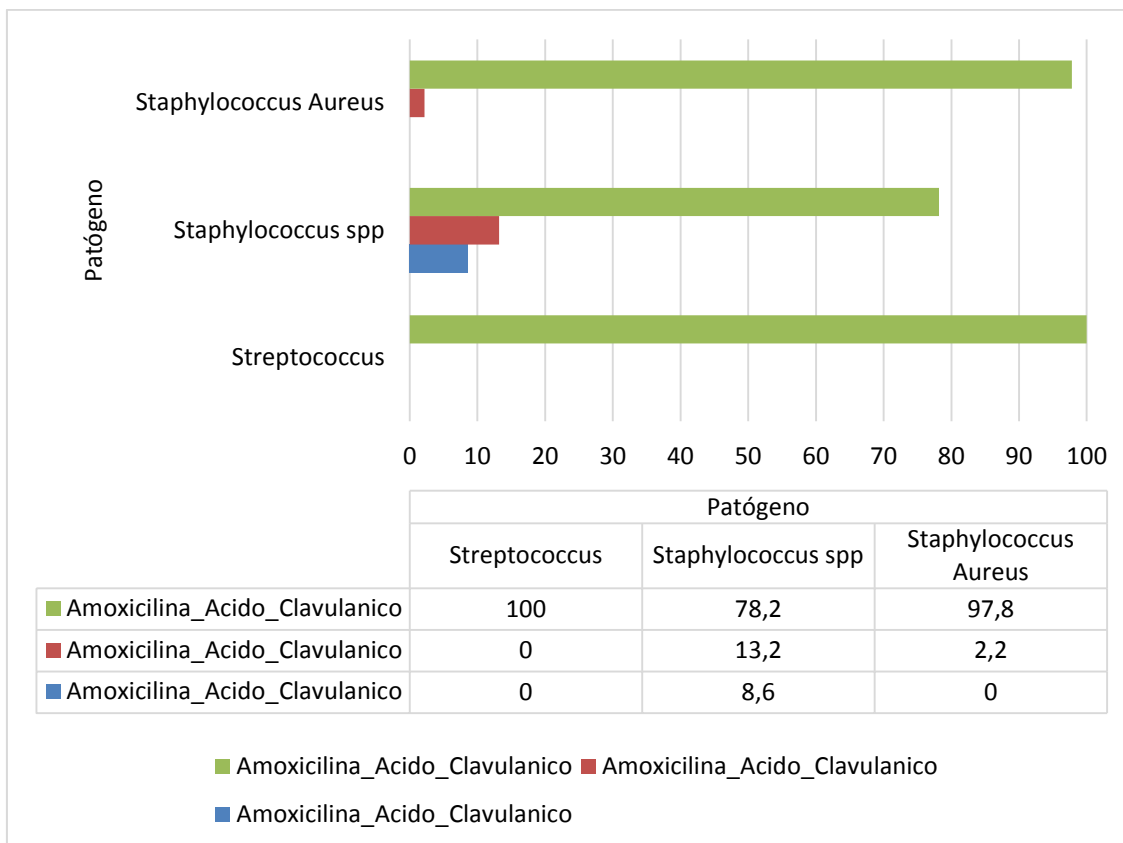


Figura 23. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Amoxicilina + A. Clavulánico frente al total de patógenos encontrados.

4.4.4 Penicilina G

Se observa en la figura 24 con respecto al género bacteriano *Streptococcus*, que la Penicilina G fue sensible en un 100% de los casos hallados, mientras que el mismo antibiótico tuvo una sensibilidad del 75%, una resistencia del 19.5% y un 2.17% donde el fármaco fue medianamente resistente con respecto al género bacteriano *Staphylococcus spp*. Finalmente, con respecto al género bacteriano *Staphylococcus Aureus*, dicho fármaco conto con un 66.6% de sensibilidad y una resistencia del 33.4%. Además, el análisis estadístico confirma que estos datos no tienen dependencia el uno del otro.

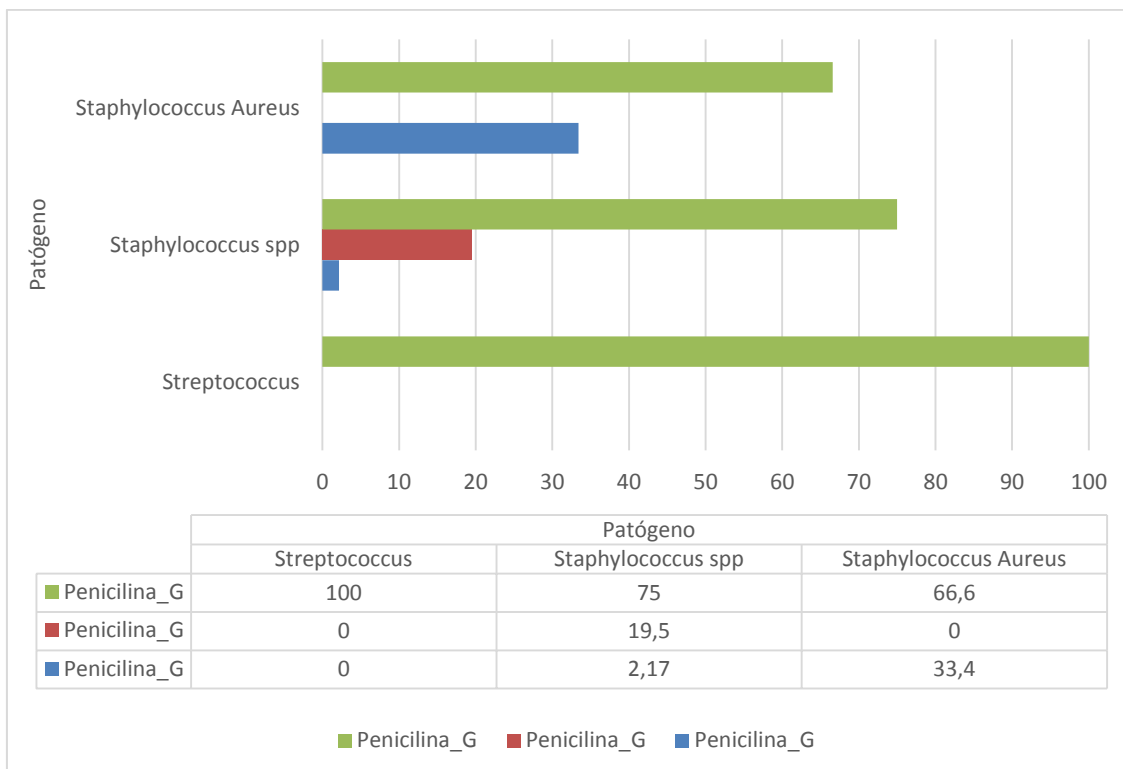


Figura 24. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Penicilina G frente al total de patógenos encontrados.

4.4.5 Lincomicina

Se observa en la figura 25 con respecto al género bacteriano *Streptococcus*, que la Lincomicina fue sensible en un 50% de los casos hallados, mientras que el mismo antibiótico tuvo una sensibilidad del 15.2%, una resistencia del 76% y un 8.8% donde el fármaco fue medianamente resistente con respecto al género bacteriano *Staphylococcus spp*, por otro lado, con respecto al género bacteriano *Staphylococcus Aureus* dicho fármaco conto con un 0% de sensibilidad y una resistencia del 100%. Además, el análisis estadístico confirma que estos datos no tienen dependencia el uno del otro.

