



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
PREVIO LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO**

MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA

**AGENTES CAUSALES DE MASTITIS EN BOVINOS POSITIVOS
DE GANADERÍAS ADSCRITAS A CENTRO DE ACOPIO DE
LÁCTEOS Y ANTIBIORRESISTENCIA.**

AUTORES:

**RAFAEL ANDRÉS MOREIRA MENDOZA
ÁNGEL DAVID SOLÓRZANO GUERRERO**

TUTOR:

Med. Vet. LEILA ESTEFANÍA VERA LOOR, Mg.

CALCETA, NOVIEMBRE 2023

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo **RAFAEL ANDRÉS MOREIRA MENDOZA** con cédula de ciudadanía 135179341-7 y **ÁNGEL DAVID SOLÓRZANO GUERRERO** con cédula de ciudadanía 131512768-6, declaramos bajo juramento que el Trabajo de Integración Curricular titulado: **AGENTES CAUSALES DE MASTITIS EN BOVINOS POSITIVOS DE GANADERÍAS ADSCRITAS A CENTRO DE ACOPIO DE LÁCTEOS Y ANTIBIORRESISTENCIA**, es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional, y que se ha consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedo a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a mi favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación.



RAFAEL ANDRÉS MOREIRA MENDOZA
CC. 1351793417



ÁNGEL DAVID SOLÓRZANO GUERRERO
CC. 1315127686

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo **RAFAEL ANDRÉS MOREIRA MENDOZA** con cédula de ciudadanía 135179341-7 y **ÁNGEL DAVID SOLÓRZANO GUERRERO** con cédula de ciudadanía, 131512768-6 autorizamos a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Integración Curricular titulado: **AGENTES CAUSALES DE MASTITIS EN BOVINOS POSITIVOS DE GANADERÍAS ADSCRITAS A CENTRO DE ACOPIO DE LÁCTEOS Y ANTIBIORRESISTENCIA**, cuyo contenido, ideas y criterio son de nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría.



RAFAEL ANDRÉS MOREIRA MENDOZA
CC. 1351793417



ÁNGEL DAVID SOLÓRZANO GUERRERO
CC. 1315127686

CERTIFICACIÓN DE TUTOR

Med. Vet. LEILA ESTEFANÍA VERA LOOR, Mg. , certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **AGENTES CAUSALES DE MASTITIS EN BOVINOS POSITIVOS DE GANADERÍAS ADSCRITAS A CENTRO DE ACOPIO DE LÁCTEOS Y ANTIBIORRESISTENCIA.**, que ha sido desarrollado por **RAFAEL ANDRÉS MOREIRA MENDOZA** y **ANGEL DAVID SOLORZANO GUERRERO** previo a la obtención del título de MÉDICO VETERINARIO de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

Med. Vet. LEILA ESTEFANÍA VERA LOOR, Mg.
TUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del Tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **AGENTES CAUSALES DE MASTITIS EN BOVINOS POSITIVOS DE GANADERÍAS ADSCRITAS A CENTRO DE ACOPIO DE LÁCTEOS Y ANTIBIORRESISTENCIA.** , que ha sido desarrollado por **RAFAEL ANDRÉS MOREIRA MENDOZA** y **ANGEL DAVID SOLORZANO GUERRERO**, previo a la obtención del título de **MEDICO VETERINARIO**, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS DE GRADO** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

Dr. MENDIETA CHICA HEBERTO DERLYS, Mg.
CC. 1306415132
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Med.Vet. RIVERA LEGTON CARLOS ALFREDO
CC. 1311182602
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Dr. CHÁVEZ VACA VINICIO ALEXANDER, PhD.
CC. 1707778765
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuario de Manabí Manuel Félix López, que me dio la oportunidad de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

A mis padres, ustedes han sido siempre el motor que impulsa mis sueños y esperanzas, quienes estuvieron siempre a mi lado en los días y noches más difíciles durante mis horas de estudio. Siempre han sido mis mejores guías de vida. Hoy cuando concluyo mis estudios, les dedico a ustedes este logro, como una meta más conquistada gracias a ustedes.

A mi tutora Med.Vet. Estefanía Vera, sin usted y sus virtudes, su paciencia y constancia este trabajo no lo hubiese logrado tan fácil. Sus consejos fueron siempre útiles cuando no salían de mi pensamiento las ideas para escribir lo que hoy he logrado. Muchas gracias por sus múltiples palabras de aliento, cuando más las necesite; por estar allí cuando mis horas de trabajo se hacían confusas. Gracias por sus orientaciones.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por permitirme llevar a cabo el trabajo de campo y aportar con nuevos conocimientos a la comunidad en el ámbito profesional.

RAFAEL ANDRÉS MOREIRA MENDOZA

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuario de Manabí Manuel Félix López, que me dio la oportunidad de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día.

Agradezco a Dios y a mi familia, especialmente a mis padres que fueron parte fundamental para lograr esta meta propuesta en mi vida, y haberme convertido en un profesional de la república del Ecuador.

A todas las personas que de una u otra manera aportaron en este camino que no fue nada fácil, pero gracias a su apoyo incondicional se pudo conseguir lo que tanto anhelaba.

A mi esposa y mi hija, que fueron vitales en toda esta etapa de aprendizaje, pero sobre todo me dieron fortaleza en la parte final de mi carrera para no rendirme ante los obstáculos y seguir el camino sin descanso hacia mi objetivo.

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por permitirme llevar a cabo el trabajo de campo y aportar con nuevos conocimientos importantes para mi vida profesional.

A mi tutora Med. Vet. Estefanía Vera por su paciencia y predisposición durante todo el desarrollo de nuestra investigación. Gracias a sus consejos y enseñanzas hoy soy una persona preparada para aportar nuevos conocimientos en el ámbito profesional a mi país.

ÁNGEL DAVID SOLÓRZANO GUERRERO

DEDICATORIA

A Dios, quien inspiró mi espíritu para la conclusión de esta tesis.

A mis padres quienes me dieron vida, educación, apoyo y consejos. A mis compañeros de estudio, a mis maestros y amigos, quienes sin su ayuda nunca hubiera podido hacer esta tesis. A todos ellos se los agradezco desde el fondo de mi alma. Para todos ellos hago esta dedicatoria.

A la Med. Vet. Estefanía Vera, por su gran apoyo, ayuda y aporte en el desarrollo de la investigación.

A mi esposa y a mi hijo, que sin dudas son mi fuente de inspiración final para conseguir este anhelado sueño.

RAFAEL ANDRÉS MOREIRA MENDOZA

DEDICATORIA

A todos aquellos que han sido una parte integral de mi camino académico y personal.

A mis padres, por su amor incondicional y por creer en mí desde el primer día. Por sus sacrificios y su apoyo constante que han sido la clave de mi éxito.

A mi familia en general y en especial a mi tía por su apoyo en todo momento y en los momentos más difíciles, de no ser por ella no se hubiera cumplido mi sueño.

A mi esposa por su dedicación y pasión para que nunca me faltara la energía en mis días más pesados y su amor en los momentos de mayor adversidad.

A mis compañeros, por las risas y el estudio. Por las conversaciones estimulantes, y los momentos que compartimos juntos.

A mi hija que me enseñó lo que es el amor más puro y quien me motiva día a día a cumplir este y muchos más objetivos de mi vida

A todas las personas que conforman mi círculo más cercano como mis mejores amigos les agradezco de todo corazón. No podría haber llegado hasta aquí sin su apoyo.

ÁNGEL DAVID SOLÓRZANO GUERRERO

CONTENIDO GENERAL

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN DE TUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
DEDICATORIA.....	viii
CONTENIDO GENERAL.....	x
CONTENIDO DE TABLAS	xiii
CONTENIDO DE CUADROS	xiii
CONTENIDO DE FIGURAS	xiii
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN	2
1.3. OBJETIVOS	3
1.3.1. OBJETIVO GENERAL.....	3
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
1.4. IDEA A DEFENDER	3
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1. GANADERÍA LECHERA	4
2.1.1. GANADERÍA LECHERA EN ECUADOR.....	4
2.2. ORDEÑO.....	5
2.2.1. BUENAS PRÁCTICAS DE ORDEÑO.....	5
2.2.2. SALUD ANIMAL	5
2.3. MASTITIS.....	6
2.3.1. LA MASTITIS CLÍNICA	6
2.3.2. LA MASTITIS SUBCLÍNICA.....	7
2.4. AGENTE CAUSALES DE LA MASTITIS.....	7
2.4.1. PATÓGENOS PRINCIPALES O MAYORES	8
2.4.2. PATÓGENOS MENORES.....	8
2.5. PATOGENIA DE LA MASTITIS.....	8
2.6. FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A MASTITIS	9

2.7. DIAGNÓSTICO DE MASTITIS	9
2.8. ETIOPATOGENIA Y SÍNTOMAS CLÍNICOS DE LA MASTITIS	10
2.9. TRATAMIENTO MASTITIS	11
2.10. PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA MASTITIS	12
2.11. ANTIBIORRESISTENCIA DE LA MASTITIS	12
2.12. PRECEDENTES INVESTIGATIVOS CONCERNIENTES AL ANÁLISIS DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA.	13
CAPÍTULO III. DISEÑO METODOLÓGICO	15
3.1. UBICACIÓN.....	15
3.2. DURACIÓN	15
3.3. MÉTODOS	15
3.4. TÉCNICAS	16
3.5. POBLACIÓN Y MUESTRA.....	16
3.6. PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	16
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	22
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
4.1. VALORACIÓN DE LA POSITIVIDAD A MASTITIS SUBCLÍNICA EN VACAS DE PRODUCCIONES ADSCRITAS AL CENTRO DE ACOPIO DE LÁCTEOS SAN ISIDRO.....	23
4.2 IDENTIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE AGENTES CAUSALES ESPECÍFICOS DE MASTITIS.....	26
4.3. DEFINICIÓN DE LA ANTIBIORRESISTENCIA EN LOS MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS DE MASTITIS PRESENTE EN LA LECHE DE LOS BOVINOS MUESTREADOS.	28
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	31
5.1. CONCLUSIONES.....	31
5.2. RECOMENDACIONES	31
BIBLIOGRAFÍA	32
ANEXOS	41
ANEXO N° 1: VALORACIÓN A MASTITIS SUBCLÍNICA POR MEDIO DE TÉCNICAS DE CAMPO.	42
ANEXO N° 2: IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS CON PRUEBAS DE LABORATORIO DE SIEMBRA E IDENTIFICACIÓN DE AGENTES BACTERIANOS Y ANTIBIOGRAMA.....	42

ANEXO N° 3: PRUEBAS DESCRIPTIVAS REALIZADAS	44
ANEXO 3A: TABULACIÓN DE DATOS OBTENIDOS EN EL ANTIBIOGRAMA	44

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 3.1. Condiciones meteorológicas	15
Tabla 4.1. Distribución de las reacciones de CMT para confirmación de presencia de mastitis bovina.	23
Tabla 4.2. Distribución de los cuartos según el CMT para mastitis en 232 bovinos de 7 productores de leche asociados al centro de acopio de lácteos San Isidro.	24
Tabla 4.3. Agentes causales de mastitis bovina en las muestras de leche analizada.....	26
Tabla 4.4. Pruebas de Sensibilidad para Staphylococcus Epidermis, Staphylococcus Aureus y Streptococos Uberis	28

CONTENIDO DE CUADROS

Cuadro 2.1. Agentes causales de la mastitis.....	8
Cuadro 2.2. Pruebas para diagnosticar la mastitis.	10
Cuadro 2.3. Clasificación sintomatológica.....	11

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 3.1. Ubicación geográfica del lugar de estudio.....	15
---	----

RESUMEN

Este estudio se realizó en fincas afiliadas al centro de acopio de lácteos de la parroquia San Isidro, Cantón Sucre, con el objetivo de evaluar animales que presenten infección de mastitis subclínica, para ello se realizaron pruebas de California Mastitis Test (CMT) y fondo oscuro a nivel de campo en la leche de las vacas involucradas, posteriormente se realizaron pruebas de laboratorio con el fin de identificar agentes etiológicos exclusivos de la zona estudiada; se realizó prueba de coagulasa en tubos, inoculados en Agar Manitol Sal, con uso de plasma de conejo, y fueron revisados a las 4, 18 y 24 horas. Además, se aplicaron sistemas miniaturizados Biomérieux-API® (ID32-México) como métodos rápidos para discriminar o detectar agentes causales mediante la realización de diferentes pruebas bioquímicas. Inicialmente a cada microtubo del sistema se le inoculó una suspensión en solución salina al 0,85% de cultivo puro del microorganismo a identificar. Una vez inoculada la galería con la suspensión del agente a identificar, el sistema requería ser incubado en un frasco grande de anaerobiosis de 9,5 Litros (Gaspak 150 - Estados Unidos) en condiciones de anaerobiosis. Se encontraron los siguientes agentes etiológicos: Staphylococcus Epidermidis (52.9%), Staphylococcus Aureus (29.4%) y Streptococcus Uberis (17.6%). Luego del aislamiento e identificación de los agentes causales de la mastitis bovina, se analizó mediante sensidiscos su resistencia a los siguientes antimicrobianos: Cefalexina, Oxitetraciclina, Cloxacilina, Estreptomina y Cefalosporina, antibióticos que resultaron altamente efectivos contra los agentes etiológicos encontrados. El análisis del procesamiento de datos se realizó mediante el programa informático Excel 365.

