UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

“Determinación de resistencia microbiana de patógenos causantes de Mastitis Bovina en hatos lecheros de la Parroquia de Machachi”

DOCUMENTO FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE MÉDICO VETERINARIO

AUTOR:

Erick Joel Toapanta Viteri

TUTOR:

Dr. Marco Antonio Rosero Peñaherrera Mg.

CEVALLOS, 2025

"Determinación de resistencia microbiana de patógenos causantes de Mastitis Bovina en hatos lecheros de la Parroquia de Machachi"

REVISADO POR

.....

Dr. Mg. Marco Antonio Rosero Peñaherrera

TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN

Fecha

..... 22/07/2025

Ing. Pedro Pablo Pomboza, PhD.

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

..... 22/07/2025

Dr. Mg. Gerardo Enrique Kelly Alvear

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

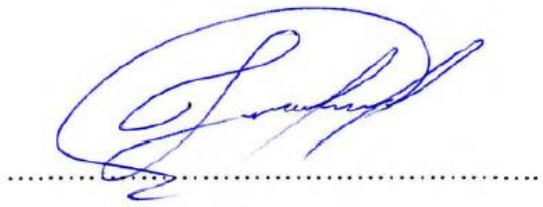
..... 22/07/2025

Dra. Sandra Margarita Cruz Quintana, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

AUTORIA DE LA INVESTIGACIÓN

El suscrito, **ERICK JOEL TOAPANTA VITERI**, portador de cédula de ciudadanía número: **1755145131**, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: **"Determinación de resistencia microbiana de patógenos causantes de Mastitis Bovina en hatos lecheros de la Parroquia de Machachi"** es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



ERICK JOEL TOAPANTA VITERI

AUTOR

DERECHO DE AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado **"Determinación de resistencia microbiana de patógenos causantes de Mastitis Bovina en hatos lecheros de la Parroquia de Machachi"** como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad. Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

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



ERICK JOEL TOAPANTA VITERI

AUTOR

DEDICATORIA

A papá y a mamá, por darme el aliento necesario para continuar día a día a lo largo de mi carrera universitaria, por el amor brindado siempre, por la ayuda siempre que la he necesitado, por el cuidado y la atención que me han sabido dar desde que tengo vida.

A mi hermano, por alegrar mis días, por ser la fuente de mi motivación en muchas ocasiones y por estar conmigo siempre y ser mi mejor amigo en esta vida.

A mis abuelitos, tíos y primos, quienes han estado a lo largo de mi carrera brindándome su apoyo incondicional en cada situación.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darme la vida, la energía, la mente, la sabiduría y el entendimiento necesario para levantarme cada día en mi carrera universitaria.

A mis padres y a mi hermano, a quienes estaré eternamente agradecido por su amor, su cariño y el apoyo que siempre me han dado en los momentos más difíciles y complicados que se han presentado, por creer en mí y ver mucho más de lo que no he visto en mí, por alentarme a ser un profesional y por no dejarme rendir jamás.

A mi familia, a quienes han estado pendientes de mi vida universitaria, de mi bienestar y mi prosperidad y han sabido estar presentes cuando he necesitado de su ayuda.

Al Dr. Juan Pablo Guaigua por guiarme en la elaboración de mi tesis, por ser un mentor en mi aprendizaje y brindarme su apoyo en cada momento que he precisado de su ayuda.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I **1**

1.1. Introducción **1**

1.2. Antecedentes investigativos **2**

1.3. Marco teórico **5**

1.3.1. Mastitis **5**

1.3.2. Manejo **8**

1.3.3. Patógenos causantes de mastitis **10**

1.3.4. Diagnóstico **13**

1.3.5. Buenas prácticas de ordeño **19**

1.3.6. Resistencia microbiana **20**

1.4. Objetivos **23**

1.4.1. Objetivo General **23**

1.4.2. Objetivos Específicos **23**

CAPÍTULO II **24**

METODOLOGÍA **24**

2.1. Ubicación del experimento **24**

2.2. Características del lugar **25**

2.3. Equipos y Materiales **25**

2.3.1. Equipos de Campo **25**

2.3.2. Equipos de Laboratorio **26**

2.3.3. Materiales de Laboratorio **26**

2.3.4. Equipos de Análisis de Datos **27**

2.4. Diseño experimental **27**

2.5. Hipótesis **28**

2.6. Manejo del experimento **28**

2.6.1. Fase en campo **28**

2.6.2. Fase en laboratorio **29**

2.7. Variables respuesta **34**

2.8. Procesamiento de la información **34**

CAPÍTULO III **35**

RESULTADOS Y DISCUSIÓN **35**

3.1. Análisis y discusión de los resultados **35**

3.1.1. Identificación de patógenos encontrados **35**

3.1.2. Sensibilidad de patógenos por medio de antibiograma **37**

3.1.2. Mediana sensibilidad de patógenos por medio de antibiograma **39**

3.1.3. Resistencia de patógenos por medio de antibiograma **40**

3.1.4. Análisis de calidad de leche mediante UFC/mL **42**

3.2. Verificación de hipótesis **47**

CAPÍTULO IV **49**

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES **49**

4.1. Conclusiones **49**

4.2. Recomendaciones **50**

BIBLIOGRAFÍA **51**

ANEXOS **57**

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Límite máximo de conteo de UFC. 19
Tabla 2: Valores referenciales de diámetros de halos para cada antibiótico utilizado. .. 33
Tabla 3: Patógenos bacterianos identificados. 35
Tabla 4: Sensibilidad de los tres patógenos encontrados frente a los 11 antibióticos seleccionados. 37
Tabla 5: Mediana sensibilidad de los tres patógenos encontrados frente a los 11 antibióticos seleccionados. 39
Tabla 6: Resistencia de los tres patógenos encontrados frente a los 11 antibióticos seleccionados. 41
Tabla 7: Calidad lechera UFC/mL del hato lechero A. 43
Tabla 8: Calificación obtenida de encuesta de buenas prácticas de ordeño del hato lechero A. 43
Tabla 9: Calidad lechera UFC/mL del hato lechero B. 44
Tabla 10: Calificación obtenida de encuesta de buenas prácticas de ordeño del hato lechero B. 44
Tabla 11: Calidad lechera UFC/mL del hato lechero C. 45
Tabla 12: Calificación obtenida de encuesta de buenas prácticas de ordeño del hato lechero C. 45
Tabla 13: Calidad lechera UFC/mL del hato lechero D. 46
Tabla 14: Calificación obtenida de encuesta de buenas prácticas de ordeño del hato lechero D. 46
Tabla 15: Valores de resistencia observados. 48
Tabla 16: Valores de resistencia esperados. 48

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ubicación de los hatos lecheros en la Parroquia de Machachi 24

RESUMEN

La investigación realizada tuvo como finalidad determinar la resistencia microbiana de bacterias causantes de mastitis bovina subclínica en 4 hatos lecheros de la parroquia de Machachi, provincia de Pichincha con un total de 251 muestras donde 23 dieron positivo para mastitis subclínica. Se recolectaron muestras de leche de vacas positivas al California Mastitis Test (CMT), provenientes de cuatro hatos lecheros. A través de cultivos bacterianos, tinción de Gram, pruebas bioquímicas y antibiogramas, se identificaron tres principales patógenos: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus dysgalactiae* y *Corynebacterium* spp. La sensibilidad antibiótica se evaluó mediante el método de difusión en disco, utilizando once antibióticos. Los resultados mostraron una sensibilidad del 100% a cefuroxima para las tres bacterias, al igual que con amoxicilina + ácido clavulánico. Se observó también alta sensibilidad a cefalexina, lincomicina y sulfatrimetoprim. En cuanto a la resistencia se obtuvo una resistencia frente a cloxacilina, estreptomicina y sulfatrimetoprim. El análisis del conteo de UFC/mL evidencio una calidad lechera óptima pese a la resistencia encontrada en algunos hatos lecheros. La prueba estadística con Chi-cuadrado confirmó que no existen asociaciones significativas entre las bacterias aisladas y su perfil de resistencia. El estudio evidencia la importancia de realizar pruebas de sensibilidad antes de aplicar tratamientos, promoviendo un uso responsable de los antibióticos y mejorando la eficacia en el control de mastitis subclínica.

Palabras clave: *RESISTENCIA MICROBIANA, MASTITIS SUBCLÍNICA, UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS, STREPTOCOCCUS DYSGALACTIAE, STAPHYLOCOCCUS SPP., CORYNEBACTERIUM SPP., SALUD ALIMENTARIA, ANTIBIOGRAMA, CULTIVO BACTERIOLÓGICO, MACHACHI.*

ABSTRACT

The purpose of the research was to determine the microbial resistance of bacteria that cause subclinical bovine mastitis in 4 dairy herds in the parish of Machachi, Pichincha province with 251 total cases where 23 were positive for subclinical mastitis. Milk samples were collected from cow's positive for the California Mastitis Test (CMT) from four dairy herds. Through bacterial culture, Gram staining, biochemical tests, and antibiograms, three main pathogens were identified: Staphylococcus spp., Streptococcus dysgalactiae, and Corynebacterium spp. Antibiotic susceptibility was evaluated by the disk diffusion method, using eleven antibiotics. The results showed 100% sensitivity to cefuroxime for the three bacteria, as well as to amoxicillin + clavulanic acid. High sensitivity was also observed to cephalexin, lincomycin, and sulfatrimethoprim. Regarding resistance, resistance was found against cloxacillin, streptomycin, and sulfatrimethoprim. Analysis of CFU/mL showed optimal milk quality despite the resistance found in some dairy herds. The chi-square test confirmed no significant associations between the isolated bacteria and their resistance profile. The study highlights the importance of performing sensitivity testing before applying treatments, promoting responsible use of antibiotics and improving the effectiveness of subclinical mastitis control.

Keywords: *MICROBIAL RESISTANCE, SUBCLINICAL MASTITIS, COLONY-FORMING UNITS, STREPTOCOCCUS DYSGALACTIAE, STAPHYLOCOCCUS SPP., CORYNEBACTERIUM SPP., FOOD HEALTH, ANTIBIOGRAM, BACTERIOLOGICAL CULTURE, MACHACHI.*

CAPÍTULO I

1.1. Introducción

La resistencia antibacteriana en casos de mastitis bovina es un problema creciente a nivel mundial que afecta a la salud del ganado y a la producción lechera. Esta condición es particularmente grave debido a la prevalencia de *Staphylococcus aureus*, un patógeno que ha desarrollado alta resistencia a múltiples antibióticos. En países como México, se han reportado niveles alarmantes de resistencia, alcanzando hasta el 100% en cepas aisladas de mastitis, lo que quita eficacia al tratamiento empleado para la enfermedad **(Guzmán et al., 2021).** Igualmente, en China, se han reportado tasas de resistencia a penicilina del 84% y a otros antibióticos de uso frecuente como la tetraciclina y eritromicina **(Yang et al., 2020)**.

En Ecuador, se han identificado diversas especies de bacterias responsables de esta enfermedad, entre ellas Staphylococcus aureus, que presenta altos niveles de resistencia a antibióticos comunes. Tal es el caso de un estudio realizado en la provincia de Cañar donde se encontró resistencia del 95,65% en un antibiótico en específico y un 43,47% a varios antibióticos **(Cuenca et al., 2023).** En nuestro entorno, propietarios y productores lecheros desconocen sobre las causas de casos de mastitis debido a que la información es muy limitada en cuanto al diagnóstico, tratamiento y prevención de esta patología.

Particularmente en provincias como Pichincha, donde se encuentran pequeños y medianos productores, la diversidad de microorganismos que causan mastitis complica el tratamiento. Investigaciones han demostrado la presencia de genes de resistencia en varias cepas, lo que sugiere un problema de multirresistencia **(Bonifaz et al., 2024)**. La falta de pruebas de sensibilidad antes del uso de antibióticos contribuye al fracaso en el

tratamiento, lo que agrava la situación y resalta la necesidad urgente de implementar practicas más sostenibles y efectivas en el manejo de la mastitis bovina en Ecuador.

La resistencia microbiana en cuanto al reconocimiento de leche con mastitis subclínica es un desafío importante para la salud pública, ya que puede poner en peligro la efectividad de los métodos de tratamiento antibacteriano y promover la propagación de bacterias duraderas en la cadena alimentaria. La presencia de patógenos duraderos en la leche puede causar infecciones en personas que son difíciles de tratar al aumentar el riesgo de enfermedades de transferencia de alimentos. Además, el uso excesivo o inadecuado de antibióticos en el manejo de la mastitis puede favorecer el desarrollo de cepas resistentes, lo que no solo afecta la salud del ganado, sino que también plantea serios problemas para la seguridad alimentaria y la salud pública en general.

El presente trabajo establecerá el reconocimiento de las principales bacterias en casos de mastitis subclínica y la resistencia que presenten cada una; con lo cual se pretende crear consciencia en cuanto al uso de antibióticos. Este estudio le permite determinar; diagnosticar el cultivo bacteriano y las vacas de antibiograma con mastitis; En estos casos, la existencia de las bacterias encontradas y, a su vez, la durabilidad que tienen frente a los antibióticos, a menudo utilizados en los alimentos para ganado. **(Castañeda Vázquez et al., 2024)**.

1.2. Antecedentes investigativos

(Miranda Quezada & Morales-Cauti, 2022) describen en su artículo científico "Evaluación de la resistencia antibiótica de bacterias aisladas de mastitis subclínica en bovinos de establos lecheros de Lurín, Lima" la determinación de resistencia de patógenos bacterianos aislados se encontraron a *Klebsiella oxytoca, Enterobacter-cloacae y Streptococcus agalactiae*, donde la resistencia a antibióticos reflejó resultados contra cefatolina, enrofloxacina, cefalexina, tretraciclina, penicilina, estreptomicin, amikacina y gentamicin.

(Martínez et al., 2021) mediante el articulo con tema "Resistencia antibiótica y sensibilidad en aislamientos de bacterias en mastitis en vacas lecheras en Honduras" realizó estudios donde evidenció la resistencia bacteriana a antibióticos de uso común donde se examinaron 15 antibióticos como amoxicilina + ácido clavulánico, ampicilina, ceftiofur, ceftriaxona, enrofloxacina, ciprofloxacina, oxaciclina, doxiciclina, neomicina, trimetropin + sulfa, gentamicina, tetraciclina, eritromicina y penicilina.

(Quispe et al., 2020) reconocieron el uso indiscriminado de antibióticos por lo que por medio de su artículo "Resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus y Steptococcus agalactiae* aislados de leche de vacas con mastitis" realizaron el aislamiento, identificación y antibiograma de las bacterias mencionadas en el tema del artículo donde se vieron resistentes a amoxicilina + a. clavulánico, penicilina, amoxicilina, tetraciclina y cefalexina.

