

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO**

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS**



**CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**TEMA:**

**“USO DE PLASMA AUTÓLOGO COMO TERAPIA REGENERATIVA DE  
GLÁNDULAS MAMARIAS EN VACAS CON MASTITIS SUBCLÍNICA”**

“Documento Final del Proyecto de Investigación como requisito para obtener el grado  
de Médica Veterinaria Zootecnista”

**AUTOR:**

**TUTOR:**

Maritza Anabel Zurita Oñate

Dr. Marco Rosero Peñaherrera, Mg.

**Cevallos – Ecuador**

**2021**

## **APROBACIÓN DE TUTOR**

**“USO DE PLASMA AUTÓLOGO COMO TERAPIA REGENERATIVA DE  
GLÁNDULAS MAMARIAS EN VACAS CON MASTITIS SUBCLÍNICA”**

**REVISADO POR:**

**Dr. Marco Rosero Peñaherrera, Mg.**

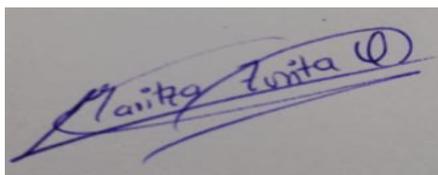
**TUTOR**

## DERECHOS DE AUTOR

Al presentar el informe final del proyecto de investigación titulado “USO DE PLASMA AUTÓLOGO COMO TERAPIA REGENERATIVA DE GLÁNDULAS MAMARIAS EN VACAS CON MASTITIS SUBCLÍNICA” como uno de los requisitos previos para la obtención de título de grado de Medica Veterinaria Zootecnista, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que ese documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo a que se realice copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no ponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este informe fina, o de parte de él.



MARITZA ANABEL ZURITA OÑATE

## APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

“USO DE PLASMA AUTÓLOGO COMO TERAPIA REGENERATIVA DE  
GLÁNDULAS MAMARIAS EN VACAS CON MASTITIS SUBCLÍNICA”

**APROBADO POR:**

**FECHA:**



MARCO OSWALDO  
PEREZ SALINAS

06/08/2021

Ing. Mg. Marco Pérez Salinas, PhD.

**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**



EUCLIDES EFRAIN  
LOZADA SALCEDO

06/08/2021

Dr. Efrain Lozada Salcedo, Mg.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**



GERARDO  
ENRIQUE KELLY  
ALVEAR

06/08/2021

Dr. Gerardo Kelly Alvear, Mg.

**MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN**

## **DEDICATORIA**

A mi madre, Cecilia Zurita Oñate, por todo su esfuerzo y dedicación, por siempre brindarme su apoyo incondicional, por creer en mí y ayudarme a cumplir mis sueños.

A mis abuelos maternos, Manuel Zurita y Teresa Oñate, por brindarme su apoyo y estar conmigo siempre en los momentos buenos y malos.

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, por darme la vida, porque sin él no podría haber cumplido mis sueños, por darme la inteligencia y sabiduría de salir adelante con mi carrera y permitirme culminar con éxito.

A mis padres, Jorge Paucar, porque siempre me brindo su amor y sobre todo su apoyo incondicional para ayudarme en mis estudios, muchas gracias por todo papá. A mi madre Cecilia Zurita, que ha sido mi pilar fundamental en mi vida, que siempre ha estado conmigo apoyándome en mis sueños y a cumplir cada uno de ellos, te amo mucho mami y gracias por todo.

A mi hermano, Gabriel Paucar, por demostrarme su apoyo en los momentos difíciles.

A mis amigos que hice durante mi carrera, con ellos he compartido conocimientos, risas y mil anécdotas, los mismos que los conservaré como un buen recuerdo por el resto de mi vida.

Al Ing. Danilo Ortiz y su esposa Ing. María Miranda, por permitirme realizar mi investigación en su hacienda.

Al Dr. Marco Rosero, Dr. Efraín Lozada, Dr. Gerardo Kelly y Lic. Irlandan Benavides, excelentes profesionales, que han sembrado en mi un gran conocimiento y enseñanzas magníficas para poder ejercer tan bella profesión.

No fue fácil terminar esta etapa con éxito, sin embargo, tu, mi amor me dabas palabras de aliento, diciéndome que lo iba a lograr, me ayudaste hasta donde pudiste, gracias por ese espíritu motivador, Paul Melo.

## ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

<b>APROBACIÓN DE TUTOR.....</b>	<b>ii</b>
<b>DERECHOS DE AUTOR .....</b>	<b>iii</b>
<b>APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....</b>	<b>iv</b>
<b>DEDICATORIA .....</b>	<b>v</b>
<b>AGRADECIMIENTOS .....</b>	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS .....</b>	<b>vii</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....</b>	<b>ix</b>
<b>ÍNDICE DE GRÁFICOS.....</b>	<b>x</b>
<b>RESUMEN EJECUTIVO .....</b>	<b>xi</b>
<b>CAPÍTULO I.....</b>	<b>1</b>
<b>MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>1</b>
1.1    Antecedentes investigativos .....	1
1.2    Objetivos.....	6
1.2.1    Objetivo general .....	6
1.2.2    Objetivo específico.....	6
<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>7</b>
<b>METODOLOGÍA .....</b>	<b>7</b>
2.1    Equipos y materiales.....	7
2.1.1    Ubicación del experimento .....	7
2.1.2    Equipos.....	7
2.1.3    Materiales de laboratorio.....	8
2.1.4    Materiales biológicos .....	8
2.1.5    Materiales de campo .....	8
2.2    Metodología.....	9
2.2.1    Factores de estudio.....	9
2.2.2    Manejo de experimento.....	12
2.3    Análisis estadístico .....	17

<b>CAPÍTULO III</b> .....	<b>18</b>
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>18</b>
3.2 Discusión.....	26
3.3 Hipótesis.....	27
<b>CAPÍTULO IV</b> .....	<b>28</b>
<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b> .....	<b>28</b>
4.1 Conclusiones .....	28
4.2 Recomendaciones.....	30
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>31</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>35</b>
<b>Anexo 1.</b> Interpretación de los resultados de la Prueba California Mastitis Test .....	35
<b>Anexo 2.</b> Datos de las vacas y conteo de células somáticas. ....	36
<b>Anexo 3.</b> Cultivo – Antibiograma antes del tratamiento – Grupo control.....	37
<b>Anexo 4.</b> Cultivo – Antibiograma antes del tratamiento – 5 ml de plasma.....	39
<b>Anexo 5.</b> Cultivo – Antibiograma antes del tratamiento – 10 ml de plasma.....	41
<b>Anexo 6.</b> Cultivo – Antibiograma antes del tratamiento – 15 ml de plasma.....	43
<b>Anexo 7.</b> Grupo control – Antibiótico dependiente del antibiograma.....	45
<b>Anexo 8.</b> Tratamiento con 5 ml de plasma .....	45
<b>Anexo 9.</b> Tratamiento con 10 ml de plasma .....	46
<b>Anexo 10.</b> Tratamiento con 15 ml de plasma .....	47
<b>Anexo 11.</b> Conteo de células somáticas.....	48
<b>Anexo 12.</b> Cultivo – Antibiograma después del tratamiento – Grupo control .....	49
<b>Anexo 13.</b> Cultivo – Antibiograma después del tratamiento – 5 ml de plasma.....	51
<b>Anexo 14.</b> Cultivo – Antibiograma después del tratamiento – 10 ml de plasma.....	52
<b>Anexo 15.</b> Cultivo – Antibiograma después del tratamiento – 15 ml de plasma.....	54

## ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

<b>Tabla 1.</b> Resumen de datos.....	18
<b>Tabla 2.</b> Edad.....	19
2.1 Shapiro-Wilks (modificado).....	19
2.2 Prueba de Kruskal Wallis.....	19
<b>Tabla 3.</b> Partos.....	20
3.1 Shapiro-Wilks (modificado).....	20
3.2 Prueba de Kruskal Wallis.....	21
<b>Tabla 4.</b> Contaje de colonias (UFC/ml) después de aplicar los tratamientos.....	21
4.1 Prueba de bondad de ajuste (Kolmogorov).....	22
4.2 Prueba de Kruskal Wallis.....	22
<b>Figura 1.</b> Diagrama de cajas de contaje de colonias .....	23
<b>Figura 2.</b> Análisis de correspondencia de contaje de colonias.....	23
<b>Figura 3.</b> Análisis de correspondencia del conteo de células somáticas .....	25

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1.</b> Realización de la prueba de CMT.....	57
<b>Gráfico 2.</b> Laboratorio – Cultivo y Antibiograma.....	58
2.1. Cultivo .....	58
2.2. Antibiograma .....	60
<b>Gráfico 3.</b> Extracción de sangre .....	61
<b>Gráfico 4.</b> Laboratorio – Plasma .....	63
<b>Gráfico 5.</b> Aplicación de plasma .....	64

## RESUMEN EJECUTIVO

El objetivo de este estudio fue evaluar el uso de plasma autólogo como terapia regenerativa de glándulas mamarias en vacas con mastitis subclínica, en el Caserío Pinguili Las Lajas del cantón Mocha. Se trabajó con 20 bovinos Holstein de 3 y 6 años (1 a 4 partos), estas unidades experimentales fueron divididas en 4 grupos. Se realizó la evaluación de la salud de las ubres mediante el análisis de California Mastitis Test (CMT), con el fin de comprobar la posible reacción antigénica compatible con mastitis. De las unidades experimentales que resultaron positivas a la prueba de campo, se tomaron 4 ml de leche en un tubo de ensayo y posteriormente fueron enviadas al laboratorio para determinar la presencia de agentes bacterianos y realizar un antibiograma. Además, con el objetivo de obtener el plasma sanguíneo, se tomaron muestras de sangre de la vena yugular en tubos de ensayo con citrato de sodio.

Los resultados que se obtuvieron al inicio del ensayo fueron: *Staphylococcus spp* y *Staphylococcus aureus*, al final del experimento obtuvimos además la presencia de *Escherichia coli*.

Los tratamientos se realizaron con 5ml, 10ml y 15ml de plasma y con ayuda de una cánula se colocó en el pezón por tres días seguidos, descansando diez días y una dosis refuerzo al onceavo día. Los datos obtenidos mediante la prueba de Kruskal Wallis, en la variable edad, los valores de la media obtenidos fueron para T1 5,00 a; T2 4,60 a; T3 4,60 a; T4 4,40 a, para la variable partos las medias fueron T1 3,00 n/p; T2 2,60 n/p; T3 2,60 n/p; T4 2,40 n/p y para el conteo de colonias las medias fueron T1 32,00 UFC/mL; T2 11,25 UFC/mL; T3 68,89 UFC/mL; T4 58,00 UFC/mL, los resultados obtenidos mediante este prueba no presentan diferencias significativas entre tratamientos.

Mediante el diagrama de caja y el análisis de correspondencia se determinó que los resultados para el tratamiento 2 (5ml de plasma) presentó un conteo de colonias más bajo a comparación de los demás tratamientos, debido a que los pezones que presentaron un conteo de colonias alto antes de aplicar el tratamiento al final del ensayo no presentaron ningún tipo de bacteria.

**Palabras claves:** Mastitis subclínica, bovinos Holstein, cultivo, antibiograma, plasma, *Staphylococcus spp*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, edad, partos, conteo de colonias, California Mastitis Test.

## ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the use of autologous plasma as regenerative therapy for mammary glands in cows with subclinical mastitis, in the Caserío Pinguili Las Lajas of the Mocha canton. We worked with 20 Holstein cattle of 3 and 6 years (1 to 4 deliveries), these experimental units were divided into 4 groups. The udder health evaluation was carried out by means of the California Mastitis Test (CMT), in order to verify the possible antigenic reaction compatible with mastitis. From the experimental units that were positive in the field test, 4 ml of milk were taken in a test tube and later they were sent to the laboratory to determine the presence of bacterial agents and perform an antibiogram. In addition, in order to obtain blood plasma, blood samples were taken from the jugular vein in test tubes with sodium citrate. The results obtained at the beginning of the trial were: *Staphylococcus* spp and *Staphylococcus aureus*, at the end of the experiment we also obtained the presence of *Escherichia coli*.

The treatments were carried out with 5ml, 10ml and 15ml of plasma and with the help of a cannula it was placed on the nipple for three days in a row, resting for ten days and a booster dose on the eleventh day. The data obtained by the Kruskal Wallis test, in the age variable, the mean values obtained were for T1 5.00 a; T2 4.60 a; T3 4.60 a; T4 4.40 a, for the birth variable the means were T1 3.00 n / p; T2 2.60 n / p; T3 2.60 n / p; T4 2.40 n / p and for the colony count the means were T1 32.00 CFU / mL; T2 11.25 CFU / mL; T3 68.89 CFU / mL; T4 58.00 CFU / mL, the results obtained by this test do not show significant differences between treatments.

By means of the box plot and the correspondence analysis, it was determined that the results for treatment 2 (5ml of plasma) presented a lower colony count compared to the other treatments, due to the fact that the teats that presented a high colony count Before applying the treatment at the end of the trial, they did not present any type of bacteria.

**Key words:** Subclinical mastitis, Holstein cattle, culture, antibiogram, plasma, Staphylococcus spp, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, age, parturitions, colony count, California Mastitis Test.

# CAPÍTULO I

## MARCO TEÓRICO

### 1.1 Antecedentes investigativos

**Ceballos y Carmona, (2018)** realizaron una investigación en la Universidad de Caldas, Colombia, donde se evalúa el plasma rico en plaquetas (PRP) como una alternativa al tratamiento antibiótico de mastitis subclínica. Para la obtención del plasma, se tomó muestras de sangre de 4 novillas Blanco Orejinegro entre 12 y 18 meses de edad, de cada animal se obtuvo 500 ml de sangre, cada 10 días hasta completar los tratamientos, las mismas fueron centrifugadas por 8 minutos hasta obtener el plasma incluido la capa leucocitaria, cuya concentración es  $160-1000 \times 10^3$  plaquetas/ $\mu$ L y  $0.0-4 \times 10^3$  leucocitos/ $\mu$ L en peso de la composición. En éste estudio se utilizaron 103 vacas diagnosticadas con mastitis subclínica ocasionadas por *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus dysgalactiae*, éstas fueron distribuidas en dos grupos: 54 vacas destinadas a ser tratadas con plasma y 49 vacas para ser tratadas con cefquinoma (grupo control). En el grupo 1 se aplicaron 10 ml de plasma enriquecido con plaquetas + 1ml de gluconato de calcio cada 12 horas vía intramamaria por 4 días consecutivos. Para el grupo 2 los animales fueron tratados con sulfato de cefquinoma de 75 mg, de igual manera por 4 días. Una vez tratadas, se recogen las muestras para el cultivo bacteriológico después de 21 a 22 días y se concluye que no hubo crecimiento bacteriano con sulfato de cefquinoma (tratamiento exitoso).