PALABRAS CLAVE: Infección, colonias bacterianas, antibiograma, glándula mamaria.

ABSTRACT

This study was carried out on farms affiliated with the dairy collection center of the San Isidro parish, Cantón Sucre, with the objective of evaluating animals that present subclinical mastitis infection, for this, California Mastitis Test (CMT) tests were carried out in the field.) and dark background in milk from the cows involved, laboratory tests were subsequently carried out in order to identify etiological agents exclusive to the area studied; A tube coagulase test was performed, inoculated in Mannitol Salt Agar, with the use of rabbit plasma, and they were reviewed at 4, 18 and 24 hours. Additionally, miniaturized Biomérieux-API® systems (ID32-Mexico) were applied as rapid methods to discriminate or detect causal agents by performing different biochemical tests. Initially, each microtube of the system was inoculated with a suspension in 0.85% saline solution of pure culture of the microorganism to be identified. Once the gallery was inoculated with the suspension of the microorganism to be identified, the system required to be incubated in a large anaerobiosis jar complete with 9.5 Liters (Gaspak 150 - United States) under anaerobiosis conditions. The following etiological agents were found: Staphylococcus Epidermidis (52.9%), Staphylococcus Aureus (29.4%) and Streptococcus Uberis (17.6%). After the isolation and identification of the causal agents for bovine mastitis, their resistance to the following antimicrobials was analyzed using sensidisks: Cephalexin, Oxytetracycline, Cloxacillin, Streptomycin and Cephalosporin, antibiotics that were highly effective against the etiological agents found. The data processing analysis was carried out using the Excel 365 computer program.

ABSTRACT

KEY WORDS: Infection, bacterial colonies, antibiogram, mammary gland

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

La mastitis subclínica causa pérdidas económicas dentro de un hato donde la afección de la ubre genera trastornos en el desempeño de la producción, que se traducen de forma negativa en el aspecto económico y también en el aspecto de salud pública dándonos un producto de dudosa procedencia, además reduce la calidad del producto, y genera costos por tratamientos y servicios veterinarios (Pinzón, 2010).

Según (Bedolla y Ponce, 2008). Las pérdidas económicas que la mastitis bovina ocasiona a la industria láctea son considerables, en Ecuador, México y otros países de la región, y en la industria láctea a nivel mundial. El impacto económico de la mastitis incluye principalmente en la reducción de la producción de leche, el descarte de la leche, los costos de tratamiento, los costos veterinarios, el sacrificio de ganado después de un tratamiento fallido , y el aumento de los costos laborales relacionados con el cuidado especial del ganado enfermo y el manejo de la mastitis (Morales, 2021).

La determinación clínica de la mastitis en las explotaciones del ganado lechero, está basada principalmente en la preparación, capacitación y experiencia de los actores en la actividad lechera (médicos veterinarios, ganaderos y trabajadores). En casos subclínicos de mastitis bovina, que son fáciles de detectar para veterinarios, éstos no son siempre detectados por los ganaderos y trabajadores; no obstante, que éstos son los responsables de la mayor parte de las pérdidas provocadas por mastitis; representando alrededor del 90% de los casos (Córdova, 2017).

¿La identificación de agentes causales de mastitis es fundamental en el tratamiento de la mastitis y previene la antibiorresistencia?

1.2. JUSTIFICACIÓN

Actualmente la mastitis subclínica se presenta como un problema de alto riesgo, teniendo este un alto grado de dificultad para el control y prevención de manera efectiva, sumado a esto que la calidad de la leche es relativamente baja y por ende los subproductos; ya que los tratamientos dejan trazas de antibióticos en la leche, es evidente entonces, que la enfermedad continúa presente en los hatos lecheros, debido a la falta de información y controles que hoy en día se encuentran encaminados a mejorar la productividad láctea del hato, pero no abordan la problemática desde las pérdidas que pueden llegar a ocasionar (Cuzco, 2015).

Esta enfermedad además de causar una disminución en la producción y en la calidad de la leche, también es causante del aumento en los costos de producción por el tratamiento (medicamentos y asistencia profesional) y pérdidas por descartes prematuros. La leche que está afectada con la enfermedad cambia su composición química, física y bacteriológica, presentando un menor porcentaje de sólidos totales, proteínas, grasa y calcio, además el productor que realiza tratamientos con antibióticos obtendrá como resultado residuos de antibióticos en la leche, (Bonifaz, 2016).

Los residuos de antibióticos en la leche se corresponde con lo reportado por (Morató, 2009) quien argumenta, que los problemas asociados a la presencia de antibióticos en la leche es su capacidad para dispersar bacterias resistentes a los antibióticos usados en medicina humana. De ahí la importancia de un control adecuado, también por motivos tecnológicos, como en el caso de la elaboración del queso o el yogur, cuya materia prima, si contiene restos de antibióticos, puede afectar al proceso de fermentación

En la mastitis subclínica el problema es aún más grave debido a que genera mayores pérdidas a medida que el grado de afectación a la glándula mamaria aumenta, más si se tiene en cuenta que los ganaderos consideran como un gasto las pruebas diagnósticas para la detección de la mastitis (Rojas, 2017).

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la presencia de especies de agentes causales de mastitis y antibiorresistencia en ganaderías bovinas adscritas al Centro de Acopio “Lácteos San Isidro” con presencia de positividad a la enfermedad.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Identificar la positividad de mastitis subclínica en vacas en producción de las ganaderías adscritas al Centro de Acopio “Lácteos San Isidro”.

Identificar la presencia de especies de agentes causales específicos de mastitis con pruebas de laboratorio de siembra e identificación de microorganismos.

Definir antibiorresistencia en los microorganismos presentes en la leche de las vacas, previo aislamiento de los tipos y especies bacterianas específicas.

1.4. IDEA A DEFENDER

La identificación de agentes causales específicos de mastitis, facilita la elección específica de los antibióticos a utilizar para prevenir la resistencia bacteriana.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. GANADERÍA LECHERA

La ganadería lechera desempeña un papel importante siendo el consumo de productos lácteos es parte de una dieta saludable, las enfermedades zoonóticas y aquellas transmitidas por los alimentos que se originan en los animales lecheros pueden ser perjudiciales para las personas (Ormaza y Rueda, 2021). Por ello se han concentrado cuencas especializadas, donde se distribuye al consumo, caracterizándose por su concentración y su relevancia económica (Camacho *et al.*, 2017).

La productividad de la ganadería lechera como actividad primaria, y sus conexiones con los eslabones de industrialización y comercialización de la leche fluida y sus derivados es de relevancia para la economía (Loera y Banda, 2017). Asimismo, busca la mayor eficiencia, tanto biológica como económica, con una elevada producción de leche por lactancia, así como de un buen desempeño reproductivo (Marini y Di, 2019). Además, la producción láctea en ganado bovino se encuentra afectada por varios factores que contribuyen en grado variable a la expresión fenotípica del animal (Hidalgo y Vera, 2019)

2.1.1. GANADERÍA LECHERA EN ECUADOR

Los sistemas de producción de leche en el Ecuador varían desde intensivos a extensivos, estos dependen directamente del manejo reproductivo, sanitario y nutricional, elementos fundamentales para una producción óptima de la explotación ganadera (Ortega *et al.*, 2017). La Sierra andina de Ecuador abarca la mayor cantidad de producción de leche a nivel nacional, lo que equivale al 64% de la producción, mientras que la región Costa ocupa el 30%, y la región Oriental mantiene un 6% (Franco *et al.*, 2019)

Para Sánchez *et al.* (2020) Con datos del Instituto Nacional de Estadística y Censos (INEC) en el 2019 la producción diaria de leche fue de 6.648.786 litros a nivel nacional, de un total de 996.503 vacas ordeñadas, el 78% de la producción diaria lechera corresponde a la región sierra con 5.165.222 litros y 654.326 vacas ordeñadas, a

continuación, la región costa con 1,279,022 litros (19%) y 296,683 vacas ordeñadas, por último, la región amazónica con 204,542 litros (3%) y 45,494 vacas ordeñadas.

La producción lechera de Ecuador se distribuye en tres regiones, de las cuales la región Sierra representa el 75.9%, la región Costa aporta el 16.6% y la región Oriental representa el 7.6%. En lo que se refiere a la producción lechera por vaca, la media de la región que más sobresale es la Sierra con 6.7 litros por cada vaca en el día, seguida de la región Oriental con 4.7 litros por cada vaca en el día y finalmente en la región de la Costa con 3.6 litros por cada vaca en el día (Ormaza y Rueda, 2021).

2.2. ORDEÑO

El ordeño consiste en la extracción de la leche almacenada en las ubres de las vacas hembras en lactación, se puede realizar de forma manual o mecánica (Sánchez, 2016). Es el conjunto de acciones que comienza desde la preparación de la vaca para el ordeño y va hasta retirar el último chorro de leche de la ubre de la vaca, el efectuar la rutina correctamente, está relacionado directamente con la calidad higiénica y calidad composicional (Conlago, 2021).

2.2.1. BUENAS PRÁCTICAS DE ORDEÑO

Las Buenas Prácticas de Ordeño (BPO) lleva consigo una serie de puntos clave como son la planificación y realización de una serie de pasos que permitan el cumplimiento de puntos mínimos que arrojen como resultado un adecuado procesamiento y por consiguiente un producto final con excelente nivel de calidad (Mosquera, 2019). De acuerdo a Conlago (2021) es un sistema de aseguramiento de calidad e inocuidad en la producción primaria, cuyo propósito es la obtención de leche inocua, óptima para el proceso de industrialización y que no constituya ningún riesgo para la salud del consumidor.

2.2.2. SALUD ANIMAL

La salud animal es uno de los factores que afecta la producción lechera, siendo necesaria la prevención y profilaxis de enfermedades bacterianas como la mastitis para mantener una prevalencia e incidencia bajas en los hatos lecheros y evitar que los productores tengan pérdidas económicas por causa de esta infección (Bonifaz y

Colango, 2016). Los establecimientos lecheros enfatizan la evaluación del bienestar basados en aspectos relacionados con enfermedades y prácticas de manejo que afectan la función biológica, el estado afectivo y la naturalidad de las vacas (Tadich, 2021).

2.3. MASTITIS

Es uno de los principales problemas sanitarios que tienen productores en sus hatos lecheros; esto es debido a las condiciones y el medio en el que se desempeña esta labor y por el desconocimiento en el manejo para esta actividad (Bonifaz y Colango, 2016). Es una enfermedad que está extendida en todo el mundo y se ha convertido en uno de los problemas más comunes en las granjas lecheras, siendo una problemática que conduce a una disminución significativa en la producción y calidad de la leche (Ormaza y Rueda, 2021).

Se considerada a la mastitis bovina como la enfermedad más común y cara en las granjas lecheras, debido a la disminución de la cantidad y calidad de la leche que sufre el animal que la padece, los costos de procesamiento y la eliminación de desechos producidas por esta enfermedad han causado graves pérdidas económicas a los ganaderos (Molina *et al*, 2018).

La mastitis es una enfermedad de la glándula mamaria que afecta sobre todo a las vacas de alta producción, puede presentarse de forma sintomática (clínica) y asintomática (subclínica) que, al no poder ser identificada pasa desapercibida (Murillo *et al.*, 2017). En un estudio de Martínez *et al.* (2015) determinaron que la forma clínica se presenta apenas en un 0.66%, mientras que la subclínica en un 98.6%; además, se caracteriza por disminución del volumen de producción, y el aumento de células somáticas con cambios importantes en la composición de la leche, lo que afecta su calidad y la economía del productor.

2.3.1. LA MASTITIS CLÍNICA

Esta presenta signos observables tales como hinchazón de uno o más cuartos en la ubre, calor y dolor al contacto y cambios macroscópicos en la leche, la severidad de esta puede variar entre una mastitis leve hasta una forma clínica hiperaguda, en la

cual se presenta sintomatología sistémica, como fiebre, deshidratación, inapetencia, malestar o en algunos casos, la muerte del animal (Roja, 2017). Esta implica signos y síntomas de inflamación mamaria que pueden o no ser acompañados de síntomas sistémicos (Osejo, 2020).