(Flores et al., 2021) notaron la alta carga de resistencia antimicrobiana por lo que su estudio "Efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de Eucalipto *Euca globulus* en bacterias aisladas de vacas con mastitis" buscan una alternativa para combatir a 8 cepas sometidas al estudio de las siguientes bacterias Gram Positivas *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* coagulasa negativa y Gram Negativas *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* expuestas al extracto hidroalcohólico de eucalipto donde se encontró un buen efecto antimicrobiano.

(Franco, 2020) identificó bacterias y la resistencia que presentaban, en muestras de leche cruda a partir de bovinos con mastitis subclínica y clínica en su estudio basado en la detección de algunos agentes microbianos encontrados en producciones lecheras que tengan casos de mastitis y que tengan muestras aisladas, donde se aislaron las siguientes bacterias *Streptococcus dysgalactiae, Streptococcus uberis, Enterococcus faecium, E. gallinarum, Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Staphylococcus* coagulasa negativos (SCN*), Pseudomonas aeruginosa, Kocuria kristinae.*

(Rosero et al., 2025) valoraron la resistencia bacteriana en su estudio en mastitis subclínica en vacas Holstein en Ecuador. Sus análisis detallan la existencia de patógenos Gram positivos como *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp., en cuanto a patógenos Gram negativos encontraron *Escherichia* spp. y *Klebsiella* spp. Dentro del grupo de análisis realizado a 90 vacas en lactación los autores lograron determinar una resistencia frente a la penicilina con un 65.5%.

(Hurtado & Cruz, 2023) identificaron patógenos como: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* spp. y *Corynebacterium* spp. en la Finca Santa Rosa de la UNA ubicada en Managua. Su estudio detalla la vigilancia y el comportamiento de estas bacterias al estudiar su resistencia y mecanismos de resistencia. En cuanto a *Klebsiella* spp. hallaron una resistencia significativa frente a Eritromicina y Penicilina, *Corynebacterium* spp. manifestó resistencia ante Amoxicilina + ácido clavulánico y *Streptococcus* spp. no reflejó ninguna resistencia frente a los antibióticos utilizados.

(Alverti et al., 2021) realizaron un estudio en la provincia de Buenos Aires, Argentina donde determinaron la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* frente agentes antimicrobianos de muestras de leche con mastitis subclínica de vacas de raza Holstein. De un total de 44 muestras de leche se encontró un 2,27% de resistencia frente a Clindamicina y Eritromicina, por otro lado, un 95,45% manifestó una sensibilidad notoria frente a todos los antibióticos que los autores utilizaron.

(Inestroza et al., 2020) elaboraron una investigación que se basó en la determinación de la eficacia de tres marcas de selladores que se usan a nivel del pezón versus la presencia de mastitis subclínica en bovinos lecheros. Con un total de 360 observaciones, los resultados arrojaron niveles de protección contra mastitis subclínica entre el 82,5% y 89,16% donde se resalta la presencia de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp y *Staphylococcus* coagulasa-negativa. Todos los patógenos encontrados presentaron una resistencia muy marcada frente a Penicilina G y Ampicilina.

(Bedoya, 2024) evaluó la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* en vacas lecheras y a su vez la presencia de este patógenos en la cavidad nasal y vestimenta de los ordeñadores en el cantón Quero. Con una recolección de 80 muestras en total y 28 positivos a mastitis subclínica, 12 con la presencia de la bacteria anteriormente mencionada se obtuvo una resistencia de 8,3% a Clindamicina, 25% a Novobiocina y 16,6% a Linezolid. En cuanto a las muestras de los ordeñadores, se encontró resistencia de *Staphylococcus aureus* frente a gentamicina, rifampicina, clindamicina y novobiocina.

1.3. Marco teórico

1.3.1. Mastitis

De acuerdo a **(Philpot & Nickerson, 2002)** la definición de la palabra mastitis proviene del vocabulario griego donde se identifica al término *mastos* en referencia a "mama" y a la inflamación de esta como *itis*. Dicha patología puede deberse a: lesiones o traumas a nivel de la glándula mamaria, afecciones con químicos y en su mayoría a infecciones provocadas por patógenos, en este caso bacterias. En respuesta a la infección se desencadena un mecanismo de defensa por medio de una reacción inflamatoria que busca la eliminación de estos patógenos, reparación de tejidos lacto productores y neutralización de toxinas.

1.3.1.1. Infección de la glándula mamaria

La infección que ocurre en el interior no perturbada se da de la siguiente manera: Primero, los patógenos invaden el canal del pezón; En segundo lugar, estos patógenos se multiplican en los tejidos responsables de producir leche; tercero, se diseminan toxinas propias de los microorganismos invasores **(Philpot & Nickerson, 2002)**. **(Wagener et al., 2018)** explican que una vez dados estos procesos, comienza una respuesta inmunológica a cargo de los macrófagos alveolares quienes se encargan de fagocitar patógenos que han ingresado a la cisterna y en el canal del pezón. Se liberan citoquinas

pro inflamatorias encargadas de facilitar el reclutamiento neutrofílico en dirección al sitio de la infección, se encuentra a: IL-6, IL-1b y TNF-alfa.

1.3.1.2. Mastitis subclínica

La mastitis subclínica se describe como una forma de infección a nivel interno de la glándula mamaria que no ha sido acompañado de signos clínicos obvios, pero se caracteriza por identificar el aumento del recuento de células somáticas en la leche y una disminución en la calidad y la cantidad de leche en los hatos. Los patógenos asociados a la mastitis subclínica son: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus* spp. **(Herencia & Mamani-Mango, 2022)**. **(Ruíz & Sandoval, 2018)** comentan que debido a la complejidad de detección de esta fase de la mastitis se recomienda usar métodos como el conteo de células somáticas y pruebas con mayor grado de especificidad como la prueba de mastitis California (CMT).

1.3.1.3. Mastitis clínica

(López et al., 2022) comentan que esta infección se identifica en el nivel de leche o en la ubre de que el ojo clínico del asesor puede demostrarse fácilmente que la enfermedad progresa, la gravedad de la mastitis clínica puede variar considerablemente. Existen cuartos que presentan hinchazón y enrojecimiento, dependiendo de la severidad de la infección también es notorio el dolor. La presencia de secreción serosa, rebaños ensangrentados y piezas de leche puede ser propiedad de esta condición de intramamaria. Por otro lado, **(Philpot & Nickerson, 2002)** exponen que la mastitis clínica por lo general es ocasionada por estreptococos, coliformes o estafilococos.

1.3.1.3.1. Mastitis clínica subaguda

En esta etapa de inflamación, la vaca no mostrará signos sistémicos que reflejen la presencia de esta enfermedad, en cuanto a la apariencia de la leche se puede reconocer flóculos, grumos y un aspecto descolorido **(Philpot & Nickerson, 2002)**. Dentro del cuarto infectado causada por una condición, puede encontrar sensibilidad al toque, leve o sin su presencia, acompañada de enrojecimiento e hinchazón. Para **(Andresen, 2001)** esta fase puede distinguirse de la mastitis clínica mediante la no identificación de síntomas y signos que comprometan el sistema, solo se pueden hallar inflamaciones focalizadas en la ubre.

1.3.1.3.2. Mastitis clínica aguda

En esta enfermedad es común que su aparición sea repentina, el cuarto afectado se caracteriza por presentar endurecimiento, enrojecimiento e hinchazón acompañado de sensibilidad al tacto. Por otro lado, la leche presenta un aspecto sangriento, purulento, seroso y en ocasiones aguachento; como es de esperarse, la producción disminuye marcadamente. En esta etapa, si podemos encontrar síntomas que afecten el sistema de lo que es: hipomotilidad ruminal, pulso incrementado, estado febril a nivel rectal, anorexia, deshidratación, diarrea, depresión, agitación y debilidad **(Philpot & Nickerson, 2002)**.

1.3.1.3.3. Mastitis clínica hiperaguda

Este tipo de infección intramamaria, aunque rara vez su manifestación podría ser mucho más grave que la anterior. Por lo general, a la vez, tiene síntomas similares a aquellos con mastitis clínica aguda, pero debido a la gravedad se puede encontrar: septicemia, shock, pérdida del reflejo de la pupila, extremidades frías, incoordinación muscular y fibrosis de ubre **(Philpot & Nickerson, 2002)**. Debido a la complejidad de la enfermedad **(Erskine, 2020)** explica que estos casos precisan una atención inmediata dónde la fluidoterapia es la primera opción, aunque existen casos donde las vacas no responden al tratamiento y sucumben.

1.3.1.4. Mastitis crónica

Para **(Tang Ploog, 2020)** la mastitis crónica por como su nombre lo indica es una infección que se prolonga en el tiempo, por lo general empieza como una clásica mastitis clínica y en menor frecuencia en algunos casos de una mastitis subclínica. Se puede observar algunos signos y síntomas, como reducir la producción de leche, cambios en el espacio y el tamaño que tienen en condición de curación y un tejido con características de cicatriz que se desarrolla en la progresión.

1.3.1.5. Mastitis no específica

La mastitis no específica contraria a las demás no posee un microorganismo en la casuística de su infección, por lo que, también es conocida como mastitis no bacteriana o aséptica. Se caracteriza por tener un aumento en el recuento de células somáticas, pero no se logra identificar al patógeno que causa la enfermedad al momento de realizar cultivos de las muestras obtenidas de la leche **(Bolaños et al., 2012)**.

1.3.2. Manejo

(Scaramelli & González, 2021) describen que la mastitis es considerada una enfermedad sumamente compleja de controlar por lo que, el éxito de los programas de control frente a esta enfermedad se basa en la prevención de la aparición de esta patología y eliminar las reportadas. La reducción de las infecciones latentes se puede conseguir mejorando notablemente la higiene del hato lechero y los procesos que se desarrollan a fin de la producción lechera y aumentando la resistencia de las vacas frente a una posible infección, de manera que se evite que el patógeno tenga acceso al canal del pezón.

1.3.2.1. Factores Nutricionales

La alimentación/nutrición juega un papel que muchos propietarios no tienen en cuenta, pero una dieta extremadamente importante y desequilibrada puede crear un equilibrio energético negativo que pueda inhibir la inmunidad del animal a la presencia de esta patología. **(Aguilar & Álvarez, 2022)** explican que, dentro de los factores nutricionales, la ausencia de vitamina E y selenio pueden ser las principales causas de la aparición de la mastitis debido a que ambos ayudan como antioxidantes y controlan el daño celular causado por radicales libres presentes en la infección intramamaria.

1.3.2.2. Factores Genéticos

(Philpot & Nickerson, 2002) mencionan que la genética ocupa un rango del 15 al 25% en cuanto al rendimiento productivo de las vacas. Existe una correlación importante en base a la mastitis y la genética, obteniendo un valor de 30% indicando que al tener vacas de alto rendimiento productivo existiría la probabilidad en ese valor de tener mastitis en dichas vacas. Estudios realizados por **(Zambrano et al., 2011)** detallan que genes del sistema inmune son participes de la susceptibilidad a encontrar casos de mastitis subclínica, dichos genes presentan alelos como DRB3.2*8 y DRB3.2*33 derivados de BoLA (*bovine leukocyte antigen*).

1.3.2.3. Factores Físicos

La incidencia de mastitis por medio de factores físicos se basa en gran mayoría por la higiene de la sala del ordeño y principalmente de la ubre, las condiciones para que se lleve a cabo el ordeño deben ser asépticamente optimas en el establo. Además, el uso inadecuado y la ausencia de mantenimiento de las máquinas de ordeño pueden influir en el daño e irritación de las glándulas mamarias **(Ramírez, 2015)**.

1.3.3. Patógenos causantes de mastitis

(Philpot & Nickerson, 2002) explican que alrededor de 140 patógenos de distintas clases son capaces de causar mastitis, todos con grandes capacidades de proliferación ya sea en el entorno en el que se encuentren o en su huésped (vaca). Es importante reconocer que para que la mastitis se desarrolle tiene que existir la interacción entre el patógeno, el ambiente y en este caso la vaca. Por lo general, dentro de los microorganismos que pueden infectar hallamos a levaduras, hongos, raras veces virus, algas, micoplasmas y bacterias; a su vez se pueden agrupar en cuatro estratos: oportunistas, ambientales, contagiosos y otros.

1.3.3.1. Patógenos contagiosos

Estos microorganismos se suelen transmitir de cuartos que sufren de una infección a cuartos que no están infectados por medio de la leche al momento de realizar el ordeño, por lo general, el medio suele ser las manos del operador, papel que se usa para limpiar las ubres y mediante el colector del ordeño mecánico **(Yera & Ramírez, 2016)**. A continuación, serán detallados los patógenos contagiosos más comunes.

1.3.3.1.1. *Corynebacterium bovis*

Esta bacteria se caracteriza por presentar infecciones intramamarias con un aumento no tan marcado del recuento de células somáticas, **(Philpot & Nickerson, 2002)** establece un rango de 200.000 a 400.000/ml. En casos de mastitis provocados por *Corynebacterium bovis* se ha reportado que el factor que desencadena la infección está asociado a no realizar el sellado después del ordeño y un escaso tratamiento dirigido a las vacas secas **(Bedolla Cedeño, 2017)**.

1.3.3.1.2. *Mycoplasma bovis*

Una mastitis provocada por esta bacteria suele darse mediante cultivos bacterianos que no proliferan o son negativos en cuanto a la identificación del patógeno, las muestras son obtenidas de leche de vacas que presentan síntomas notables. Por lo general, las propiedades que esta bacteria produce a partir de resistencia pronunciada a los antibióticos, la secreción purulenta en espacios infectados, las infecciones entre el rebaño y el rendimiento se ve afectado por la enfermedad repentina **(Valle Sánchez, 2022)**.

1.3.3.1.3. *Staphylococcus aureus*

Conocida por tener una apariencia a un racimo dorado de esferas y tomar su nombre de ahí, **(Blowey & Edmondson, 2010)** detallan que esta bacteria tiene la habilidad de colonizar rápidamente pezones cuarteados debido a lesiones que se originan debido a que *Staphylococcus aureus* tiene la capacidad de crecer en la queratina del canal del pezón. Su transmisión se lleva a cabo y través de las manos del operador y usando papel de limpieza de ubres, teniendo en cuenta esto los exámenes reflejarían un aumento de células somáticas.

1.3.3.1.4. *Streptococcus agalactiae*

A diferencia de las anteriores bacterias, este patógeno puede diseminarse mediante terneras en grupo que son amamantadas en corrales, de manera que se infectan entre ellas de esta bacteria presente en el calostro o leche común. De igual manera, se la puede encontrar en superficies como la cama de los animales, las manos del ordeñador y la máquina de ordeño. **(Philpot & Nickerson, 2002)** reportan que un solo cuarto que posea *Streptococcus agalactiae* dentro de un hato de 100 vacas puede incrementar el RCS de un tanque frio a un monto mayor a 100.000/ml acompañado de signos clínicos como el cambio en el tono de la leche.