**Guallasamin y Moreno, (2013)** realizaron una investigación en la Universidad Central del Ecuador, donde utilizaron el plasma rico en factores de crecimiento, con el objetivo de mejorar el proceso cicatrizal de la piel de 30 caninos de 1 a 7 años, para lo cual se repartieron en 3 grupos de 10 animales cada uno, donde T0 es el control, en T1 se usó

plasma autólogo y en T2 plasma heterólogo. Para la recolección de sangre se tomaron pacientes aparentemente sanos, se restringió agua y alimento 12 horas antes de la recolecta. Por consiguiente, se extrajo 22 ml de sangre de los animales donantes, de los cuales 20 ml fueron destinados para la obtención del plasma y 2 ml para la elaboración del hemograma. Ahora bien, a los animales del experimento se extrajo una porción longitudinal de piel de la porción cervico-dorsal media, y se aplicó el plasma + 0.05 ml de cloruro de calcio al 10% en heridas abiertas, al segundo día se aplicó penicilina y difenhidramina a todo el experimento. El plasma se aplicó por 15 días, se realizó un estudio citológico y se observó disminución del proceso inflamatorio y regeneración de tejido cicatrizal.

En la Universidad de Guayaquil, **Lavanda, (2019)** evalúa el plasma rico en plaquetas como tratamiento en úlceras corneales superficiales en 25 caninos, los cuales fueron distribuidos en 5 grupos T0 (control), T1 (plasma pobre en plaquetas), T2 (PRP y rico en leucocitos), T3 (PRP y pobre en leucocitos) y T4 (PRP y factores de crecimiento). Posteriormente se extrajo 8 ml de sangre de cada animal se centrifuga por 15 minutos a 1500 rpm/min, donde de 4 ml se obtiene 1 ml de plasma. Se colocaron 1 a 2 gotas en el ojo ulcerado durante 5 semanas, obteniendo resultados positivos en el proceso de cicatrización evidenciando recuperación de la córnea.

La ruptura del ligamento cruzado anterior es una de las causas más frecuentes de cojera en caninos, sin embargo, pese a la resolución quirúrgica los problemas tanto de funcionalidad del miembro afectado como de la aparición de osteoartritis de la articulación femorotibiopatelar son muy frecuentes por esta razón **Silva et al. (2011)** utilizaron concentrados autólogos plaquetarios intraarticulares como coadyuvantes a la cirugía; Lo realizaron en una hembra de 19 meses Shar Pei con 19,5 kg, la cual fue valorada por una cojera unilateral del miembro posterior derecho de 7 días de evolución; la técnica de recolección de los concentrados autólogos plaquetarios fue mediante venopunción safena con un catéter mariposa 21G, para ser depositada en tubos de

8,5 mL con 1,5 mL de solución de ACD (citrato de trisodio (22 g/L), ácido cítrico (8 g/L) y dextrosa (24,5 g/L)), posterior a esto fue centrifugada a 191 rpm durante 6 minutos; se utilizaron tres aplicaciones de 1,5 mL de concentrado autólogo de plaquetas activados con gluconato de calcio (–9,3 mg/mL–) en una relación 10:1 y posteriormente inyectados intraarticularmente con intervalos de 2 semanas. La paciente no presentó ninguna complicación relacionada a los sitios de inyección intraarticular de los concentrados autólogos de plaquetas (APCs), por otro lado la puntuación de los parámetros radiográficos evaluados fue cero lo que indica que no se presentaron signos radiológicos de osteoartritis (OA) hasta los 150 días posoperatorios.

**Carmona et al. (2011)** mediante una revisión bibliográfica sobre el uso de concentrados autólogos de plaquetas como terapia regenerativa de enfermedades crónicas del aparato musculoesquelético equino; Concluyeron que los APCs constituyen una opción terapéutica real para el manejo de esta enfermedad, pues según resultados obtenidos en modelos experimentales y en pacientes con enfermedad natural, se ha presentado una buena respuesta terapéutica de los APCs a partir incluso de dosis tan bajas como 300.000/μL, con tres aplicaciones a intervalos de 2 semanas; Todo esto debido a que las plaquetas son fundamentales en la reparación tisular de heridas, pues secretan factores de crecimiento, que inducen quimiotaxis, proliferación, diferenciación celular, neovascularización y producción de la matriz extracelular; Para lo cual el método del tubo representa una opción simple y económica para preparar estos concentrados autólogos.

**Bonilla-Gutiérrez et al. (2017)** realizaron un estudio piloto sobre un protocolo para la obtención de un Concentrado Autólogo de Plaquetas en conejos; Para lo cual utilizaron 10 conejos Nueva Zelanda, machos con un peso entre 3 y 3,8 kg; La muestra de sangre fue tomada por venopunción yugular, posterior colocada en tubos con citrato de sodio y centrifugada a 120 rpm durante 5 minutos; Obteniendo plaquetas sin alteración de la morfología a partir de un ciclo de centrifugación.

**López et al. (2012)** realizaron una evaluación de un método de doble centrifugación en tubo para concentrar plaquetas bovinas; para lo cual utilizaron doce vacas Holstein en edades comprendidas de 2.5 a 10 años clínicamente sanas al momento de la recolección de la muestra sanguínea; Para la toma de muestra de sangre, se utilizó un catéter intravenoso 14G de 6 cm, cerrado con un tapón libre de látex y lavados con 5 ml de suero heparinizado y fijado mediante suturas en la vena yugular, mediante un acople de un catéter mariposa 21 G al tapón se extrajo la sangre y fue depositada en tubos de 4,5 ml con 3,2% de citrato de sodio; Posterior se realizó la centrifugación a 720 x rpm por 5 minutos separando la sangre en tres niveles: eritrocitos, capa leucocitaria y plasma; El plasma a su vez fue dividido en dos fracciones, fracción plasmática A (PFA) considerada como el 50% del plasma más cercano a la capa leucocitaria y la fracción plasmática B (PFB) clasificada como el 50% de la fracción plasmática inmediatamente superior a la PFA; para el otro método de centrifugación en doble tubo la PFA (20 mL) fue depositada en dos tubos estériles de plástico PET sin aditivo y centrifugados a 720 x g por 5 minutos; El plasma rico en plaquetas se obtuvo al eliminar el 75% (7,5 mL) de la fracción plasmática superior de los tubos.

Debido a que el plasma rico en plaquetas tiene un gran impacto en el rejuvenecimiento de la piel, ha sido utilizado por varios años en la cirugía estética, por lo cual **Moya E y Moya Y. (2015)**, realizaron un estudio utilizando el plasma rico en plaquetas para biostimulación facial, mediante mesoterapia; la metodología utilizada por los investigadores comprendió la extracción de 10 a 20 ml de sangre venosa a la persona objeto de tratamiento, posterior a esto la sangre fue colocada en tubos estériles con 20 gotas de citrato de sodio al 3,8 % por cada 10 ml de sangre y centrifugada a 1 800 rpm a temperatura ambiente, durante 8 a 10 minutos, se refiere que por 10 ml de sangre extraída se obtienen 2 ml de plasma enriquecido en plaquetas y factores de crecimiento. Además sugieren que para formar el coagulo se puede utilizar 0,05 ml de cloruro de calcio al 10 % por cada 1 ml de PRP, o gluconato de calcio al 10%, tomando alrededor de 5-8 minutos para la coagulación.

**Mendoza et al. (2015)** realizaron una investigación sobre el uso del plasma rico en plaquetas como tratamiento coadyuvante en reparaciones óseas en una hembra canina Pastor alemán de 28.2 Kg que se presentó con claudicación intermitente en miembro torácico izquierdo con dos meses de evolución, diagnosticándola con no unión de proceso ancóneo del codo izquierdo, la paciente fue intervenida quirúrgicamente, posterior a tres meses se evidencio la no unión de la tuberosidad del olécranon y migración proximal del clavo centromedular, por lo que se optó por una terapia alternativa con plasma rico en plaquetas, el cual fue obtenido de la centrifugación a 2500rpm durante cinco minutos de una muestra sanguínea obtenida de la vena yugular de la paciente; Se aplicaron 9.6ml en el sitio de fractura cubriendo las superficies craneal y caudal de esta inmediatamente post cirugía se instauró termoterapia con calor durante 7 días; antibioterapia y analgesia. Obteniendo resultados positivos a los 35 días post-aplicación.

**Acosta et al. (2014)** realizaron una investigación donde utilizaron conejos de Nueva Zealand, se dividió en 3 grupos. A los conejos se realizó ulceras corneales de 10 mm de diámetro. Se extrajo sangre del grupo de conejos para la preparación de PRP, el PRP se extrajo mediante centrifugación diferencial. El grupo TO fue tratado con solución salina estéril cada 8 h durante 7 días; el grupo T1 fue tratado con un gel extracto desproteinizado de sangre de ternera (Solcoseryl®) cada 8 h durante 7 días y el grupo T2 recibió una gota de PRP del día 1 al día 3. Se realizaron controles los 7 días que duro el tratamiento, su evaluación se realizó mediante registros fotográficos, los mejores resultados se observaron en T1 y T2 con una notable mejoría en la ulceras corneales de los conejos.

## **1.2 Objetivos**

### **1.2.1 Objetivo general**

- Evaluar el uso de plasma autólogo como terapia regenerativa de glándulas mamarias en vacas con mastitis subclínica.

### **1.2.2 Objetivo específico**

- Estudiar el efecto del plasma autólogo utilizando tres dosis de aplicación (5, 10 y 15 ml) en vacas con mastitis subclínica.
- Determinar el contenido de células somáticas en leche como predictor de salud tisular de la ubre.
- Realizar estudios bacteriológicos de la leche (cultivo y antibiograma) para determinar la carga microbiana en las vacas experimentales.

## CAPÍTULO II

### METODOLOGÍA

#### 2.1 Equipos y materiales

##### 2.1.1 Ubicación del experimento

La presente investigación se realizó en la hacienda María, ubicada en el Caserío Pinguili Las Lajas, perteneciente al cantón Mocha, Provincia de Tungurahua.

Pinguili se encuentra al noreste del cantón Mocha, a unos 4 km. aproximadamente. Su poblado se encuentra asentado a una altura de 2900 msnm. Sus límites son:

- Al norte y al oeste con la cabecera cantonal San Juan de Mocha.
- Al sur y este cantón Quero.

Pinguili tiene una extensión de 5,92 km<sup>2</sup> (592,44 has) que corresponde al 6,91% del área cantonal, con un clima frío a temperatura promedio anual de 12 a 18 °C.

	Latitud	Longitud
<i>Coordenadas geográficas</i>	1°24'1.44''S	78°38'5.28''W

(GAD MOCHA, 2014)

##### 2.1.2 Equipos

- Centrífuga
- Estufa o incubadora de laboratorio

### **2.1.3 Materiales de laboratorio**

- Caja Petri
- Agar base sangre
- Agar MacConkey
- Agar Müller – Hinton
- Discos de antibióticos
- Pipetas
- Hisopos
- Asa bacteriológica
- Tubos de ensayo
- Mechero de alcohol

### **2.1.4 Materiales biológicos**

- Sangre (muestra)
- Plasma autólogo
- Unidades experimentales (vacas)

### **2.1.5 Materiales de campo**

- Caja de guantes
- Agujas calibre 18G 1½ P
- Jeringas de 50 ml
- Jeringas de 20 ml
- Jeringas de 10 ml
- Sonda intramamaria
- Tubos con citrato de sodio
- Tubos de ensayo

- Kit de California Mastitis Tets
- Gradilla
- Algodón
- Alcohol
- Yodo
- Atomizador
- Cooler
- Gel refrigerante

## 2.2 Metodología

### 2.2.1 Factores de estudio

- **Plasma autólogo**

**Moreno et al. 2015** manifiesta que el plasma rico en plaquetas (PRP) se define como el volumen de plasma autólogo que contiene una concentración de plaquetas superior al nivel basal (150.000 – 350.000  $\mu\text{L}$ ), esto corresponde a una fracción del plasma centrifugado. **Rodríguez et al. (2012)** menciona que el PRP contiene factores de crecimiento, es rico en proteínas que actúan en adhesión celular (fibrina, fibronectina y vitronectina), estos proporcionan un soporte estructural para la migración celular, proliferación y crecimiento tridimensional de los tejidos.

- **Células somáticas**

El conteo de células somáticas (CCS) es el número de células por mililitro de leche, son células blancas propias del organismo y que mantienen protegida la glándula mamaria contra agentes patógenos, se

utiliza como indicador de la salud de la glándula mamaria (**Bradley y Green, 2005**). Haciendo énfasis en el conteo de células somáticas podemos decir que de 0 – 200.000 Rcs/ml representa una glándula mamaria sana, 150.00 – 500.000 Rcs/ml y 400.000 - 1.500.000 Rcs/ml representan una ligera infección (mastitis subclínica), 800.000 – 5.000.000 Rcs/ml y > 5.000.000 Rcs/ml indica mastitis clínica (**Fernández et al. 2012**). **Hernández y Bedolla. (2008)** agrega que es importante mencionar, que hay que tomar en cuenta ciertos factores antes de realizar el conteo de células somáticas, como son los siguientes:

- Mastitis está relacionada con los leucocitos (mecanismo de defensa), estos se encargan de combatir a los microorganismos que ingresan al pezón, cuando los leucocitos logran destruir a la bacteria, el conteo de células somáticas es bajo, pero si los leucocitos no logran combatir se produce una infección subclínica, aquí es cuando los leucocitos son segregados constantemente y el conteo de células somáticas es elevado.
- Fase de lactación, cuando el secado de la vaca no se realiza correctamente, corremos el riesgo que en los primeros y últimos días de lactancia, el conteo de células somáticas se incrementa.
- Lesiones de la glándula mamaria, estas lesiones son provocadas por el mal uso de la pezonera e instalaciones en mal estado provocando elevación en el conteo de células somáticas.
- Variación fisiológica, en las vacas en celo se produce un ligero aumento en el conteo de células somáticas.
- Los ordeños de las tardes presenta un elevado número de células somáticas, esto está influenciado por el periodo más corto de ordeño.
- Estrés, esto eleva el número de células somáticas.