2.3.2. LA MASTITIS SUBCLÍNICA

Según el agente etiológico se clasifica en contagiosa y ambiental, cuyo principal reservorio es la glándula mamaria bovina (infectada), pudiéndose controlar mediante buenas prácticas de ordeño y tratamientos de secado (García *et al.*, 2018). La mastitis subclínica se caracteriza por una disminución en la secreción de leche y un aumento en el conteo de bacterias en la leche, con ausencia de cambios inflamatorios o dolor, su curso se puede clasificar en aguda, subaguda y crónica y dependiendo si ocurre en el periodo de lactancia se subdivide en mastitis lactacional y no lactacional (Osejo, 2020).

La mastitis subclínica no presenta cambios visibles en la leche o ubre. Apenas se percibe una reducción en el rendimiento de la leche, siendo alterada su composición por la presencia de componentes inflamatorios y bacterias, lo que constituye un riesgo potencial tanto para la salud humana como la salud animal (Maldonado *et al.*, 2022).

2.4. AGENTE CAUSALES DE LA MASTITIS

La mastitis bovina es causada por más de 100 agentes etiológicos tanto contagiosos como ambientales y oportunistas, los cuales ocasionan grandes pérdidas económicas a los ganaderos en todo el mundo, debido a la disminución que causan en la producción de leche (Ormaza y Rueda, 2021). Los agentes más comunes causantes de la mastitis también han sido clasificados como patógenos principales (mayores) y menores según el grado de inflamación que estos producen en la glándula mamaria (Bedolla, 2017).

Cuadro 2.1. Agentes causales de la mastitis.

Patógenos Contagiosos	Patógenos Ambientales	Patógenos oportunistas
Streptococcus agalactiae	Escherichia coli	Estafilococos coagulasa negativos
Streptococcus dysgalactiae	Streptococcus uberis	
Staphylococcus aureus	Klebsiella spp.	
Mycoplasma spp	Enterobacter aerogenes	
Corynebacterium spp	Pseudomonas aeruginosa	
	Otras Enterobacterias	
	Streptococcus dysgalactiae	

Fuente. Rojas (2017).

2.4.1. PATÓGENOS PRINCIPALES O MAYORES

Estos son aquellos que se definen como los responsables la mayoría de las veces de las mastitis clínicas o de fuertes respuestas inflamatorias (contemos elevados de células somáticas en la leche) y estos comprenden al *Staphylococcus aureus*, *S. uberis*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* y coliformes (Bedolla, 2017).

2.4.2. PATÓGENOS MENORES

Estos infectan la glándula mamaria, causando conteos moderados de células somáticas, pero en lo general no causan signos clínicos, estas infecciones, son especialmente frecuentes, debidas sobre todo a otros Estafilococos (principalmente *S. chromogenes*, *S. hyicus*, *S. epidermidis*, y *S. xylosus*) o por *Corynebacterium bovis* y *Micrococcaceae* coagulasa-negativos (Bedolla, 2017).

2.5. PATOGENIA DE LA MASTITIS

La mastitis es una patología de origen multifactorial y provocada por un sin número de microorganismos que continuamente cambian su dinámica ecológica por la constante mutaciones que sufren los agentes etiológicos que hace difícil su tratamiento y erradicación, además de la resistencia de los animales por el mal uso de los antibióticos para tratar esta enfermedad (Bonifaz y Colango, 2016).

La mastitis es una patología que se desencadena por factores multifactoriales en el ganado bovino más reconocida en el mundo, que causa enormes pérdidas económicas a los productores y a toda la industria, se estima que entre el 15% y el 20% del ganadero bovino lechero se ven afectadas por alguna forma de mastitis en una o más cuartos mamaros (Andrade *et al.*, 2017)

2.6. FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A MASTITIS

Los factores de riesgo para la presentación de la mastitis bovina se generan con la incidencia de la edad, el manejo deficiente del hato, el alojamiento inadecuado, la viabilidad y virulencia del agente y su susceptibilidad frente a los antimicrobianos, de esto derivando implicaciones asociadas con mastitis como la alta producción de leche, bajo recuento de células somáticas y sellado de los pezones. (Ramírez *et al.*, 2011).

Desde las perspectivas de Mora *et al.* (2015), algunos de los factores del entorno que pueden influir en la incidencia de mastitis son la zona donde se ubica la finca, el hato, año, época de parto, las prácticas de alimentación, las prácticas del ordeño, la calidad e higiene del albergue, las condiciones climatológicas y las prácticas de manejo preventivo o terapéutico. Una vaca puede presentar predisposición genética a contraer mastitis, asociada a determinadas características anatómicas, estado nutricional, parto, estado de lactación, involución mamaria, lactogénesis o el uso de determinados procedimientos de manejo.

La mastitis ocurre cuando factores medioambientales y de manejo interactúan aumentando la exposición de la ubre a los microorganismos, ayudando así a los patógenos a atravesar el canal del pezón, la mastitis procede de tres factores esenciales: el hospedador, el agente infeccioso y el medio ambiente. (Ramírez, 2016).

2.7. DIAGNÓSTICO DE MASTITIS

El diagnóstico de la mastitis generalmente se da al inicio del ordeño observando las características de la leche en cada animal, para establecer la presencia de grumos, sangre, o cambios de color que sugirieran la presencia de mastitis clínica. En los animales positivos se debe examinar la ubre, para identificar aumento de la temperatura, fibrosis, edema o dolor, en los animales con mastitis clínica se debe evaluar la presencia de manifestaciones sistémicas como fiebre, decaimiento o anorexia (Moreno *et al.*, 2015).

Los diagnósticos se dividen en directos e indirectos, entre los métodos directos se encuentran: Pruebas microbiológicas, Muestreo de leche para examen por cultivo, Recuento microscópico de células somáticas (RMCS); recuento electrónico de células

somáticas (RECS); recuento de las células de la leche en tanque y recuento de células en vaca individual. (Rojas, 2017)

Cuadro 2.2. Pruebas para diagnosticar la mastitis.

PRUEBAS DIAGNÓSTICAS PARA PRESENCIA DE MASTITIS EN BOVINOS.	
Examen físico de la glándula mamaria	Se realiza con la ubre vacía, después del ordeño; hay incremento de la temperatura de la glándula o del cuarto afectado, enrojecimiento, endurecimiento y dolor; pueden presentarse cuartos atrofiados o deformes con áreas de tejido cicatricial.
Pruebas de despunte	Consiste en examinar el primer chorro de leche a través de un jarro de fondo oscuro; permite detectar la leche anormal que no debe enviarse al tanque, e identifica vacas con mastitis que requieren tratamiento.
Recuento de células somáticas	Un alto número de células somáticas se relaciona con una reducción de la producción de leche (más de doscientas mil células/ml indica mastitis subclínica).
Cultivo de bacterias de la leche	Se identifican microorganismos causantes de la inflamación de la glándula (más de cincuenta mil bacterias/ml indica la fuente de contaminación).
California Mastitis Test	Indica la cantidad de células somáticas presentes en la leche de la muestra recogida. Es una prueba utilizada durante varias décadas; es la prueba más utilizada en el campo para diagnosticar mastitis. Esta prueba estima la cantidad de células somáticas de la leche, y es realizada antes del ordeño y luego de la eliminación de los primeros chorros de leche.

Fuente: Ormaza y Rueda (2021).

2.8. ETIOPATOGENIA Y SÍNTOMAS CLÍNICOS DE LA MASTITIS

La inflamación se produce como respuesta a la invasión, a través del canal del pezón, de diferentes tipos de bacterias, micoplasmas, hongos, levaduras y hasta algunos virus, sin embargo, las bacterias de los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterium* y algunos gérmenes Gram -, son responsables de más del 90 % de los casos clínicos y subclínicos, la enfermedad puede cursar como subclínica (la de mayor prevalencia en un rodeo) o como clínica, con alteraciones macroscópicas de la leche y síntomas palpables de la ubre y, a veces, de tipo sistémico en todo el animal (Corbellini, 2002).

Según Fernández *et al.* (2012), esta enfermedad, es conocida comúnmente por signos clínicos, elementalmente por las anomalías en la leche y la ubre. Los síntomas clínicos incluyen una disminución en la producción de leche, aumento en el número de leucocitos, composición y apariencia alterada (grumos) de la leche, fiebre, cuartos mamarios enrojecidos, hinchados e hipertérmicos. Así también la mastitis también se puede clasificar según su sintomatología en:

Cuadro 2.3. Clasificación sintomatológica.

CLASIFICACIÓN DE LA SINTOMATOLOGÍA DE LA MASTITIS	
Mastitis subclínica (microorganismo asociado con más frecuencia: <i>S. aureus</i>).	La leche tiene apariencia normal y no hay signos visibles de inflamación en la glándula mamaria y el recuento de células somáticas de la leche del animal es elevado. El aislamiento microbiológico ayuda al diagnóstico.
Mastitis clínica.	Según el tipo de patógeno implicado, la fiebre y el letargo pueden estar asociados a signos claros de inflamación de la glándula mamaria (enrojecimiento, calor, hinchazón, dolor) que provocan cambios químicos, físicos y habitualmente bacteriológicos en la leche (desde ligeros grumos en la leche hasta coágulos de fibrina en una leche de consistencia acuosa).
Mastitis aguda (microorganismos asociados con más frecuencia: <i>E. coli</i> , <i>S. uberis</i> , <i>S. dysgalactiae</i>).	Los signos clínicos (fiebre, letargo, pérdida de apetito) son graves y la glándula está inflamada, dolorosa, edematosa o muy dura, a veces las secreciones contienen coágulos o grumos, y pueden ser acuosas, serosas o purulentas.
Mastitis aguda gangrenosa (microorganismos asociados con más frecuencia: <i>S. aureus</i> , <i>C. perfringens</i>).	Pérdida de apetito, deshidratación, letargo, fiebre e indicios de toxemia, a veces provoca la muerte, al principio de la enfermedad, la glándula está enrojecida, hinchada y caliente, a las pocas horas, el pezón se enfría y las secreciones se vuelven acuosas y sanguinolentas, puede haber presencia de gas al ordeñar. Finalmente, se produce una necrosis y se pueden perder los cuartos dañados.
Mastitis aguda de tipo ambiental. microorganismos asociados con más frecuencia <i>E. coli</i> u otras bacterias Gram negativas):	Hay fiebre, dolor, calor, hinchazón o dureza en la ubre, la secreción generalmente puede ser acuosa o amarillenta.
Mastitis crónica (microorganismos asociados con más frecuencia: <i>S. aureus</i> , <i>S. uberis</i>).	Episodios de signos clínicos característicos de una infección aguda y largos períodos sin ningún signo clínico. Las secreciones contienen periódicamente coágulos, grumos o hebras de fibrina.

Fuente: Zoetis, (2022).

2.9. TRATAMIENTO MASTITIS

Los tratamientos de la mastitis de forma general están dirigidos a terapias con antibióticos, para seleccionar adecuadamente un antimicrobiano, no solo se necesita conocer el agente etiológico involucrado, sino también su sensibilidad a los antibióticos o sulfamidas disponibles en el mercado local (Aguilar y Álvarez, 2019).

Generalmente es muy difícil para los veterinarios determinar si los tratamientos de mastitis tienen éxito porque no hay un resultado estándar que se utilice para determinarlo, objetivo práctico del tratamiento es producir rápidamente una reducción en los síntomas clínicos, eventualmente reducir el recuento de células somáticas (RCS), prevenir la recurrencia de nuevos casos clínicos y mantener el rendimiento esperado de leche. Cuando las vacas presentan casos leves de mastitis, los signos clínicos normalmente desaparecen en 4-6 días, independiente del tratamiento. Sin

embargo, la desaparición de los síntomas clínicos no siempre indica que la infección ha sido tratada con éxito. (Fernández *et al.*, 2012)

Desde las nociones de Acosta *et al.* (2017), la implementación de un programa de control y prevención de la mastitis debe hacerse con base en las características de los microorganismos para así tener un programa más eficiente, para seleccionar adecuadamente un antibiótico, se debe conocer no solamente el agente etiológico sino también su sensibilidad a los antibióticos, mencionando los siguientes grupos de fármacos como los más usados en la mastitis como los Betalactámicos, cefalosporinas, tetraciclinas, macrólidos, aminoglucósidos y sulfonamidas.

2.10. PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA MASTITIS

La prevención y control de la mastitis según Pineda *et al.* (2015) amerita dedicación y perseverancia, así como un trabajo sistematizado, que se puede realizar de manera sencilla con trabajo de campo y con el apoyo de pruebas de laboratorio. Por su parte, Mera *et al.* (2017), explica que esta consiste de manera general en mantener una buena higiene ya sea del lugar donde se encuentre el animal como establos, granjas, etc., y también el aseo de sus partes productoras en este caso de las ubres y su alrededor para evitar proliferación de bacterias.