1.3.3.2. Patógenos ambientales

Existen tres grupos de bacterias que se reconocen como los principales patógenos causantes de mastitis derivada del ambiente, entre ellos: enterococos, coliformes y algunas especies de *Streptococcus* como *Streptococcus dysgalactiae y Streptococcus uberis.* Es importante mencionar que la mayoría de veces que se tiene esta enfermedad presente las infecciones se vuelven clínicas por lo que la leche se debe descartar, sin embargo, la prevalencia de mastitis ambiental no sobrepasa el 5% de casos **(Ondiek & Kemboi, 2018)**.

1.3.3.2.1. Coliformes

Dentro del grupo de las bacterias coliformes se encuentran los géneros: *Enterobacter, Klebsiella* y *Escherichia* que por lo general se encuentran alojados en superficies como el suelo y la cama estando también en el estiércol y agua contaminada. Las infecciones causadas por este patógeno generalmente se dan más a menudo al principio y al final de la etapa seca ya al parir. En muchos casos, esta enfermedad ocurre porque no hay controles de tiempo con respecto al parto y el ordeño, vacas secas en un entorno sucio y húmedo y malas prácticas en referencia al secado **(Castañeda Vázquez et al., 2024)**.

1.3.3.2.2. Estreptococos ambientales

Estos microorganismos se desarrollan en el entorno de la vaca y las más susceptibles suelen ser las vacas que se encuentran en su periodo de seca, superando al periodo de lactancia. Con un ambiente que favorece a su proliferación se debe evitar el uso de esponjas sucias, un ordeño húmedo y una estabulación no adecuada. Es importante mencionar que dentro de las producciones la identificación de cuartos que poseen la infección es muy bajo, teniendo casos donde la patología dura menos de 30 días. En reportes de casos clínicos se puede encontrar leche descolorida y un cuarto afectado con una hinchazón moderada, además de flóculos o grumos **(Bolaños et al., 2012)**.

1.3.3.3. Patógenos oportunistas

(Philpot & Nickerson, 2002) describen que existen más de 20 especies de estafilococos que componen este grupo de bacterias, se excluye a *Staphylococcus aureus* para denominar al grupo en general como *Staphylococcus* sp o a su vez estafilococos coagulasa negativa. Sus infecciones suelen ser leves y se ven acompañadas de síntomas clínicos escasos y en el caso de hallarlos se observan flóculos y grumos en la leche. *Staphylococcus* sp se aloja en las manos del operador del ordeño y en la piel sana del pezón, esto le permite tener una vía óptima para penetrar los tejidos de secreción láctea y colonizar el pezón. Por otro lado, estafilococos coagulasa negativa se encuentra en su mayoría en etapas del periodo seco, en periodos de lactancia y al momento del parto.

1.3.3.4. Otros patógenos

Se puede hallar otros patógenos debido a procedimientos deficientes al momento de utilizar tratamientos basados en antibióticos, dentro de ellos están bacilos, algas, mohos y levaduras, por otro lado, también están presentes microorganismos como: *Mycobacterium* sp, *Nocardia* sp, *Arcanobacterium pyogenes* y *Pseudomonas* sp. Cabe mencionar que la presencia de mastitis por estos patógenos es baja y solo se da cuando la exposición a uno de estos patógenos se incrementa **(Aguilar & Álvarez, 2022)**.

1.3.4. Diagnóstico

Para realizar un diagnóstico preciso de la mastitis bovina es preciso realizar la debida observación de signos clínicos en la leche y en la ubre, así como en pruebas específicas que ayudan a su detección como el RCS (recuento de células somáticas), cultivos microbiológicos, análisis de conductividad eléctrica y la prueba de California (CMT). La importancia de un diagnóstico eficaz y oportuno radica en la identificación de la causa y el tipo de la infección latente en el hato para poder optar por un tratamiento objetivo que corrija esta patología. Un diagnóstico adelantado evita complicaciones

graves, reduce pérdidas económicas y ayuda a la sostenibilidad de los distintos hatos lecheros **(Córdova-Izquierdo et al., 2019)**.

1.3.4.1. Pruebas físicas en campo

1.3.4.1.1. Prueba de fondo oscuro

La prueba de fondo oscuro, conocida por sus otros nombres como strip cup o tasa probadora, resulta ser un método fácil y rápido de manejar para determinar un diagnóstico de mastitis bovina previo a realizar el ordeño. El método consiste en obtener los primeros mililitros de leche de todos los cuartos en un fondo oscuro y evaluar la presencia de escamas, sustancias de fibra, coagulas, piezas, golpes, secreciones acuosas que indican leche asociada a una posible infección que termine en mastitis **(Blowey & Edmondson, 2010)**.

1.3.4.1.2. Prueba de mastitis california test (CMT)

Esta prueba de diagnóstico se basa en la estimación del recuento de células somáticas de la leche, se puede realizar de manera sencilla al pie de la vaca para la detección de la mastitis subclínica. Agregar esta solución a una muestra derivada de la leche provoca una membrana citoplasmática y núcleo de neutrófilos rotos, por lo que el núcleo está aglutinando el ADN, lo que da como resultado la gelificación **(López et al., 2022)**. Los valores del CMT van de la mano con el RSC de la leche, por lo que cuando más severa es la infección, el RCS será mayor y **(Philpot & Nickerson, 2002)** explican que cuando un recuento es superior a 200.000/ml, se determinaría anormalidades en la ubre.

1.3.4.1.3. Prueba de papel indicador

Este procedimiento químico consiste en aplicar gotas de leche recién ordeñada del pezón directamente en un papel de diagnóstico para la mastitis en bovino. Si la leche tiene un pH superior o equivalente a 7, el papel cambiará de color, lo que indicaría una potencial infección intramamaria. Al ser una prueba de uso rápido su eficacia se ve reducida en un 50%, detectando leches infectadas tanto en mastitis clínica como subclínica **(Bedolla, 2007)**.

1.3.4.1.4. Prueba mediante examen físico de la ubre

El examen físico debe realizarse con la ubre en total asepsia después de haber realizado el ordeño. La ubre es examinada con la finalidad de identificar cuartos individuales que presenten hinchazón, estén calientes y duros a causa de la mastitis. Por otro lado, es fundamental examinar a la glándula mamaria en busca de malformaciones a nivel de cuartos, lo ideal sería no encontrar atrofias o áreas que presenten tejido cicatrizal. Si se diagnostica uno de estos trastornos o más, se produce un daño permanente en los tejidos responsables de liberar leche debido a una inflamación crónica **(Philpot & Nickerson, 2002)**.

1.3.4.2. Pruebas de laboratorio

Realizar pruebas bacteriológicas en el laboratorio resulta necesario para reconocer microorganismos infecciosos que se encuentran alojados dentro del canal intramamario en casos de mastitis, además de distinguir entre animales que poseen una mastitis subclínica de los que se encuentran libre de esta patología. Para que los resultados sean precisos se debe procurar mantener la debida inocuidad al momento de obtener las muestras manejando una manipulación cuidadosa en cuanto a cuidados sanitarios. La extracción de muestras debe realizarse descartando entre dos a tres chorros de leche, previo a esto las ubres deben estar desinfectadas mediante el uso de alcohol para después

colectar muestras en recipientes esterilizados que serán congelados para su entrega al laboratorio **(Bedolla, 2007)**.

1.3.4.2.1. Medios de cultivo

1.3.4.2.1.1. Medios selectivos

Este tipo de medios contribuyen en la selección de determinados microorganismos de modo que los microorganismos que no son de interés no se desarrollen en estos medios. Esta selección se logra agregando sustancias que tienen éxito inhibiendo, por ejemplo: colorantes, sales biliares, antibióticos, azida de sodio, etc. Dentro de los ejemplos de estos medios se encuentran: medio hiper-salado de Chapman utilizado para identificar a *Staphylococcus*, agar sangre combinado con neomicina y polimixina B para aislar estreptococos hemolíticos del grupo A. Un diagnóstico eficaz siempre recurre a el uso de medios de cultivo selectivos, debido a que crecen bacterias determinadas para poder identificarlas mediante un examen microscópico **(Stanchi et al., 2007)**.

1.3.4.2.1.2. Medios básicos

Dentro de estos medios se destaca al agar Mueller Hinton, se caracteriza por su especialidad en favorecer el crecimiento de bacterias mediante nutrientes necesarios, también posee una equitativa y sencilla propagación de antibióticos en el medio de cultivo. Por lo general es utilizado para el proceso de antibiograma debido a que es el medio ideal donde los agentes antimicrobianos pueden difundirse de mejor manera **(Quinn et al., 2018)**.

1.3.4.2.1.3. Medios enriquecidos

Los medios enriquecidos se distinguen por contener agregados se sustancias que elevan su capacidad de nutrición, podemos sustancias como vitaminas, extractos de levaduras, suero, sangre todas en proporciones del 1 al 10%. Se caracteriza por ser usado para microorganismos exigentes como micoplasmas y estreptococos, cabe recalcar que no

es lo mismo que un medio de enriquecimiento. Entre los más utilizados en el medio encontramos al agar sangre que tiene su origen mediante la sangre de oveja y en algunos casos de vacas. Por otro lado, está el medio infusión de cerebro corazón, cuyas características se basan en ser un medio liquido dedicado al cultivo únicamente de bacterias **(Stanchi et al., 2007)**.

1.3.4.2.1.4. Medios diferenciales

(Stanchi et al., 2007) detallan que los medios diferenciales se encargan de marcar diferencia mediante la bioquímica, de manera que las bacterias son diferenciadas por su actividad metabólica. El proceso se base en la utilización de un sustrato encargado de reaccionar en base a la bacteria dependiendo de su actuación, se podrá determinar dicha actividad por medio del pH del medio y la variación que presente o por la actividad enzimática que cambia el aspecto de este medio de cultivo.

Dentro de los medios diferenciales encontramos a: agar citrato de Simmons, encargado de diferenciar bacterias entéricas Gram-negativas; ureasa, utilizada en reconocimiento de bacterias que usan la urea como es el caso de *Shigella*, *Salmonella* y *Proteus*; coagulasa, obtenida del plasma de conejo; catalasa, compuesta de Peróxido de Hidrógeno al 3% **(Quinn et al., 2018)**.

1.3.4.2.2. Siembra de muestras

El proceso de siembra o también denominado inoculación, se enfoca en la introducción artificial de una porción de cualquier muestra en uno de los medios descritos previamente, dando paso al comienzo de un cultivo microbiano. Para que este cultivo pueda desarrollarse en cuanto a crecimiento es esencial mantener una incubación a una temperatura ideal. La inoculación se puede desarrollar en un medio sólido, semisólido o líquido mediante el uso de una pipeta estéril, hisopo, asa o punta estéril **(Vadillo et al., 2019)**. Uno de los procesos comunes es la siembra por estrías en agar, empleada para analizar propiedades hemolíticas y la morfología de las colonias de microorganismos

presentes que han sido aislados; por otro lado, la siembra en tubo de ensayo también es un método ideal para la inoculación **(Stanchi et al., 2007)**.

1.3.4.2.4. Antibiograma

(Fernández et al., 2012) detalla que el procedimiento de antibiograma se fundamenta en la evaluación de la sensibilidad de una cepa bacteriana específica que podría o no ser la responsable de infectar uno o varios antibióticos. Este enfoque es esencial al evaluar la progresión de la resistencia que los patógenos generen. Frecuentemente se utiliza el agar Mueller-Hinton como medio de cultivo para realizar pruebas de sensibilidad en patógenos aeróbicos que suelen desarrollarse rápidamente. Para complementar el proceso se emplea el método Kirby Bauer, se caracteriza por medir el tamaño del halo de inhibición que presente el patógeno frente a una sola concentración de antibiótico.

1.3.4.2.5. Unidades formadoras de colonia

Esta técnica se emplea en casos de microbiología de alimentos y agua con la finalidad de identificar la calidad higiénica y la inocuidad; en este caso, realizar un recuento de bacterias mesófilas aerobias de la leche resulta ser una prueba crucial para tasar la calidad bacteriológica de la misma. Cabe mencionar que una ubre libre de enfermedades aporta no más de 1000 bacterias mesófilas/ml de leche **(Stanchi et al., 2007)**.

Para el proceso de UFC se elaboran diluciones de una muestra infectada de la cual se precisa saber el número de bacterias viables. Se realiza la inoculación de una porción de cada dilución previamente elaborada para darla sobre un medio sólido. Una vez se han incubado las diluciones, se procede con el conteo del número de colonias que han sido aisladas y este valor se multiplica por el factor de dilución, dando el resultado en un valor de bacterias por mililitro de muestra **(Stanchi et al., 2007)**.

Tabla 1: *Límite máximo de conteo de UFC.*

REQUISITO	LÍMITE MÁXIMO	MÉTODO DE ENSAYO
RECUENTO DE MICROORGANISMOS AERÓBIOS MESÓFILOS REP, UFC/cm ^{3}	1,5 x 10^6	NTE INEN 1529:-5

Fuente: (Instituto Ecuatoriano de Normalización, 2012).

1.3.5. Buenas prácticas de ordeño

La **(FAO, 2011)** detalla en su manual "*Buenas prácticas del manejo de la leche"* que el éxito de la leche de una excelente calidad depende de la aplicación de buenas prácticas de ordeño, dicho producto puede estar destinado para la fabricación de quesos, subproductos o consumo directo y, por ende, debe garantizarse un producto con alto grado de inocuidad saludable y fresco para el consumidor. La leche, además de no contener medicamentos por medio de la aplicación a las vacas en tratamientos, debe tener un sabor agradable, un olor normal a leche fresca, un color blanco y cremoso libre de sangre u otro color.

Por otro lado, **(Agrocalidad, 2012)** detalla tres etapas de importancia al momento de realizar el ordeño clasificadas de la siguiente manera:

- **Antes del ordeño:** Verificar la limpieza del lugar del ordeño, libres de agentes que puedan contaminar y de excremento; tener horarios fijos de ordeño y arrear a las vacas sin gritos y sin uso de perros; inmovilizar a la vaca precautelando la seguridad del ordeñador de modo que se evite accidentes; lavar brazos y manos para eliminar suciedad alojada en manos y uñas; revisar que los instrumentos y utensillos a usar no contengan residuos de agua y estén limpios; vestir ropa adecuada para el momento del ordeño de modo que proteja al operador.
- **Durante el ordeño:** Lavar los pezones con agua tibia y limpia; secar correctamente los pezones con papel para desechar; procurar que el ordeño se desarrolle en lapsos de 5 a 7 minutos; sellar los pezones empleando soluciones

desinfectantes (por ejemplo 2 partes de agua y 1 de yodo); al terminar el ordeño soltar al animal librándolo del estrés.