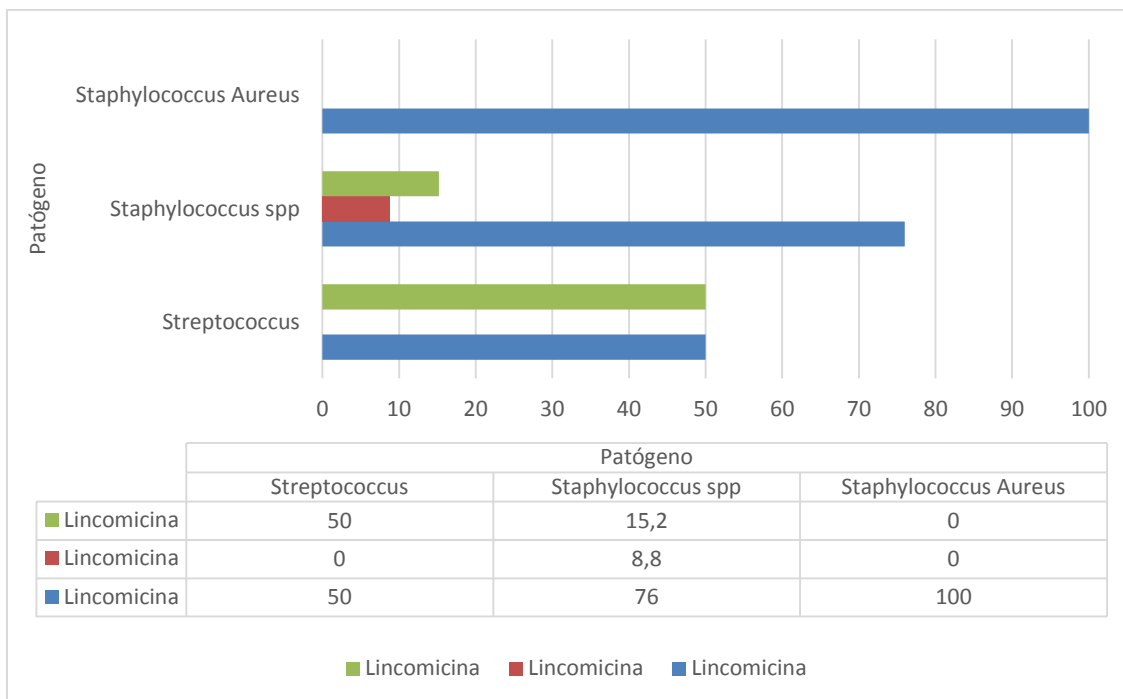


Figura 25. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Lincomicina frente al total de patógenos encontrados.

4.4.6 Neomicina

Se observa en la figura 26 con respecto al género bacteriano *Streptococcus*, que la Neomicina fue resistente en un 100% de los casos hallados, mientras que el mismo antibiótico tuvo una sensibilidad del 4.4%, una resistencia del 95.6% con respecto al género bacteriano *Staphylococcus spp* y finalmente, con respecto al género bacteriano *Staphylococcus Aureus*, dicho fármaco conto con una resistencia del 100%. Además, el análisis estadístico confirma que estos datos no tienen dependencia el uno del otro.

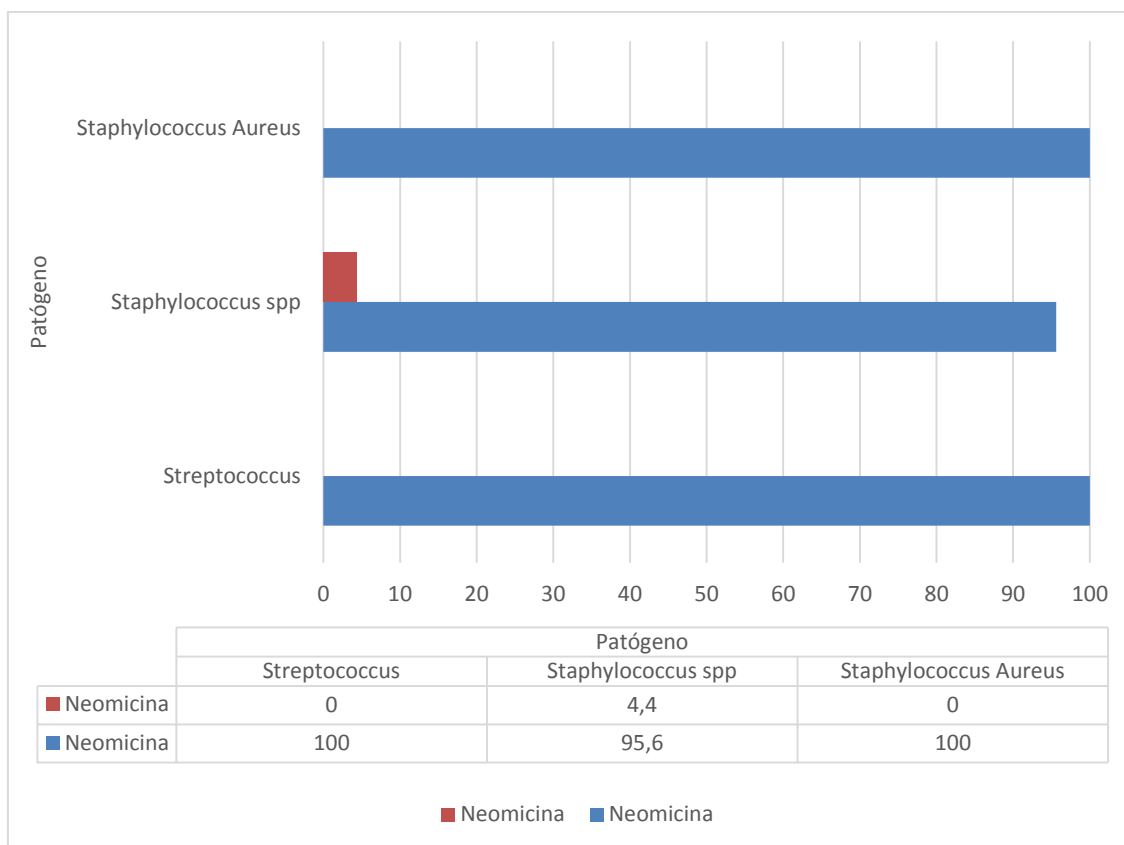


Figura 26. Porcentaje de sensibilidad y resistencia a Neomicina frente al total de patógenos encontrados.

4.4.7 Vancomicina

Se observa en la figura 27 con respecto al género bacteriano *Streptococcus*, que la Vancomicina fue sensible en un 100% de los casos hallados, mientras que el mismo antibiótico tuvo una sensibilidad del 43.5%, una resistencia del 10.8% y un 45.7% donde el fármaco fue medianamente resistente con respecto al género bacteriano *Staphylococcus spp* y finalmente, con respecto al género bacteriano *Staphylococcus Aureus*, dicho fármaco contó con un 58.3% de sensibilidad y medianamente resistencia con un porcentaje de 41.7%. Además, el análisis estadístico confirma que estos datos no tienen dependencia el uno del otro.