- **Mastitis subclínica**

**Bonifaz y Conlago. (2016)** mencionan que la mastitis es una inflamación de la glándula mamaria, que se caracteriza por cambios físicos, químicos y bacteriológicos en la leche, además de cambios patológicos en los tejidos. Su prevalencia y su tratamiento representan un elevado costo para el sistema sanitario y su deterioro en la calidad de la leche, además **Ruiz-Gil et al. (2016)** indican que la mastitis puede ser causada por varios factores como bacterias, *mycoplasma*, levaduras, virus y afecciones micóticas, pudiendo clasificarlas en mastitis clínica y subclínica. **Soca et al. (2005)** y **Alfonso et al. (2008)** agregan que no secar correctamente las ubres, no mantener las pezoneras alineadas correctamente con los pezones, no cumplir con el horario de ordeño establecido, no realizar un sellado correcto de los pezones al finalizar el ordeño, las vacas con mastitis clínica deben pasar al final del ordeño, mala higiene con el equipo de ordeño y mal estado de las pezoneras son factores predisponentes a la mastitis.

La mastitis subclínica es la más difícil de diagnosticar, ya que esta no muestra signos visibles de la enfermedad, para diagnosticar si la vaca presenta o no mastitis subclínica es necesario realizar pruebas constantemente como California Mastitis Test (CMT), pruebas de laboratorio (cultivo) y conteo de células somáticas. Todas estas pruebas nos ayudan a un diagnóstico temprano y así poder tratar a tiempo la enfermedad (**Mera et al. 2017**).

- **Cultivo y conteo de unidades formadoras de colonias.**

La cuantificación de microorganismos es un elemento crítico en los estudios de microbiología clínica, ya que solo es importante conocer a microorganismos que pueden crear un efecto benéfico o identificar al

microorganismo potencial de causar alguna infección severa, sino también es importante saber el número de microorganismos implicados, para establecer si éstos serán capaces de desarrollar una función benéfica o perjudicial. Distintas han sido las estrategias para contabilizar a los microorganismos cultivables en muestras ambientales y de laboratorio; las cuales presentan ventajas y desventajas (Corral et al. 2012).

### **2.2.2 Manejo de experimento**

- **Unidades experimentales**

Se trabajó con una población de 20 vacas (al azar, sin emplear un modelo estadístico de muestreo, solo se tomaron en cuenta los criterios de inclusión y exclusión) pertenecientes a la raza Holstein Friessian, entre edades de 3 a 6 años con un número de partos de 1 a 4. Las cuales se dividieron en 4 grupos, cada grupo constaba de 5 animales y se realizaron cinco repeticiones.

- T1: Grupo control (antibiótico dependiente del antibiograma)
- T2: 5 ml de plasma autólogo intramamario
- T3: 10 ml de plasma autólogo intramamario
- T4: 15 ml de plasma autólogo intramamario

- **Valoración clínica**

Todas las vacas muestreadas pasaron por un examen clínico previo, en el cual se tomó las constantes fisiológicas como temperatura, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, tiempo de llenado capilar y estado de hidratación, los cuales se encontraban dentro de los parámetros normales. Por otro lado, también se valoró la edad, número de partos, animales gestantes, antecedentes de mastitis y estado de pezones.

Una vez hecha la valoración se descartan animales en los últimos días de producción y en el último tercio de gestación.

- **Diagnóstico de mastitis subclínica**

Como sabemos la mastitis subclínica es difícil de diagnosticar a simple vista ya que no presenta signos visibles de la enfermedad, para lo cual hay que recurrir a ciertas pruebas como CMT, pruebas de laboratorio (cultivo) y realizar un conteo de células somáticas con el fin de comprobar la presencia de mastitis.

Para realizar la prueba de CMT primero se recurre a la desinfección y al secado de los pezones, evitando la contaminación al momento de la toma de muestra y falsas lecturas del test. La forma de realizar el CMT es la siguiente:

- Se toma aproximadamente 2cc de leche de cada cuarto y se coloca en cada compartimiento, los compartimientos tienen marcadas las letras A, B, C Y D, esto nos ayuda a la identificación de que cuarto es y así tener una mejor lectura.  
**Importante:** se debe descartar los primeros chorros de leche y la prueba se debe hacer en el primer ordenó.
- Se agrega a cada compartimiento la misma cantidad del reactivo de CMT.
- Se rota la paleta con movimientos circulares, estos movimientos no deben ser bruscos. Es importante que no se debe mover la paleta por más de 10 seg.
- Finalmente se procede a la lectura del Test, esto se debe hacer antes de los 20 seg. o la reacción desaparecerá. La calificación depende de la vista, entre más gel se genere la mastitis es más avanzada (mastitis clínica).

- **Contención y toma de muestras**

Las vacas ingresan a la sala de ordeño, su ingreso debe ser dentro de un ambiente tranquilo para evitar el estrés de los animales antes durante y después del ordeño, posteriormente se toman 4 ml de leche para colocar en el tubo de ensayo y ser transportadas al laboratorio para la determinación de agentes etiológicos presentes en la muestra, según los resultados obtenidos se procede a realizar un antibiograma.

Para la obtención de la muestra sanguínea, se procedió a tomar de la vena yugular cuya zona fue tricotomizada y desinfectada con alcohol, la punción se realizó con aguja calibre 18G 1½ P y con una jeringa de 50 ml, la muestra fue depositada en tubos con citrato de sodio con una capacidad para 5ml.

- **Transporte de las muestras**

Las muestras obtenidas se las coloco en una gradilla por un tiempo aproximado de 30 minutos hasta esperar que la temperatura de la muestra sanguínea sea la misma de la temperatura ambiente, posterior fueron colocadas dentro de un cooler, previamente rotuladas y conservadas en refrigeración a 4°C, hasta su llegada al laboratorio de Análisis Clínicos.

- **Procesamiento de la muestra**

### **Muestra de leche**

#### **Cultivo**

1. Se coloca la leche en micro tubos con ayuda de una pipeta y se rotula.
2. Se prepara el Agar base sangre y MacConkey.

3. Con la ayuda de un hisopo se empapa de leche y se coloca en un cuadrante de la caja Petri, posteriormente con la asa bacteriológica se realiza la siembra en todos los cuadrantes del agar (siembra por agotamiento).

**Importante:** el asa bacteriológica debe ser esterilizada en el mechero hasta que la punta quede un color rojo incandescente, esto se debe realizar al inicio y a final de haber realizado la siembra. Tener en cuenta que antes de realizar la siembra, el asa debe ser enfriada en una esquina del agar.

4. Se incuba a 37°C por 24 a 48 horas. Los aislados obtenidos fueron replicados según sea necesario (antibiograma).
5. Se identifica la muestra.
6. La identificación de microorganismos fue realizada por la forma y características de las colonias, donde se pudieron identificar *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus spp* y *Escherichia coli*.

### **Antibiograma**

1. Se prepara el agar Müller Hinton en cajas Petri.
2. Se utiliza el mechero de alcohol para evitar contaminación en el momento de la siembra.
3. Con un hisopo se toma una colonia y se introduce en la solución y se procede a mover, se realiza la siembra junto al mechero (el mechero nos sirve como barrera de protección).
4. Tapar momentáneamente la caja Petri.
5. Posteriormente se coloca los discos de antibióticos con ayuda de una pinza (los discos de antibióticos se coloca según las bacterias que crecieron en el Agar base sangre y MacConkey).
6. Se identifica la muestra.

7. Se incuba la muestra de 18 a 24 horas.
8. Interpretación de resultados (se realiza mediante el halo de inhibición que se formó).

### **Muestra de sangre**

1. Se coloca los tubos previamente rotulados en una gradilla.
2. Las muestras se coloca en una centrífuga a 2.500 rpm durante 10 minutos. Teniendo como resultado de 2 a 3 ml de plasma enriquecido en plaquetas.
3. Se separa el plasma y la capa leucocitaria por pipeteado a otro tubo de plástico dentro de los primeros 30 minutos post- extracción.
4. Una vez separado el plasma, se colocan en tubos con anticoagulante (citrato de sodio).

- **Tratamiento de animales**

Una vez obtenido los resultados de la prueba de CMT y de laboratorio se procede a realizar el tratamiento a las vacas infectadas con mastitis subclínica. Lo cual se realizó de la siguiente manera:

- Al terminar el ordeño, se procedió a hacer una desinfección y secado del pezón (esto se realiza para evitar problemas de infección y que el tratamiento sea alterado).
- Se introduce con cuidado la cánula en el pezón afectado y se deposita el plasma suavemente.
- Se retira la cánula con cuidado y sin lastimar el pezón, se procede a dar leves masajes de abajo hacia arriba en el pezón.

**Importante:** la aplicación del plasma se realizó tres días seguidos con un intervalo de descanso de 10 días y se aplicó dosis refuerzo de plasma al onceavo día.

### **2.3 Análisis estadístico**

En el presente trabajo de investigación se obtuvieron datos, los cuales fueron analizados, utilizando el modelo estadístico Diseño Completamente al Azar (D.C.A), utilizando el 95% de confianza. Se utilizó la prueba Shapiro –Wilks por tener un número de datos menor o igual a 20, en las variables edad y partos, en la variable conteo de colonias se utilizó la prueba de Kolmogorov por tener un número de datos mayor a 20 (esta prueba se realizó por la cantidad de pezones/vaca infectados y por eso varia los datos de conteo de colonias) estas pruebas se utiliza para comprobar si las variables siguen o no una distribución normal, posteriormente se utilizó Kruskal – Wallis, esta prueba es no paramétrica, dado que los datos antes evaluados no seguían una distribución normal. Finalmente para verificar los resultados se utilizó un diagrama de cajas y análisis de correspondencia.

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Tabla 1.** Resumen de datos.

TRATAMIENTO	#	VACAS	EDAD	# PARTOS	GESTACION	PA	G (CMT)	CC - INICIO	BACTERIA	CC - FINAL	BACTERIA	CCS - PRIMER DÍA	CCS - CUARTO DÍA	CCS - ONCEVO DÍA
T1- CONTROL	1	SAPA	5	3	SI	AI	T	30.000	Staphylococcus spp.	0		150.000 - 500.000	0 - 200.000	0 - 200.000
	2	RITA	5	3	SI	AI	T	20.000	Staphylococcus spp.	0		150.000 - 500.000	0 - 200.000	0 - 200.000
	23	MONICA	6	4	ND	PI	1	70.000	Staphylococcus spp.	70.000	Staphylococcus aureus	400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	400.000 - 1.500.000
	8	NEGRA	6	4	ND	AI	1	20.000	Staphylococcus spp.	40.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	800.000 - 5.000.000
	26	SONIA	3	1	SI	AD	1	70.000	Staphylococcus spp.	50.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	400.000 - 1.500.000
T2 - 5 ML	12	FRANCISCA	3	1	ND	AI	1	20.000	Staphylococcus spp.	0		400.000 - 1.500.000	800.000 - 5.000.000	0 - 200.000
						PD	1	30.000	Staphylococcus spp.	0		400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	0 - 200.000
	6	GRANDE	6	4	ND	AD	1	30.000	Staphylococcus aureus	0		400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	0 - 200.000
	11	2011	5	3	SI	AI	1	10.000	Staphylococcus spp.	30.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	800.000 - 5.000.000	800.000 - 5.000.000
						PD	1	10.000	Staphylococcus spp.	0		400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	0 - 200.000
	9	DULCE MARIA	6	4	ND	PD	1	40.000	Staphylococcus aureus	0		400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	0 - 200.000
	16	MIRIAN	3	1	ND	PD	1	10.000	Staphylococcus aureus	60.000	Staphylococcus aureus	400.000 - 1.500.000	800.000 - 5.000.000	800.000 - 5.000.000
						PI	1	30.000	Staphylococcus aureus	0		400.000 - 1.500.000	800.000 - 5.000.000	0 - 200.000
T3 - 10 ML	13	BONITA	4	2	ND	AD	1	10.000	Staphylococcus spp.	0		400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	0 - 200.000
						PD	1	30.000	Staphylococcus spp.	60.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	800.000 - 5.000.000	800.000 - 5.000.000
	14	MIMI	3	1	ND	AD	1	20.000	Staphylococcus spp.	200.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	800.000 - 5.000.000	800.000 - 5.000.000
						PD	1	10.000	Staphylococcus spp.	0		400.000 - 1.500.000	800.000 - 5.000.000	0 - 200.000
	15	SILVANA	5	3	SI	AD	1	90.000	Staphylococcus aureus	10.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	800.000 - 5.000.000	400.000 - 1.500.000
						PD	1	80.000	Staphylococcus aureus	100.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	800.000 - 5.000.000	> 5.000.000
	20	MARIPOSA	6	4	SI	AD	1	40.000	Staphylococcus spp.	10.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	400.000 - 1.500.000	0 - 200.000
	18	GITANA	5	3	ND	AD	1	80.000	Staphylococcus aureus	240.000	Staphylococcus aureus	400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	800.000 - 5.000.000
						AI	1	40.000	Staphylococcus aureus	0		400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	0 - 200.000
T4 - 15 ML	10	POLY	5	3	SI	AD	1	30.000	Staphylococcus spp.	80.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	800.000 - 5.000.000
	19	PAMELA	5	3	ND	AI	1	10.000	Staphylococcus spp.	30.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	800.000 - 5.000.000
	22	ALEGRIA	6	4	ND	PI	1	120.000	Staphylococcus aureus	20.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	> 5.000.000
	25	LOLA	3	1	ND	AD	1	100.000	Staphylococcus aureus	60.000	Staphylococcus spp	400.000 - 1.500.000	0 - 200.000	400.000 - 1.500.000
	17	FRANCIA	3	1	ND	PD	1	10.000	Staphylococcus spp.	100.000	S. spp - Escherichia coli	400.000 - 1.500.000	800.000 - 5.000.000	> 5.000.000

**Tabla 2.** Edad

Previo al análisis se realiza la comprobación de normalidad, utilizando la **prueba Shapiro -Wilks** por tener una muestra menor o igual a 20 animales.

### 1. Estadístico de la prueba

#### 2.1 Shapiro-Wilks (modificado)

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO EDAD	20	0,00	1,21	0,86	0,0110

### 2. Toma de decisión

La variable edad no sigue una distribución normal con un 5% de nivel de significancia, debido a que los rangos de edad de los animales son muy dispersos.

#### Prueba no paramétrica

Dado que los datos no siguen una distribución normal, se plantea utilizar una prueba no paramétrica. Se conoce que es un Diseño Completamente al Azar por lo que la prueba a trabajar es **Kruskal – Wallis**.