- **Después del ordeño:** Eliminar residuos de la leche mediante filtros después del ordeño; almacenar la leche en un ambiente frío y transportar inmediatamente la leche a su planta procesadora; utilizar detergentes para limpiar utensillos e instrumentos; limpiar el ambiente donde se desarrolló el ordeño eliminando agentes contaminantes y excremento haciendo uso de detergentes y agua; si el caso amerita, destinar el estiércol y orina de las vacas a compostaje.

1.3.6. Resistencia microbiana

La resistencia microbiana es un problema global que la humanidad ha afrontado a lo largo de la historia, en especial frente a agentes microbianos que representan una alta morbilidad en distintas poblaciones del mundo. Frente a esta problemática, los medicamentos antimicrobianos han salvado millones de vidas humanas y animales. De esa manera, se han elaborado distintos tipos de antibióticos: naturales, semisintéticos y sintéticos cada uno caracterizado por tener mecanismos de acción propios, con la capacidad de realizar cambios a nivel metabólico y fisiológico. Sin embargo, el mal uso de estos fármacos ha conducido a la generación de resistencia bacteriana que se considera un problema de salud que ha evolucionado a lo largo de los años **(Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica, 2021)**.

(Giono-Cerezo et al., 2020) explican que, al hablar de resistencia antimicrobiana se entiende que son procesos que afectan a la eficacia de los fármacos que se utilizan en tratamientos donde los agentes patógenos como: parásitos, hongos, virus o bacterias participan. Por ello, la resistencia bacteriana se considera como la capacidad de las bacterias para soportar y sobrevivir a los distintos medicamentos y sus respectivas concentraciones indicadas. En el caso de la genética se han reconocido distintos procesos para la comunicación entre bacterias que se han asociado a la resistencia, es así que **(Camacho, 2023)** detalla los siguientes procesos:

- Transducción: proceso que utiliza la transferencia de ADN proveniente el plasma o ADN cromosómico de una bacteria a otra por medio de un bacteriófago utilizado como transporte.
- Transformación: proceso que se basa en la incorporación mediante una bacteria de ADN libremente esparcida en el medio debido a que es producto de la lisis de otras bacterias.
- Conjugación: proceso que desarrolla un intercambio de material genético a través de contacto físico de dos bacterias.

Dentro de la resistencia bacteriana se subclasifican dos tipos: la resistencia natural y la resistencia adquirida. La resistencia bacteriana natural se origina de manera intrínseca, de manera que, se da por una falta de mecanismos de presión de selección antimicrobiana y no se distingue por presentarse en una especie en específico. Por otro lado, **(Camacho, 2023)** comenta que la resistencia bacteriana adquirida es una alteración en la composición genética que se desempeña por medio de los siguientes mecanismos:

- Alteración o cambio del sitio de unión debido a una pérdida en la afinidad, por lo que la acción del antibiótico se ve afectada, o la alteración de la permeabilidad de la bacteria de modo que se limita la entrada del medicamento.
- Neutralización del antibiótico por medio de enzimas que lo inactivan.
- Expulsión del antibacteriano por medio de un sistema de "eflujo" lo que conlleva a la limitación de la concentración del medicamento dentro de la célula.

La **(Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica, 2021)** detalla que existe una clasificación de resistencia bacteriana donde se describe: multirresistencia (MDR), donde existe una ausencia de sensibilidad de uno de tres antibióticos y sus familias cuya consideración se tome en cuenta para el tratamiento de

infecciones producidas por distintas especies de bacterias; resistencia extendida (XDR), donde no hay sensibilidad a por lo menos un antibiótico de todas las familias excepto una o dos; panresistencia (PDR), donde existe una ausencia total de la sensibilidad a antibióticos de todas las familias que comúnmente se usa para tratar a la bacteria causante de la infección.

La resistencia microbiana es un fenómeno complejo que depende de múltiples factores, como el uso indebido de antibióticos, la presión selectiva en ambientes clínicos y pecuarios, así como las capacidades intrínsecas de los microorganismos para adaptarse y sobrevivir. La resistencia a estos suele deberse a la producción de β-lactamasas por parte de bacterias como *Staphylococcus aureus*, *E. coli* o *Klebsiella spp.*, las cuales degradan el antibiótico antes de que cumpla su función. Aunque el ácido clavulánico inhibe estas enzimas, se han reportado cepas resistentes incluso a la combinación, especialmente en entornos donde hay uso extensivo del fármaco **(Giono-Cerezo et al., 2020)**.

La cefalexina y la cefuroxima pertenecen también al grupo de los β-lactámicos, pero a la familia de las cefalosporinas de primera y segunda generación, respectivamente. Aunque inicialmente fueron eficaces contra bacterias grampositivas y algunas gramnegativas, estudios en salud animal y humana han evidenciado una creciente resistencia, especialmente en *Enterobacteriaceae*. El mecanismo más frecuente es la modificación de las proteínas fijadoras de penicilina (PBP), lo que impide que el antibiótico actúe. Su uso profiláctico en algunos países ha contribuido al aumento de cepas resistentes **(Nicolaou & Rigol, 2018)**.

En cuanto a los aminoglucósidos, como la estreptomicina y la gentamicina, se ha reportado una resistencia notable, sobre todo en ambientes agropecuarios donde se han utilizado por décadas. Las bacterias pueden inactivar estos antibióticos mediante enzimas modificadoras (fosfotransferasas, adenililtransferasas), o disminuir su entrada a través de mutaciones en las porinas. La resistencia cruzada entre distintos aminoglucósidos también es común, lo que limita su eficacia en tratamientos empíricos **(Contreras-Omaña et al., 2021)**.

Antibióticos como la tetraciclina y el sulfatrimetoprim han sido ampliamente utilizados en producción animal, lo que ha favorecido la aparición de genes de resistencia plasmídicos como *tet(A)* y *sul1/sul2*, respectivamente. Estos genes permiten el bombeo activo del antibiótico fuera de la célula bacteriana o la síntesis de enzimas resistentes. La resistencia a tetraciclinas puede superar el 80% en algunas regiones, especialmente en *E. coli* aislada de bovinos. En el caso de sulfatrimetoprim, su eficacia se ha visto comprometida en infecciones urinarias y mastitis **(Huovinen, 2017)**. Por último, la cloxacilina, la lincomicina y nuevamente la penicilina, han mostrado limitaciones por la expansión de mecanismos como la metilación del ARN ribosomal (en el caso de lincomicina, del grupo de los lincosamidas) o por mutaciones cromosómicas que afectan las dianas de acción. La cloxacilina, aunque diseñada para resistir β-lactamasas, puede ser ineficaz frente a cepas meticilino-resistentes (*MRSA*) **(Contreras-Omaña et al., 2021)**.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo General

Determinar la resistencia microbiana de patógenos causantes de mastitis bovina en hatos lecheros de la Parroquia de Machachi.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Identificar a los patógenos causantes de mastitis mediante el proceso de cultivos bacterianos.
- Determinar la sensibilidad o resistencia de las bacterias encontradas mediante el antibiograma.
- Realizar un conteo de las unidades formadoras de colonias en los resultados bacteriológicos.

CAPÍTULO II

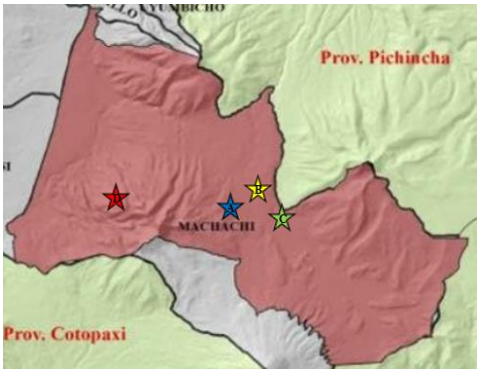
METODOLOGÍA

2.1. Ubicación del experimento

La ubicación del experimento se realizó en la provincia de Pichincha, cantón Mejía, parroquia Machachi ubicada a 2945 metros sobre el nivel del mar. Se encuentra en la latitud -0.51273 y longitud -78.57066 **(Geodatos, 2025)**. La fase de campo se desarrolló en 4 hatos lecheros ubicados en la parroquia de Machachi, en los sectores de Chanizas y Güitig.

A. Hacienda "Genoveva German" (AGSO), sector Güitig
B. Hacienda "La Merced de Gualilagua", sector Güitig
C. Hacienda "La Lola", sector Güitig
D. Hacienda "Puchalitola", sector Chanizas

Figura 1: *Ubicación de los hatos lecheros en la Parroquia de Machachi*



Fuente: (Caiza & Taipe, 2021)

La fase de laboratorio se realizó en las instalaciones del laboratorio veterinario VeteLAB, ubicado en la provincia de Pichincha, cantón Mejía, Parroquia de Machachi, Avenida Pablo Guarderas N9-72 y 10ma Transversal.

2.2. Características del lugar

De acuerdo a la clasificación regional del clima, Machachi está ubicado en un clima Mesotérmico húmedo, la temperatura y precipitación promedio anual es de 11.9°C y 1300 mm respectivamente, los meses más secos son junio, julio y agosto con precipitaciones promedio de 30 a 37 mm, la humedad relativa promedio es de 83%, los meses con menor humedad son de junio a septiembre **(Caiza & Taipe, 2021)**.

2.3. Equipos y Materiales

2.3.1. Equipos de Campo

- Guantes estériles
- Frascos estériles para recolección de leche
- Marcadores permanentes
- Nevera portátil
- Prueba de california mastitis test (cmt)
- Toallas desechables y solución desinfectante
- Overol
- Mascarillas
- Botas
- Registros de mastitis
- Fichas de examen clínico
- Encuestas
- Esferos

- Paleta para prueba de mastitis

2.3.2. Equipos de Laboratorio

- Campana de flujo laminar
- Incubadora bacteriológica
- Autoclave
- Microscopio óptico
- Centrífuga de laboratorio
- Baño maría
- Contador de colonias manual o digital
- Refrigerador (4°C)
- Micropipetas
- Mechero de Bunsen
- Cámara de incubación

2.3.3. Materiales de Laboratorio

- Agar sangre y Agar MacConkey
- Agar Mueller-Hinton
- Infusión Cerebro – corazón
- Discos de antibióticos: Cefuroxima, Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Tetraciclina, Cefalexina, Estreptomicina, Gentamicina, Cloxacilina, Lincomicina y Sulfatrimetoprim.
- Asas de siembra estériles
- Tubo de ensayo y gradillas
- Pipetas automáticas y puntas estériles

- Soluciones salinas estériles
- Portaobjetos y cubreobjetos
- Colorantes para tinción de Gram
- Reactivos bioquímicos
- Kits de identificación bacteriana

2.3.4. Equipos de Análisis de Datos

- Computadora con software estadístico (Excel)
- Impresora
- Cámara fotográfica

2.4. Diseño experimental

La presente investigación se realizó mediante un estudio experimental, transversal y descriptivo – analítico. El enfoque de este estudio es cuantitativo para medir la prevalencia de resistencia antimicrobiana. Se utilizó la fórmula para determinar el tamaño de la muestra finita de vacas que cumplan con los requisitos para realizar el California Mastitis Test, de modo que se optimice el uso de tiempo, gastos y recursos.

Dicha fórmula se detalla de la siguiente manera:

$$n = \frac{\mathrm{N} * Z^2 * p * q}{e^2(N-1) + Z^2 * p * q}$$

n = Tamaño de muestra buscado

N = Tamaño de la Población o Universo

z = Parámetro estadístico que depende el Nivel de Confianza (NC)

e = Error de estimación máximo aceptado

p = probabilidad de que ocurra el evento estudiado (éxito)

q = (1 – p) = Probabilidad de que no ocurra el evento estudiado

De esa manera, se pudo establecer un número de animales a muestrear con los respectivos criterios de inclusión, por lo que, de acuerdo a la fórmula de muestras finitas, en el primer hato lechero: Hacienda "Genoveva German" (AGSO) de 90 vacas en producción se muestrearon 83, en el segundo hato lechero: Hacienda "La Merced de Gualilagua" de 50 vacas en producción se muestrearon 48, en el tercer hato lechero: Hacienda "Puchalitola" de 55 vacas en producción se muestrearon 52, y en el cuarto hato lechero: Hacienda "La Lola" de 72 vacas en producción se muestrearon 68. Por lo que, de un total de 267 vacas en producción de los 4 hatos lecheros fueron muestreadas 251.

2.5. Hipótesis

Ho: Las bacterias aisladas de vacas con mastitis subclínica no muestran resistencia significativa a más de un antibiótico.

H1: Las bacterias aisladas de vacas con mastitis subclínica muestran resistencia significativa a más de un antibiótico.

2.6. Manejo del experimento

2.6.1. Fase en campo

Se procedió con la selección de una población de vacas lecheras diagnosticadas con mastitis subclínica en hatos lecheros ubicados en la parroquia de Machachi en sectores específicos (Güitig y Chanizas). Dentro de los criterios de inclusión se tuvo a vacas que presenten una prueba positiva en el California Mastitis Test (CMT). Por otro lado, se excluyó a animales que hayan sido tratados con antibióticos en los últimos 15 días o que presenten enfermedades sistémicas graves. La fase en campo se desarrolló al momento de realizar el ordeño y continuo de la siguiente manera:

- Como primer paso, se realizó una encuesta que valoró las buenas prácticas de ordeño en cada hato lechero.
- Mediante el uso de guantes estériles, overol y botas se procedió con la limpieza del pezón con solución desinfectante y secado con papel desechable.
- Se despuntó los cuartos de cada vaca.
- Se puso a prueba la presencia de mastitis subclínica mediante el California Mastitis Test (CMT) recolectando 2 ml de leche de cada cuarto mamario en la placa de CMT.
- Se identificaron los cuartos positivos a mastitis subclínica con reacciones de agrupamiento (grumos) de la leche.
- Una vez que se realizó el CMT, se tomó en cuenta a las vacas que dieron positivo a mastitis subclínica con lecturas de 2(++) y 3(+++).
- Se recolectaron datos de las vacas positivas de acuerdo a la anterior lectura para elaborar un examen clínico.
- Se extrajeron 20 ml de leche de los cuartos afectados en un frasco estéril.
- Los frascos estériles fueron almacenados en un congelador para preservar su refrigeración (4°C) y ser entregados al laboratorio en un tiempo menor a las 24 horas.