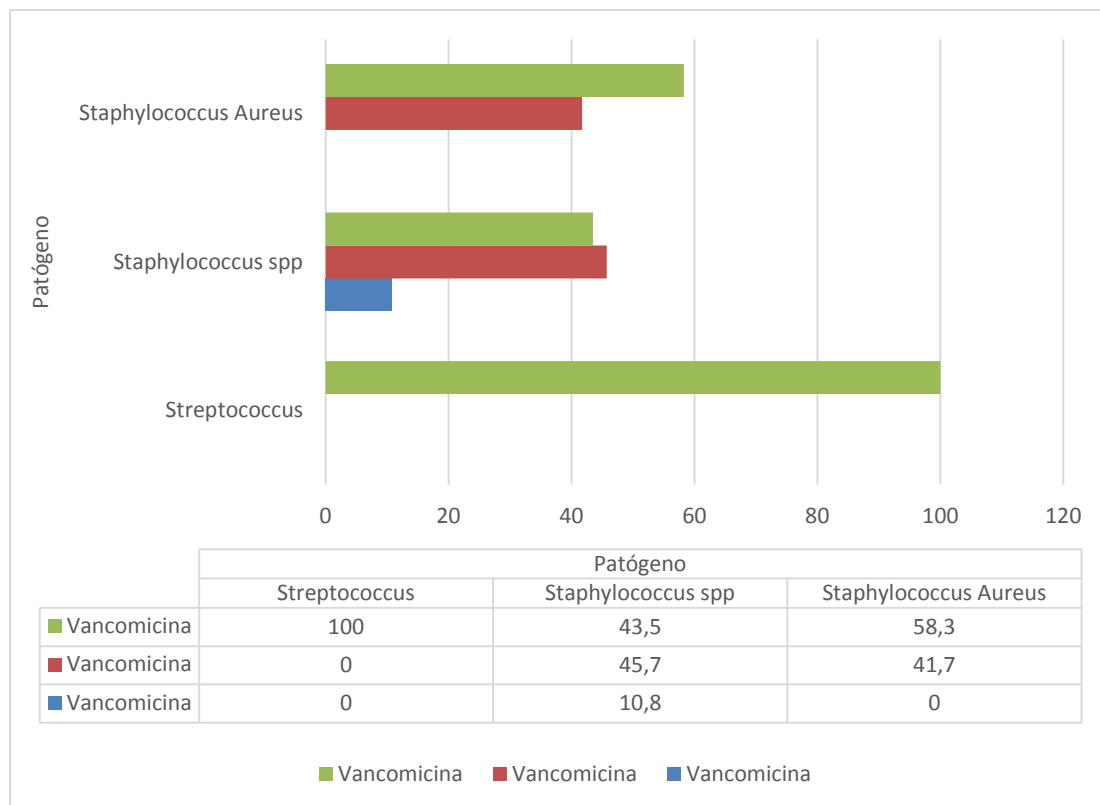


Figura 27. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Vancomicina frente al total de patógenos encontrados.

4.4.8 Gentamicina

Se observa en la figura 28 con respecto al género bacteriano *Streptococcus*, que la Gentamicina fue resistente en un 50% y medianamente resistente en un 50% de los casos hallados, mientras que el mismo antibiótico tuvo una sensibilidad del 10.8%, una resistencia del 82.6% y un 6.6% donde el fármaco fue medianamente resistente con respecto al género bacteriano *Staphylococcus spp*. Con respecto al género bacteriano *Staphylococcus Aureus*, dicho fármaco conto con una resistencia del 100%. Además, el análisis estadístico confirma que estos datos no tienen dependencia el uno del otro.

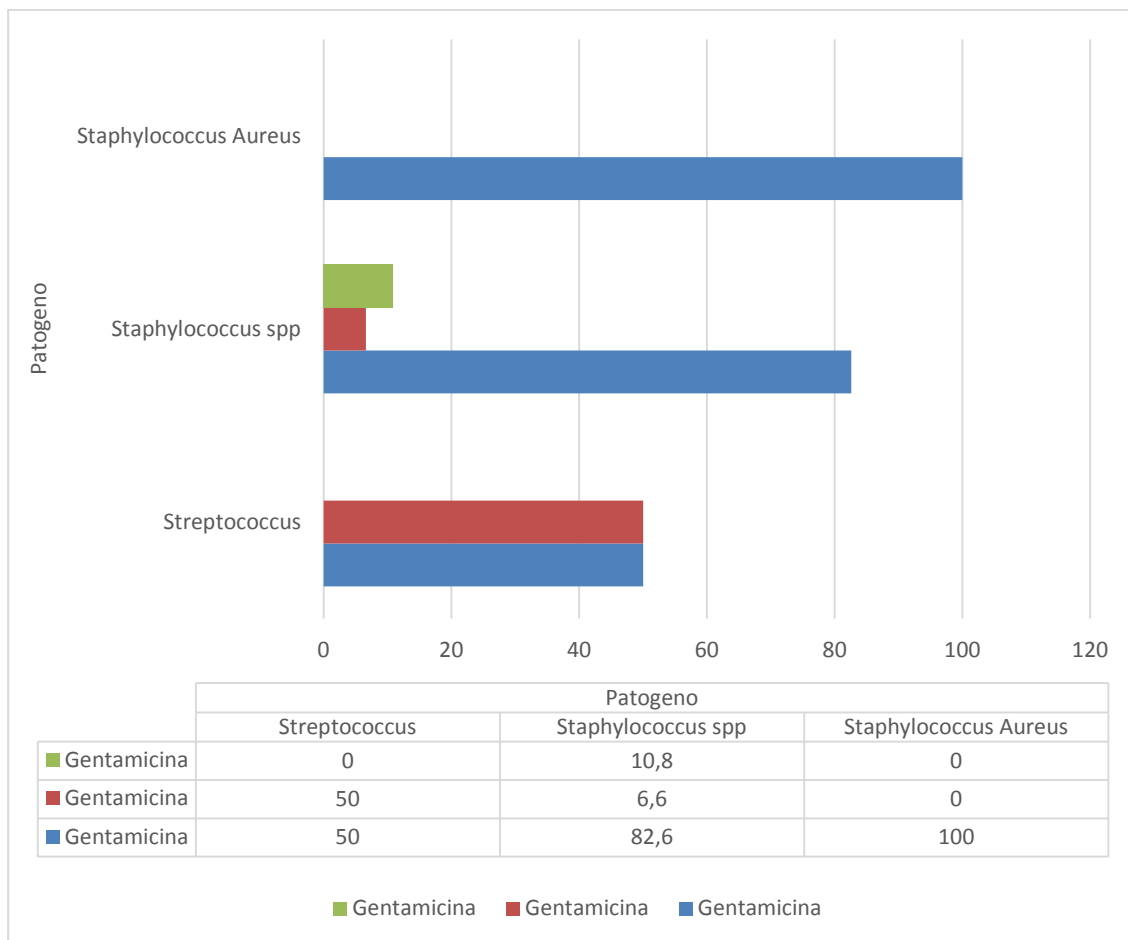


Figura 28. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Gentamicina frente al total de patógenos encontrados.