#### 2.2 Prueba de Kruskal Wallis

Variable	TRATAMIENTO	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
EDAD	T1- CONTROL	5	5,00	1,22	5,00	0,61	0,8797
EDAD	T2 - 5 ML	5	4,60	1,52	5,00		
EDAD	T3 - 10 ML	5	4,60	1,14	5,00		
EDAD	T4 - 15 ML	5	4,40	1,34	5,00		

Trat.	Medias	Ranks
T4 - 15 ML	4,40	9,30 A
T3 - 10 ML	4,60	10,00 A
T2 - 5 ML	4,60	10,60 A
T1- CONTROL	5,00	12,10 A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

### **Interpretación:**

No existen diferencias significativas entre las medias de los tratamientos, dado que el valor de p es mayor a 0.05, debido a que la edad no influye con la dosis aplicada en los tratamientos.

De igual manera se puede corroborar lo dicho realizando una comparación de pares, donde las medias con una letra común (en este caso A) no son significativamente diferentes entre los tratamientos.

### **Tabla 3. Partos**

Previo al análisis se realiza la comprobación de normalidad, utilizando la **prueba Shapiro -Wilks** por tener una muestra menor o igual a 20 animales.

#### **1. Estadístico de la prueba**

##### **3.1 Shapiro-Wilks (modificado)**

Variable	n	Media	D.E.	W*	p(Unilateral D)
RDUO PARTOS	20	0,00	1,21	0,86	0,0110

#### **2. Toma de decisión**

La variable partos no sigue una distribución normal con un 5% de nivel de significancia, debido a que el número de partos no influye en las diferentes dosis aplicadas en los tratamientos.

#### **Prueba no paramétrica**

Dado que los datos no siguen una distribución normal, se plantea utilizar una prueba no paramétrica. Se conoce que es un Diseño Completamente al Azar por lo que la prueba a trabajar es **Kruskal – Wallis**.

### 3.2 Prueba de Kruskal Wallis

Variable	TRATAMIENTO	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
PARTOS	T1- CONTROL	5	3,00	1,22	3,00	0,61	0,8797
PARTOS	T2 - 5 ML	5	2,60	1,52	3,00		
PARTOS	T3 - 10 ML	5	2,60	1,14	3,00		
PARTOS	T4 - 15 ML	5	2,40	1,34	3,00		

Trat.	Medias	Ranks	
T4 - 15 ML	2,40	9,30	A
T3 - 10 ML	2,60	10,00	A
T2 - 5 ML	2,60	10,60	A
T1- CONTROL	3,00	12,10	A

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

#### Interpretación:

No existen diferencias significativas entre las medias de los partos con la dosificación utilizada en los tratamientos, dado que el valor de p es mayor a 0.05, ya que no hay ninguna influencia en la variable partos con la variable dosis.

De igual manera se puede corroborar realizando una comparación de pares, donde las medias con una letra común (en este caso A) no son significativamente diferentes entre los tratamientos.

En conclusión, los partos de las vacas no influyen en los tratamientos de control, ni en las dosis aplicadas en el experimento 5ml, 10 ml y 15 ml.

#### **Tabla 4.** Contaje de colonias (UFC/ml) después de aplicar los tratamientos

Se decide estudiar la variable contaje de colonias después de aplicar los tratamientos, debido a que esta es la variable de interés. Primero se verifica si los datos siguen una distribución normal.

## 1. Estadístico de la prueba

### 4.1 Prueba de bondad de ajuste (Kolmogorov)

Variable	Ajuste	media	varianza	n	Estadístico D	p-valor
RDUO ContajeD	Normal(0,1)	0,00	3097,55	27	0,59	<0,0001

### 1. Toma de decisión

La variable contaje de colonias no sigue una distribución normal, por lo que es necesario aplicar una prueba no paramétrica para verificar si existen diferencias.

Dado que estamos trabajando con un Diseño Completamente al Azar, para la comparación de medias se utiliza la prueba de kruskal Wallis.

### 4.2 Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
ContajeD	T1 – CONTROL	5	32,00	31,14	40,00	5,94	0,0943
ContajeD	T2 - 5 ML	8	11,25	22,32	0,00		
ContajeD	T3 - 10 ML	9	68,89	92,66	10,00		
ContajeD	T4 - 15 ML	5	58,00	33,47	60,00		

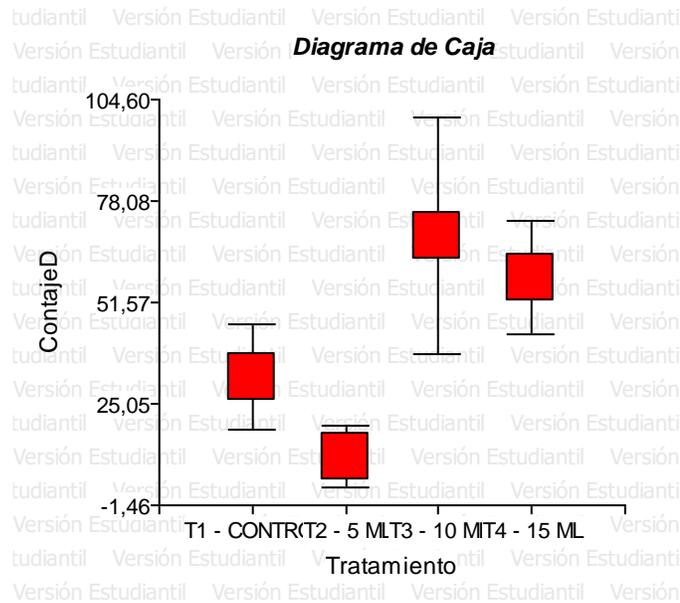
Trat.	Medias	Ranks
T2 - 5 ML	11,25	8,94 A
T1 – CONTROL	32,00	13,80 A B
T3 - 10 ML	68,89	15,61 A B
T4 - 15 ML	58,00	19,40 B

*Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )*

El valor p de la prueba de kruskal Wallis es de 0.09, al trabajar con un nivel de significancia del 5 % se acepta la hipótesis, entonces se puede definir que los tratamientos no presentan una diferencia significativa entre ellos ya que no existe correlación entre los variables estudiadas.

Se puede verificar los resultados mediante un diagrama de cajas:

**Figura 1.** Diagrama de cajas de contejo de colonias

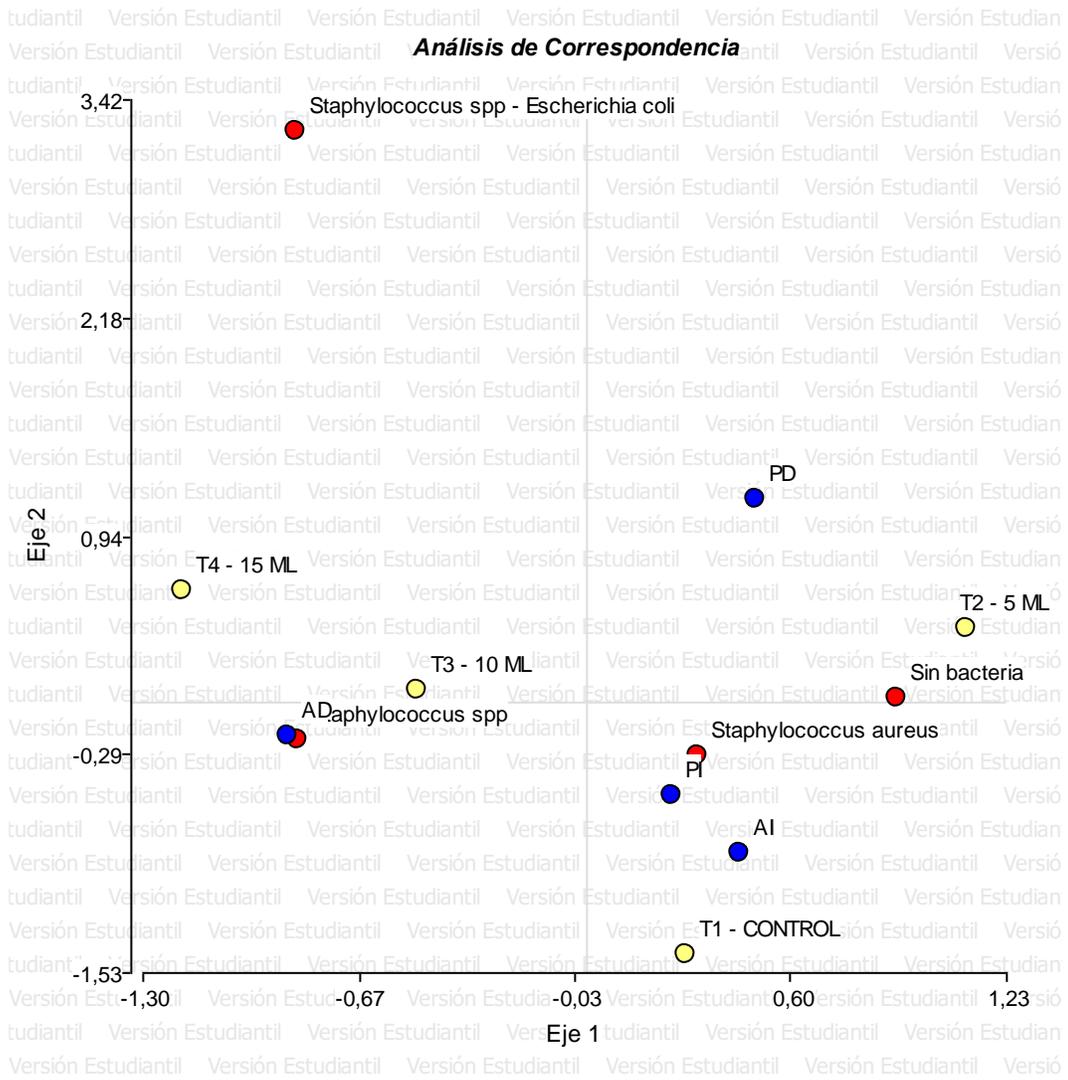


El tratamiento 2 presentó un conteo de colonias más bajo a comparación de los demás tratamientos, por lo tanto, se puede deducir que a un 10% de nivel de significancia es el más efectivo, debido a que existiría diferencias entre los tratamientos.

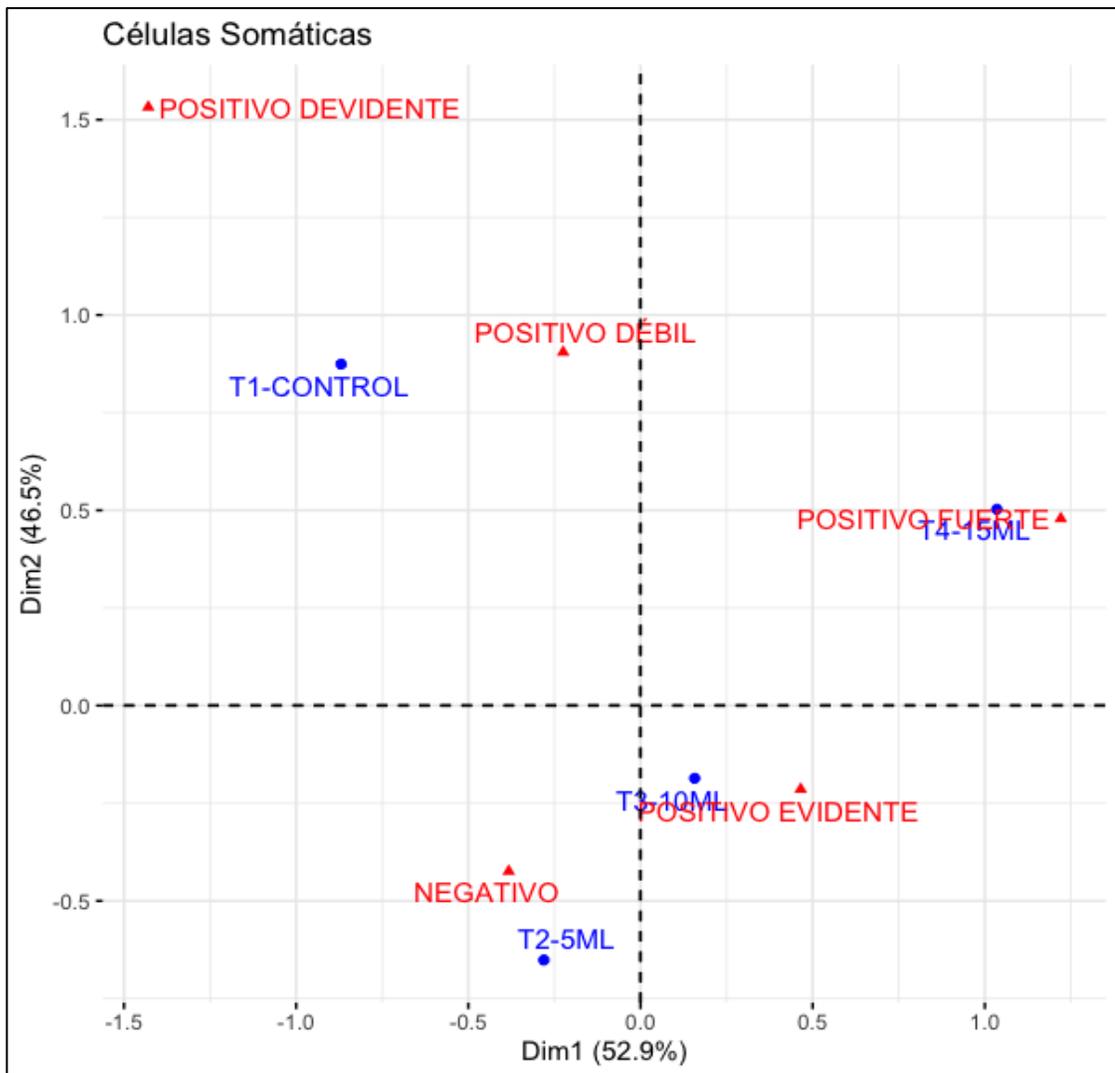
**Figura 2.** Análisis de correspondencia de contejo de colonias

Mediante el análisis de correspondencia se puede determinar que el tratamiento 2 es el más efectivo debido a que los pezones que presentaron un conteo de colonias antes de aplicar el tratamiento después disminuyeron y no presentaron ningún tipo de bacteria.

### Análisis de Correspondencia



**Figura 3.** Análisis de correspondencia del conteo de células somáticas



Este análisis determinó que el tratamiento 2 correspondiente a 5 ml presento un conteo de células somáticas bajo (negativo) dentro del diseño de experimentos completamente al azar (0 – 200 000) concluyendo como ubre sana, mientras que el tratamiento 4 correspondiente a 15 ml dio positivo fuerte, es decir, presenció más de 5 000 000 dando como resultado una mastitis clínica. Por lo que se concluye que el tratamiento 2 es el mejor.