2.6.2. Fase en laboratorio

A nivel de laboratorio se procedió con la siembra en los medios de cultivo de las muestras obtenidas después de haberlas entregado al laboratorio VeteLAB en un tiempo menor a las 24 horas post – recolección. De esa manera, los medios de cultivo a utilizarse fueron preparados por el laboratorio con anterioridad para cuando las muestras arribaran.

2.6.2.1. Siembra en medios de cultivo

- Para lograr una mejor identificación de posibles patógenos presentes en la leche de vacas diagnosticadas con mastitis se sembró en el siguiente medio.
- Se utilizó Agar sangre para observar el crecimiento de bacterias Gram positivas y Negativas, de modo que se realizó una identificación primaria mediante el patrón hemolítico y características de las colonias.
- La técnica de siembra que se usó fue la siembra en placa por estría discontinua donde con un asa de siembra esterilizada se formó una pequeña parte de la mezcla microbiana de modo que se extendió sobre la superficie de los agares.
- Las muestras se incubaron a 37°C durante 24 a 48 horas en anaerobiosis.
- Pasadas las 24 horas se revisó el crecimiento microbiano.
- Se observó las características de las colonias que se encontraron, dentro de ellas el color, forma y hemólisis de manera que se procede con las pruebas diferenciales.

2.6.2.2. Pruebas diferenciales

- Las pruebas de diferenciación empezaron tomando una muestra de bacterias de una siembra de un medio de cultivo (Agar sangre) con la ayuda de un palillo para después frotarlo sobre un portaobjetos.
- Se colocó una gota de peróxido de hidrógeno al 3% en el porta objetos con la muestra de la bacteria tomada posteriormente.
- Se mezcló la colonia con el peróxido sin tener material del medio.

De esa manera se utilizó la prueba de la catalasa donde una efervescencia indicó un resultado positivo a la enzima catalasa, la ausencia de esta reacción indicó un resultado negativo a la enzima catalasa, por lo que la identificación de las bacterias continuo de la siguiente manera:

- Para *Staphylococcus* spp., se obtuvo un resultado positivo de la muestra de bacteria colectada frente a la prueba de catalasa, por lo que se procedió a realizar la tinción de Gram tomando con un palillo una muestra de la bacteria para extenderla con

una gota de agua en un portaobjetos. Una vez fijada, se aplicó Cristal Violeta por un minuto y se enjuagó, luego Lugol por otro minuto y se enjuagó, luego alcohol-acetona por 10 segundos y se enjuagó, finalmente safranina por un minuto y se enjuagó. Con ayuda el microscopio más aceite de inmersión en 100x se observó masas racimales en forma de cocos, una tinción violeta, y sin esporas. Al no poder especificar la especie de *Staphylococcus* se continuó con la prueba de agar Manitol Salado, después sembrarse en anaerobiosis a 37°C durante 24 horas se observó un resultado negativo a fermentación al encontrar el agar con una coloración roja anaranjada, por lo que se determinó que la bacteria es *Staphylococcus* spp.

- Para *Corynebacterium* spp., de igual manera se obtuvo un resultado positivo de la muestra de bacteria colectada frente a la prueba de catalasa, por lo que se procedió a realizar la tinción de Gram tomando con un palillo una muestra de la bacteria para extenderla con una gota de agua en un portaobjetos. Una vez fijada, se aplicó Cristal Violeta por un minuto y se enjuagó, luego Lugol por otro minuto y se enjuagó, luego alcohol-acetona por 10 segundos y se enjuagó, finalmente safranina por un minuto y se enjuagó. Con ayuda el microscopio más aceite de inmersión en 100x se observó bacilos Gram positivos debido a la coloración violeta, con una disposición empalizada similar a letras chinas y pleomórficos. Para poder confirmar a la bacteria como *Corynebacterium* spp. se realizaron las pruebas de movilidad en un porta objetos húmedos donde arrojó un resultado negativo al no presentar movilidad, y la prueba basada en la fermentación de glucosa donde no se encontró la producción de gas por lo que se determinó a la bacteria como *Corynebacterium* spp.

- Para *Streptococcus dysgalactiae*, se obtuvo un resultado negativo de la muestra de bacteria colectada frente a la prueba de catalasa, por lo que se procedió a realizar la tinción de Gram tomando con un palillo una muestra de la bacteria para extenderla con una gota de agua en un portaobjetos. Una vez fijada, se aplicó Cristal Violeta por un minuto y se enjuagó, luego Lugol por otro minuto y se enjuagó, luego alcohol-acetona por 10 segundos y se enjuagó, finalmente safranina por un minuto y se enjuagó. Con ayuda el microscopio más aceite de inmersión en

100x se observó una morfología en forma de cocos agrupadas en forma de cadenas o pares, con tinción violeta y una movilidad nula. Al no poder reconocer la especie de *Streptococcus* se procede con la prueba de CAMP (Christie-Atkins-Munch-Petersen) en agar Sangre, de modo que se obtuvo un resultado negativo a esta prueba confirmando la bacteria como *Streptococcus dysgalactiae*.

- Finalmente, mediante las pruebas diferenciales se pudo identificar a *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus dysgalactiae*.

2.6.2.3. Antibiograma

- Se seleccionaron las colonias confirmadas de *Corynebacterium* spp., *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus dysgalactiae* para incubarlas con Infusión Cerebro Corazón durante 24 horas a 37°C.
- Se volvió a sembrar a cada patógeno en medios específicos: *Corynebacterium* spp. en Agar Sangre de cordero incubando la bacteria por 24 horas a 37°C en anaerobiosis, *Staphylococcus* spp. en Agar Mueller Hinton incubando la bacteria por 24 horas a 37°C en anaerobiosis y *Streptococcus dysgalactiae* en Agar Sangre de cordero incubando la bacteria por 24 horas a 37°C en anaerobiosis.
- Se suspendió las colonias en solución salina estéril de modo que se igualó la turbidez del estándar McFarland 0.5 para proceder con el método Kirby-Bauer.
- Se tomó un hisopo estéril para sumergirlo en la suspensión bacteriana sin tener excesos apretándolo contra la pared del tubo.
- Se sembró por estriado en tres direcciones de modo que se cubrió toda la superficie de los respectivos agares.
- Se dejó secar el exceso de humedad unos 5 minutos con la tapa cerrada.
- Con ayuda de pinzas estériles, se colocó los discos de antibióticos sobre el agar con una distancia de 24 mm entre cada uno, se garantizó que se peguen correctamente con una leve presión. Los antibióticos que se usaron son:

Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Cefuroxima, Cefalexina, Sulfatrimetoprim, Estreptomicina, Gentamicina, Tetraciclina, Lincomicina y Cloxacilina.

- Se incubó las placas a 37°C por 24 horas en la incubadora.
- Una vez se terminó la incubación, se observó la formación de halos de inhibición alrededor de cada disco de antibiótico.
- Se midió el diámetro de cada halo y el disco en milímetros.
- Se comparó los valores con valores referenciales de la siguiente tabla.

Tabla 2: *Valores referenciales de diámetros de halos para cada antibiótico utilizado.*

ANTIBIÓTICO	CLAVE	CONCENTRACIÓN	RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE
Ampicilina	AM	10 mcg	≤ 20	21 a 28	≥ 29
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	AMC	20 mcg	≤ 19	-	≥ 20
Cefuroxima	CXM	30 mcg	≤ 14	15 a 17	≥ 18
Cefalexina	CL	30 mcg	≤ 14	15 a 17	≥ 18
Cloxacilina	CX	-	≥ 21	-	-
Tetraciclina	TE	30 mcg	≤ 14	15 a 18	≥ 19
Estreptomicina	S	10 mcg	≤ 11	12 a 14	≥ 19
Gentamicina	CN	10 mcg	≤ 12	13 a 14	≥ 15
Lincomicina	L	2 mcg	≤ 9	10 a 14	≥ 15
Sulfatrimetoprim	SXT	1,25 mcg	≤ 10	11 a 15	≥ 16
Penicilina	P	10 U	≤ 11	12 a 21	≥ 22

Fuente: (CLSI, 2024).

2.6.2.4. Conteo de unidades formadoras de colonias

- Se preparó el medio en Agar TSA para fundirlo.
- Se realizaron tres diluciones en base 10.
- De la muestra de leche se tomaron 10 ml y se colocaron en 90 ml que contienen Agua Peptonada al 0.1% y se homogenizó la dilución.
- De la primera dilución se tomó 1 ml y se pasó a un tubo con 9 ml de Agua Peptonada al 0.1% y se homogenizó la dilución.

- De la segunda dilución se tomó 1 ml y se pasó a un tercer tubo con 9 ml de Agua Peptonada al 0.1% y se homogenizó la dilución.
- En cajas Petri de 90 ml se colocó 1 ml de cada dilución.
- Se colocó el medio previamente fundido a la caja Petri y se homogenizó.
- El medio se incubó a una temperatura de 37°C por 48 horas.
- El recuento se dio en placas con un desarrollo entre 30 y 300 colonias, de manera que se usa la siguiente fórmula para poder determinar el cálculo de UFC/mL:

$$\frac{UFC}{mL} = \frac{Número\ de\ colonias\ contadas\ x\ Factor\ de\ dilución}{Volumen\ sembrado\ en\ mL}$$

- Este método permitió cuantificar la carga patogénica en la leche siendo clave para evaluar la severidad de la infección y su influencia sobre la calidad.

2.7. Variables respuesta

Una vez obtenidos los resultados al final de cada proceso se comparó los resultados para evaluar la existencia de asociaciones significativas entre variables categóricas. Las variables a evaluarse fueron antibióticos usados, agentes patógenos encontrados y el nivel de resistencia encontrada.

2.8. Procesamiento de la información

Para el registro de datos de vacas con mastitis subclínica se utilizó hojas a modo de fichas de cada una de ellas. Las encuestas fueron llenadas de forma manual en hojas con un formato elaborado por el encuestador. El programa que se utilizó para organizar y clasificar la información para la elaboración estadística fue Excel. Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de Chi – cuadrado para aceptar o rechazar la hipótesis nula.

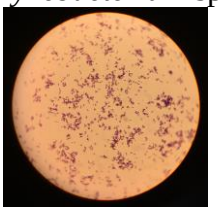
CAPÍTULO III

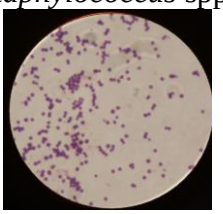
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

3.1.1. Identificación de patógenos encontrados

Tabla 3: *Patógenos bacterianos identificados.*

PATÓGENO	CARACTERÍSTICAS	
	Morfología	**Pruebas**
Corynebacterium spp. 	Bacilos Gram positivos debido a la coloración violeta, con una disposición empalizada similar a letras chinas y pleomórficos.	***-Prueba de catalasa:*** positiva. ***-Prueba movilidad:*** negativa. ***-Prueba de fermentación de glucosa:*** negativa.
Streptococcus dysgalactiae 	Morfología en forma de cocos agrupadas en forma de cadenas o pares, con tinción violeta y una movilidad nula.	***-Prueba de catalasa:*** negativa. ***-Prueba de CAMP:*** negativa.

Staphylococcus spp. 	Masas racimales en forma de cocos, una tinción violeta (Gram positivo)	***-Prueba de catalasa:*** positiva. ***-Prueba agar Manitol Salado:*** negativa.

Mediante las pruebas diferenciales se logró identificar a tres bacterias: *Corynebacterium* spp. debido a su morfología donde se observó una bacteria Gram positiva, con una disposición empalizada similar a letras chinas, la prueba de catalasa fue positiva y las pruebas de movilidad y la prueba de fermentación de glucosa fueron negativas; *Streptococcus dysgalactiae* que se identificó por medio de su morfología donde se observaron cocos agrupados en forma de cadenas y una tinción violeta (Gram positivo), en cuanto a la prueba de catalasa se obtuvo un resultado negativo y la prueba de CAMP resultó negativa; y en el caso de *Staphylococcus* spp. se observó una morfología con masas racimales en forma de cocos y una tinción violeta, la prueba de catalasa resultó positiva y la prueba de agar Manitol Salado fue negativa.

Al momento de identificar las bacterias causantes de mastitis bovina se pueden encontrar bacterias comunes en cuanto a su incidencia en hatos lecheros, **(Quispe et al., 2020)** realizaron una investigación con la finalidad de determinar la resistencia de los patógenos encontrados en 35 muestras positivas a mastitis subclínica. Dentro de las bacterias halladas estuvieron *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* a quienes describe como las más frecuentes en esta patología. Por su parte, **(Rosero et al., 2025)** elaboraron una investigación con la misma finalidad donde se hallaron bacterias Gram negativas: *Klebsiella* spp. y *Escherichia* spp. y bacterias Gram positivas: *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus* spp.

Dentro de una comparativa enfocada a la incidencia de bacterias presentes y causantes de mastitis bovina subclínica dentro de la Parroquia de Machachi, se toma como referencia a la investigación de **(Vélez, 2022)** quien al buscar evaluar la resistencia microbiana encontró a patógenos como: *Escherichia coli* y *Staphylococcus* spp. como los más abundantes y por otro lado a *Cándida* y a *Streptococcus agalactiae*. La bacteria en común de todos los estudios mencionados es *Staphylococcus* spp., su presencia delata una infección a causa de una transmisión contagiosa durante el ordeño debido a la facilidad de contagio entre animales a través de las manos de los ordeñadores **(Klaas & Zadoks, 2018)**.

3.1.2. Sensibilidad de patógenos por medio de antibiograma

Mediante el análisis que se realiza en el antibiograma se determinó la sensibilidad de los patógenos frente a 11 tipos de antibióticos, por medio de la siguiente tabla se expone la sensibilidad que presentaron los patógenos debido a los agentes antimicrobianos utilizados.

Tabla 4: *Sensibilidad de los tres patógenos encontrados frente a los 11 antibióticos seleccionados.*

	SENSIBLE			
ANTIBIÓTICO	***Staphylococcus* spp.**	***Streptococcus dysgalactiae***	***Corynebacterium* spp.**	**TOTAL**
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	15	4	2	21
Cefuroxima	15	4	2	21
Tetraciclina	10	NO APLICA	2	12
Cefalexina	14	3	2	19
Estreptomicina	13	0	0	13
Gentamicina	11	NO APLICA	2	13
Cloxacilina	0	NO APLICA	NO APLICA	0
Lincomicina	9	3	2	14
Sulfatrimetoprim	9	3	2	14
Ampicilina	NO APLICA	1	NO APLICA	1
Penicilina	NO APLICA	3	NO APLICA	3

En el análisis de resultados se destacan a los siguientes antibióticos con la sensibilidad más alta frente a *Staphylococcus* spp., *Streptococcus dysgalactiae* y *Corynebacterium*: Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Cefuroxima, Cefalexina, Lincomicina y Sulfatrimetoprim. Otros antibióticos que tuvieron alta sensibilidad frente a *Staphylococcus* spp. son: Estreptomicina, Tetraciclina y Gentamicina, estos dos últimos también con buena sensibilidad frente a *Corynebacterium* spp.