4.4.9 Tetraciclina

Se observa en la figura 29 con respecto al género bacteriano *Streptococcus*, que la Tetraciclina fue sensible en un 50% y resistente en 50% de los casos hallados, mientras que el mismo antibiótico tuvo una sensibilidad del 6.5%, una resistencia del 89.1% y un 4.4% donde el fármaco fue medianamente resistente con respecto al género bacteriano *Staphylococcus spp* y finalmente, con respecto al género bacteriano *Staphylococcus Aureus*, dicho fármaco conto con una resistencia del 91.6% y tan solo 8.4% de sensibilidad. Además, el análisis estadístico confirma que estos datos no tienen dependencia el uno del otro.

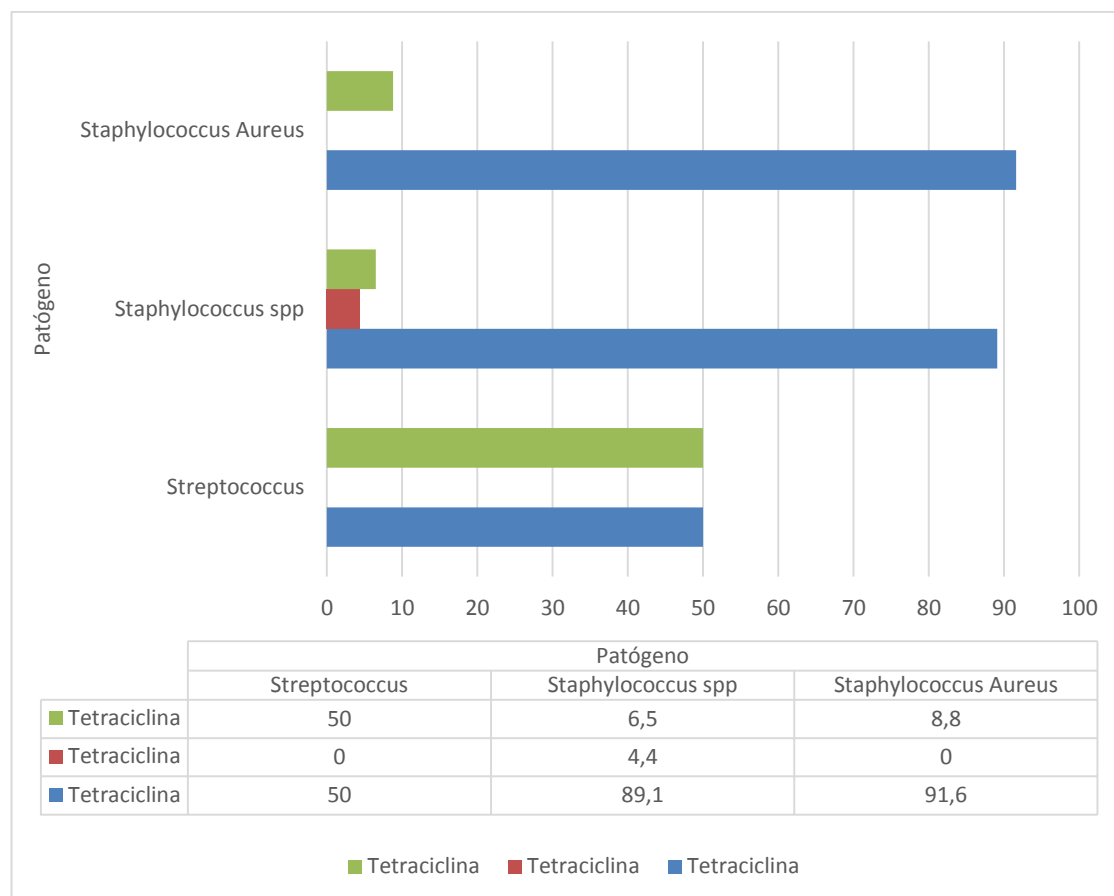


Figura 29. Porcentaje de sensibilidad, resistencia y poca resistencia a Tetraciclina frente al total de patógenos encontrados.

4.4.10 Análisis cruzado de Fármacos parenterales x Raza animal según sus características fenotípicas.

En este caso, se realizarán las comparaciones entre los distintos datos que arrojó la encuesta.

Los resultados del análisis estadístico demostraron que existe dependencia entre las variables fármacos parenterales y la raza según sus características fenotípicas, es decir que, la mayor cantidad de animales con características fenotípicas Holstein fueron positivos a mastitis clínica y subclínica grado 3 los mismos fueron tratados en su mayoría con penicilina.

Tabla 3
Características fenotípicas acorde a la raza del animal comparada con los fármacos parenterales.

Recuento		Holstein	Jersey	Gyr	Gyrolado	Cruce F1	Total
Fármacos Usados	Cefaspu r Penicilin as	8	2	1	5	1	17
		38	4	1	0	0	43
Total		46	6	2	5	1	60

Tabla 4
Raza del animal comparada con los fármacos parenterales.

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	18,425a	4	,001
Razón de verosimilitud	18,611	4	,001
Asociación lineal por lineal	17,355	1	,000
N de casos válidos	60		

4.4.11 Ubicación x Rango de producción

De acuerdo con el análisis estadístico (tabla 6), el resultado fue que la variable de ubicación y rango de producción están relacionadas entre sí, numéricamente hablando, los lugares donde mayor cantidad de muestras se recolecto fueron: Cooperativa 9 de octubre, Santa Isabelle y Montreal, a su vez en dichos lugares los rangos de producción de leche fueron altos. Es decir que, en estas 3 ubicaciones, que tienen 39 de las 60 muestras recolectadas, existió mayor cantidad de animales con rangos altos de producción y muestras positivas a mastitis clínica y subclínica grado 3.

Tabla 5
Ubicación x rango de producción

Ubicación	2 a 3 litros	4 a 6 litros	8 a 12 litros	Más de 15 litros	
Cooperativa 9 de Octubre	0	0	8	8	16
Cooperativa Grupo de los Cristianos	0	1	1	0	2
Barrio Santa Isabelle	0	0	6	4	10
Barrio Montereal	4	3	6	0	13
Cooperativa Luz de América	0	0	7	0	7
Cooperativa Ganaderos Orenses	0	0	6	0	6
Cooperativa Los Andes	0	6	0	0	6
Total	4	10	34	12	60

Tabla 6
Chi Cuadrado de tabla 5

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	71,738a	18	,000
Razón de verosimilitud	68,830	18	,000
Asociación lineal por lineal	14,418	1	,000
N de casos válidos	60		

4.4.12 Raza del animal x Edad

De acuerdo con el análisis estadístico (tabla 7), el resultado fue que la variable de edad y raza del animal están relacionadas entre sí, numéricamente hablando existe una mayor cantidad de animales con características fenotípicas Holstein del total de muestras tomadas y estas a su vez están relacionadas a tener rangos de edad entre 4 y 6 años. Es decir, existió un mayor número de muestras positivas a mastitis en animales con características fenotípicas de Holstein, que bordean las edades de 4 a 6 años y 7 a 9 años.