### 3.2 Discusión

El plasma autólogo está compuesto por Factores de Crecimiento, estos regulan las funciones esenciales para la regeneración, remodelación y reparación de los tejidos; tiene gran capacidad para atraer y orientar a las células hacia el lugar necesario; actuando en la división celular para producir células nuevas; y favorecer al desarrollo de nuevos vasos sanguíneos, además de activar la síntesis de la matriz celular (**Sánchez et al. 2003**).

Ahora bien, **Bedolla, C y Ponce de León, M. (2008)** manifiestan que las bacterias cuando invaden el canal del pezón (primera línea de defensa) y la glándula mamaria, estas aprovechan la entrada de aire que se da al momento de ordeñar (desprendimiento o remoción de la pezonera sin haber antes cerrado el vacío), se multiplican y producen toxinas que dañan el tejido, las bacterias se enfrentan con los leucocitos (segunda línea de defensa), que se encuentran en bajas cantidades en la leche tratan de combatir la infección y por ende produce un aumento de los mismos o células somáticas en la leche. Si los leucocitos no destruyen totalmente a la bacteria esta avanza a los pequeños conductos y al tejido alveolar, cuando las células secretoras de leche son dañadas por las toxinas y las sustancias irritantes, se produce un aumento en la permeabilidad de los vasos sanguíneos. Los leucocitos que acudieron en ayuda para controlar la infección, penetran el tejido alveolar y se distribuyen en el tejido dañado, conjuntamente con la presencia de fluidos, minerales y factores de coagulación, producen sustancias que destruyen el tejido alveolar el mismo que será reemplazado por tejido conectivo y se cicatriza.

Los resultados que se obtuvo al finalizar el tratamiento, de las 3 dosis de plasma autólogo que se trabajó, el que mejor dio resultados fue el de 5 ml antes que el de 10 y 15 ml.

Las dosis 10 y 15 ml no dieron resultado debido a la coagulación que se produjo dentro del pezón, esto se debe a la presencia de calcio en la glándula mamaria, por lo que el plasma depende directamente del Ca. El Ca juega un papel importante ya que este activa

la trombina endógena y el fibrinógeno que posteriormente se convierte en fibrina y se conoce también que a un mayor número de plaquetas más rápido se da la formación del coagulo.

Entre los factores más importantes que determina la velocidad de formación del coagulo tenemos la temperatura corporal, los niveles de Calcio y el número de plaquetas.

### **3.3 Hipótesis**

Ho. El uso de plasma autólogo actúa como terapia regenerativa en el tratamiento de mastitis subclínica en vacas Holstein.

## CAPÍTULO IV

### CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 4.1 Conclusiones

- Se estudió el efecto del plasma autólogo en el cual se trabajó con tres dosis (5, 10 y 15 ml) y con tratamiento control a base de antibiótico (dependiente del antibiograma), las tres dosis aplicadas no presentaron ninguna diferencia significativa entre los grupos, con respecto a la variable edad los datos obtenidos en las medias fueron T1 5,00 a; T2 4,60 a; T3 4,60 a; T4 4,40 a, para la variable partos las medias fueron T1 3,00 n/p; T2 2,60 n/p; T3 2,60 n/p; T4 2,40 n/p y para el conteo de colonias las medias fueron T1 32,00 UFC/mL; T2 11,25 UFC/mL; T3 68,89 UFC/mL; T4 58,00 UFC/mL, estadísticamente los resultados obtenidos no muestran diferencias significativas entre tratamientos. Sin embargo, en el variable conteo final de colonias para T2 con 11,25 UFC/mL, utilizando 5 ml de plasma, obtuvimos mejores resultados, estos fueron comprobados mediante un cultivo y análisis de los resultados con un diagrama de cajas y un análisis de correspondencia.
- Se determinó el conteo de células somáticas en la leche, el cual se usa como predictor de mastitis subclínica, un elevado número de células somáticas causa una elevación de pH, incremento de la actividad enzimática, cambios en los ácidos grasos, lactosa y concentraciones de iones y minerales.

El conteo de células somáticas se realizó a partir de CMT, este conteo depende de la percepción y la interpretación del personal que realiza el Test, una vez interpretado los resultados, al inicio del tratamiento los parámetros fueron para T1 un valor comprendido entre 150.000 - 500.000 Rcs/ml (Trazas) y de 400.000 – 1,500.000 Rcs/ml valores que indican

mastitis subclínica. Para T2, T3, T4 el valor fue entre 400.000 – 1,500.000 Rcs/ml valores que indican mastitis subclínica, respectivamente.

Al cuarto día después del tratamiento se volvió a realizar el CMT y los resultados variaron según los grupos que se manejó en la investigación. Para T1, los resultados variaron entre un valor de 0 – 200.000 Rcs/ml, para T2 y T4 los resultados son de 0 – 200.000 Rcs/ml y 800.000 – 5,000.000 Rcs/ml, para T3 los resultados fueron 0 – 200.000 Rcs/ml; 400.000 – 1,500.000 Rcs/ml y 800.000 – 5,000.000 Rcs/ml, respectivamente.

Al onceavo día, al término del experimento se realizó el test de CMT, los resultados fueron para T1 0 – 200.000 Rcs/ml; 400.000 – 1,500.000 Rcs/ml y de 800.000 – 5,000,000 Rcs/ml, para T2 los resultados variaron entre un valor de 0 – 200.000 Rcs/ml y de 800.000 – 5,000.000 Rcs/ml, para T3 los resultados variaron entre un valor de 0 – 200.000 Rcs/ml; 4000.000 – 1,500.000 Rcs/ml; 800.000 – 5,000.000 Rcs/ml y > 5,000.000 Rcs/ml y para T4 los resultados fueron de 400.00 – 1,500.000 Rcs/ml; 800.000 – 5,000.000 Rcs/ml y > 5,000.000 Rcs/ml valores que indican mastitis clínica.

Al realizar el análisis de correspondencia se comprobó que el tratamiento que presenta menor número de células somáticas (negativo) es el T2 (5 ml), esto quiere decir que es el más efectivo.

El incremento en el conteo de células somáticas se puede explicar por ciertos cambios tales como: fase de lactación en la que se encuentran los animales, variación fisiológica cuando los animales entran en celo, desajustes en el horario de ordeño, y estrés entre otros.

- Se realizó estudios bacteriológicos como son cultivo y antibiograma, esto nos ayuda a saber con exactitud el agente causal de la infección. Al inicio del tratamiento las bacterias que se determinó fueron: *Staphylococcus spp* y *Staphylococcus aureus*. *S.aureus* es un patógeno muy común al hablar de mastitis subclínica, este se contagia con facilidad, ya sea en las manos de los ordeñadores o en las pezoneras, por eso es importante la

desinfección antes y después del ordeño. *S. spp* es un patógeno oportunista más común es mastitis, se encuentra en la piel del pezón, provoca una infección intramamaria a través de una infección ascendente por el canal del pezón. Al final del tratamiento obtuvimos resultados los cuales fueron *Escherichia coli*, *Staphylococcus spp* y *Staphylococcus aureus*. *E. coli* es una bacteria coliforme, que se encuentra en el ambiente. La infección de esta bacteria se da principalmente por el mal uso de las instalaciones y mala higiene, mal manejo de la glándula mamaria al momento del ordeño, pezones lastimados y control de moscas.

#### **4.2 Recomendaciones**

- Realizar estudios similares, en otros cantones o provincias, con el fin de comparar los resultados obtenidos y determinar si existe diferencias significativas por ubicación geográfica.
- Realizar más investigaciones con el plasma a dosis inferiores y menor intervalo de tiempo.
- Prolongar el tiempo de tratamiento en días con la finalidad de determinar diferencias en los resultados.
- Realizar el tratamiento con plasma autólogo dos veces al día cada 12 horas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, L; Castro, M; Fernández, M; Oliveres, E; Gómez - Demmel, E; Tartara, L. (2014). Tratamiento de úlceras corneales con plasma rico en plaquetas. ScienceDirect. Volumen 89, Issue 2. Page 48-52. (en línea). Consultado el 17 de octubre del 2020. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0365669113003328>
- Alfonso, D.; Pérez, C. y Silveira, E. A. (2008). Evaluación epizootiológica de la mastitis bovina en cuatro vaquerías. *Redvet*, 9 (7), 1-9.
- Bedolla, C; Ponce de León. (2008). Perdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. REDVET. Vol. IX, N° 4. (en línea). Consultado el 20 de abril del 20121. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63611952010.pdf>
- Bonifaz, N; Conlago, F. (2016). Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de California Mastitis Test con identificación del agente etiológico, en Paquiestancia, Ecuador. Universidad Politécnica Salesiana. La Granja. DOI:10.17163/Igr.n24.2016.04. (en línea). Consultado el 10 de abril del 2021. Disponible en: [https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/13862/1/Lgr\\_n24\\_Bonif%c3%a1z\\_Conlago.pdf](https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/13862/1/Lgr_n24_Bonif%c3%a1z_Conlago.pdf)
- Bonilla-Gutiérrez A; Aragón-Urrego C; Aristizábal-Páez O. (2017). Protocolo para la obtención de un Concentrado Autólogo de Plaquetas en conejos: estudio piloto. DOI: 10.15446/rfmvz.v64n1.65813. (en línea). Consultado el 17 de enero del 2021, Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/4076/407652405003.pdf>
- Bradley, A. y Green, M. 2005. Use and interpretation of somatic cell count data in dairy cows. In practice. 27: 310-315.
- Carmona JU; López C, Giraldo CE. (2011). Uso de concentrados autólogos de plaquetas como terapia regenerativa de enfermedades crónicas del aparato musculoesquelético equino. Arch. med. vet. vol.43 no.1 Valdivia. (en línea). Consultado el 17 de octubre del 2020, Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0301-732X2011000100002](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-732X2011000100002)
- Ceballos, A y Carmona, J. (2018). Pure platelet-rich plasma (P-PRP) composition for treatment of subclinical mastitis and methods of producing and using the same (en línea). Consultado el 3 de septiembre del 2020. Disponible en: <https://www.freepatentsonline.com/20180125893.pdf>

- Corral, A; Morales, Y; Pazos, L; Ramírez, A; Martínez, R; Muñoz, J. (2012). Cuantificación de bacterias cultivables mediante el método de “Goteo en Placa por Sellado (o estampado) Masivo”. Rev.Colomb.Biotecnol. Vol.XIV No. 2. Page 147 – 156. (en línea). Consultado el 15 de abril del 2021. Disponible en: <file:///C:/Users/Maritza/Downloads/v14n2a16%20conteo%20de%20colonias%20Mary.pdf>
- Fernández, O; Trujillo, J; Peña, J; Cerquea, J; Granja, Y. (2012). Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. Revista veterinaria REDVET 13(11). Universidad de la Amazonia, Florencia, Colombia y Universidad Estatal Paulista ‘Julio de Mesquita Filho’, CEP: 14884-900, Jaboticabal – SP. (en línea). Consultado el 15 de abril del 2021. Disponible en: [https://produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infecciosas/bovinos\\_leche/78-mastitis.pdf](https://produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/78-mastitis.pdf)
- GAD MOCHA. (2014). Plan de Diagnóstico del cantón Mocha. (En línea).consultado el 16 de junio del 2021. Disponible en: [http://app.sni.gob.ec/snmlink/sni/PORTAL\\_SNI/data\\_sigad\\_plus/sigadplusdiagnostico/Diagnostico\\_GAD%20Mocha\\_15-11-2014.pdf](http://app.sni.gob.ec/snmlink/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdiagnostico/Diagnostico_GAD%20Mocha_15-11-2014.pdf)
- Guallasamin, O y Moreno, V. (2013). “USO DE PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO AUTOLOGO Y HETEROLOGO SOBRE EL PROCESO CICATRIZAL. ESTUDIO EXPERIMENTAL EN CANINOS” (en línea). Consultado el 3 de septiembre del 2020. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/71901853.pdf>
- Hernández, J; Bedolla, J. 2008. Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. REDVET. Volumen IX Numero 9. (en línea). Consultado el 10 de abril del 2021. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63617329004.pdf>
- Lavanda, N. (2019). USO DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP) PARA EL TRATAMIENTO DE ÚLCERAS CORNEALES SUPERFICIALES EN CANINOS (en línea). Consultado el 3 de septiembre del 2020. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/39298/1/2019-Lavanda%20Larco%2c%20Lissette.pdf>
- López C; Giraldo CE; Carmona JU. (2012). Evaluación de un método de doble centrifugación en tubo para concentrar plaquetas bovinas: estudio celular. Arch Med Vet 44, 109-115. Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. (en línea). Consultado el 17 de octubre del 2020, Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/amv/v44n2/art03.pdf>
- Mendoza J; Reyes-Alva H ; Quijano I. 2015. Utilización de plasma rico en plaquetas como tratamiento coadyuvante en la no unión de olecranon en un perro: reporte

- de caso.(en línea). Consultado el 17 de enero del 2021. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/58484/Mendoza-Ram%c3%adrez%20JE%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mera, R; Muñoz, M; Artieda, J; Ortiz, P; Gonzales, R; Vega, V. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. REDVET. 2017 Volumen 18N 11. (en línea). Consultado el 10 de abril del 2021. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653574004.pdf>
- Moreno, R; Gaspar, M; Jiménez, J; Alonso, J; Villimar, A; López, P. (2015). Técnica de obtención del plasma rico en plaquetas y su empleo en terapéutica osteoinductora. Scielo. Farm Hosp.vol.39 no.3 Toledo may/jun. (en línea). Consultado el 10 de abril del 2021. Disponible en: [https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1130-63432015000300002](https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-63432015000300002)
- Moya E; Moya Y.2015. Bioestimulación facial con plasma rico en plaquetas. Hospital Universitario Manuel Ascunce Domenech. Policlínico docente Carlos Juan Finlay. Camagüey, Cuba. AMC vol.19 no.2.(en línea). Consultado el 17 de enero del 2021. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-02552015000200011](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-02552015000200011)
- Rodríguez, J; Palomar, M; Torres, J. (2012). Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. Revista española de cirugía oral y maxilofacial. Volumen 34, Issue 1, page 9-17. (en línea). Consultado el 10 de abril del 2021. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S113005581100102X>
- Ruiz, A; Rodríguez, J; Remón, D. (2016). Mastitis bovina en Cuba. Artículo de revisión. Revista de producción animal. Vol.28 no.2-3 Camaguey may.-ago.2016. (en línea). Consultado el 10 de abril del 2021. Disponible en: [Mastitis bovina en Cuba. Artículo de revisión \(sld.cu\)](#)
- Sánchez, M; Azofra, J; Aizpurúa, B; Elorriaga, R; Anitua, E; Andía, I. (2003). Aplicación de plasma autólogo rico en factores de crecimiento en cirugía artroscópica. Cuadernos de Artroscopia, Vol. 10, fasc. 1, nº 19. Page. 12 – 19. (en línea). Consultado el 20 de abril del 2021. Disponible en: [https://fondoscience.com/sites/default/files/articles/pdf/fs\\_10119.fs0304003-aplicacion-de-plasma.pdf](https://fondoscience.com/sites/default/files/articles/pdf/fs_10119.fs0304003-aplicacion-de-plasma.pdf)
- Silva RF; Rezende CMF; Carmona JU. (2011). Uso de concentrados autólogos de plaquetas intraarticulares como coadyuvantes en el tratamiento quirúrgico de la rotura del ligamento cruzado anterior en una perra. Arch Med Vet 43, 313-316. (en línea). Consultado el 17 de octubre del 2020, Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/amv/v43n3/art16.pdf>

Soca, M.; Suarez, Y.; Rivero, J.; Fuentes, M. y Purón, C. A. (2005). Comparación de la incidencia epizootiológica de la mastitis clínica en dos rebaños lecheros después del uso del agua para la antisepsia final del pezón. *Redvet*, 6, 5-10.