Hay tres partes importantes que se deben tomar en cuenta para poder prevenir esta enfermedad, la primera es el control de los patógenos contagiosos que va a consistir en prácticas de ordeño higiénico, desinfección de pezones post-ordeño, terapia de vaca seca, adecuado funcionamiento del equipo de ordeño, descarte de animales con infección crónica, vacunación y dietas, todo esto con el fin de minimizar la proliferación de bacterias causantes de la infección. (Mera *et al.*, 2017). Las medidas de prevención y control de la mastitis traen consigo beneficios al productor o ganaderos mejorando así su rentabilidad, la productividad de las explotaciones ganaderas de leche, así como la calidad composicional, higiénica y sanitaria (Ormaza y Rueda, 2021).

2.11. ANTIBIORRESISTENCIA DE LA MASTITIS

Se presenta como la resistencia a medicamentos que se utilizan para tratar las infecciones, en concreto las que son de origen bacteriano, y resultan fundamentales

tanto en salud humana como en sanidad animal, este fenómeno preocupa cada vez más tanto en el ámbito de la salud pública como en el de la sanidad animal, muchas de las acciones que se llevan a cabo en pro de la sanidad animal exigen la disponibilidad y el buen uso de medicamentos veterinarios de calidad, y sobre todo de agentes antimicrobianos, dado que la sanidad animal es un componente clave de las políticas de bienestar animal, de seguridad alimentaria y de inocuidad de los alimentos(Organización Mundial de la Sanidad Animal [OIE], 2015).

Desde el contexto de la antibiorresistencia de los microorganismos causales de la mastitis bovina, Aguilar y Álvarez (2019), explican que persiste el problema de la resistencia de los microorganismos a los antibióticos a largo plazo, que pueden reducir o eliminar por completo su acción y uso en el tratamiento de enfermedades infecciosas. La aplicación de antibióticos restringe el uso de la leche de estos animales, de ahí que muchos ganaderos utilizan esta leche para alimentar a las terneras, convirtiendo esto, en un factor de riesgo para que al momento en que estas terneras se conviertan en vacas productoras, pueden presentar problemas con bacterias multirresistentes.

El problema del incremento en la resistencia bacteriana en estos casos es debido a varias razones que incluyen, el uso indiscriminado de antibióticos en forma empírica por personal no calificado, la libre venta de los antimicrobianos sin la exigencia de la presentación del récipe expedido por el Médico Veterinario y finalmente, la aplicación incompleta del tratamiento, todos estos factores favorecen el desarrollo de la resistencia (Valero *et al.*, 2010).

2.12. PRECEDENTES INVESTIGATIVOS CONCERNIENTES AL ANÁLISIS DE LA MASTITIS SUBCLÍNICA.

En estudios como el de González y Vidal (2021), manifiestan que los principales factores que influyen en la presencia de mastitis subclínica en Ecuador son la ausencia de higiene en la rutina del ordeño, el mal funcionamiento del equipo, deficientemente manejo de los desinfectantes y selladores, la no identificación de agentes infecciosos y la inefectividad de las medidas de control y los tratamientos.

Para Avellán *et al.* (2019), en una investigación aplicada en la provincia de Manabí la prevalencia de mastitis subclínica encontrada fue alta, y se relaciona con problemas sanitarios en la rutina el ordeño, que como consecuencia provoca pérdidas económicas en los productores debido a la baja producción de leche. En necesario recalcar que esta patología no solo afecta a las producciones lecheras, las vacas que tienen mastitis subclínica de grado 2 y 3 tienen mayor riesgo de pérdida de gestación durante los primeros 90 días posteriores al servicio (Miranda *et al.*, 2019).

Dentro del contexto de la antibiorresistencia, Bonifaz y Conlago (2016), determinaron en su estudio la presencia de agentes etiológicos causales para mastitis como *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Micrococcus*, *Corynebacterium sp*, los cuales mostraron resistencia a los antimicrobianos entre ellos la Estreptomina, Amoxicilina, Cefalexina, Tetraciclina y Gentamicina.

Por su parte Sánchez *et al.* (2018), en su investigación detectaron, que el grupo estafilococo coagulasa-negativo (CNS) fue el principal patógeno causal de mastitis bovina encontrado en los aislamientos, seguido de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus spp*, los cuales presentaron un alto grado de resistencia a penicilina G y a eritromicina. Así también Valero *et al.*, (2010), empleo sensi discos a cepas de *Staphylococcus aureus*, provenientes de bovinos infectados con mastitis subclínica, la cual mostró resistencia a los antimicrobianos como la penicilina, enrofloxacina, eritromicina y a las rifampicina.

CAPÍTULO III. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

La investigación se realizó en las fincas asociadas al centro de acopio lácteos San Isidro, ubicado en la parroquia San Isidro, cantón Sucre, provincia de Manabí bajo las coordenadas $0^{\circ}22'32.12''$ de latitud sur y a $80^{\circ}12'04.9''$ de longitud oeste, con una altitud de 163 msnm. **Fuente.** Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial San Isidro.

Figura 3.1. Ubicación geográfica del lugar de estudio.



Fuente. Google Earth Pro, (2022).

A continuación, se detallan en la (tabla 4) las características climáticas anuales de la parroquia San Isidro, cantón Sucre, provincia de Manabí.

Tabla 3.1. Condiciones meteorológicas

Variables	Valor
Precipitación Media Anual	613.8 mm
Temperatura Media Anual	20°C – 29°C
Humedad Relativa Anual	79.6%

Fuente. Estación Meteorológica de Portoviejo (2021).

3.2. DURACIÓN

Los trabajos de campo y laboratorio se llevaron a cabo en un periodo de cinco meses, se inició el 20 de Octubre de 2022 y concluyó el 20 de marzo de 2023.

3.3. MÉTODOS

Para la ejecución de la investigación se utilizó un estudio no paramétrico epidemiológico transversal y casual, para poder describir los datos en el proceso.

Los métodos utilizados en la resolución de la problemática planteada fue el método inductivo-deductivo, que permitió tener conclusiones específicas desde nociones generales, mientras que el descriptivo permitió describir y descomponer los elementos relevantes en el estudio.

3.4. TÉCNICAS

Se utilizó la técnica de registros a través de los cuales de manera lógica se procedió a la recopilación de las principales características e información sustancial de la problemática planteada, se utilizó además la técnica de observación la cual permitió el análisis y constatación de la recolección de las muestras, las pruebas confirmatorias de mastitis subclínica (fondo oscuro, Mastitis California Test), adicional se emplearon pruebas de laboratorios para la identificación de los agentes causales tales como catalasa positivos y coagulasa en tubo, adicional se utilizaron los sistemas miniaturizados Biomérieux-API® como métodos rápidos para discriminar o detectar los agentes causales, asu cini y catalasa , por último se planteó la técnica del antibiograma para verificar la resistencia de los agentes causales de mastitis.

3.5. POBLACIÓN Y MUESTRA

Las muestras para el estudio se obtuvo de una población de 232 bovinos en producción de 7 ganaderos de leche asociados al “Centro de Acopio de Lácteos San Isidro”, para la obtención de muestras de leche de esta población, no se estimó la fórmula para el cálculo de la muestra para poblaciones finitas, dado que se aplicaron pruebas de constatación de mastitis subclínica a toda la población estimada, las muestras sujetas a análisis de laboratorio para determinar su antibiorresistencia se derivaron de los bovinos que mantuvieron presencia de mastitis subclínica.

3.6. PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

3.6.1. VALORACIÓN DE LA POSITIVIDAD A MASTITIS SUBCLÍNICA EN VACAS EN PRODUCCIÓN DE LAS GANADERÍAS ADSCRITAS AL CENTRO DE ACOPIO LÁCTEOS SAN ISIDRO.

Para el cumplimiento del presente objetivo se tomaron como base a investigaciones previas dentro del centro de acopio San Isidro en relación a la

presencia de mastitis, específicamente en las fincas de los ganaderos asociados a esta organización que mantuvieron presencia de esta patología en las muestras estudiadas. Inicialmente se visitaron las fincas sujetas a estudios para la obtención de las muestras que se analizaron en el laboratorio de Mejoramiento Genético y de Salud Animal del Departamento de Ciencias de la Vida y la Agricultura de la Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE), ubicado en la Carrera de Ingeniería Agropecuaria.

- **PRUEBA DE FONDO OSCURO**

Para identificar los bovinos con presencia de mastitis se utilizó la metodología del fondo oscuro, para ello se examinó los primeros chorros de leche (despunte) con un despuntador o jarro de fondo oscuro, donde se detectó clínicamente las vacas con mastitis que necesitan tratamiento (Díaz y Martínez, 2020).

- **PRUEBA CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT)**

Para la detección de la mastitis subclínica se aplicó la California Mastitis Test (CMT) bajo el siguiente procedimiento adaptado de Cuzco (2015) y Chazi (2015):

Se lavó la ubre de la vaca con agua caliente y se secó con toallas desechables.

Se limpió con algodón al 70% de alcohol para cada vaca, eliminando el exceso; limpiar los pezones, iniciando por el pezón más alejado.

- Se secó los pezones completamente con toallas desechables individuales.
- Luego se desinfectó los pezones antes una posible contaminación por patas, cola, estiércol, etc.
- Se tomó de 2 o 3 ml de leche de cada cuarto, y se agregó igual cantidad de reactivo C.M.T.
- Se agitó la paleta en forma circular hasta mezclar muy bien la leche y el C.M.T, no mezclar por más de 10 segundos la reacción visible desaparece en unos 20 segundos.

La respectiva lectura de los resultados obtenidos se conlleva mediante la utilización de la siguiente tabla:

Tabla 3.2. Valores para interpretación de resultados del CMT Test.

Score	Significado	Descripción de la reacción	Interpretación ccs/cm ³
N	Negativo	El estado de la solución permanece inalterado. La mezcla sigue en estado líquido.	0-200,000
T	Trazas	Se toma un precipitado en el piso de la paleta que desaparece pronto.	150,000-400,000
(+)	Ligeramente Positivo	Hay mayor precipitación, pero no se forma gel.	400,000-1,500,000
(++)	Positivo	El precipitado se toma denso y se concentra en el centro.	800,000-5,000,000
(+++)	Muy Positivo	Se forma un gel muy denso que se adhiere a la paleta.	>5,000,000

Fuente: Chazi (2015).

- **TOMA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS DE AISLAMIENTO DE LOS AGENTES CAUSALES DE MASTITIS BOVINA**

La recolección de muestras de leche para la prueba microbiológica de laboratorio se ejecutó a los casos positivos a las pruebas de Fondo Oscuro y del CMT.

La recolección de cada una de la muestra se realizó con el mayor grado de antisepsia posible.

En relación a las vacas positivas afectadas en más de un cuarto, se recolectó igualitariamente de los cuatro cuartos afectados, en este sentido se colocó similares cantidades de leche (5mL de uno a tres chorros) en los tubos de ensayo tapa rosca de (10mL) sin tocar el pezón.

Se procedió a rotular con la identificación de muestras (fecha, finca, vaca, y cuarto afectado).

Se colocaron las muestras en una hielera con gel refrigerante para mantener condiciones adecuadas para las muestras.

Se trasladó las muestras al laboratorio el mismo día de recolección para asegurar la calidad óptima de las muestras.

3.6.2. IDENTIFICACIÓN DE AGENTES CAUSALES DE MASTITIS CON PRUEBAS DE LABORATORIO DE SIEMBRA E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS.

- AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE AGENTES CAUSALES

Para el aislamiento e identificación de los agentes causales de mastitis bovina se procedió conforme a lo descrito por Fuentes *et al.* (2013) a aplicar técnicas microbiológicas. Inicialmente se tomaron 10 ml de la leche muestreada y se depositó en tubos de centrifuga (Fisher Scientific Inc.®) de 15 ml para su proceso de centrifugación a 5000 revoluciones por minutos a 4°C durante 6 minutos en la máquina centrífuga micro refrigerada DLAB (D1524R®-China), posterior a este proceso, se tomó la nata obtenida y se diluyó con 10 ml de agua peptona en una probeta graduada Kartell™

Con una pipeta Pasteur se tomó dicha disolución y se sembraron las muestras alícuotas de 0.1 mL en placas de Petri con Agar Base Sangre más 5% de sangre de equino, MacConkey, Baird Parker y Agar Salado Manitol (Mendoza *et al* 2017).

Las muestras se incubaron en escenarios de aerobiosis bajo temperaturas de 37°C, posterior a las 24 horas se procedió a hacer la primera lectura, de no haber crecimiento de colonias se incubaron 24 horas adicionales. En el aislamiento de los microorganismos se analizó en correspondencia de la morfología de las colonias y la tinción de Gram clasificándolas como cocos o bacilos Gram positivos o Gram negativos (Mendoza *et al* 2017).