Tabla 7
Raza del animal comparada con la edad

		2 a 3 años	4 a 6 años	7 a 9 años	
Raza_Animal	Holstein	3	37	6	46
	Jersey	0	2	4	6
	Gyr	2	0	0	2
	Gyrolando	1	0	4	5
	Cruce F1	0	1	0	1
Total		6	40	14	60

Tabla 8
Chi Cuadrado de tabla 7

	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	39,595a	8	,000
Razón de verosimilitud	31,240	8	,000
Asociación lineal por lineal	1,347	1	,000
N de casos válidos	60		

4.5 Discusión

Nancy Bonifaz y Fabián Conlago (2016) realizaron un estudio donde sus resultados demostraron que de 23 muestras de leche contaminadas con mastitis clínica, un total del 22% estuvieron contaminadas con *Staphylococcus Aureus* teniendo así un porcentaje mediadamente alto al momento de realizar el cultivo y antibiograma, el resto de los resultados estuvieron distribuidos entre otras especies de *Staphylococcus* y en menor cantidad de *Streptococcus*. Esto coincide con los resultados obtenidos en el presente estudio, donde la presencia de *Staphylococcus* spp y *Aureus* conjuntamente fue del 96% de las 60 muestras obtenidas. Es necesario acotar que en el estudio antes mencionado se evalúan otros tipos de agentes presentes en las muestras de leche.

Edmundo (2006) en su estudio sobre caracterización de *Staphylococcus* concluye que, fármacos como la amoxicilina y cefalexina tienen un alto grado de sensibilidad para especies en específico de *Staphylococcus*, y a su vez, estas especies son resistentes principalmente a la penicilina (85%), ampicilina (85%) y a la lincomicina (5%). En el presente estudio, en cambio se obtuvo una alta sensibilidad con respecto a la amoxicilina obteniendo un 81.6%, penicilina 76.7% y ampicilina con un 80% de sensibilidad, por otro lado, los resultados de la lincomicina tuvieron una resistencia elevada con un porcentaje del 80%.

Villanueva y Morales, (2017) en su estudio determinaron que los fármacos con un porcentaje de resistencia mayor al 25% con respecto a los géneros *Staphylococcus* ssp, *Staphylococcus Aureus* y *Streptococcus* spp fueron de igual manera ampicilina, penicilina, estreptomina y lincomicina, reafirmando los valores expuesto en el presente estudio sobre la elevada resistencia de los patógenos con respecto a la Lincomicina. Por otro lado, en el caso de la ampicilina y penicilina, se obtuvieron datos elevados en cuanto a sensibilidad, algo que se contrapone con los resultados de Edmundo y Villanueva, tomando en cuenta que sus estudios fueron realizados en Chile.

Además, en el estudio de Nancy Bonifaz y Fabián Conlago, (2016) que a su vez realizaron un cultivo y antibiograma, demostraron que su población de patógenos tenía un alto grado de resistencia a la estreptomina (48%), amoxicilina(35%) y en menor grado con respecto a la gentamicina (5%) y la tetraciclina (4%). Algo que es totalmente opuesto con esta investigación, donde la tetraciclina y gentamicina fueron de los fármacos con mayor resistencia obteniendo un 88% y 85% respectivamente sin importar el género del patógeno.

Los datos expuestos anteriormente pueden tener valores distintos ya que la población de muestra para ambos estudios triplica la cantidad de muestras de esta investigación. Como acotación en dicho estudio se utilizó amoxicilina sola y eso puede ser la causa de que dicho fármaco tenga una alta resistencia a diferencia del presente estudio que se empleó Amoxicilina + Ac. Clavulánico.

Bonilla, (2018) en su estudio realizado a 348 vacas, 158 vacas presentaron mastitis, siete de ellas presentaron mastitis clínica, y de su cultivo microbiológico 193 muestras presentaron crecimiento bacteriano donde las bacterias más frecuentes fueron *Streptococcus* spp y *Staphylococcus Aureus*, las cepas de *Staphylococcus Aureus* presentaron resistencia a penicilina en un 74% y sensibilidad a tetraciclina en un 79%, estos datos tomados en la región lechera de Colombia se contraponen con los resultados obtenidos en el Cantón San Miguel de los Bancos, donde los rangos de sensibilidad de la penicilina frente al patógeno *Staphylococcus Aureus* fueron del 66.6% pese al continuo uso por los propietarios para el tratamiento de mastitis según la encuesta realizada, por otro lado la tetraciclina tiene valores elevados de resistencia frente al mismo patógeno llegando al 91.6%, la brecha entre los rangos de resistencia y sensibilidad en ambos estudios es grande y esto nos puede dar una idea de los fármacos comunes usados para el tratamiento de mastitis en ambos países.

Bonilla (2018) en el mismo estudio anteriormente mencionado demostró que el 88% de las cepas positivas a *Streptococcus* spp tenían una alta resistencia a la

estreptomicina, mientras que la tetraciclina tenía una sensibilidad del 75%, en este caso, no se puede descartar que los valores con respecto a la tetraciclina puedan coincidir con los resultados obtenidos en el presente estudio, esto debido a que solamente se logró aislar *Streptococcus* spp en 2 muestras y su tamaño de muestra del estudio igualmente triplica al del presente estudio.

Finalmente, Rodríguez (2006) demostró en su estudio realizado en 644 vacas, que existe una correlación entre el número de lactancias y la presencia de mastitis, conforme aumenta el número de lactancias aumenta la prevalencia de la enfermedad y a su vez, en su análisis entre producción de leche y tasa de infección llegó a la conclusión que, los animales que producían más de 5.000 litros por lactancia eran más propensos a contraer la enfermedad. Extrapolando con el presente estudio se pudo evidenciar que mediante encuesta los lugares donde mayor cantidad de casos positivos a mastitis clínica y subclínica grado 3 eran donde existían a su vez animales con altos rangos de producción y que oscilaban las edades entre 4 a 6 años y 7 a 9 años.

4.6 Limitaciones

- Los propietarios de los animales no siempre cooperan para la elaboración de este estudio. En muchos casos se hacía caso omiso sobre el uso de antibióticos previos para la toma de muestras, provocando que se descarten dichos animales para el estudio.
- Debido al uso inadecuado de antibióticos y falta de compromiso de los propietarios, se tuvo que desechar alrededor de 30 muestras que resultaban positivas a mastitis clínica pero los animales habían sido tratados previamente, evitando el crecimiento en los agares de identificación y cultivo.
- Debido al desconocimiento, muchos de los productores de la zona no realizan pruebas de CMT y por esta razón muchos productores decían no tener presencia de mastitis.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

5.1. Conclusiones

Culminado el estudio se logró concluir que:

Analizadas las 60 muestras en el laboratorio clínico MediLab, se llegó a la conclusión que los géneros hallados fueron Streptococcus con un porcentaje del 3.3% y el 96.7% fue para Staphylococcus, demostrando que el género bacteriano Staphylococcus fue el más prevalente en el Cantón San Miguel de los Bancos

De los géneros bacterianos Streptococcus y Staphylococcus los fármacos que tuvieron mayor sensibilidad fueron: Ampicilina con un 80%, Amoxicilina+Ac. Clavulánico con un 81.6%, Penicilina con un 76.7% y finalmente la Vancomicina con un porcentaje del 48.3% de sensibilidad y poca resistencia de 43.3%, por otro lado los fármacos que mayor resistencia presentaron para ambos géneros bacterianos fueron: Lincomicina con un 80%, Neomicina con un 96%, Gentamicina con un 85.3% y finalmente la Tetraciclina con un 88.3% de resistencia, demostrando que para el tratamiento de mastitis en el Cantón San Migue de los Bancos tener presente como primera opción fármacos como la Ampicilina, Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Penicilina y Vancomicina.