En el estudio realizado por **(Vélez, 2022)** enfocado en la identificación del agente etiológico en casos de mastitis subclínica, se reportó una sensibilidad del 62.5% de *Staphylococcus* spp. frente a la Cefalexina, un dato que difiere significativamente de los resultados obtenidos en la presente investigación, donde se evidenció un 100% de sensibilidad a este antibiótico. Esta discrepancia podría atribuirse a factores como la ubicación geográfica de los hatos lecheros, las prácticas de manejo sanitario y el historial de uso de antimicrobianos, que influyen directamente en la presión selectiva sobre las bacterias. No obstante, estudios como el de **(Rosero et al., 2025)** que valora los patrones de resistencia a antibióticos en bacterias en su artículo, coinciden en que la Cefalexina tiene una alta sensibilidad frente a *Staphylococcus* spp. y *Streptococcus dysgalactiae*. La **(Agencia Española de Medicamentos, 2020)** argumenta que lo más usual es que la Cefalexina tenga sensibilidad debido a que es poco susceptible a la hidrólisis por betalactamasas comunes y su afinidad por proteínas de unión a penicilinas no se ve fácilmente alterada. También especifican que este antibiótico tiene una buena difusión y concentración en tejidos específicos siendo este el caso de la ubre en bovinos, teniendo una sensibilidad eficaz frente a las bacterias anteriormente mencionadas.

En relación con el uso de la combinación de Amoxicilina + Ac. Clavulánico, diversos estudios advierten sobre su eficacia limitada debido al alto grado de resistencia bacteriana. **(Hurtado & Cruz, 2023)** y **(Quispe et al., 2020)** señalan que este antibiótico es uno de los más utilizados y, por tanto, uno de los más expuestos a la generación de resistencia, especialmente frente a patógenos como *Staphylococcus* spp., *Streptococcus dysgalactiae* y *Corynebacterium* spp. A pesar de ello, los resultados del presente estudio

revelan un comportamiento diferente, evidenciando una mayor sensibilidad de estos agentes frente a la amoxicilina + ácido clavulánico. Esto podría explicarse por un menor uso histórico del antibiótico en la zona de estudio, lo cual habría reducido la presión selectiva y, por ende, la aparición de cepas resistentes. Sumado a eso **(Guevara, 1992)** argumenta que el Ácido clavulánico inhibe las beta-lactamasas que degradan la Amoxicilina, permitiendo que esta actúe eficazmente bloqueando la síntesis de la pared celular bacteriana, incluso en cepas que serían resistentes a la amoxicilina sola, de modo que se justifica la sensibilidad encontrada en este estudio.

3.1.2. Mediana sensibilidad de patógenos por medio de antibiograma

Tabla 5: *Mediana sensibilidad de los tres patógenos encontrados frente a los 11 antibióticos seleccionados.*

	MEDIANAMENTE SENSIBLE			
ANTIBIÓTICO	***Staphylococcus* spp.**	***Streptococcus dysgalactiae***	***Corynebacterium* spp.**	**TOTAL**
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	0	0	0	0
Cefuroxima	0	0	0	0
Tetraciclina	3	NO APLICA	0	3
Cefalexina	1	1	0	2
Estreptomicina	1	1	0	2
Gentamicina	3	NO APLICA	0	3
Cloxacilina	0	NO APLICA	NO APLICA	0
Lincomicina	2	1	0	3
Sulfatrimetoprim	2	1	0	3
Ampicilina	NO APLICA	3	NO APLICA	3
Penicilina	NO APLICA	1	NO APLICA	1

En Argentina, el estudio a cargo de **(Jiménez Velásquez et al., 2020)** se identificó la multirresistencia que presentaba *Staphylococcus* spp., de modo que se incluyó la resistencia intermedia de la Ampicilina haciendo énfasis en la dificultad que se presentará en el futuro trabajar con este antibiótico que tiene dirección hacia hacerse resistente. Estos datos concuerdan con la sensibilidad intermedia que manifiesta la Ampicilina frente a estos patógenos por lo que se precisa tener un manejo profesional con este agente antimicrobiano para evitar llegar a la resistencia total frente a patógenos causantes de mastitis.

La información que **(Soffía Jaramillo-Jaramillo et al., 2018)** reportan corrobora la pérdida de eficacia de este antibiótico debido a que se han identificado mutaciones en genes que codifican las proteínas fijadoras de penicilinas (PBPs), como el gen pbp2x, que pueden disminuir la afinidad por beta-lactámicos, aumentando la concentración mínima inhibitoria (CMI) y generando resistencia intermedia a la Ampicilina.

3.1.3. Resistencia de patógenos por medio de antibiograma

Dentro de este estudio se observaron 3 antibióticos que sufrieron resistencia por parte de los microorganismos presentes en las muestras obtenidas de mastitis subclínica, Estreptomicina vs *Streptococcus dysgalactiae*. y *Corynebacterium*, Sulfatrimetoprim vs *Corynebacterium* y Cloxacilina vs *Staphylococcus* spp.

Tabla 6: *Resistencia de los tres patógenos encontrados frente a los 11 antibióticos seleccionados.*

	RESISTENTE			
ANTIBIÓTICO	***Staphylococcus* spp.**	***Streptococcus dysgalactiae***	***Corynebacterium* spp.**	**TOTAL**
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	0	0	0	0
Cefuroxima	0	0	0	0
Tetraciclina	2	NO APLICA	0	2
Cefalexina	0	0	0	0
Estreptomicina	1	3	2	6
Gentamicina	1	NO APLICA	0	1
Cloxacilina	15	NO APLICA	NO APLICA	15
Lincomicina	4	0	0	4
Sulfatrimetoprim	1	1	2	4
Ampicilina	NO APLICA	0	NO APLICA	0
Penicilina	NO APLICA	0	NO APLICA	0

En el estudio que realizó **(Aponte, 2007)** identificó a microorganismos, dentro de ellos *Corynebacterium* spp. que presentó el mismo tipo de resistencia frente a Sulfatrimetoprim que en el presente estudio donde presento una resistencia del 100%. Por otro lado, en el mismo estudio realizado por **(Aponte, 2007)** la Estreptomicina no enfrenta una resistencia frente a *Corynebacterium* spp. Los valores de resistencia que arroja aquel estudio son bajos (27%) en comparación a el presente estudio que presenta una resistencia elevada (100%).

En el caso de Sulfatrimetoprim, la resistencia puede estar dada debido a mutaciones en las enzimas diana involucradas en la síntesis de ácido fólico, principalmente de dihidrofolato reductasa y la dihidropteroato sintasa. Dichas mutaciones alteran la afinidad que el antibiótico tiene por estas enzimas, de modo que la bacteria continúa sintetizando ácido fólico pese a la presencia del fármaco **(Vicente & Pérez-Trallero, 2010)**. Por otro lado, la resistencia que se tiene frente a la Estreptomicina se

relaciona con modificaciones en el ribosoma de la bacteria o a su vez con la producción de enzimas modificadoras de aminoglucósidos, por ejemplo: acetiltransferasas, nucleotidiltransferasas o fosfotransferasas que inactivan el antibiótico **(Ciruela et al., 2023)**.

Múltiples estudios como los de **(Calderón-Rangel et al., 2011)**, **(Trujillo et al., 2010)** y **(Arteaga, 2004)** exponen que la Cloxacilina tiene un nivel de sensibilidad eficaz contra patógenos causantes de mastitis como el caso de *Staphylococcus* spp., recomiendan su uso debido a que es un antibiótico eficaz debido a su terapia intramamaria al secado. Estos estudios reflejan todo lo contrario a lo que este estudio manifiesta, el antibiótico Cloxacilina es el que más repeticiones de resistencia presenta en todo el proyecto de investigación, su resistencia alcanzó el 100% por lo que se sospecha el abuso del mismo por la facilidad de aplicación y obtención del mismo.

La información que **(Francesc, 2020)** presenta, indica que existe la producción de una proteína fijadora de penicilinas (PBP2a) codificada por el gen mecA, permite a la bacteria continuar sintetizando su pared celular incluso con la presencia del antibiótico, lo que conlleva a la resistencia a la Cloxacilina. Otro mecanismo de resistencia se basa en la producción de beta-lactamasas, enzimas que hidrolizan el anillo beta-lactámico de la Cloxacilina, inactivándola **(González, 2010)**. Controlar el uso de este agente microbiano resulta ser crucial debido a que bacterias fuera de este estudio pueden adquirir la misma resistencia a la Cloxacilina, lo que implica un riesgo en la seguridad alimentaria del consumidor.

3.1.4. Análisis de calidad de leche mediante conteo de unidades formadoras de colonia

Con la finalidad de determinar la calidad lechera de los cuatro hatos lecheros, se realizó el análisis microbiológico basado en el conteo de unidades formadoras de colonia elaborado por el laboratorio veterinario VeteLAB, los detalles de cada hacienda, los

patógenos hallados en cada muestra de vacas con mastitis subclínica se detallan en las siguientes tablas.

Tabla 7: *Calidad lechera UFC/mL del hato lechero A.*

Hacienda "Genoveva German" (AGSO)			
IDENTIFICACIÓN	**RAZA**	**EDAD**	**UFC/mL**
Mili	Ho	5 años, 2 meses	1.600
Gema	Ho	3 años, 7 meses	49.000
Flaca	Ho	4 años, 9 meses	15.000
Nayeli	Ho	5 años, 11 meses	6.700
Cabra	Ho	5 años, 5 meses	1.300
Senia	Ho	4 años, 11 meses	22.000
Tamal	Ho	3 años, 10 meses	150.000
Alara	Ho	3 años, 5 meses	1.900
Tribia	Ho	5 años, 11 meses	12.000
TOTAL			259.500
PROMEDIO			28.833

Tabla 8: *Calificación obtenida de encuesta de buenas prácticas de ordeño del hato lechero A.*

Hacienda "Genoveva German" (AGSO)	
ORDEÑO	***CALIFICACIÓN***
ANTES DEL ORDEÑO	5 de 7
DURANTE EL ORDEÑO	6 de 6
DESPUÉS DEL ORDEÑO	6 de 7
TOTAL	17 puntos de 20

En el primer hato lechero, se obtuvieron 9 casos donde se observa la presencia de *Staphylococcus* spp. en todas las muestras con un recuento total de 259.500 unidades formadoras de colonia por mililitro y un promedio de 28.833 UFC/mL, donde el caso más crítico se observa en la vaca con identificación “Tamal” con 150.000 UFC/mL y el caso más leve se observa en la vaca con identificación “Cabra” con 1.300 UFC/mL. De acuerdo a la encuesta de buenas prácticas de ordeño que se realizó, se asignó una calificación de 17 sobre 20 puntos, cumpliendo con un desempeño aceptable basado en un correcto manejo de los procesos que se dan en el ordeño. El promedio de UFC/ml que se obtuvo,

refleja que en este hato lechero se cumple con los estándares necesarios para preservar una calidad de leche aceptable.

Tabla 9: *Calidad lechera UFC/mL del hato lechero B.*

Hacienda "La Merced de Gualilagua"			
IDENTIFICACIÓN	**RAZA**	**EDAD**	**UFC/mL**
6436	Ho	4 años, 5 meses	7.500
FT15	Ho	3 años, 11 meses	99
6367	Ho	4 años, 8 meses	7.600
171	Ho	5 años, 2 meses	5.400
TOTAL			20.599
PROMEDIO			5.150

Tabla 10: *Calificación obtenida de encuesta de buenas prácticas de ordeño del hato lechero B.*

Hacienda "La Merced de Gualilagua"	
ORDEÑO	***CALIFICACIÓN***
ANTES DEL ORDEÑO	7 de 7
DURANTE EL ORDEÑO	5 de 6
DESPUÉS DEL ORDEÑO	5 de 7
TOTAL	17 puntos de 20

En el segundo hato lechero, se obtuvo 4 casos donde se reconoce a dos patógenos: *Streptococcus dysgalactiae* (1 caso) y *Staphylococcus* spp. (2 casos) con un recuento total de 20.599 unidades formadoras de colonia por mililitro y un promedio de 5.150 UFC/mL. Cabe mencionar que en el caso de la vaca con identificación “FT15” no se desarrolló ningún patógeno hasta las 72 horas de incubación. De acuerdo a la encuesta de buenas prácticas de ordeño que se realizó, se asignó una calificación de 17 sobre 20 puntos, cumpliendo con un desempeño aceptable basado en un correcto manejo de los procesos que se dan en el ordeño. El promedio de UFC/ml que se obtuvo, refleja que en este hato lechero se cumple con los estándares necesarios para preservar una calidad de leche aceptable.

Tabla 11: *Calidad lechera UFC/mL del hato lechero C.*

Hacienda "La Lola"			
IDENTIFICACIÓN	**RAZA**	**EDAD**	**UFC/mL**
Mariana	Ho	4 años, 11 meses	740
Rebelde	Ho	3 años, 11 meses	6.800
Sopa	Ho	5 años, 5 meses	900
Rosa	Ho	3 años, 10 meses	540
Solanda	Ho	4 años, 8 meses	2.600
Iris	Ho	3 años, 11 meses	6.000
América	Ho	3 años, 9 meses	2.700
TOTAL			20.280
PROMEDIO			2.897

Tabla 12: *Calificación obtenida de encuesta de buenas prácticas de ordeño del hato lechero C.*

Hacienda "La Lola"	
ORDEÑO	***CALIFICACIÓN***
ANTES DEL ORDEÑO	7 de 7
DURANTE EL ORDEÑO	6 de 6
DESPUÉS DEL ORDEÑO	6 de 7
TOTAL	19 puntos de 20

En el tercer hato lechero, se analizaron 7 casos donde identifica a dos patógenos: *Streptococcus dysgalactiae* (2 casos) y *Staphylococcus* spp. (4 casos) con un recuento total de 20.280 unidades formadoras de colonia por mL y un promedio de 2.897 UFC/mL. En este hato existió un caso de la vaca con identificación “Sopa” donde no hubo desarrollo importante de patógenos hasta las 72 horas de incubación. De acuerdo a la encuesta de buenas prácticas de ordeño que se realizó, se asignó una calificación de 19 sobre 20 puntos, cumpliendo con un desempeño integro basado en un manejo excelente de los procesos que se dan en el ordeño. El promedio de UFC/ml que se obtuvo, refleja que en este hato lechero se cumple con los estándares necesarios para que la calidad lechera sea excelente.