## ANEXOS

### Anexo 1. Interpretación de los resultados de la Prueba California Mastitis Test

<i>SCORE</i>	<b>SIGNIFICADO</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>INTERPRETACIÓN (Rcs/ml)</b>
<i>N</i>	Negativo	La mezcla permanece en estado líquido	0 – 200.000
<i>T</i>	Trazas	Se toma un precipitado en la paleta, desaparece pronto	150.000 – 500.000
<i>1</i>	Positivo débil	Hay un mayor precipitado pero sin tendencia a formar gel	400.000 – 1.500.000
<i>2</i>	Positivo evidente	El precipitado se torna denso y se concentra en el centro	800.000 – 5.000.000
<i>3</i>	Positivo fuerte	Se toma un gel muy denso que se adhiere a la paleta	➤ 5.000.000

**Fuente:** Elaborado con base en **Fernández et al. (2012)**

**Anexo 2.** Datos de las vacas y conteo de células somáticas.

<b>BOVINOS</b> <b>IDENTIFICACIÓN</b>	<b>CUARTO AFECTADO</b>				<b>EDAD</b>	<b># PARTOS</b>	<b>GESTACIÓN</b>	<b>CMT</b>	
	<b>AD</b>	<b>AI</b>	<b>PD</b>	<b>PI</b>				<b>GRADO</b>	<b>CCS/ ml</b>
<i>Sapa</i>		X			5	3	+	T	150.000 – 500.000
<i>Rita</i>		X			5	3	+	T	150.000 – 500.000
<i>Grande</i>			X		6	4	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Negra</i>			X		6	4	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Dulce María</i>				X	6	4	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Poly</i>	X				5	3	+	1	400.000 – 1,500.000
<i>2011</i>		X	X		5	3	+	1	400.000 – 1,500.000
<i>Francisca</i>		X	X		3	1	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Bonita</i>	X		X		4	2	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Mimí</i>	X		X		3	1	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Silvana</i>	X		X		5	3	+	1	400.000 – 1,500.000
<i>Miriam</i>			X	X	3	1	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Francia</i>			X		3	1	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Gitana</i>	X	X			5	3	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Pamela</i>		X			5	3	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Mariposa</i>	X				6	4	+	1	400.000 – 1,500.000
<i>Alegría</i>				X	6	4	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Mónica</i>				X	6	4	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Lola</i>	X				3	1	-	1	400.000 – 1,500.000
<i>Sonia</i>	X				3	1	+	1	400.0 – 1,500.000

- + Embarazo
- Negativo
- T Trazas
- 1 Grado 1 de mastitis subclínica

- AD Anterior derecho
- AI Anterior izquierdo
- PI Posterior Izquierdo
- CMT California Mastitis Test

**Anexo 3.** Cultivo – Antibiograma antes del tratamiento – Grupo control

<b>BOVINOS IDENTIFICACIÓN</b>	<b>GRAM</b>	<b>GERMEN IDENTIFICADO</b>	<b>CONTAJE DE COLONIAS</b>	<b>SENSIBLE</b>	<b>INTERMEDIO</b>	<b>RESISTENTE</b>
<i>Sapa</i> AI	+ en racimos	<i>Staphylococcus</i> <i>spp.</i> coagulasa negativo	30.000 UFC/mL	Amoxicilina + ácido clavulánico Cefepime Ceftriaxona Eritromicina Ciprofloxacina	Fosfomicina	Metronidazol Ampicilina Penicilina
<i>Rita</i> AI	+ en racimos	<i>Staphylococcus</i> <i>spp.</i> Coagulasa negativo	20.000 UCF/mL	Ampicilina + sulbactam Ciprofloxacina Eritromicina Amoxicilina + ácido clavulánico Fosfomicina	-	Ampicilina Cefepime Ceftriaxona Penicilina
<i>Mónica</i> PI	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp.</i>	70.000 UFC/mL	Sulfatrimetroprim Eritromicina	-	Ampicilina Metronidazol

		Coagulasa negativa		Ampicilina + sulbactam Amoxicilina + ácido clavulánico Ceftriaxona Cefurexime		Fosfomicina Penicilina
<i>Negra AI</i>	+ en racimos	<i>Staphylococcus spp.</i> Coagulasa negativo	20.000 UFC/mL	Ciprofloxacina Ampicilina Cefepime Ceftriaxona Ampicilina + sulbactam Amoxicilina + ácido clavulánico	Fosfomicina	Metronidazol Ampicilina Penicilina
<i>Sonia AD</i>	+	<i>Staphylococcus spp.</i> Coagulasa negativa	70.000 UFC/mL	Ampicilina + sul bactam Penicilina Sulfatrimetropim Ciprofloxacina Ceftriaxona Cefurexime	-	Ampicilina Metronidazol

**Anexo 4.** Cultivo – Antibiograma antes del tratamiento – 5 ml de plasma

<b>BOVINOS IDENTIFICACIÓN</b>	<b>GRAM</b>	<b>GERMEN IDENTIFICADO</b>	<b>CONTAJE DE COLONIAS</b>	<b>SENSIBLE</b>	<b>INTERMEDIO</b>	<b>RESISTENTE</b>
<i>Francisca AI</i>	+	<i>Staphylococcus spp. Coagulasa negativa</i>	20.000 UFC/mL	Amoxicilina + ácido clavulánico ---Cefepime Ceftriaxona Cefurexime Sulfatrimetropim	Amikacina	Metronidazol Ampicilina Fosfomicina
<i>Francisca PD</i>	+	<i>Staphylococcus spp. Coagulasa negativa</i>	30.000 UFC/mL	Sulfatrimetropim Cefepime Ceftriaxona Cefurexime Amoxicilina + ácido clavulánico	Amikacina	Fosfomicina Ampicilina Metronidazol
<i>Grande AD</i>	+ en racimos	<i>Staphylococcus aureus Coagulasa positivo</i>	30.000 UFC/mL	Cefepime Ceftriaxona Cefurexime Ciprofloxacina Amoxicilina + ácido clavulánico Ampicilina + sulbactam	-	Metronidazol Ampicilina Penicilina

2011 AI	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp.</i> Coagulasa negativa	10.000 UFC/mL	Gentamicina Sulfatrimetropim Ampicilina Nitrofurantoina Claritromicina Ceftriaxona Cefurexime	-	Metronidazol Amoxicilina
2011 PD	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp.</i> Coagulasa negativa	10.000 UFC/mL	Ampicilina Sulfatrimetropim Nitrofurantoina Gentamicina Claritromicina Cefurexime Ceftriaxona	-	Metronidazol Amoxicilina
Dulce María PD	+ en racimos	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> Coagulasa positivo	40.000 UFC/mL	Ampicilina Penicilina Ciprofloxacina Ampicilina + sulbactam Cefepime Ceftriaxona Amoxicilina + ácido clavulánico Eritromicina	-	Metronidazol Fosfomicina
Miriam PD	+	<i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> Coagulasa positivo	10.000 UFC/mL	Sulfatrimetropim Nitrofurantoina Cefepime Ceftriaxona Cefurexime Ciprofloxacina	-	Metronidazol Ampicilina Fosfomicina

				Gentamicina		
<i>Miriam PI</i>	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Coagulasa positivo	30.000 UFC/mL	Nitrofurantoina Cefepime Sulfatrimetropim Ciprofloxacina Gentamicina Ceftriaxona Cefurexime	-	Fosfomicina Metronidazol Fosfomicina

**Anexo 5.** Cultivo – Antibiograma antes del tratamiento – 10 ml de plasma

**BOVINOS  
IDENTIFICACIÓN**

	GRAM	GERMEN IDENTIFICADO	CONTAJE DE COLONIAS	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
<i>Bonita AD</i>	+	<i>Staphylococcus spp.</i> Coagulasa negativa	10.000 UCF/mL	Amoxicilina + ácido clavulánico Sulfatrimetripim	-	Ampicilina Metronidazol Fosfomicina Cefepime Ceftriaxona Cefurexime
<i>Bonita PD</i>	+	<i>Staphylococcus spp.</i> Coagulasa negativa	30.000 UCF/mL	Amoxicilina + ácido clavulánico Sulfatrimetripim	-	Metronidazol Ampicilina Cefepime Ceftriaxona Cefurexime

						Fosfomicina
<i>Mimí AD</i>	+	<i>Staphylococcus spp.</i> Coagulasa negativa	20.000 UCF/mL	Sulfatrimetropim Gentamicina Amikacina	-	Ampicilina Penicilina Metronidazol Ceftriaxona Cefurexime Cefepime
<i>Mimí PD</i>	+	<i>Staphylococcus spp.</i> Coagulasa negativa	10.000 UCF/mL	Sulfatrimetropim Gentamicina Amikacina	-	Ceftriaxona Cefurexime Penicilina Metronidazol Cefepime Ampicilina
<i>Silvana AD</i>	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Coagulasa positivo	90.000 UFC.mL	Claritromicina Gentamicina Nitrofurantoina Amoxicilina + ácido clavulánico Sulfatrimetropim	-	Metronidazol Fosfomicina Ampicilina Penicilina
<i>Silvana PD</i>	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Coagulasa positivo	80.000 UFC.mL	Nitrofurantoina Amoxicilina + ácido clavulánico Claritromicina Gentamicina	-	Penicilina Fosfomicina Metronidazol Ampicilina
<i>Mariposa AD</i>	+	<i>Staphylococcus spp.</i> Coagulasa negativa	40.000 UFC/mL	Sulfatrimetropim Claritromicina Ampicilina + sulbactam Amoxicilina + ácido clavulánico	-	Ampicilina Metronidazol

				Ceftriaxona Cefurexime		
<i>Gitana AD</i>	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Coagulasa positivo	80.000 UFC/mL	Sulfatrimetropim Gentamicina Amoxicilina + ácido clavulánico Claritromicina Nitrofurantoina	-	Ampicilina Metronidazol Fosfomicina Penicilina
<i>Gitana AI</i>	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Coagulasa positivo	40.000 UFC/mL	Claritromicina Sulfatrimetropim Gentamicina Nitrofurantoina Amoxicilina + ácido clavulánico	-	Metronidazol Fosfomicina Ampicilina Penicilina

**Anexo 6.** Cultivo – Antibiograma antes del tratamiento – 15 ml de plasma

<b>BOVINOS IDENTIFICACIÓN</b>	<b>GRAM</b>	<b>GERMEN IDENTIFICADO</b>	<b>CONTAJE DE COLONIAS</b>	<b>SENSIBLE</b>	<b>INTERMEDIO</b>	<b>RESISTENTE</b>
<i>Poly AD</i>	+	<i>Staphylococcus spp.</i> Coagulasa negativa	30.000 UFC/mL	Sulfatrimetropim Nitrofurantoina Claritromicina Amikacina Claritromicina	Ceftazidime Ceftriaxona	Penicilina Ampicilina Metronidazol
<i>Pamela</i>	+	<i>Staphylococcus</i>	10.000	Gentamicina	-	Ampicilina

<i>AI</i>		<i>spp.</i> Coagulasa negativa	UFC/mL	Sulfatrimetropim Nitrofurantoina Amikacina Ampicilina + sulbactam Amoxicilina + ácido clavulánico		Penicilina Metronidazol Fosfomicina
<i>Alegría PI</i>	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Coagulasa positivo	120.000 UFC/mL	Sulfatrimetropim Ciprofloxacina Eritromicina	-	Ampicilina Metronidazol Ceftriaxona Cefurexime Ampicilina + sulbactam Amoxicilina + ácido clavulánico
<i>Lola AD</i>	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Coagulasa positivo	100.000 UFC/mL	Eritromicina Amoxicilina + ácido clavulánico Ampicilina + sulbactam Sulfatrimetropim Ceftriaxona Cefurexime	-	Metronidazol Fosfomicina Penicilina Ampicilina
<i>Francia PD</i>	+	<i>Staphylococcus spp.</i> Coagulasa negativa	10.000 UFC/mL	Sulfatrimetropim Amoxicilina + ácido clavulánico Nitrofurantoina Amikacina Gentamicina	-	Ampicilina Metronidazol Penicilina

**Anexo 7.** Grupo control – Antibiótico dependiente del antibiograma

<b>IDENTIFICACIÓ</b> <b>N</b>	<b>APLICACIÓN DEL</b>			<b>CMT</b>		<b>CMT</b>	
	<b>ANTIBIÓTICO</b>						
	<b>10/07/2020</b>	<b>11/07/2020</b>	<b>12/07/2020</b>	<b>13/07/2020</b>	<b>23/07/2020</b>		
	<b>01/08/2020</b>	<b>02/08/2020</b>	<b>03/08/2020</b>	<b>04/08/2020</b>	<b>14/08/2020</b>		
	<b>17/08/2020</b>	<b>18/08/2020</b>	<b>19/08/2020</b>	<b>20/08/2020</b>	<b>30/08/2020</b>		
<i>Sapa</i>	✓	✓	✓	AI	AI		
				+	+		
<i>Rita</i>	✓	✓	✓	AI	AI		
				+	+		
<i>Mónica</i>	✓	✓	✓	PI	PI		
				+	-		
<i>Negra</i>	✓	✓	✓	AI	AI		
				+	-		
<i>Sonia</i>	✓	✓	✓	AD	AD		
				+	-		