Al comparar los resultados obtenidos de las encuestas se llegó a la conclusión que la Cooperativa 9 de octubre fue el lugar donde mayor presencia de muestras positivas a mastitis se obtuvo (26.7%), seguido del Barrio Montereal (21.7%) y Santa Isabelle (16.7%), todos en conjunto llegan al 65.1% de muestras totales positivas a mastitis clínica y subclínica grado 3, en la raza según su característica fenotípica, Holstein fue la que tuvo mayor cantidad de muestras positivas a mastitis clínica y a su vez la que más altos rangos de producción obtuvo, demostrando así que son más predilectas a contraer la enfermedad.

5.2. Recomendaciones

Implementar programas de capacitación para pequeños ganaderos en el cantón de San Miguel De Los Bancos sobre el correcto manejo a la hora de ordeño ya que uno de los principales patógenos hallados fue Staphylococcus Aureus el cual es un patógeno contagioso que se trasmite a través de contacto al momento del ordeño.

Tomar en cuenta los fármacos analizados en el presente estudio para de esta manera aplicar nuevos métodos para el control de mastitis en hatos ganaderos en el Cantón San Miguel De Los Bancos.

Realizar un estudio específico sobre las bacterias resistentes encontradas en la investigación con el fin de realizar una genotipificación de estas y demostrar cual especie de Staphylococcus es realmente resistente a la Tetraciclina, gentamicina, Neomicina y Lincomicina.

Continuar con la investigación agregando no solamente el género del patógeno si no a su vez determinar la especie en específico para relacionarlo y comprobar si los agentes causantes son de tipo infeccioso, ambiental o contagioso.

REFERENCIA

- Acuña, V., & Rivadeneira, A. (2008). *Aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha*. Retrieved from <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2553>
- Aquihuatl, M., & Perez, M. (2004). *UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA manual de prácticas laboratorio MICROBIOLOGÍA GENERAL*. Retrieved from http://www.uamenlinea.uam.mx/materiales/licenciatura/diversos/AQUIAHUATL_RAMOS_MARIA_DE_LOS_ANGELES_Manual_de_practicas_de.pdf
- Bailey, P. H., Rietze, L. L., Moroso, S., & Szilva, N. (2011). A description of a process to calibrate the Morse fall scale in a long-term care home. *Applied Nursing Research*, 24(4), 263–268. <https://doi.org/10.1016/j.apnr.2009.11.004>
- Bascuñán, C. C., & Vet, M. (n.d.). *Perspectivas de estimulación de la respuesta inmune de la glándula mamaria bovina*. Retrieved from <http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/perspectivas.htm.pdf>
- Beltrán, A. H., Cervantes Acosta, P., Cortes, A. V., Mancera, D., Lamothe, C., & Mx, Z. A. (n.d.). *TALLER PARA LA PRODUCCIÓN DEL REACTIVO DE CALIFORNIA*. Retrieved from <https://www.uv.mx/veracruz/cienciaanimal/files/2013/11/Taller-para-la-produccion-del-reactivo-de-California.pdf>
- Bernal., M., & Guzman., M. (2018). El Antibiograma De Discos. Normalizacion De La Tecnica De Kirby Bauer. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35(1), 103–109. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.3605>
- Calvinho, L. (2002). *Diagnóstico bacteriológico de mastitis y su importancia en los programas de control* (Vol. 22). Retrieved from http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/diagnostico_de_mastitis.htm.pdf

MASTITIS BOVINA Volver a: Enfermedades infecciosas bovinos de leche.

Retrieved from www.produccion-animal.com.ar

Chaves, J. (2010). Mastitis Bovina : Su Control Y Prevención Es Una Tarea Permanente. *Infolactea.Com.* Retrieved from

http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/mastitis_bovina.htm.pdf

Comunicación de la Comisión — Directrices para una utilización prudente de los antimicrobianos en la medicina veterinaria. (n.d.). Retrieved from http://ec.europa.eu/food/food/biosafety/antimicrobial_resistance/index_en.htm

Concha, C. (2009). Mastitis bovina: nuevos aspectos de diagnóstico, tratamiento y control. *Universidad de Chile, Http://Www. Agronomia. Uchile. Cl/ ... , 46.* Retrieved from <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:MASTITIS+BOVINA+:+NUEVOS+ASPECTOS+DE+DIAGNOSTICO+,+TRATAMIENTO+Y+CONTROL#0>

Coyle, M., Cavalieri, S. J., Rankin, I. D., Harbeck, R. J., & Sautter, R. L. (2006). *Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana.*

Dolinsky, A. L. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. In *Journal of Services Marketing* (28th ed., Vol. 8). <https://doi.org/10.1108/08876049410065598>

Edmundo, J., Meza, L., Ernesto, J., Ramos, H., Ochoa, A., Omar, Z., ... Tarímbaro, E. N. (2006). Caracterización molecular de aislamientos de *Staphylococcus* spp . asociados a mastitis bovina en Tarímbaro , Michoacán Molecular characterization of *Staphylococcus* spp . isolates associated with bovine mastitis in Tarímbaro , Michoacán , Mexico. *Técnica Pecuaria En México*, *44*(2), 91–106. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61344108>

Emilia Cercenado y Rafael Cantón. (2010). *Metodos de Identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología.* Retrieved from <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimiento-smicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>