Para diferenciar los *Streptococcus* de los *Staphylococcus*, se realizó la prueba de catalasa, aquellos microorganismos que fueran catalasa positivos, se identificaron como *Staphylococcus* y la catalasa negativos como *Streptococcus* (Carillo 2007).

Para la identificación del *Staphylococcus aureus* como agente causante de mastitis se realizó la prueba de coagulasa en tubo, inoculado en Agar Salado Manitol, para ello se usó plasma de conejo, y se revisaron a las 4, 18 y 24 horas, la formación de coágulos clasificó al microorganismo como *Staphylococcus*

aureus y su ausencia como *Staphylococcus coagulasa* negativa, esta interpretación se basa en lo descrito por (Mendoza *et al.*, 2017).

Las bacterias que crecieron en el agar MacConkey fueron sometidas a pruebas bioquímicas que permitieron identificarlas, las bacterias lactofermentadores son *Escherichia coli*, *Klebsiella* y *Enterobacter*; y las no lactofermentadores, *Salmonella* y *Shigella* (Carillo 2007).

Adicionalmente se aplicaron sistemas miniaturizados Biomérieux-API® (ID32-México) como métodos rápidos para discriminar o detectar los agentes causales a través de la realización de diferentes pruebas bioquímicas. Inicialmente se inoculó cada microtubo del sistema con una suspensión en solución salina al 0.85% de un cultivo puro del microorganismo a ser identificado, una vez inoculada la galería con la suspensión del microorganismo a identificar, el sistema requirió ser incubado en una jarra de Anaerobiosis grande completo de 9.5 Litros (Gaspak 150 - Estados Unidos) bajo condiciones de anaerobiosis, esto se lo ejecutó con base a lo indicado por (Gamboa, 2015).

3.6.3. IDENTIFICACIÓN DE LA ANTIBIORRESISTENCIA DE LOS MICROORGANISMOS PRESENTES EN LA LECHE DE LAS VACAS, PREVIO AISLAMIENTO DE LOS TIPOS Y ESPECIES BACTERIANAS ESPECÍFICAS.

Posterior al aislamiento e identificación de los agentes causales para mastitis bovina, se analizó mediante sensidiscos su resistencia a lo antimicrobianos detallados a continuación: Cefalexina, Oxitetraciclina, Cloxacilina, Estreptomina y Cefalosporina (Ballesteros y Valdiviezo, 2018).

Los resultados de respuesta de cada antimicrobiano analizado se determinaron mediante el “halo de inhibición”, con escalas de resistencia media y alta. Los resultados fueron detallados de acuerdo al halo que presenta cada uno de los sensidiscos utilizados, si no existe la presencia del halo indica que hay crecimiento bacteriano en las zonas, por lo cual el microorganismo es resistente a este antibiótico. El sensidisco que contenga el halo con mayor diámetro es el

más efectivo, es decir el microorganismo analizado es sensible a este antibiótico (Cuzco, 2015).

Desde las nociones de Acuña y Rivadeneira (2008), en la realización del antibiograma se efectuó siguiente procedimiento:

- Se preparó una concentración de bacterias de 0.5 en la escala de Mc Farland, haciendo lectura en el Nefelómetro®.
- Luego se sembró en Agar Nutritivo (Mueller Hinton o de tripticasa de soya), autoclavar (Autoclave Digital Phoenix Luferco®-Brasil) el medio de cultivo y se dejó enfriar a 45-50°C.
- Posteriormente se vertió asépticamente suficiente cantidad de medio de cultivo en una placa de Petri, para obtener una capa de 4 mm de espesor aproximadamente. (Para una placa de 10 cm de diámetro se requieren 30 ml de medio y para una de 15 cm se requieren 70 ml. Se dejó solidificar el medio de cultivo y luego secar las placas durante 30 minutos antes de usarlas para la inoculación).
- Se inoculó la placa con 1 ml de la suspensión del germen de 18 a 24 horas de incubación con una turbidez equivalente a $1,5 \times 10^6$ bacterias (Equivale al tubo No. 5 de la escala de Mc Farland).
- La suspensión debe cubrir la superficie de placa de Petri y es necesario eliminar el sobrante.
- Se colocó la tapa a la placa y se dejó secar el inóculo por 3 a 5 minutos para posterior colocar los discos con los antibióticos sobre el agar mediante pinzas estériles o usando un aplicador de discos.
- Se oprimieron los discos suavemente con una pinza para asegurar un buen contacto con el medio de cultivo.
- Los discos fueron espaciados de manera que su distancia a la pared de la placa sea de 15 mm y entre ellos de 30 mm. Incubar a 35 – 37°C hasta el siguiente día (aproximadamente 18-19 horas).

- Se leyeron los resultados con rapidez en las zonas de inhibición después de 6 a 8 horas de incubación, pero estos resultados deberán ser confirmados mediante una nueva lectura después de la incubación por las 18 a 19 horas.
- La medida del diámetro de la zona de inhibición se realizará preferentemente desde el exterior de la placa, sin quitar la tapa, esto se ejecutará con una regla milimétrica, un vernier o cualquier otro Instrumento similar.

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Este análisis se apoyó del paquete matemático Excel 365 (año), donde se tabuló la información obtenida y se le realizó un análisis descriptivo de los datos y los resultados se presentan en tablas.

CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. VALORACIÓN DE LA POSITIVIDAD A MASTITIS SUBCLÍNICA EN VACAS DE PRODUCCIONES ADSCRITAS AL CENTRO DE ACOPIO DE LÁCTEOS SAN ISIDRO.

Tabla 4.1. Distribución de las reacciones de CMT para confirmación de presencia de mastitis bovina.

		Prueba CMT		
		Casos	N.º	%
Número de Vacas muestreadas		Positivo (+)	12	5.2%
		Positivo (++)	0	0.0%
		Positivo (+++)	0	0.0%
		Trazas	64	27.6%
232		Negativos	156	67.2%
Total			232	100%

Trazas = Precipitación de pronta desaparición.

(+) = Hay mayor precipitación, pero no se forma gel.

(++) = El precipitado se toma denso y se concentra en el centro.

(+++)= Se forma un gel muy denso que se adhiere a la paleta.

% = Porcentaje de presencia de mastitis

De acuerdo a lo presentado por la tabla 4.1, se muestran 12 casos positivos (+) para mastitis bovina con un 5.2% del total de unidades evaluadas, por consiguiente, no se registraron casos positivos para grado dos (++) y grado tres (+++), por lo que se determinó que no se hallaron infecciones intramamarias agudas en las muestras.

Además, se detectaron trazas en 64 bovinos evaluados con el 27.6%, en estos animales se observó anomalías en la leche, pero no en niveles tan altos para establecerlos como mastitis subclínica. Por último, se identificaron 156 casos negativos con el 67.2% por lo que se puede establecer que la mayoría de los bovinos estudiados no presentaron signos de infección intramamaria según los parámetros obtenidos en la prueba de CMT.

Los resultados obtenidos guardan correspondencia a los recolectados por Vera y Zambrano (2022), en su estudio de evaluación de la calidad e inocuidad de la leche en el centro de acopio lácteos San Isidro, donde detectaron que el 7% de las muestras analizadas evidenciaron incrementos en las células somáticas, lo que indica la presencia de mastitis, además acotaron que la alteración de este parámetro se puede atribuir a factores fisiológicos y patológicos y el manejo

inadecuado en las prácticas de ordeño por parte de los productores adscritos al centro de acopio.

De la misma manera, en investigaciones realizadas dentro de la provincia de Manabí como la de Vallejo *et al.*, (2018), no se detectaron casos positivos para mastitis en los cantones Pedernales, El Carmen, Flavio Alfaro y Bolívar, el conteo de células somáticas a través de las especificaciones de la Norma Técnica Ecuatoriana (NTE INEN-ISO 13366-1 IDF 148-1) evidenció indicativos de trazas. Por su parte Avellán *et al.* (2019), tampoco encontró niveles elevados de casos positivos de mastitis bovina en el cantón Rocafuerte, el mayor número de casos trazas a través del CMT, mismas que determinan alteraciones en la leche evaluada sin ser indicativo de presencia de mastitis bovina.

En contraste, a nivel nacional se figura una prevalencia elevada de mastitis bovina, tal es el caso de Rodríguez (2017), que obtuvieron un 74% de prevalencia en la provincia de Pichincha e Imbabura, De la Cruz *et al.* (2018), obtuvo 40% de presencia de mastitis en el Carchi; y Espinoza y Mier (2013), alcanzaron un 79% de prevalencia en el Napo, por su parte Cuzco (2015), identificó un 50% de prevalencia en la provincia de Chimborazo.

Tabla 4.2. Distribución de los cuartos según el CMT para mastitis en 232 bovinos de 7 productores de leche asociados al centro de acopio de lácteos San Isidro.

Casos	Cuartos de la Ubre								Totales	
	A. Derecho		A. Izquierdo		P. Derecho		P. Izquierdo			
	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%	N.º	%
Positivo (+)	6	3%	11	5%	8	3%	5	2%	30	3.2%
Positivo (++)	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0.0%
Positivo (+++)	0	0%	0	0%	0	0%	0	0%	0	0.0%
Trazas	53	23%	60	26%	64	28%	62	27%	239	25.8%
Negativos	173	75%	161	69%	160	69%	165	71%	659	71.0%
Total	232	100%	232	100%	232	100%	232	100%	928	100%

¿Trazas = Precipitación de pronta desaparición.

(+) = Hay mayor precipitación, pero no se forma gel.

(++) = El precipitado se toma denso y se concentra en el centro.

(+++) = Se forma un gel muy denso que se adhiere a la paleta.

% = Porcentaje de presencia de mastitis

N.º = Número de casos

A = Cuarto Anterior

P = Cuarto Posterior

En la tabla 4.2, se muestran los análisis realizados a los cuartos de la ubre de los bovinos muestreados, en la misma se evidencia que el cuarto anterior

derecho registró 6 casos (3%) de reacción a mastitis, 53 cuartos (23%) con presencia de trazas y 173 (75%) cuartos con reacción negativa. A su vez, el cuarto anterior izquierdo presentó el mayor número de cuartos positivos (+) con 11 casos de mastitis (5%), un número significativo de trazas con 60 casos (26%) y 161 cuartos (75%) sin presencia de mastitis.

Por su parte, el cuarto posterior derecho mantuvo 8 casos positivos (+) (3%), muestra una tasa de 64 (28%) casos con detección de trazas y 160 (69%) cuartos con reacción negativa a mastitis bovina. Por último, el cuarto posterior izquierdo presentó la menor tasa de cuartos negativos con 5 casos (2%), 62 (27%) cuartos con presencia de trazas y 165 (71%) de cuartos sin presencia de mastitis.

Los resultados difieren con los de Avellán *et al.* (2019), quienes obtuvieron mayores cuartos afectados por mastitis subclínica y trazas de la misma en la posición posterior derecha. De forma similar Díaz y Martínez (2020), también reportaron mayores porcentajes de presencia de mastitis subclínica en los cuartos posteriores, en complemento Chasi (2015), Rivera (2014) y Bonifaz y Colango (2016) también presentan mayores índices de mastitis en los cuartos mencionados anteriormente.

De acuerdo a lo expresado por los estudios acotados anteriormente, los cuartos mamarios posteriores suelen mantener presencia de mastitis debido a su mayor cantidad de tejido glandular y producción de leche, así como a factores ambientales, los cuartos anteriores generalmente presentan menores promedios de mastitis, no obstante, cuando no existe una higiene adecuada en el ordeño o existen lesiones en los pezones, aumenta la exposición de estos cuartos a los microorganismos, lo que ayuda a que los patógenos atraviesen el canal del pezón (Ramírez, 2016).

De forma general se observa que existe una mínima proporción de cuartos con resultados positivos (+) con un total de 30 casos representado el 3.2% del total de los cuartos evaluados, sin presencia de casos de mastitis para los grados (++) y (+++). Por otro lado, se figuraron un número significativo de cuartos con trazas con 239 cuartos que representan el 25.8% de los pezones valorados, en

contraste de los casos positivos y trazas detectadas, la mayoría de los cuartos de la ubre se clasificaron como negativos con un total de 659 de cuartos libres de mastitis bovina que equivale al 71% del total de cuartos sujetos a análisis, lo que sugiere una baja prevalencia de mastitis en los bovinos de los productores asociados al centro de acopio de lácteos San Isidro.