Tabla 13: *Calidad lechera UFC/mL del hato lechero D.*

Hacienda "Puchalitola"			
IDENTIFICACIÓN	**RAZA**	**EDAD**	**UFC/mL**
Araña	Ho	3 años, 11 meses	190
Campana	Ho	3 años, 10 meses	52.000
Tenaz	Ho	3 años, 11 meses	960
TOTAL			53.150
PROMEDIO			17.717

Tabla 14: *Calificación obtenida de encuesta de buenas prácticas de ordeño del hato lechero D.*

Hacienda "Puchalitola"	
ORDEÑO	***CALIFICACIÓN***
ANTES DEL ORDEÑO	5 de 7
DURANTE EL ORDEÑO	6 de 6
DESPUÉS DEL ORDEÑO	6 de 7
TOTAL	17 puntos de 20

En el cuarto hato lechero, se obtuvieron 3 muestras donde se identifica a dos patógenos: *Streptococcus dysgalactiae* (1 caso) y *Corynebacterium* spp. (2 casos) con un recuento total de 52.150 UFC/mL y un promedio de 17.717 unidades formadoras de colonia por mililitro. Cabe mencionar que el caso más crítico se observa en la vaca con identificación “Campana” con 52.000 UFC/mL. De acuerdo a la encuesta de buenas prácticas de ordeño que se realizó, se asignó una calificación de 17 sobre 20 puntos, cumpliendo con un desempeño aceptable basado en un correcto manejo de los procesos que se dan en el ordeño. El promedio de UFC/ml que se obtuvo, refleja que en este hato lechero se cumple con los estándares necesarios para preservar una calidad de leche aceptable.

Según **(Suarez et al., 2019)**, es fundamental preservar la calidad microbiológica de la leche en las distintas explotaciones lecheras, ya que la presencia de microorganismos

como los mesófilos anaerobios puede incrementar progresivamente si no se controlan adecuadamente las condiciones higiénico-sanitarias. En su estudio, realizado en una localidad de Argentina, se evidenció un leve aumento en el conteo de estos microorganismos a lo largo del tiempo, lo cual fue considerado un factor relevante para el monitoreo continuo de la calidad de la leche. En contraste, los resultados obtenidos en el presente estudio muestran conteos de unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL) inferiores a los límites establecidos por los estándares de calidad, incluso en muestras provenientes de vacas con mastitis subclínica, lo que sugiere un manejo sanitario adecuado y una detección temprana de la enfermedad.

Por otro lado, **(García et al., 2018)** en su análisis post enfermedad, reportan recuentos superiores a 200.000 UFC/mL, destacando la severidad del impacto que puede tener la mastitis sobre la calidad de la leche si no es tratada de forma oportuna. Su estudio enfatiza la necesidad de implementar medidas correctivas inmediatas frente a cuadros clínicos complicados, a fin de evitar alteraciones graves en la composición y salubridad de la leche destinada al consumo. El bajo recuento de mesófilos anaerobios en hatos lecheros de la misma localidad del presente estudio se ve reflejado en la investigación de **(Vélez, 2022)**, donde se obtienen promedios de UFC/ml por debajo de los 40.000. Esto confirma que en los hatos lecheros de la Parroquia de Machachi se produce leche con una excelente calidad debido a la manera en que desempeñan el manejo de la producción para que no se vea afectada la inocuidad y la calidad.

3.2. Verificación de hipótesis

La verificación de la hipótesis se enfocó en el uso de la prueba de Chi-Cuadrado (X^2), mediante la cual se establecieron dos variables basadas en las hipótesis previamente planteadas. De esa manera, se utilizó este proceso para evidenciar la resistencia a más de un antibiótico en los casos estudiados frente a no encontrar una resistencia significativa a más de un antibiótico en casos de vacas con mastitis subclínica.

Tabla 15: *Valores de resistencia observados.*

BACTERIA	RESISTENTE MENOR O IGUAL 1 AB	RESISTENTE A MÁS DE 1 AB	TOTAL
Staphylococcus spp.	9	6	15
Streptococcus dysgalactiae	2	2	4
Corynebacterium *spp.*	0	2	2
TOTAL	11	10	21

Tabla 16: *Valores de resistencia esperados.*

BACTERIA	RESISTENTE MENOR O IGUAL 1 AB	RESISTENTE A MÁS DE 1 AB	TOTAL
Staphylococcus spp.	7,85	7,15	15
Streptococcus dysgalactiae	2,10	1,90	4
Corynebacterium *spp.*	1,05	0,95	2
TOTAL	11	10	21

Se aplicó la siguiente fórmula: $X^2 = \sum \frac{(O-E)^2}{E}$

Dónde O: valores observados y E: valores esperados.

De esa manera se obtienen los siguientes valores y se suman para obtener el valor de Chi Cuadrado: 0,168 + 0,182 + 0,00387 + 0,0052 + 1,04 + 1,160 = 2,55.

El cálculo de X^2 dio un total de 2,55, de modo que con 2 grados de libertad y un valor de p>0.05 el resultado que se obtuvo es menor que el valor crítico (5,99), por lo que se debe aceptar la hipótesis nula que plantea que no hay asociación significativa entre las bacterias aisladas y la resistencia a múltiples antibióticos, se podría decir que la resistencia es aleatoria o similar entre antibióticos.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Se identificó a los patógenos causantes de mastitis mediante el proceso de cultivos bacterianos donde se destacaron: *Staphylococcus* spp., *Streptococcus dysgalactiae* y *Corynebacterium* spp. Existieron 15 casos de *Staphylococcus* spp. en tres de cuatro hatos lecheros, *Streptococcus dysgalactiae* manifestó su aparición en cuatro casos en tres de cuatro hatos lecheros y *Corynebacterium* spp. presentó dos casos en un solo hato lechero de cuatro.
- Se determinó la sensibilidad, sensibilidad media y resistencia de las bacterias encontradas mediante el antibiograma, donde las tres bacterias presentaron una sensibilidad importante a Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Cefuroxima, Cefalexina, Lincomicina y Sulfatrimetoprim. En cuanto a la sensibilidad media se destaca la Ampicilina con un 75% frente a *Streptococcus* spp. Por otro lado, la resistencia se manifestó en *Corynebacterium* spp. con Estreptomicina y Sulfatrimetoprim, *Streptococcus dysgalactiae* con Estreptomicina y *Staphylococcus* spp. frente a la Cloxacilina.
- Se realizó un conteo de unidades formadoras de colonias en los resultados bacteriológicos donde se destacó su importancia en cuanto a la calidad lechera de los hatos muestreados. Del hato lechero A se obtuvo un valor total de 259.500 y un promedio de 28.833, del hato lechero B se obtuvo un valor total de 20.599 y un promedio de 5.150, del hato lechero C se obtuvo un valor total de 20.280 y un

promedio de 2.897, y del hato lechero D se obtuvo un valor total de 53.150 y un promedio de 17.717.

4.2. Recomendaciones

- Tener un uso responsable de los antibióticos que presentan una resistencia marcada en casos de mastitis subclínica, no abusar de los antibióticos que todavía no presentan resistencia y buscar opciones de tratamiento por medio de principios activos naturales.
- Concientizar al cuidador, ganadero o mayordomo a cargo de la administración de medicamentos de uso veterinario para que pueda evitar caer en una resistencia bacteriana.
- Realizar conteos de UFC/mL frecuentes de modo que se mantenga una calidad de leche óptima para el consumo y expensa.
- Continuar con la elaboración de proyectos de investigación similares para mantener reportes del avance de la resistencia bacteriana frente a antibióticos de uso común.

BIBLIOGRAFÍA

Agencia Española de Medicamentos. (2020). *FICHA TÉCNICA DE CEFALEXINA VIRBAC 375mg*.

Agrocalidad. (2012). *BUENAS PRÁCTICAS PECUARIAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE*. https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/pecu3.pdf

Aguilar, F., & Álvarez, C. (2022). *MASTITIS BOVINA* (UTMACH). https://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/15205/1/MASTITIS-BOVINA.pdf

Alverti, F., Lucas, M., Buldain, D., Marchetti, L., & Mestorino, N. (2021). *SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE Staphylococcus aureus AISLADOS DE VACAS HOLSTEIN PORTADORAS DE MASTITIS SUBCLÍNICA EN LA ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF Staphylococcus aureus ISOLATED FROM HOLSTEIN COWS WITH SUBCLINICAL MASTITIS IN THE PROVINCE OF BUENOS AIRES, ARGENTINA* (Vol. 15).

Andresen, H. (2001). *MASTITIS: PREVENCIÓN Y CONTROL*.

Aponte, F. (2007). Perfil de resistencia in vitro a antimicrobianos de cepas causantes de mastitis aisladas de leche cruda bovina en establecimientos de pequeña y mediana producción. *SENACSA*, *5*, 1-7.

Arteaga, A. (2004). *CONTROL Y TRATAMIENTO DE MASTITIS SUBCLINICA BOVINA IDENTIFICADA POR CALIFORNIA MASTITIS TEST Y ANTIBIOGRAMA DURANTE EL PERIODO JUNIO 2002-MAYO 2003, EN LA VEREDA PUSIALQUER MUNICIPIO DE PUPIALES NARIÑO-COLOMBIA*.

Asociación Mexicana de Infectología y Microbiología Clínica. (2021). *Enfermedades Infecciosas y Microbiología* (F. Solórzano, G. Miranda, & M. Chávez, Eds.; Vol. 41). http://www.amimc.org.mx.

Bedolla, C. (2007). Métodos de detección de la mastitis bovina (Methods of detection of the bovine mastitis). *REDVET*, 17. http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf

Bedolla Cedeño, C. (2017). *ETIOLOGÍA DE LA MASTITIS BOVINA*. www.produccion-animal.com.ar

Bedoya, P. (2024). *Potencial de resistencia a los antimicrobianos de Staphylococcus aureus inductor de mastitis subclínica de bovinos lecheros y presente en secreciones nasales de los ordeñadores*. Universidad Técnica de Ambato.

Blowey, R., & Edmondson, P. (2010). *Mastitis Control in Dairy Herds, 2nd Edition*. CABI.

Bolaños, F., Fernando, O., Graffe, T., Eduardo, J., Cabrera, P., Jaiver, J., Gallego, C., Salcedo, G., & Tatiana, Y. (2012). MASTITIS BOVINA: GENERALIDADES Y MÉTODOS DE DIAGNOSTICO. En *Revista Veterinaria REDVET* (Vol. 13, Número 11). www.produccion-animal.com.ar

Bonifaz, N., Galarza, X., Fuertes, B., & Beltrán, J. (2024). MOLECULAR DETERMINATION OF THE ETIOLOGICAL AGENT OF BOVINE MASTITIS FROM ANDEAN PRODUCTION UNITS. *Granja*, *39*(1). https://doi.org/10.17163/lgr.n39.2024.08

Caiza, F., & Taipe, M. (2021). *El chagra guardián del páramo. Reseña del paisaje cultural del chagra, Machachi, Ecuador María Verónica Taipe Taip The guardian chagra of paramo. Overview of the cultural landscape of chagra, Machachi, Ecuador*. http://docenteconvoz.blogspot.com/2018/06/el-folklore-del-chagra-1.html

Calderón-Rangel, A., Rodríguez-Rodríguez, V., Lozano-Montiel, L., Morales-Córdoba, M., & Vergara-Garay, O. (2011). *EFICACIA DE LA CLOXACILINA INTRAMAMARIA AL SECADO PARA EL CONTROL DE LA MASTITIS EN SISTEMAS DOBLE PROPÓSITO Efficacy of Intramammary Cloxacillin at Time of Drying for Mastitis Control in Dual Purpose Systems: Vol. XXI*.

Camacho, L. (2023). *Resistencia bacteriana, una crisis actual*.

Castañeda Vázquez, H., Bucio Galindo, A., Castañeda Vázquez, M., & Salas Castañeda, E. (2024). *NUEVAS PERSPECTIVAS EN LA MASTITIS BOVINA*.

Ciruela, P., Nogueras, M. M., Bach, M., Mendioroz, J., Navarro, F., Rivera, A., Creu, S., Pau, S., Vila, J., Marco, F., Trueta, J., Raga, X., Clivillé, X., Tecla, S., García, M., Bellés, A., Bastida, M. T., Porrón, R., Santos, R. K., … Gonzalez-Moreno, O. (2023). *Análisis del perfil de resistencia a los antimicrobianos de los microorganismos estrechamente asociados a las infecciones relacionadas con la asistencia sanitaria. Cataluña, 2016-2019.*

CLSI. (2024). *CLSI M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (34.ª ed.).

Contreras-Omaña, R., Escorcia-Saucedo, A. E., & Velarde-Ruiz Velasco, J. A. (2021). Prevalence and impact of antimicrobial resistance in gastrointestinal infections: A review. En *Revista de Gastroenterologia de Mexico* (Vol. 86, Número 3, pp. 265-275). Asociacion Mexicana de Gastroenterologia. https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2021.02.003

Córdova-Izquierdo, A., Eulogio, J., Ruiz-Lang, C. G., & Villa-Mancera, A. (2019, octubre). *Producción de leche y mastitis bovina*. https://www.researchgate.net/publication/343808493

Cuenca, M., Buela, L., Escobar, M., Gonzáles, A., & Yarzábal, L. (2023). DETECCIÓN DE CEPAS MULTIRRESISTENTES DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS EN LECHE DE VACAS CON MASTITIS CLÍNICA Y SUB-CLÍNICA, EN EL CANTÓN BIBLIÁN, PROVINCIA DE CAÑAR. ECUADOR. *Jornadas Científicas Unidad Académica de Salud y Bienestar*, *63*, 425-436. https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2020.03.007

Erskine, R. (2020, mayo). *Mastitis en el ganado vacuno*. https://www.msdvetmanual.com/es/sistema-reproductivo/mastitis-en-grandes-animales/mastitis-en-el-ganado-vacuno

FAO. (2011). *Buenas prácticas de ordeño*.

Fernández, G., Lago, N., Barreal, M. L., Pombo, M. B., & González, J. (2012). *ANTIBIOGRAMA Y RESISTENCIAS EN MASTITIS BOVINA*. www.produccion-animal.com.ar

Flores, B., Mora, B., Sheleby, J., & Torres, D. (2021). *Inhibitory effect of the hydroalcoholic extract of Eucalyptus Eucalyptus globulus in bacteria isolated from mastitis bovine*. 2-8. https://doi.org/10.5281/zenodo.5338773

Francesc, M. (2020). *Infección por Staphylococcus aureus resistente a la meticilina Infección por Staphylococcus aureus resistente a la meticilina*.

Franco, F. (2020). *Prevalencia y perfil de resistencia antimicrobiana de bacterias causantes de mastitis aisladas en leche cruda bovina en un establecimiento de la localidad de Shoenweide del departamento de Presidente Hayes - Paraguay*. Universidad Nacional de la Plata Facultad de Ciencias Veterinarias.