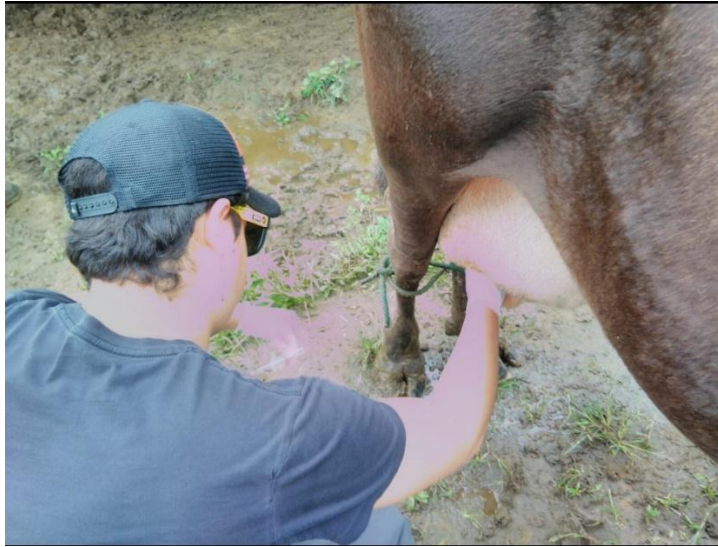
- Fernández Bolaños, O. F., , Trujillo Graffe, J. E., , Peña Cabrera, J. J., , Cerquera Gallego, J., & y Granja Salcedo, Y. T. (2012). Mastitis bovina: diagnostico y tratamiento. *Revista Veterinaria REDVET*, 13, 11.
- Gobierno Provincial Pichincha. (n.d.). San Miguel de los Bancos. Retrieved July 19, 2019, from <https://www.pichincha.gob.ec/cantones/san-miguel-de-los-bancos>
- Gómez-Quispe, O. E., Santivañez-Ballón, C. S., Arauco Villar, F., Espezua Flores, O. H., & Manrique Meza, J. (2015). Criterios de Interpretación para California Mastitis Test en el Diagnóstico de Mastitis Subclínica en Bovinos. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*, 26(1), 86. <https://doi.org/10.15381/rivep.v26i1.10912>
- Gómez., R. G. (2008). Mastitis bovina. In *Enciclopedia Bovina*. <https://doi.org/10.3171/PED/2008/2/7/075>
- Gonzales, K. (2018). *La Ubre o glándula mamaria de la vaca*. Retrieved from <https://www.veterinariargentina.com/revista/2018/03/la-ubre-o-glandula-mamaria-de-la-vaca/>
- HiMedia. (2016). Mueller hinton agar. In *HiMedia Laboratories*. Retrieved from <http://himedialabs.com/TD/M173.pdf>
- Jiménez, A. (2012). *Patología de la Ubre*. Retrieved from http://axonveterinaria.net/web_axoncomunicacion/criaysalud/5/cys_5_Patologia_Ubre.pdf
- Laboratorios Britania S.A. (2015). Sangre Agar Base. In *Britania* (Vol. 1). Retrieved from http://www.britanialab.com/productos/HT_B04149_REV01-SANGRE_AGAR_BASE.pdf
- Loya, S. (2014). Centro de Desarrollo Turístico Para La Parroquia De Mindo. *Universidad Central Del Ecuador*, (Figura 1), 2–3.
- María del Pilar Sánchez Bonilla1. (2018). *Prevalencia de mastitis bovina en el Cañón de Anaime, región lechera de Colombia, incluyendo etiología y resistencia antimicrobiana*. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14084>

- Meglia, G. E. ;, & Mata, H. T. (2001). *MECANISMOS ESPECÍFICOS E INESPECÍFICOS DE DEFENSA, CON REFERENCIA A LA GLÁNDULA MAMARIA DE LOS BOVINOS PRODUCTORES DE LECHE*. Retrieved from http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/10-Inmunidad_en_glandula_mamaria.pdf
- Mellenberger, R., & Kirk, J. (2016). *VACAS LECHERAS INFECTADAS CON STAPHILOCOCCUS AUREUS*. Retrieved from www.produccion-animal.com.ar
- Mera Andrade, Muñoz Espinoza, M., Artieda Rojas, J. R., & Ortíz Tirado, P. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. In *Revista Electrónica de Veterinaria* (Vol. 18). Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63653574004>
- Nancy Bonifaz y Fabián Conlago. (2016). PREVALENCE AND INCIDENCE OF BOVINE MASTITIS BY ETIOLOGIC AGENT IDENTIFICATION IN CALIFORNIA MASTITIS TEST AT PAQUIESTANCIA. *La Granja*, 24(2), 43–52. <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.04>
- Nickerson, S.C., Owens, W. E., & Boddie, R. L. (1995). Mastitis in Dairy Heifers: Initial Studies on Prevalence and Control. *Journal of Dairy Science*, 78(7), 1607–1618. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(95\)76785-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(95)76785-6)
- Nickerson, Stephen C. (n.d.). *Estrategias de Prevención y Control de Mastitis*. Retrieved from http://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/estrategias_prevencion_y_control_mastitis.htm.pdf
- Pedro Cano Celada. (2006). *Nuevas Alternativas en el Diagnóstico Clínico de Campo y en el Tratamiento de Mastitis*. Retrieved from <https://www.agrovetmarket.com/investigacion-salud-animal/pdf-download/nuevas-alternativas-en-el-diagnostico-clinico-de-campo-y-en-el-tratamiento-de-mastitis>
- Pineda, H. (2018.). *Técnicas de siembra*. Retrieved from https://www.academia.edu/11620994/Técnicas_de_siembra

- Reyes, J. F. F., Valero-Lea, K., D'Pool, G., Urdaneta, A. G., & Cagnasso, M. A. (2005). Sensibilidad a los agentes antimicrobianos de algunos patogenos mastitogenicos aislados de leche de cuartos de bovinos mestizos doble proposito. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias*, 15(3), 227–235. Retrieved from <https://go.galegroup.com/ps/i.do?p=AONE&sw=w&u=googlescholar&v=2.1&it=r&id=GALE%7CA499096768&sid=classroomWidget&asid=5e40afee>
- Rodrigo Arias. (2016). Ubres y pezones: Cómo evaluarlos para mejorar nuestras vacas de crianza - Engormix. Retrieved July 18, 2019, from <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/ubres-pezones-como-evaluarlos-t39073.htm>
- Rodríguez, G. (2006). Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto económico en algunos hatos de la Sabana de Bogotá, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 12, 35–55.
- Romero, R., & Ruiz, A. (2014). Mastitis bacteriana en ganado bovino: etiología y técnicas de diagnóstico en el laboratorio. *Mastitis Bacteriana En Ganado Bovino: Etiología y Técnicas de Diagnóstico En El Laboratorio*, 15. Retrieved from http://www.ammveb.net/articulos/Mastitis_bacteriana.pdf
- UNIVERSIDAD TECNOLOGICA NACIONAL FACULTAD REGIONAL ROSARIO DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUIMICA CATEDRA DE BIOTECNOLOGIA. (2009.). Retrieved from https://www.frro.utn.edu.ar/repositorio/catedras/quimica/5_anio/biotecnologia/practicolll.pdf
- Usar, P. (2013). *BD Mannitol Salt Agar USO PREVISTO*. <https://doi.org/PA-254027.07>
- Vicente González, J., & Dvm, M. (2008.). *Afecciones de la piel de la ubre*. Retrieved from www.trialvet.com/

Villanueva, G., & Morales, S. (2017). Resistencia antibiótica de patógenos bacterianos aislados de mastitis clínica en bovinos de crianza intensiva - Antibiotic resistance of bacterial pathogens isolated from clinical mastitis in intensive bovine breeding) | Veterinaria.org. *REDVET-Revista Electrónica de Veterinaria*, 12. Retrieved from <http://www.veterinaria.org/6066-revista-veterinaria-redvet-121749---resistencia-antibiotica-de-patogenos-bacterianos-aislados-de-mastitis-c.html#.W5iDVvknbIV>

ANEXOS



ANEXO 1. Recolección de Muestras de leche.