Los parámetros obtenidos presentan similitud al estudio de Chasi (2015) quien obtuvo un 9% de mastitis clínica, y un 25 % de trazas detectadas en los cuartos mamarios de bovinos del cantón Cayambe, así mismo, Farinango (2015), presentó un 8.84% de cuartos mamarios infectados en esta misma ciudad. Avellán *et al.* (2019) por su parte obtuvo una prevalencia de mastitis en el 15.76% de los cuartos mamarios evaluados en el cantón Rocafuerte y Álvarez y Chuqui (2017), presentaron 17.6 %, de prevalencia en cuartos mamarios, en la provincia de Azuay.

Resultados superiores muestran Bonifaz y Colango (2016), estos reportan un 64% de cuartos infectados en la provincia de Pichincha, Gomes y Rodríguez (2017), también reportan un 51% de cuartos infectados en la provincia de Pichincha e Imbabura y Espinoza y Mier (2013), encontraron el 49% de cuartos afectados dentro de la provincia de Napo.

4.2 IDENTIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE AGENTES CAUSALES ESPECÍFICOS DE MASTITIS.

Tabla 4.1. Agentes causales de mastitis bovina en las muestras de leche analizada

Agentes Causales (<i>Gram Positivos</i>)	% de detección en los aislamientos
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	52%
<i>Staphylococcus aureus</i>	29.4%
<i>Streptococcus uberis</i>	17.6%
Total	100%

Se identificaron tres agentes causales de mastitis bovina en las muestras analizadas, mismas que son el *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus uberis*. Conforme a los sistemas miniaturizados Biomérieux-API® se observó que *Staphylococcus epidermidis* fue el más prevalente, detectado en el 52% de las muestras analizadas, le siguió el

Staphylococcus aureus, que se encontró en el 29.4% de las muestras, además, se evidenciaron patógenos oportunistas, como *Streptococcus uberis*, que representaron un porcentaje menor, presente en el 17.6% de las muestras.

Para Cruz *et al* (2007) los agentes causales de mastitis clínica y subclínica, generalmente son por *Staphylococcus aureus* con porcentajes de un 42% en sus bovinos muestreados, seguido de otras especies de *Staphylococcus spp* y con menor frecuencia para *Streptococcus spp*. De la misma manera Bonifaz y Colango (2016) determinan que los casos de mastitis bovina presente en su estudio se generan por *Staphylococcus coagulasa* positivos, *Staphylococcus coagulasa* negativos y genotipos de *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*.

Al igual que el presente estudio y los autores anteriormente citados, Araúz (2022) presentó porcentajes elevados de *Streptococcus Uberis* (40.74%) *Streptococcus spp*. (33.33%) *Staphylococcus spp*. (18.51%) *Staphylococcus Aureus* (7.4%), el mismo sostiene que estas cepas generalmente son las causantes del desarrollo de la mastitis bovina al tener mayor incidencia en el medio ambiente del animal e inclusive de la ubre.

Según Bedolla (2017) se han identificado aproximadamente 140 especies de patógenos causantes de mastitis, no obstante, los agentes causales más recurrentes son los *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis* y *Staphylococcus aureus*. Estos son patógenos altamente contagiosos, razón por lo cual generalmente son los causante de la presencia de mastitis bovina, infectando a nivel individual y de población (Bolaños *et al.*, 2011).

Es de destacar, que los agentes causales antes mencionados, sobreviven en diferentes nichos ecológicos, difiriendo por lo tanto en su mecanismo de transmisión e infección y en la facilidad con la cual pueden ser controladas (Corbellini, 2002). Los *Staphylococcus* y *Streptococcus* están fundamentalmente asociados a ubres infectadas, lesiones de los pezones y colonización del canal del pezón, transmitiéndose de vaca a vaca y de cuarto a cuarto al momento del ordeño o poco después (Stempler *et al.*, 2022).

4.3. DEFINICIÓN DE LA ANTIBIORRESISTENCIA EN LOS MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS DE MASTITIS PRESENTE EN LA LECHE DE LOS BOVINOS MUESTREADOS.

Posterior de la identificación y aislamiento de los microorganismos causales de mastitis bovina en las muestras positivas procedentes de los 12 bovinos (48 cuartos mamarios), se determinó la sensibilidad de estos agentes etiológicos mediante el uso de sensidiscos impregnados con concentraciones de Cefalexina (CL-30µg), Oxitetraciclina, (OT-30µg), Cloxacilina (CX-5µg), Estreptomina (NO-30µg) y Cefalosporina (FUR 30µg), y se verificó los halos de inhibición a través de los parámetros estipulados por las metodologías dispuestas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), la Sensibilidad de Kirby-Bauer (Test KB) analizada Ruiz et al (2018) y el European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing EUCAST.

Tabla 4.1. Pruebas de Sensibilidad para Staphylococcus Epidermis, Staphylococcus Aureus y Streptococos Uberis

Agente Etiológico	Antibiótico	Carga del disco (µg)	Diámetro del halo de inhibición (mm)			Método Empleado	Diámetro Obtenido	Sensibilidad/ Resistencia
			Sensible	Intermedia	Resistente			
Staphylococcus Epidermidis	Cefalexina	30	> 25	20-24	< 19	CLSI	3.3 cm	Sensible
	Oxitetraciclina	30	> 19	15-18	<14	CLSI	2.6 cm	Sensible
	Cloxacilina	5	> 22	< 21	CLSI	3.3 cm	Sensible
	Estreptomina	30	> 22	18-21	< 17	Test KB	3.3 cm	Sensible
	Cefalosporina	30	> 22	< 21	EUCAST	2.8 cm	Sensible
Staphylococcus Aureus	Cefalexina	30	> 25	20-24	< 19	CLSI	3.5 cm	Sensible
	Oxitetraciclina	30	> 19	15-18	<14	CLSI	2.5 cm	Sensible
	Cloxacilina	5	> 22	< 21	CLSI	3.4 cm	Sensible
	Estreptomina	30	> 22	18-21	< 17	Test KB	2.8 cm	Sensible
	Cefalosporina	30	> 22	< 21	EUCAST	2.9 cm	Sensible
Streptococcus Uberis	Cefalexina	30	> 27	25-26	< 24	CLSI	4.5 cm	Sensible
	Oxitetraciclina	30	> 23	19- 22	< 18	CLSI	2.7 cm	Sensible
	Cloxacilina	5	> 24	< 23	CLSI	2.7 cm	Sensible
	Estreptomina	30	> 22	18-21	< 17	Test KB	2.9 cm	Sensible
	Cefalosporina	30	> 27	25-26	< 24	CLSI	2.5 cm	Sensible

(µg) = Microgramo

Cm = Centímetros

CLSI = Clinical and Laboratory Standards Institute

EUCAST= European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

Test KB = Sensibilidad de Kirby-Bauer

Los resultados expuestos en la tabla 4 muestran que los agentes etiológicos *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus uberis*, son sensibles a los antibióticos Cefalexina, Oxitetraciclina, Cloxacilina, Estreptomina y Cefalosporina, puesto que presentan diámetros del halo de inhibición mayores a los diámetros estipulados por las metodologías empleadas, por lo que se puede determinar que los patógenos aislados no presentan ningún tipo de resistencia a los antibióticos empleados.

Pese a que los agentes etiológicos evaluados no presentaron resistencia alguna a los antibióticos utilizados, en múltiples estudios se observan que los agentes causales de mastitis bovina presentan índices de resistencia elevados a ciertos antibióticos, ejemplo de aquello es el estudio de Cruz *et al.* (2007) quien presentó resistencia en los *Staphylococcus aureus*, a la estreptomina y oxacilina con 83.3% y 60%, respectivamente, el *Streptococcus spp.* Mostró 73.6% de resistencia a estreptomina, a tetraciclina 63.1% y a penicilina G potásica 63.1% y los *Staphylococcus spp.*, 41% de resistencia a la oxacilina.

Por otra parte, Ballesteros y Valdivieso (2018) obtuvieron resistencia en *Staphylococcus coagulasa negativo*, *Levaduras spp*, *Enterococcus* y *Pseudomonas* a varias familias de antibióticos como los Betalactámicos 88 % (Penicilina G 46.88 %, Ampicilina 18.8 %, Amoxicilina 3.13 %, Cefalosporinas 7.29 %, Fosfomicina 12.5 %), Aminoglucósidos 23.24 % (Estreptomina 17.7 %, Gentamicina 1 %, Neomicina 5.2 %), Tetraciclinas 12.5 % (Oxitetraciclina), Macrólidos 2% (Azitromicina), Fluoroquinolonas 2.08 % (Enrofloxacin 1.04 % y Ciprofloxacina 1.04 %).

En añadidura, Bonifaz y Colango (2016) sostienen que la mayoría de los patógenos de la mastitis en la provincia de Pichincha son resistentes a la Estreptomina seguido de la Amoxicilina y en menor grado a la Cefalexina, tetraciclina, Ciprofloxacina y Gentamicina. Pellegrino *et al.* (2011) presentaron resistencia a los antibióticos eritromicina, estreptomina, penicilina, estreptomina.

Quispe *et al.* (2021), determinaron que en su estudio los *Streptococcus spp* resultaron resistente a la penicilina en 22%, a cefalexina en 22% y sulfa trimetoprima en 33.3%, en contraste la tetraciclina y la amoxicilina más ácido

Clavulánico, fueron sensibles al 100%, por otro lado, los *Staphylococcus spp* resultaron resistente a la penicilina en 52% y la amoxicilina más ácido clavulánico en 28%, mientras que, para la cefalexina, tetraciclina y sulfatrimetoprim fueron sensibles al 100%.

Los parámetros de sensibilidad presentes en este estudio difieren por completo a los estudios ejemplificados, puesto que en su mayoría mostraron resistencia a múltiples grupos de antibióticos, cabe destacar que estas investigaciones mantenían prevalencia de mastitis agudas y graves por lo cual pudiese ser un factor que predispone dicha resistencia, en particular los resultados positivos de del presente estudio eran de grado positivo (+) pudiéndose definir como mastitis subclínica, siendo este un factor favorable para que los antibióticos muestren la efectividad adecuada para disminuir o eliminar la presencia de los agentes causales de Mastitis subclínica bovina (Calvinho, 2012)

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Se identificó mastitis subclínica en el 5.2 % de la vacas de siete fincas adscritas al Centro de Acopio de Lácteos la Parroquia San Isidro, Cantón Sucre.

Los principales agentes etiológicos identificados causantes de mastitis subclínica en vacas de siete fincas adscritas al Centro de Acopio de Lácteos la Parroquia San Isidro, Cantón Sucre fueron *Staphylococcus Epidermidis* (52.9%), *Staphylococcus Aureus* (29.4 %) y *Estreptococos Uberis* (17.6 %).

Los microorganismos identificados mostraron alta sensibilidad a los antibióticos. Cefalexina, Oxitetraciclina, Cloxacilina, Estreptomicina y Cefalosporina.

5.2. RECOMENDACIONES

Capacitar a los ganaderos de las fincas asociadas al centro de Lácteos San Isidro con respecto a Buenas prácticas ganaderas (BPGs), para evitar el desconocimiento sobre las técnicas diagnósticas y el uso incorrecto de los tratamientos, con la intención de evitar el uso indiscriminado de antimicrobianos, además de contrarrestar la resistencia bacteriana en los hatos lecheros y en la salud pública.

Realizar nuevas investigaciones en zonas aledañas a la parroquia San Isidro, Cantón Sucre, en busca de otros agentes etiológicos de mastitis subclínica.

Realizar pruebas de sensibilidad con diversos antibióticos a fin de identificar la susceptibilidad de los microorganismos que se identifiquen.