✓ Aplicación del tratamiento  
**CMT** California Mastitis Test  
**AD** Anterior derecho

**AI** Anterior izquierdo  
**PI** Posterior izquierdo

**Anexo 8.** Tratamiento con 5 ml de plasma

<b>IDENTIFICACI</b> <b>ÓN</b>	<b>APLICACIÓN DE PLASMA</b>			<b>CMT</b>		<b>APLICACIÓN</b>		<b>CMT</b>	
						<b>DE PLASMA</b>			
	<b>10/07/2020</b>	<b>11/07/2020</b>	<b>12/07/2020</b>	<b>13/07/2020</b>	<b>22/07/2020</b>	<b>23/07/2020</b>			
	<b>01/08/2020</b>	<b>02/08/2020</b>	<b>03/08/2020</b>	<b>04/08/2020</b>	<b>13/08/2020</b>	<b>14/08/2020</b>			
<i>Francisca</i>	✓	✓	✓	AI	PD	✓	AI	PD	

				-	+		+	+
<i>Grande</i>	✓	✓	✓	PD		✓	PD	
				+			+	
<i>2011</i>	✓	✓	✓	AI	PD	✓	AI	PD
				-	+		-	+
<i>Dulce María</i>	✓	✓	✓	PI		✓	PI	
				+			+	
<i>Miriam</i>	✓	✓	✓	PD	PI	✓	PD	PI
				-	-		-	+

✓ Aplicación del tratamiento  
**CMT** California Mastitis Test  
**PD** Posterior derecho

**AI** Anterior izquierdo  
**PI** Posterior izquierdo

#### Anexo 9. Tratamiento con 10 ml de plasma

<i>IDENTIFICACIÓ</i> <i>N</i>	APLICACIÓN DE PLASMA				CMT	APLICACIÓN DE PLASMA		CMT
	10/07/2020	11/07/2020	12/07/2020	13/07/2020	23/07/2020	10/07/2020		
	01/08/2020	02/08/2020	03/08/2020	04/08/2020	14/08/2020	01/08/2020		
	17/08/2020	18/08/2020	19/08/2020	20/08/2020	29/08/2020	30/08/2020		
<i>Bonita</i>	✓	✓	✓	PD	AD	✓	PD	AD
				+	-		+	-
<i>Mimí</i>	✓	✓	✓	PD	AD	✓	PD	AD
				-	-		-	+
<i>Silvana</i>	✓	✓	✓	PD	AD	✓	PD	AD
				-	-		-	-
<i>Mariposa</i>	✓	✓	✓	AD		✓	AD	
				-			+	
<i>Gitana</i>	✓	✓	✓	AI	AD	✓	AI	AD

				+	+		-	+
--	--	--	--	---	---	--	---	---

✓ Aplicación del tratamiento  
**CMT** California Mastitis Test  
**AD** Anterior derecho

**AI** Anterior izquierdo  
**PD** Posterior derecho

**Anexo 10.** Tratamiento con 15 ml de plasma

<i>IDENTIFICACIÓN</i> N	APLICACIÓN DE PLASMA			CMT	APLICACIÓN DE PLASMA		CMT
	10/07/2020	11/07/2020	12/07/2020	13/07/2020	23/07/2020	10/07/2020	
	01/08/2020	02/08/2020	03/08/2020	04/08/2020	14/08/2020	01/08/2020	
	17/08/2020	18/08/2020	19/08/2020	20/08/2020	29/08/2020	30/08/2020	
<i>Poly</i>	✓	✓	✓	<b>AD</b>	✓	<b>AD</b>	
				+		-	
<i>Pamela</i>	✓	✓	✓	<b>AI</b>	✓	<b>AI</b>	
				+		-	
<i>Alegría</i>	✓	✓	✓	<b>PI</b>	✓	<b>PI</b>	
				+		-	
<i>Lola</i>	✓	✓	✓	<b>AD</b>	✓	<b>AD</b>	
				+		-	
<i>Francia</i>	✓	✓	✓	<b>PD</b>	✓	<b>PD</b>	
				-		-	

✓ Aplicación del tratamiento  
**CMT** California Mastitis Test  
**AD** Anterior derecho

**AI** Anterior izquierdo  
**PD** Posterior derecho  
**PI** Posterior izquierdo

**Anexo 11.** Conteo de células somáticas

<b>BOVINOS</b> <b>IDENTIFICACIÓN</b>	<b>CMT – PRIMER DÍA</b>				<b>CMT – CUARTO DÍA</b>				<b>CCS/ml</b>	<b>CMT – ONCEAVO DÍA</b>				<b>CCS/ml</b>
	<b>AD</b>	<b>AI</b>	<b>PD</b>	<b>PI</b>	<b>AD</b>	<b>AI</b>	<b>PD</b>	<b>PI</b>		<b>AD</b>	<b>AI</b>	<b>PD</b>	<b>PI</b>	
	<i>Sapa</i>		X				+				0 – 200.000		+	
<i>Rita</i>		X				+			0 – 200.000		+			0 – 200.000
<i>Grande</i>			X				+		0 – 200.000			+		0 – 200.000
<i>Negra</i>			X				+		0 – 200.000			-		800.000 – 5.000.000
<i>Dulce María</i>				X				+	0 – 200.000				+	0 – 200.000
<i>Poly</i>	X				+				0 – 200.000	-				800.000 - 5.000.000
<i>2011</i>		X	X			-	+		800.000 - 5.000.000 0 – 200.000		-	+		800.000 - 5.000.000 0 – 200.000
<i>Francisca</i>		X	X			-	+		800.000 - 5.000.000 0 – 200.000		+	+		0 – 200.000 0 – 200.000
<i>Bonita</i>	X		X		+		-		0 – 200.000 800.000 - 5.000.000	+		-		0 – 200.000 800.000 - 5.000.000
<i>Mimí</i>	X		X		-		-		800.000 - 5.000.000 800.000 - 5.000.000	-		+		800.000 - 5.000.000 0 – 200.000
<i>Silvana</i>	X		X		-		-		800.000 - 5.000.000 800.000 - 5.000.000	-		-		400.000 – 1.500.000 > 5.000.000
<i>Miriam</i>			X	X			-	-	800.000 - 5.000.000 800.000 - 5.000.000			-	+	800.000 - 5.000.000 0 – 200.000
<i>Francia</i>			X				-		800.000 - 5.000.000			-		>5.000.000
<i>Gitana</i>	X	X			+	+			0 – 200.000 0 – 200.000	-	+			800.000 - 5.000.000 0 – 200.000

<i>Pamela</i>		X				+			0 – 200.000		+			800.000 - 5.000.000
<i>Mariposa</i>	X				-				400.000 – 1.500.000	+				0 – 200.000
<i>Alegría</i>				X	+				0 – 200.000	-				>5.000.000
<i>Mónica</i>				X				+	0 – 200.000				-	400.000 – 1.500.000
<i>Lola</i>	X				+				0 – 200.000	-				400.000 – 1.500.000
<i>Sonia</i>	X				+				0 – 200.000	-				400.000 – 1.500.000

**X** Indica cuarto afectado  
**CMT** California Mastitis Test  
**AD** Anterior derecho

**AI** Anterior izquierdo  
**PD** Posterior derecho  
**PI** Posterior izquierdo

**+** Positivo al tratamiento  
**-** Negativo al tratamiento

**Anexo 12.** Cultivo – Antibiograma después del tratamiento – Grupo control

**BOVINOS**  
**IDENTIFICACIÓN**

	GRAM	GERMEN IDENTIFICADO	CONTAJE DE COLONIAS	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
<i>Sapa</i> <i>AI</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Rita</i> <i>AI</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Mónica</i> <i>PI</i>	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Coagulasa	70.000 UFC/mL	Ciprofloxacina Ceftriaxona Cefurexime	-	Ampicilina Penicilina Metronidazol

		positivo		Amikacina Sulfatrimetropim Fosfomicina Ampicilina + sulbactam Eritromicina Gentamicina		
<i>Negra</i> <i>AI</i>	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp</i> Coagulasa negativa	40.000 UCF/mL	Amikacina Ciprofloxacina Ceftriaxona Cefurexime Azitromicina	Claritromicina	Ampicilina Amoxicilina + ácido clavulánico Fosfomicina Eritromicina Ampicilina + sulbactam
<i>Sonia</i> <i>AD</i>	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp</i> Coagulasa negativa	50.000 UFC/mL	Amikacina Gentamicina Fosfomicina Sulfatrimetropim Ciprofloxacina Ceftriaxona Cefurexime	-	Ampicilina Amoxicilina

**Anexo 13.** Cultivo – Antibiograma después del tratamiento – 5 ml de plasma

<b>BOVINOS IDENTIFICACIÓN</b>	<b>GRAM</b>	<b>GERMEN IDENTIFICADO</b>	<b>CONTAJE DE COLONIAS</b>	<b>SENSIBLE</b>	<b>INTERMEDIO</b>	<b>RESISTENTE</b>
<i>Francisca AI</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Francisca PD</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Grande AD</i>	-	-	-	-	-	-
<i>2011 AI</i>	+	<i>Staphylococcus spp</i> Coagulasa negativa	30.000 UCF/mL	Ciprofloxacina Norfloxacina Levofloxacina Ceftriaxona Cefurexime Sulfatrimetropim Eritromicina	-	Metronidazol Fosfomicina ampicilina
<i>2011 PD</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Dulce María PD</i>	-	-	-	-	-	-

<i>Miriam PD</i>	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Coagulasa positivo	60.000 UCF/mL	Claritromicina Ciprofloxacina Eritromicina Ampicilina + sulbactam Sulfatrimetropim Ceftriaxona Cefurexime	-	Metronidazol Fosfomicina
<i>Miriam PI</i>	-	-	-	-	-	-

**Anexo 14.** Cultivo – Antibiograma después del tratamiento – 10 ml de plasma

**BOVINOS IDENTIFICACIÓN**

	GRAM	GERMEN IDENTIFICADO	CONTAJE DE COLONIAS	SENSIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
<i>Bonita AD</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Bonita PD</i>	+	<i>Staphylococcus spp</i> Coagulasa negativa	60.000 UCF/mL	Ceftriaxona Cefurexime Levofloxacina Ampicilina + sulbactam Amoxicilina + ácido clavulánico	-	Fosfomicina Penicilina Metronidazol Eritromicina Ampicilina

				Ciprofloxacina Norfloxacina		
<i>Mimí AD</i>	+	<i>Staphylococcus spp</i> Coagulasa negativa	200.000 UCF/mL	Cirpofloxacina Norfloxacina Levofloxacina Ampicilina + sulbactam Amoxicilina + ácido clavulánico Ceftriaxona Cefurexime	--	Ampicilina Metronidazol Fosfomicina Penicilina Eritromicina
<i>Mimí PD</i>	-	-	-	-	-	-
<i>Silvana AD</i>	+	<i>Staphylococcus spp</i> Coagulasa negativa	10.000 UCF/mL	Gentamicina Ciprofloxacina Norfloxacina Ceftriaxona Cefurexime Ampicilina + sulbactam	-	Sulfatrimetropim Metronidazol Fosfomicina
<i>Silvana PD</i>	+	<i>Staphylococcus spp</i> Coagulasa negativa	100.000 UCF/mL	Ceftriaxona Cefurexime Ciprofloxacina Norfloxacina Gentamicina Ampicilina + sulbactam	-	Fosfomicina Metronidazol Sulfatrimetropim
<i>Mariposa AD</i>	+	<i>Staphylococcus spp</i> Coagulasa	10.000 UFC/mL	Sulfatrimetropim Claritromicina Ampicilina +	-	Ampicilina Metronidazol

		negativa		sulbactam Amoxicilina Ceftriaxona Cefurexime Ciprofloxacina		
<i>Gitana AD</i>	+	<i>Staphylococcus aureus</i> Coagulasa positivo	240.000 UCF/mL	Ceftriaxona Cefurexime Claritromicina Fosfomicina Ciprofloxacina Norfloxacina Eritromicina Sulfatrimetropim Ampicilina + sulbactam	-	Ampicilina Metronidazol Penicilina
<i>Gitana AI</i>	-	-	-	-	-	-

**Anexo 15.** Cultivo – Antibiograma después del tratamiento – 15 ml de plasma

<b>BOVINOS IDENTIFICACIÓN</b>	<b>GRAM</b>	<b>GERMEN IDENTIFICADO</b>	<b>CONTAJE DE COLONIAS</b>	<b>SENSIBLE</b>	<b>INTERMEDIO</b>	<b>RESISTENTE</b>
<i>Poly AD</i>	+	<i>Staphylococcus spp</i> Coagulasa	80.000 UCF/mL	Ciprofloxacina Norfloxacina Ceftriaxona	-	Metronidazol Fosfomicina

		negativa		Cefurexime Sulfatrimetropim Eritromicina Ampicilina + sulbactam		
<i>Pamela</i> <i>AI</i>	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp</i> Coagulasa negativa	30.000 UFC/mL	Ciprofloxacina Norfloxacina Levofloxacina Ceftriaxona Cefurexime Ampicilina + sulbactam Amoxicilina + ácido clavulánico	-	Fosfomicina Sulfatrimetropim Ampicilina Metronidazol
<i>Alegría</i> <i>PI</i>	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp</i> Coagulasa negativa	20.000 UFC/mL	Amoxicilina Amoxicilina + ácido clavulánico Ciprofloxacina Gentamicina Amikacina Ampicilina + sulbactam	-	Ampicilina Metronidazol Penicilina
<i>Lola</i> <i>AD</i>	+	<i>Staphylococcus</i> <i>spp</i> Coagulasa negativa	60.000 UFC/mL	Fosfomicina Ciprofloxacina Amikacina	-	Gentamicina Ceftriaxona Sulfatrimetropim Ampicilina Ampicilina + sulbactam Eritromicina Metronidazol

<i>Francia</i> <i>PD</i>	Cocos + Bacilos -	<i>Staphylococcus</i> <i>spp</i> Coagulasa negativa <i>Escherichia coli</i>	100.000 UCF/mL	Ceftriaxona Cefurexime Eritromicina Ciprofloxacina Sulfatrimetropim Ampicilina + sulbactam	-	Metronidazol Fosfomicina Penicilina
-----------------------------	----------------------	---	-------------------	--	---	---