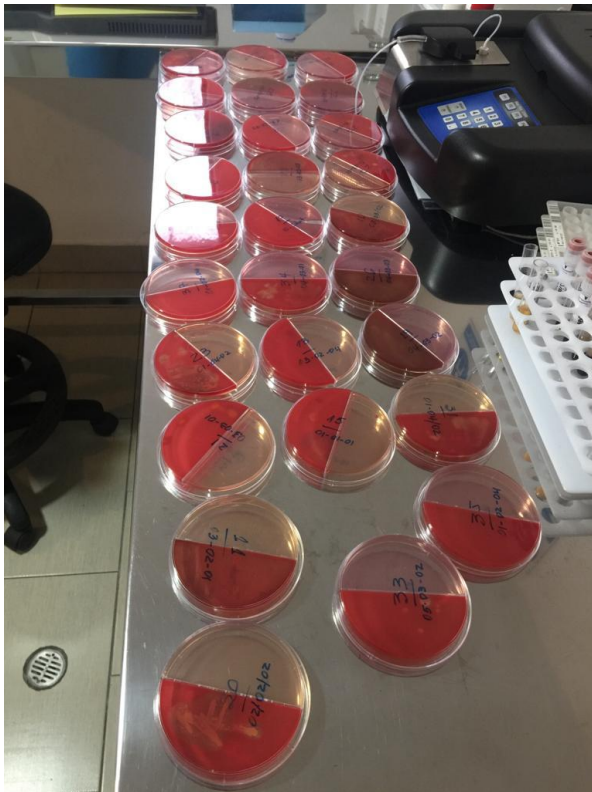
ANEXO 2. Identificación de muestras de leche.



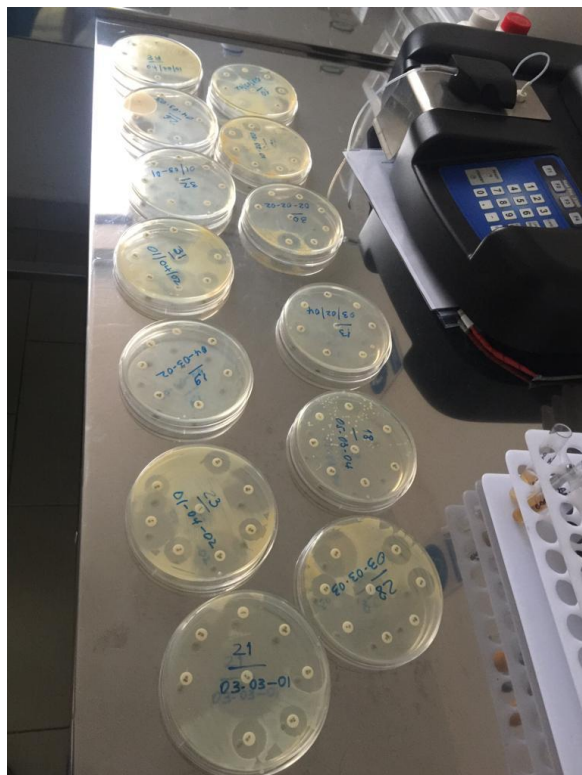
ANEXO 3. Análisis positivo a Mastitis Clínica mediante uso de CMT.



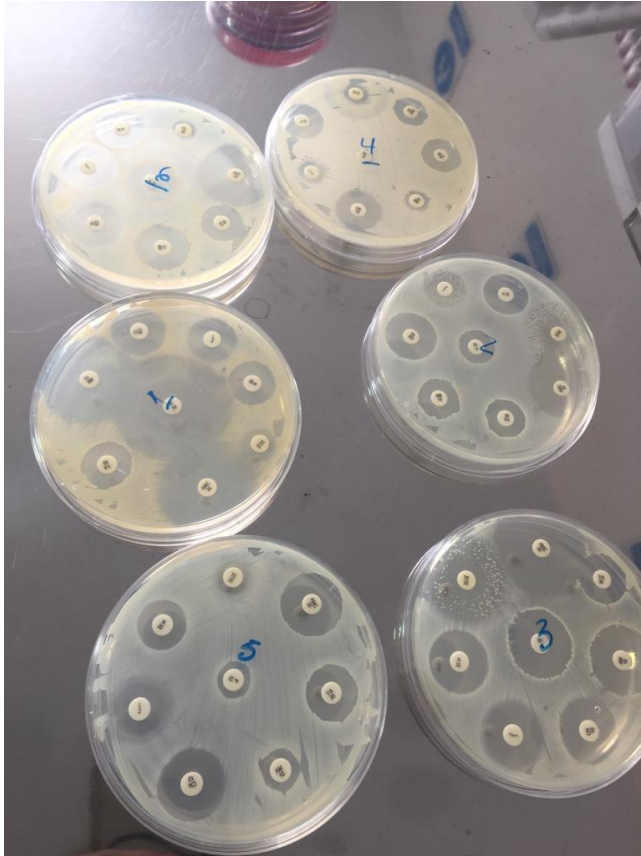
ANEXO 4. Proceso de cultivo y aislamiento de patógenos presentes en las muestras de leche.



ANEXO 5. Proceso de cultivo y aislamiento de patógenos presentes en las muestras de leche.



ANEXO 6. Resultados de antibiograma mediante el uso de sensibilizadores (Metodo Kirby Bauer).



ANEXO 7. Resultados de antibiograma mediante el uso de sensidiscos (Metodo Kirby Bauer).



Oficio Nro. AGR-AGROCALIDAD/DE-2019-000665-OF

Quito, D.M., 09 de abril de 2019

Asunto: SANIDAD ANIMAL - SOLICITAN INFORMACIÓN SOBRE LA CANTIDAD DE UNIDADES BOVINAS ADULTAS (UBA) EN EL CANTÓN SAN MIGUEL DE LOS BANCOS

Señor
David Sebastian Arroba Endara
En su Despacho

De mi consideración:

En respuesta al Documento AGR-AGROCALIDAD/DGDA-2019-3323-E, a través del cual se solicitó información sobre la cantidad de Unidades Bovinas Adultas (UBA), existentes en el cantón San Miguel de los Bancos.

Sobre la base de lo antes mencionado me permito remitir a usted el siguiente cuadro donde se detalla lo solicitado:

Provincia	Cantón	Bovinos Adultos	Vacas	Toros
Pichincha	San Miguel de Los Bancos	17.442	13.798	3.644

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Documento firmado electrónicamente

Ing. Patricio Almeida Granja
DIRECTOR EJECUTIVO

Referencias:
- AGR-AGROCALIDAD/DGDA-2019-3323-E

Anexos:
- dgda-2019-3323-e.pdf

Copia:
Señor Ingeniero
Christian Antonio Zambrano Pesantez
Coordinador General de Sanidad Animal (E)

da/AV/CC/CZ



firmado electrónicamente por:
**WILSON PATRICIO
ALMEIDA GRANJA**

ANEXO 8. Oficio sobre cantidad de animales bovinos existentes en el Cantón San Miguel De Los Bancos.

Encuesta

Nombre del

Propietario:.....

Ubicación donde fue tomada la

muestra:.....

¿Edad del Animal?

- 2-3
- 4-6
- 7-9
- No se la Edad

¿Raza del animal?

- Holstein
- Jersey
- Gyr
- Gyrolando

¿Cuál es el rango de producción del animal?

- 2-3 litros
- 4-6 litros
- 8 a 12 litros
- Más de 15 litros

¿Número de partos?

- 1-2
- 3-4
- 5-6
- Más de 7

En caso de tener mastitis ¿qué antimastítico comercial utiliza? |

De no utilizar antimastíticos ¿Qué fármacos utiliza?