BIBLIOGRAFÍA

- Abad, F., Ramírez, R., Fernández, S., y Ramírez, R. (2019). Importancia del sexo/género y su distinción en la investigación biomédica. *Hacia la promoción de la salud*, 24(2), 11–13. <https://doi.org/10.17151/hpsal.2019.24.2.2>
- Acosta, A., Mira, J., y Posada, S. (2017). Tópicos en mastitis bovina: desde la etiología hasta algunas terapias alternativas. *Journal of Agriculture and Animal Sciences*, 6(1), 42–58. <https://doi.org/10.22507/jals.v6n1a4>
- Acuña, V y Rivadeneira, A. (2008). *Aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha*. [Tesis de Pregrado, Escuela Politécnica del Ejército]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2553>
- Aguilar, F y Álvarez, C. (2019). *Mastitis Bovina*. (1.^a ed.). UTMACH. <http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/15205/1/MASTITIS-BOVINA.pdf>
- Álvarez, E. y Chuqui, C. (2017). *Prevalencia de mastitis subclínica mediante California Mastitis Test (CMT) en ganado bovino lechero del cantón Cuenca*. [Tesis de Pregrado, Universidad de Cuenca]. Repositorio Institucional. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/26628>
- Andrade, M., Espinoza, M., Rojas, J., Ortíz, P., Salas, G., y Falcón, V. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(11), 1-16. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=636/63653574004>
- Andresen, H. (2013). Mastitis: prevención y control. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 12(2). <https://doi.org/10.15381/rivp.v12i2.1634>
- Araúz, R. (2022). *Diagnóstico de patógenos productores de mastitis mediante prueba AccuMast® en vacas seleccionadas por las técnicas CMT y Draminski en Ganadería San Gabriel, Departamento de Jinotega*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Agraria, Nicaragua]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.una.edu.ni/4596/>
- Avellan, R., Aguayo, M., Veliz, L., Palacios, C., Demera, M., Zambrano, P., y Moreira, Y. (2019). Prevalencia de mastitis subclínica en el ganado bovino, mediante la prueba California Mastitis Test, en el cantón Rocafuerte de la provincia Manabí, Ecuador. *Revista Amazónica y Ciencia y Tecnología*, 8(1), 62-70. <https://www.semanticscholar.org/paper/Prevalencia-de-mastitis-subcl%C3%ADnica-en-el-ganado-la-V%C3%A9lez-Aguayo/096aa764591568aea562d861c461d3754d80ac7f>
- Avellán, R., Zambrano, M., De La Cruz, L., Cedeño, C., Delgado, M., Rezabala Zambrano., y Macías, Y. (2019). Prevalencia de mastitis subclínica en el ganado bovino, mediante la prueba California Mastitis Test, en el cantón

- Rocafuerte de la provincia Manabí, Ecuador. *Revista Amazónica. Ciencia Y Tecnología*, 8(1), 62–70. <https://revistas.uea.edu.ec/index.php/racyt/article/view/108>
- Ayala, C. (2018). Juzgamiento de llamas para la producción de carne, un incentivo para su conservación. *Revista de Investigación e Innovación Agropecuaria y de Recursos Naturales*, 5(Especial), 13-33. http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2409-16182018000300004&lng=es&tlng=es.
- Ballesteros, J y Valdivieso, A. (2018). *Estudio de la problemática epidemiológica de la mastitis bovina en el cantón Cayambe*. [Tesis de Pregrado, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio Institucional. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/15261>
- Bauce, G., Córdova, M., y Ávila, A. (2018). Operacionalización de variables. *Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"*, 49(2). <https://docs.bvsalud.org/biblioref/2020/05/1096354/operacionalizacion-de-variables.pdf>
- Bedolla, C., y Ponce, M. (2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, IX (4),1-26. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63611952010>
- Bedolla, C. (2017). Etiología de la mastitis bovina. *Sitio Argentino de Producción Animal*. https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/128-Etiologia.pdf
- Bonifaz, N., Y Colango, F. (2016). Análisis de inundaciones costeras por precipitaciones intensas, cambio climático y fenómeno de El Niño. Caso de estudio: Machala. *La Granja: Revista De Ciencias De La Vida*. 24(2) 43-52. <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.04>
- Bonifaz, N., y Colnago, F. (2016). Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba california mastitis test con identificación del agente etiológico en paquiestancia. *La Granja*, 24(2). <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.03>
- Buritaca, H., Mejía, M., y Álvarez, M. (2017). Aislamiento de microorganismos en diferentes ambientes (Suelo, Agua y Aire). *Mente Joven*, 6, 09–20. https://doi.org/10.18041/2323-0312/mente_joven.0.2017.3666
- Calvinho, L. (2012). Tratamiento de mastitis clínicas y manejo de antibióticos en el tambo. *Aprocal*. https://www.aprocal.com.ar/wp-content/uploads/manejo_antibioticos.htm.pdf
- Camacho, J., Cervantes, F., Palacios, M., Cesín, A., y Ocampo, J. (2017). Especialización de los sistemas productivos lecheros en México: la difusión del modelo tecnológico Holstein. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*, 8(3), 259. <https://doi.org/10.22319/rmcp.v8i3.4191>

- Carrillo, A., Estepa, C., Hernández, J., y Sanabria, J. (2007). Identificación de bacterias causantes de mastitis bovina y su resistencia ante algunos antibacterianos. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 10(1). <https://doi.org/10.31910/rudca.v10.n1.2007.569>
- Chazi, E. (2015). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la comunidad de Muyurco, Cayambe – Ecuador, 2014*. [Tesis de Pregrado, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio Institucional. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/9839>
- Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]. (2023), *M100-Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 33rd Edition*. <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
- Conlago, S. (2021). *Evaluación de disoluciones de dióxido de cloro en prácticas de ordeño sobre la calidad microbiológica de leche cruda destinada a centros de acopio*. [Tesis de Pregrado, Universidad Técnica del Norte]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/11230/2/03%20EIA%20522%20TRABAJO%20GRADO.pdf>
- Corbellini, C. (2002). *La mastitis bovina y su impacto sobre la calidad de la leche. Argentina: Instituto de Tecnología Agropecuaria, Proyecto Lechero, EEA INTA Pergamino*.
- Córdova, A. (2017). *Importancia de la mastitis bovina*. <https://www.ganaderia.com/destacado/Importancia-de-la-mastitis-bovina>
- Cruz, A., Estepa, C, Hernández, J., y Sanabria, J. (2007). Identificación de bacterias causantes de mastitis bovina y su resistencia ante algunos antibióticos. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 10(1), 81–91. <https://doi.org/10.31910/rudca.v10.n1.2007.569>
- Cuzco, G. (2015). *Determinación de la sensibilidad de CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica y su relación en cultivo de leche más antibiograma en la hacienda “El Boliche”*. [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/18364>
- De La Cruz., Díaz, P., y Bonifaz, N. (2018). Gestión de calidad de leche de pequeños y medianos ganaderos de centros de acopio y queserías artesanales, para la mejora continua. caso de estudio: Carchi, Ecuador. *La Granja: Revista De Ciencias De La Vida*, 27(1), 124–136. <https://doi.org/10.17163/lgr.n27.2018.10>
- Díaz, D y Martínez, F. (2020). *Determinación de la incidencia de mastitis bovina en dos fincas de la Comarca Piedra Sembrada, Camoapa, departamento de Boaco, en el periodo de febrero - abril de 2020*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.una.edu.ni/4234/1/tnl73d542.pdf>

- Díaz, D., y Martínez, F. (2020). *Determinación de la incidencia de mastitis bovina en dos fincas de la comarca Piedra Sembrada, Camoapa, departamento de Boaco, en el periodo de febrero-abril 2020*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.una.edu.ni/4234/1/tnl73d542.pdf>
- Espinoza, M y Mier, J. (2013) *Determinación de la prevalencia de mastitis Mediante la prueba California Mastitis Test e Identificación y Antibiograma del agente causal en ganaderías lecheras*. [Tesis de pregrado. Universidad Central del Ecuador]. Repositorio Institucional. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/1281>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing [EUCAST]. *Development and validation of EUCAST Disk Diffusion breakpoints*. https://www.eucast.org/ast_of_bacteria/calibration_and_validation
- Farinango Navas Á.H. (2015) *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba California Mastitis Test con identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la comunidad de Pulisa, Cayambe, Ecuador*. [Tesis de Pregrado, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio Institucional. <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/9826>
- Fernández, O. F., Trujillo Graffe, J., Peña, J., Cerquera, J., y Granja, Y. (2012). Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. *Revista electrónica de Veterinaria*, 13(11), 1-20. https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/78-mastitis.pdf
- Franco, C., Morales, L., Lascano, R. y Cuesta, G. (2019). Dinámica de los pequeños productores de leche en la Sierra centro de Ecuador. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, 30(2):103-120. <http://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.09>.
- Fuentes, G., Ruiz, R., Sánchez, J., Ávila, D., y Escutia, J. (2013). Análisis microbiológico de leche de origen orgánico: atributos deseables para su transformación. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 10(4), 419-432. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-54722013000400003&lng=es&tlng=es.
- Gamboa, M. (2015). Actualización de pruebas de laboratorio microbiológicas para el control de calidad en alimentos. [Tesis de Grado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.puce.edu.ec/handle/22000/8719>
- García, F., Sánchez, T., López, O., y Benítez, M. (2018). Prevalencia de mastitis subclínica y microorganismos asociados a esta. *Pastos y Forrajes*, 41(1), 35-40. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942018000100005&lng=es&tlng=es.

- Gómez, L y Rodríguez, L. (2018). Identificación y sensibilidad antibiótica de microorganismos relacionados con mastitis bovina en seis comunidades de pequeños productores [Resumen]. En C.V. Zambrano Calderón, C.A. Molina Hidrovo, L.F. Pinargote García, y M.A. Barahona Yude (Eds.), *Memorias del I Simposio Internacional de Ganadería Bovina Tropical “Desafíos para una Ganadería Sostenible”* (p. 33). Mocache, Ecuador: INIAP, Estación Experimental Tropical Pichilingue. (Publicación Miscelánea no. 441).
- González, R., y Vidal, M. (2021). Mastitis bovina y calidad de la leche, un desafío para la salud humana. *Universidad Y Sociedad*, 13(S1), 89-96. <https://rus.ucf.edu.cu/index.php/rus/article/view/2013>
- Hidalgo, G., y Vera, J. (2019). Edad al primer servicio y al parto sobre producción láctea en primera lactación en vaquillonas lecheras. *Revista Colombiana De Ciencia Animal - RECIA*, 11(2), 721. <https://doi.org/10.24188/recia.v11.n2.2019.721>
- Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología del Ecuador (INAMHI, 2021). Anuario Meteorológico 1990-2021. <http://www.serviciometeorologico.gob.ec/biblioteca/>
- Laboratorios Zoetis. (2022). *Mastitis*. Zoetis MX. <https://www.zoetis.mx/conditions/bovinos/mastitis.aspx>
- Loera, J., y Banda, J. (2017). Industria lechera en México: parámetros de la producción de leche y abasto del mercado interno. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*, 19(1), 419–426. <https://doi.org/10.18271/ria.2017.317>
- Maldonado, D., Santos, C., Quilapanta, A., y Mena, L. (2022). Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche Holstein. *Dominio de la Ciencia*, 8(1), 773-790. <http://dx.doi.org/10.23857/dc.v8i1.2603>
- Marini, P., y Di, R. (2019). Edad al primer parto e indicadores de eficiencia en vacas lecheras con diferente potencialidad productividad en sistemas de pastoreo. *La Granja*, 29(1), 84–96. <https://doi.org/10.17163/lgr.n29.2019.07>
- Martínez, D., Cruz, A., Millán, A., y Moreno, G. (2015). Evaluación del estado de resistencia de agentes etiológicos de mastitis clínica y subclínica frente a algunos antimicrobianos utilizados en hembras bovinas del municipio de Sotaquirá (Boyacá-Colombia). *Revista Científica, FCV-LUZ*, 25(3), 223-231. <https://www.redalyc.org/pdf/959/95939206006.pdf>
- Mendoza, J., Vera, Y., y Peña, L. (2017). Prevalencia de mastitis subclínica, microorganismos asociados y factores de riesgo identificados en hatos de la provincia de Pamplona, Norte de Santander. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 64(2), 11–24. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v64n2.67209>

- Mera, R., Muñoz, M., González, R., Ortiz, P., Artieda, J., y Vega, V. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(11),1-16. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63653574004>
- Miranda, S., Albuja, C., y Tríbulo, H. (2019). Asociación entre la mastitis subclínica con la pérdida temprana de gestación en un hato de vacas lecheras. *La Granja. Revista de Ciencias de la Vida*, 30(2), 48-56. <https://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.05>
- Mora, M., Vargas, B., Romero, J., y Camacho, J. (2015). Factores de riesgo para la incidencia de mastitis clínica en ganado lechero de Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, 2(39). 77–89. <https://doi.org/10.15517/rac.v39i2.21777>
- Morales, M. (2021). *Determinación de las pérdidas económicas por mastitis bovina, en el hato de la Sierra Ecuatoriana a través del seguimiento longitudinal de la producción, calidad de leche y determinación de células somáticas*. [Tesis de Pregrado, Escuela Superior Politécnica Estatal]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/26771/1/T-IASA%20I-004757.pdf>
- Morato, N. (2009). *El control de antibióticos en la leche se optimiza*. Consuma seguridad. https://www.adiveter.com/ftp_public/A3050609.pdf
- Moreno, G., Cruz, A., Millán, A., y Martínez, D. (2015). Evaluación del estado de resistencia de agentes etiológicos de mastitis clínica y subclínica frente a algunos antimicrobianos utilizados en hembras bovinas del Municipio de Sotaquirá (Boyacá-Colombia). *Revista Científica, FCV-LUZ*, 25(3),223-231. <http://www.saber.ula.ve/handle/123456789/40547?locale-attribute=en>
- Mosquera, J. (2019). *Diseño de un sistema de buenas prácticas de ordeño basado en la resolución MAGAP- AGROCALIDAD n°. 0217 para la hacienda San José del Belén en el sector de Tambillo*. [Tesis de Pregrado, Pontificia Universidad Católica del Ecuador]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.puce.edu.ec/bitstream/handle/22000/17301/proyecto%20Xavier%20Mosquera%20f.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Murillo, Y., Vázquez, J., Ayala, L., Pesántez, M., Pesántez, J., Serpa, G., Rodas, R., Nieto, P., Calle, G., Bustamante, J., Dután, J., Andrade, O., Ortega, V., y Samaniego, J. (2017). La rutina de ordeño en la prevalencia de la mastitis subclínica en lecherías del sur del Ecuador. *Maskana*, 8, 41–43. <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/1483>
- Organización Mundial de la Salud Animal [OIE]. (2015). *Resistencia a los antimicrobianos*. <https://www.woah.org/app/uploads/2021/03/antibio-es.pdf>