## GRÁFICOS

**Gráfico 1.** Realización de la prueba de CMT

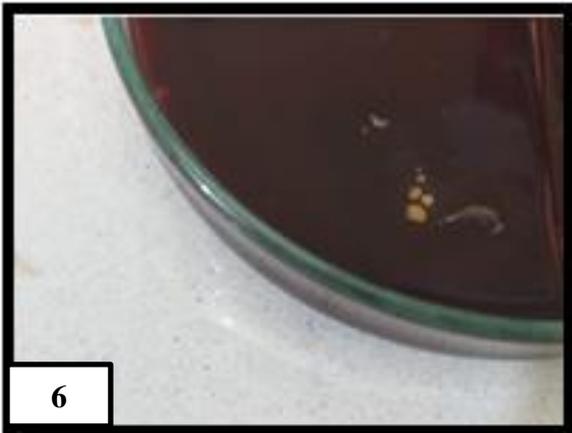
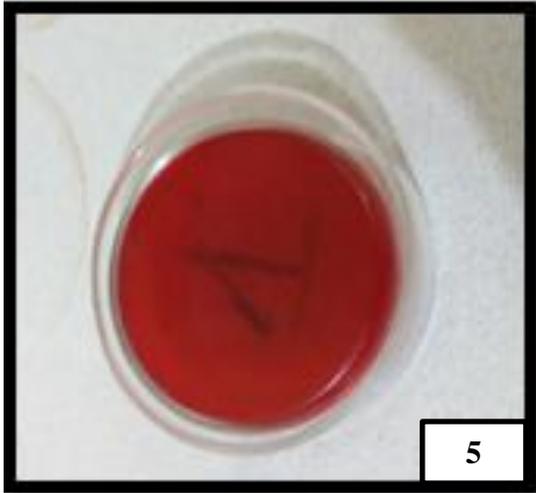
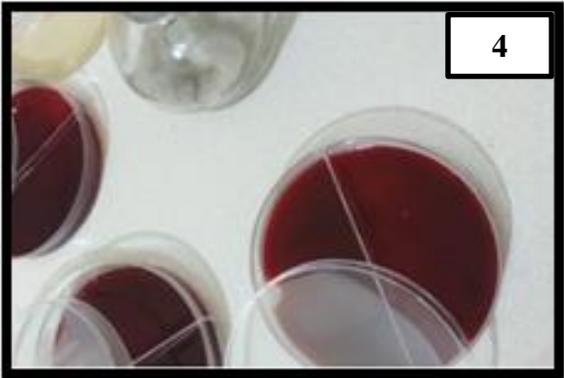
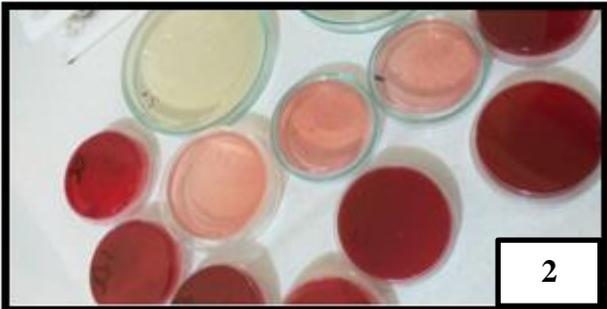
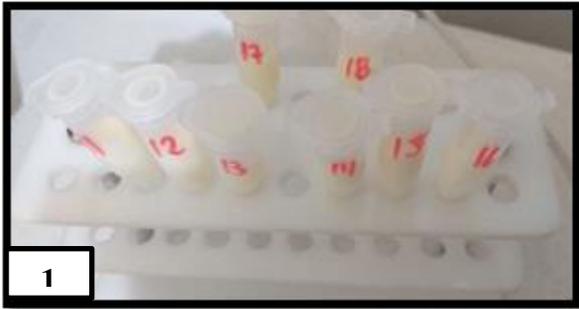


**Fuente:** 1 – 4 elaborado por la autora (2020).

1. Ordeñar los primeros chorros de leche y eliminar.
2. Ordeñar dos cc de leche en cada pocillo del test. Inclinar la paleta para eliminar el exceso de leche.
2. Se mezcla el reactivo con la leche, moviendo la paleta en forma circular durante 10 segundos.
3. Interpretación de resultados.

**Gráfico 2. Laboratorio – Cultivo y Antibiograma**

**2.1.Cultivo**

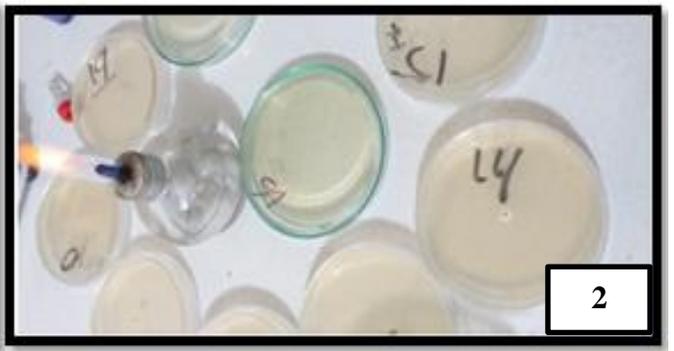


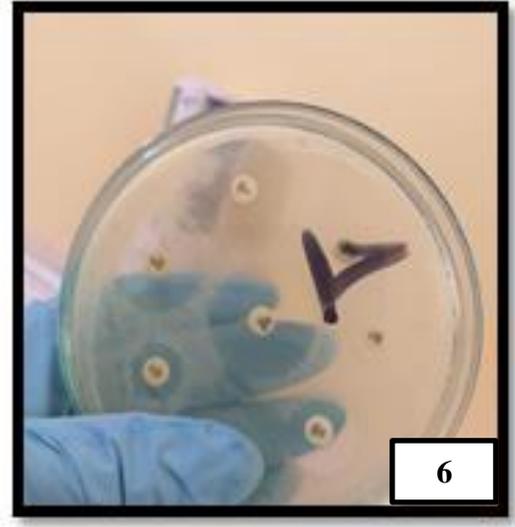
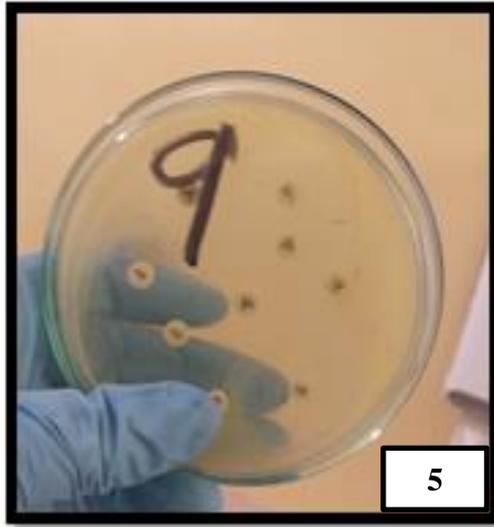


**Fuente:** 1 – 6 elaborado por la autora (2020).

1. Se coloca la leche en micro tubos con ayuda de una pipeta y se rotula.
2. Se prepara los Agares base sangre y MacConkey.
3. y 4. Con la ayuda de un hisopo se empapa de leche y se coloca en un cuadrante de la caja Petri. Con el asa bacteriológica se realiza la siembra en todos los cuadrantes del Agar.
5. Una vez finalizado la siembra se tapa la caja Petri, se identifica la muestra y se incuba a 37 °C de 24 a 48 horas.
6. y 7. Se observa crecimiento de colonias.

## 2.2.Antibiograma





**Fuente:** 1 – 6 elaborado por la autora (2020).

1. Se prepara el Agar Müller Hinton en caja Petri.
2. Se enciende el mechero de alcohol.
3. Realizar la siembra junto al mechero, esto para evitar contaminar y eliminar carga bacteriana.
4. Tapar la caja Petri momentáneamente.
5. Se coloca los discos de antibióticos con ayuda de una pinza, se identifica la muestra y se incuba a 37 °C de 18 a 24 horas.
6. Interpretación de resultados.

**Gráfico 3.** Extracción de sangre

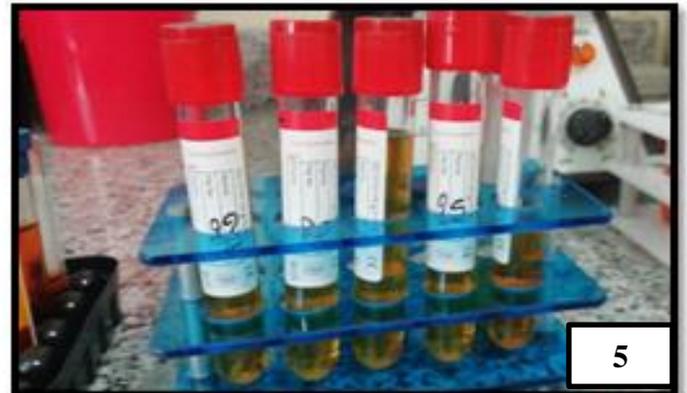
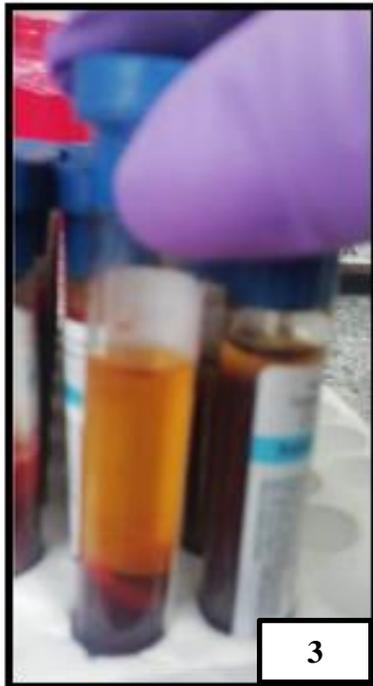




**Fuente:** 1 – 5 elaborado por la autora (2020).

1. Se localiza la vena yugular.
2. Se esteriliza la zona para realizar la punción.
3. Se extrae la sangre.
4. Se retira la aguja e inmediatamente colocamos algodón con alcohol.
5. Se coloca la sangre en tubos con citrato de sodio.

**Gráfico 4.** Laboratorio – Plasma

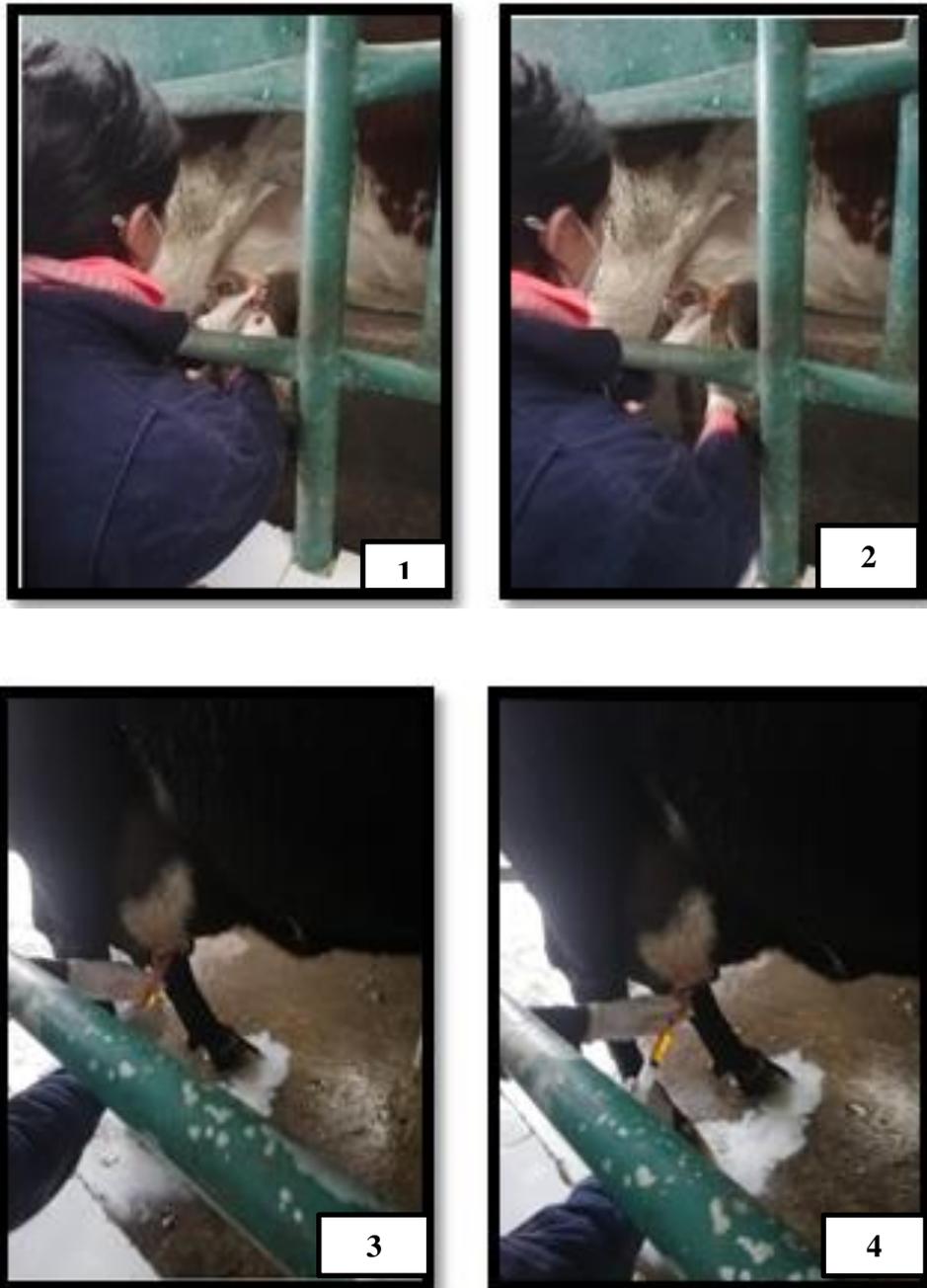


**Fuente:** 1 – 5 elaborado por la autora (2020).

1. Se coloca los tubos en una gradilla, previamente rotulados.
2. Las muestras se coloca en una centrifuga a 2.500 rpm durante 10 minutos.
3. Teniendo como resultado de 2 a 3 ml de plasma enriquecido en plaquetas.
4. Se separa el plasma por pipeteado a otro tubo de plástico dentro de los primeros 30 primero minutos de post- extracción

5. Plasma separado y colocado en tubos con anticoagulante (citrato de sodio).

**Gráfico 5.** Aplicación de plasma



**Fuente:** 1 – 4 elaborado por la autora (2020).

1. Una vez terminado el ordeño se procede a colocar la sonda intramaria.
2. Se espera un momento hasta que deje de salir leche.
3. Se coloca la jeringa con plasma en la sonda intramaria.
4. Se introduce poco a poco el plasma, para evitar daños en el pezón. Al final se saca con cuidado la sonda y se da leves masajes al pezón.