- Organización Panamericana de la Salud. (2011) Módulos de Principios de Epidemiología para el Control de Enfermedades, 2Ed. Washington D.C. OPS©
- Ormaza, D y Rueda, R. (2021). *Identificación del agente etiológico y evaluación de nosodes en el tratamiento de mastitis bovina en el Cantón Montúfar*. [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Estatal del Carchi]. Repositorio Institucional. <http://repositorio.upec.edu.ec/handle/123456789/1032>
- Ortega, V., Dután, J., Ayala, L., Rodas, R., Nieto, P., Vázquez, J., Pesántez, J., Andrade, O., Pesántez, M., Guevara, R., Guevara, G., Murillo, Y., Serpa, G., Vanegas, R., Bustamante, J., y Samaniego, J. (2017). Caracterización productiva de las ganaderías en los cantones occidentales de la provincia del Azuay. *Maskana*, 8, 145–147. <https://publicaciones.ucuenca.edu.ec/ojs/index.php/maskana/article/view/1510>
- Osejo, M., Maya, A., y Brenes, N. (2020). Actualización de la clasificación y manejo de mastitis. *Revista Médica Sinergia*, 5(6), e510. <https://doi.org/10.31434/rms.v5i6.510>
- Pellegrino, M., Frola, I., Odierno, L., y Bogni, C. (2011). Mastitis Bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 12(7),1-14 <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63622567006>
- Pineda, J., Pineda, M., Polanco, M., Mendoza, J., Díaz, N., y Florio, G. (2015). Estrategias de prevención y control de mastitis como apoyo para preservar un rebaño bovino en los llanos centrales, Venezuela. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*, 6, 598-616. https://aicarevista.jimdo.com/app/download/19280960125/AICA2015vv_Trabajo089.pdf?t=1636808420
- Pinzon, A. (2010). Efectos de la mastitis subclínica en algunos hatos de la cuenca lechera del Alto Chicamocha (departamento de Boyacá). *Revista de Medicina Veterinaria*, (17). <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n17/n17a03.pdf>
- Quispe, R., Peña, G., y Andía, V. (2021). Resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* y *Sírepíococcus agalactiae* aislados de leche de vacas con mastitis. *Revista veterinaria*, 32(1), 79-83. <https://dx.doi.org/10.30972/vet.3215640>
- Ramírez, J. (2016). Prevalencia y factores predisponentes a mastitis subclínica en establos lecheros de la provincia de Trujillo. *CEDAMAZ*, 5(1). 12-22. <https://revistas.unl.edu.ec/index.php/cedamaz/article/view/41>
- Ramírez, N., Arroyave, O., Cerón, M., Jaramillo, M., Cerón, J., y Palacio., L. (2011). Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia. *Rev Med Vet* (22): 31-42. <https://doi.org/10.19052/mv.562>

- Rivera, A. (2014). *Determinación de la prevalencia de Mastitis subclínica en ganado Reyna, Rancho Los Peiranos, Nandaime, Granada*. [Tesis de Pregrado, Universidad Nacional Agraria]. Repositorio Institucional. <https://repositorio.una.edu.ni/2741/>
- Rodríguez, L. (2020). Prevalencia de mastitis subclínica en tambo lechero en Paraguay. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(40), 61–68. <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss40.6>
- Rodríguez, P y Arena, R. (2018). Hans Christian Gram y su tinción. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, 16(2). <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2018/dcm182n.pdf>
- Rojas, C. (2017). *Factores asociados con la mastitis subclínica bovina en fincas lecheras de Zipaquirá, Cundinamarca*. [Tesis de Posgrado, Universidad del Rosario]. Repositorio Institucional. <https://repository.urosario.edu.co/bitstream/handle/10336/13830/RojasRodri%CC%81guez-Carolina-2017.pdf?sequence=4>
- Roldán, L. (2022). *Tipos de bacterias*. *ecologiaverde.com*. <https://www.ecologia-verde.com/tipos-de-bacterias-2633.html>
- Ruiz, L., Martínez, S., Gomes, C., Palma, N., Riveros, M., Ocampo, K., Durand, D., Ochoa, T. J., Ruiz, J., y Pons, M. J. (2018). Presencia de Enterobacteriaceae y Escherichia coli multirresistente a antimicrobianos en carne adquirida en mercados tradicionales en Lima. *Revista Peruana De Medicina Experimental Y Salud Pública*, 35(3), 425. <https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.353.3737>
- Sánchez, A., Vayas, T., Mayorga, F., y Freire, C. (2020). El sector lechero en Ecuador. <https://cedia.org.ec/obest/wp-content/uploads/sites/7/2020/12/Sector-lechero-Ecuador.pdf>
- Sánchez, M., Gutiérrez, N., y Posada, I. (2018). Prevalencia de mastitis bovina en el Cañón de Anaime, región lechera de Colombia, incluyendo etiología y resistencia antimicrobiana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(1), 226-239. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14084>
- Stempler, A., Muñoz, A., & Lucas, M. (2022). Streptococcus uberis y su importancia como agente causal de la mastitis bovina. *Revista veterinaria*, 33(2), 192-201. <https://dx.doi.org/10.30972/vet.3326181>
- Tadich, N. (2021). Bienestar animal en bovinos lecheros. Instituto de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Ciencias Veterinarias; Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile. <https://bmeditores.mx/ganaderia/bienestar-animal-en-bovinos-lecheros/>
- Valero, K, Olivares, Y., Perozo, A., Valbuena, E., Boscán, L., Colina, G., y Briñez, W. (2010). Susceptibilidad a los agentes antimicrobianos en cepas de Staphylococcus Aureus aisladas en leche de bovinos con mastitis subclínica y leche de tanque. *Revista Científica*, 20(4), 367-376. <http://ve.s>

cielo.org/scielo.php?script=sciarttext&pid=S0798-22592010000400006&lng=es&tlng=es

- Valero, K., Olivares, Y., Perozo, A., Valbuena, E., Boscán, L., Colina, G., y Briñez, W. (1). Susceptibilidad a los agentes antimicrobianos en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en leche de bovinos con mastitis subclínica y leche de tanque. *Revista Científica De La Facultad De Ciencias Veterinarias De La Universidad Del Zulia*, 20(4). <https://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica/article/view/15576>
- Vallejo, C., Díaz, R., Morales, W., Godoy, V., Calderón, N., y Cegido, J. (2018). Calidad físico-química e higiénico sanitaria de la leche en sistemas de producción doble propósito, Manabí-Ecuador. *Revista De Investigación Talentos*, 5(1), 35-44. <https://talentos.ueb.edu.ec/index.php/talentos/article/view/28>
- Vera, B y Zambrano, G. (2022). *Evaluación de la calidad e inocuidad de la leche en el Centro de Acopio Lácteos San Isidro del cantón Sucre*. [Tesis de Pregrado, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López]. Repositorio Institucional. <http://190.15.136.145/handle/42000/1886>
- Zambrano, C., Molina, C., Pinargote, L., y Barahona, M. (2018). *Memorias del I Simposio Internacional de Ganadería Bovina Tropical "Desafíos para una Ganadería Sostenible"*. Publicación Miscelánea No. 441. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias-INIAP. EET-Pichilingue, Mocache: Ecuador. 74 p. <https://repositorio.iniap.gob.ec/bitstream/41000/5324/1/iniaptpM-441.pdf>

ANEXOS

ANEXO N° 1: Valoración a mastitis subclínica por medio de técnicas de Campo.

Anexo 1A: Propietario de la finca

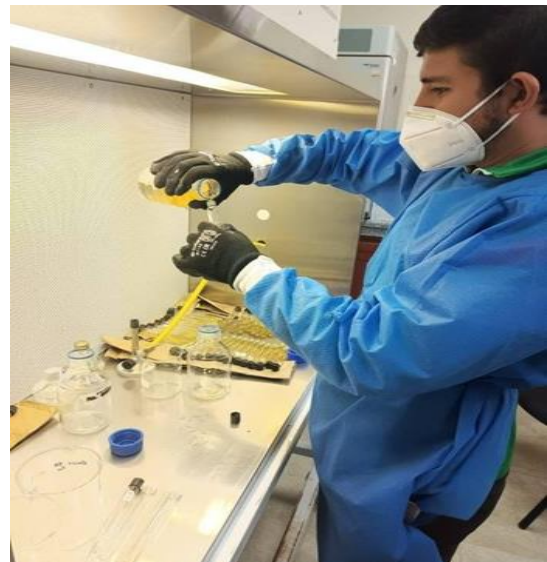


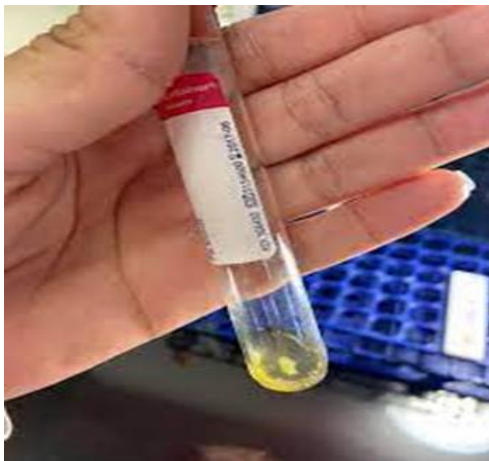
Anexo 1B: Prueba de CMT.



Anexo N° 2: Identificación de microorganismos con pruebas de laboratorio de siembra e identificación de agentes bacterianos y antibiograma.

Anexo 2A: Toma de muestra para laboratorio **Anexo 2B:** Medios bacterianos



Anexo 2C: Cultivo de colonias**Anexo 2D: Técnica de antibiograma****Anexo 2F: Prueba de coagulasa****Anexo 2E: Sensidiscos**

Anexo N° 3: Pruebas descriptivas realizadas

Anexo 3A: Tabulación de datos obtenidos en el antibiograma

Agente Etiológico	Antimicrobiano	Carga del disco (µg)	Diámetro del halo de inhibición (mm)			Metodo Empleado	Diámetro Obtenido	Sensibilidad/Resistencia
			Sensible	Intermedia	Resistente			
Staphylococcus Epidermis	Cephalexin	30	> 25	20-24	< 19	CLSI	3,3 cm	Sensible
	Oxytetracycline	30	> 19	15-18	< 14	CLSI	2,6 cm	Sensible
	Cloxacilin	5	> 22	< 21	CLSI	3,3 cm	Sensible
	Novobiocin	30	> 22	18-21	< 17	Test KB	3,3 cm	Sensible
	Ceftiofur	30	> 22	< 21	Eucast	2,8 cm	Sensible
Staphylococcus Aureus	Cephalexin	30	> 25	20-24	< 19	CLSI	3,5 cm	Sensible
	Oxytetracycline	30	> 19	15-18	< 14	CLSI	2,5 cm	Sensible
	Cloxacilin	5	> 22	< 21	CLSI	3,4 cm	Sensible
	Novobiocin	30	> 22	18-21	< 17	Test KB	2,8 cm	Sensible
	Ceftiofur	30	> 22	< 21	Eucast	2,9 cm	Sensible
Streptococcus Ubers	Cephalexin	30	> 27	25-26	< 24	CLSI	4,5 cm	Sensible
	Oxytetracycline	30	> 23	19-22	< 18	CLSI	2,7 cm	Sensible
	Cloxacilin	5	> 24	< 23	CLSI	2,7 cm	Sensible
	Novobiocin	30	> 22	18-21	< 17	Test KB	2,9 cm	Sensible
	Ceftiofur	30	> 27	25-26	< 24	CLSI	2,5 cm	Sensible

Anexo 3B: Datos referentes a los agentes causales obtenidos.

Agentes Etiológicos	Nº	%
Staphylococcus Epidermis	9	52,9%
Staphylococcus Aureus	5	29,4%
Streptococcus Ubers	3	17,6%
Total	17	100,0%

%	Staphylococcus Epidermis	Staphylococcus Aureus	Streptococcus Ubers
	52,9%	29,4%	17,6%

Anexo 3C: Tabulación de datos en cuartos mamarios.