García, F., Sánchez, T., López, O., & Benítez, M. (2018). Prevalencia de mastitis subclínica y microorganismos asociados a esta. *Universidad de Matanzas*, 35-40.

Geodatos. (2025). *Coordenadas geográficas de Machachi - Latitud y longitud*. https://www.geodatos.net/coordenadas/ecuador/machachi

Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J. I., Morfín-Otero, M. del R., Torres-López, F. J., & Alcántar-Curiel, M. D. (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta Médica de México*, *156*(2). https://doi.org/10.24875/gmm.20005624

González, C. (2010). Mecanismos de resistencia a antibióticos b-lactámicos en Staphylococcus aureus Mechanisms of Resistance To b-Lactam Antibiotics in Staphylococcus aureus. En *Kasmera* (Vol. 38, Número 1).

Guevara, J. (1992). *ESTUDIO DE SENSIBILIDAD AMOXICILINA ACIDO CLAVULANICO* COMPARATIVO CON AMPICILINA y CEFALOTINA IN VITRO* (Número 521).

Herencia, D. S., & Mamani-Mango, G. D. (2022). Subclinical bovine mastitis and environmental risk factors in small producers of dairy cattle raised in the high altitude. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, *33*(1). https://doi.org/10.15381/rivep.v33i1.20466

Huovinen, P. (2017). *Resistance to Trimethoprim-Sulfamethoxazole*. http://cid.oxfordjournals.org/

Hurtado, L., & Cruz, P. (2023). *Resistencia antimicrobiana de bacterias productoras de mastitis clínica y subclínica en Finca Santa Rosa de la UNA - Managua - 2023*. UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA NICARAGUA.

Inestroza, F., Zepeda, T., Galindo, L., Salazar, C., Morán, A., & Corea, E. (2020). Efecto de tres selladores de barrera sobre la incidencia de mastitis subclínica y la evaluación de resistencia a antibióticos de tres bacterias patógenas en dos lecherías en el municipio de Caluco, Sonsonate, El Salvador. *AGROCIENCIA*, 1-17. https://doi.org/10.5281/zenodo.10788475

Instituto Ecuatoriano de Normalización. (2012). *NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 9:20:2012 Quinta revisión*.

Jiménez Velásquez, S. del C., Torres Higuera, L. D., Parra Arango, J. L., Rodríguez Bautista, J. L., García Castro, F. E., & Patiño Burbano, R. E. (2020). Profile of antimicrobial resistance in isolates of Staphylococcus spp. obtained from bovine milk in Colombia. *Revista Argentina de Microbiologia*, *52*(2), 121-130. https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.05.004

Klaas, I. C., & Zadoks, R. N. (2018). An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transboundary and Emerging Diseases*, *65*(April), 166-185. https://doi.org/10.1111/tbed.12704

López, M. J., Ramos, A. J., & Muñoz, L. C. (2022). *Diagnóstico de la mastitis bovina*. 93-115.

Martínez, D., Guerra, D., Lepe, M., & Valdez, C. (2021). *Antibiotic resistance and sensitivity patterns of bacteria isolated from mastitis cases in dairy cows in Honduras*. https://www.uco.es/ucopress/az/index.php/az/

Miranda Quezada, M., & Morales-Cauti, S. (2022). Evaluación de la resistencia antibiótica de bacterias aisladas de mastitis subclínica en bovinos de establos lecheros de Lurín, Lima. *Salud y Tecnología Veterinaria*, *10*(1), 8-15. https://doi.org/10.20453/stv.v10i1.4235

Nicolaou, K. C., & Rigol, S. (2018). A brief history of antibiotics and select advances in their synthesis. En *Journal of Antibiotics* (Vol. 71, Número 2, pp. 153-184). Nature Publishing Group. https://doi.org/10.1038/ja.2017.62

Ondiek, J. O., & Kemboi, F. (2018). Bovine Mastitis Prevalence, Aetiology, Therapeutics and Control in Tatton Agriculture Park, Egerton University. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, *7*(09), 3417-3426. https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.709.424

Philpot, W. N., & Nickerson, S. C. (2002). *Ganando la lucha contra la mastitis*. WESTFALIA SURGE. www.westfalia.com

Quinn, P. J., Markey, B. K., Leonard, F. C., Fitzpatrick, E. S., Fanning, S., & Hartigan, P. J. (2018). *Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias*. ACRIBIA.

Quispe, R., Peña, G., & Andía, V. (2020). *Resistencia antimicrobiana a Staphylococcus aureus y Streptococcus agalactiae aislados de leche de vacas con mastitis*. *32*.

Ramírez, J. M. (2015). Prevalencia y factores predisponentes a mastitis subclínica en establos lecheros de la provincia de Trujillo. *CEDAMAZ*, *5*, 12-22.

Rosero, K. C., Ortiz, L. C., Veloz, P. V., & Paucar, N. T. (2025). Patrones de resistencia a los antibióticos en bacterias aisladas de mastitis subclínicas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*, *36*(1). https://doi.org/10.15381/rivep.v36i1.30199

Ruíz, L. F., & Sandoval, R. S. (2018). *Diagnóstico de mastitis subclínica de vacunos lecheros mediante el conteo de células somáticas empleando dos métodos diagnósticos*. 129-135. https://www.redalyc.org/journal/959/95955158006/html/

Scaramelli, A., & González, Z. (2021). *Prevención y control de la mastitis bovina*.

Soffía Jaramillo-Jaramillo, A., Claudia, C. ;, Cobo-Ángel, G., Moreno-Tolosa, Y., & Ceballos-Márquez, A. (2018). Antimicrobial resistance of Streptococcus agalactiae of human and bovine origin. *Zootec*, *13*(1), 62-79. https://doi.org/10.21615/cesmvz.13.1.5

Stanchi, N., Martino, P., Gentilini, E., Reinoso, E., Echeverría, M., Leardini, N., & Copes, J. (2007). *Microbiología Veterinaria* (Nestor Oscar Stanchi). INTER-Médica.

Suarez, V., Martínez, G., Bertoni, E., Salatin, A., & Dib, M. (2019). *Prevalencia y etiología de las mastitis bovinas en la cuenca lechera del Valle de Lerma (Salta)*.

Tang Ploog, J. (2020). *Mastitis en Ganado Lechero: Etiología, Tipos y Tratamientos Modernos*.

Trujillo, C., Gallego, A., & Ramírez, N. (2010). Prevalence of mastitis in dairy herds in Eastern Antioquia. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*.

Vadillo, S., Píriz, S., & Mateos, E. (2019). *Manual de microbiología veterinaria - Vadillo*. McGraw - Hill Interamericana de España.

Valle Sánchez, K. (2022). *MASTITIS Y CALIDAD DE LA LECHE EN VACAS LECHERAS*.

Vélez, J. (2022a). *INCIDENCIA DE MASTITIS BOVINA SUBCLÍNICA MEDIANTE LA PRUEBA DE CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT) CON IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE ETIOLÓGICO*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Vélez, J. (2022b). *INCIDENCIA DE MASTITIS BOVINA SUBCLÍNICA MEDIANTE LA PRUEBA DE CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT) CON IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE ETIOLÓGICO*. ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

Vicente, D., & Pérez-Trallero, E. (2010). Tetraciclinas, sulfamidas y metronidazol. *Enfermedades Infecciosas y Microbiologia Clinica*, *28*(2), 122-130. https://doi.org/10.1016/j.eimc.2009.10.002

Wagener, M. G., Leonhard-Marek, S., Häger, J. D., & Pfarrer, C. (2018). CD117- and vimentin-positive telocytes in the bovine teat sphincter. *Journal of Veterinary Medicine Series C: Anatomia Histologia Embryologia*, *47*(3), 268-270. https://doi.org/10.1111/ahe.12347

Yang, F., Zhang, S., Shang, X., Li, H., Zhang, H., Cui, D., Wang, X., Wang, L., Yan, Z., & Sun, Y. (2020). Short communication: Detection and molecular characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from subclinical bovine mastitis cases in China. *Journal of Dairy Science*, *103*(1), 840-845. https://doi.org/10.3168/jds.2019-16317

Yera, G., & Ramírez, W. (2016). La Prevalencia de mastitis clinica en vacas mestizas Holstein x Cebú. *REDVET*, *17*, 1-7. https://www.redalyc.org/pdf/636/63646040004.pdf

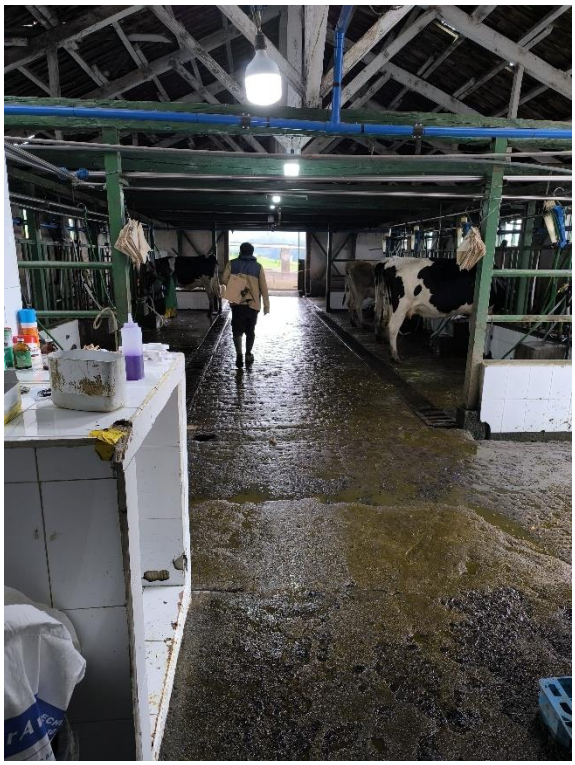
Zambrano, J. C., Echeverri, J., & López-Herrera, A. (2011). *Alleles of the BoLA DRB3.2 gene are associated with mastitis in dairy cows ¤*. http://rccp.udea.edu.co

ANEXOS

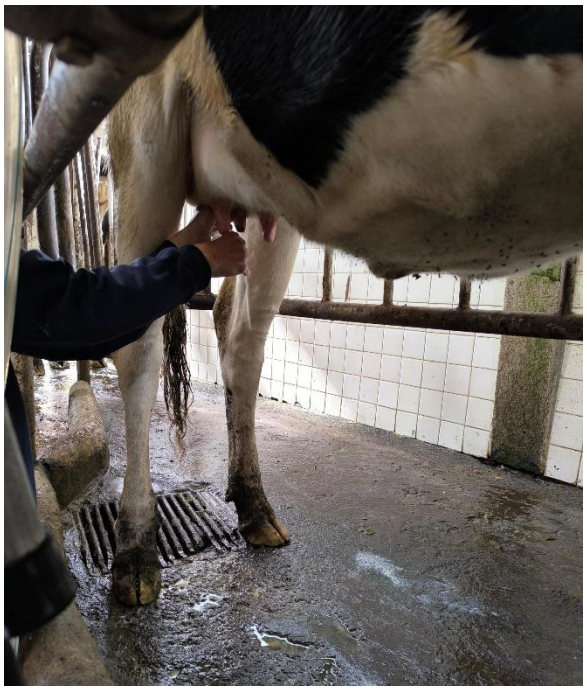
Anexo 1: *Visita a los distintos hatos lecheros.*







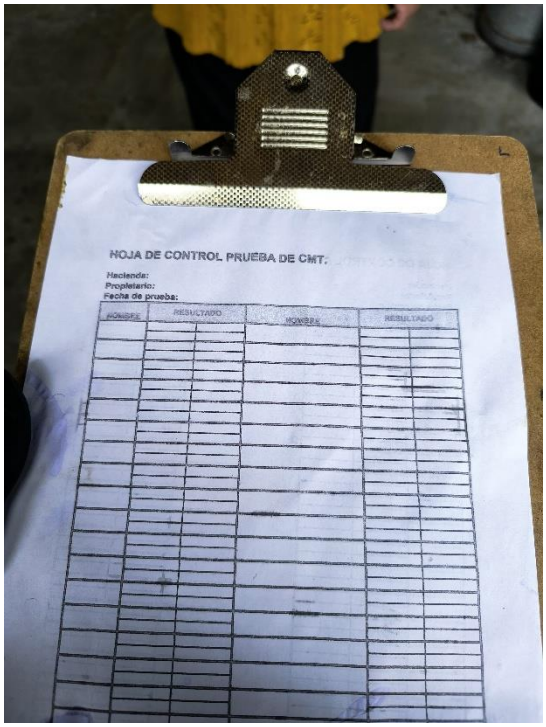
Anexo 2: Recolección de muestras y prueba de CMT.







Anexo 3*: Registro de mastitis, refrigeración de muestras y solicitud de ingreso al laboratorio.*


HOJA DE CONTROL PRUEBA DE CMT.

Hacienda:
Propietario:
Fecha de prueba:

NOMBRE	RESULTADO	NOMBRE	RESULTADO



SOLICITUD DE ANALISIS

Código: F-POE 5.7
Rev: 05
Pág: 1 de 1

Hacienda: La Lola	Técnico de Campo: Joel Toapanta
Propietario: Sra. Paulina Alvarez	Toma de muestra: Fecha y Hora 06/05/2025 15:30 h
Teléfono: 0961619351	Mail para envío de Resultados: choapanta5131@uta.edu.ec

Provincia: Pichincha	Cantón: Mejía	Parroquía: Machachi	Sector: Güitig

Tipo de Muestras: Leche	Total de muestras: 7	Especie: Bovino

Información General

Vacuna para Brucella: Cepa 19 ☐ RB51 ☐ No ☐

Vacuna para Virales: _____ Fecha vacunación: _____

Vacuna para Leptospiras: _____ Fecha vacunación: _____

OBSERVACIONES: (en caso de desparasitación, uso de antibióticos u otro particular mencione en este espacio)

SOLICITUD

# Arete	Nombre	Sexo	Raza	Edad	Examen Solicitado
	Mariana	H	Ho	4	Cultivo y antibiograma y UFC
	Rebelde	H	Ho	3	Cultivo, antibiograma y UFC
	Sopa	H	Ho	5	Cultivo, antibiograma y UFC
	Rosa	H	Ho	3	Cultivo, antibiograma y UFC
	Solorida	H	Ho	4	Cultivo, antibiograma y UFC
	Iris	H	Ho	3	Cultivo, antibiograma y UFC
	America	H	Ho	3	Cultivo, antibiograma y UFC
			H		

Datos para la emisión de la Factura:

Nombre o Razón Social: Joel Toapanta	RUC: 1755144313-1
Mail: choapanta5131@uta.edu.ec	Dirección: "La Primavera" Machachi

Firma Responsable Vetolab

Firma Cliente

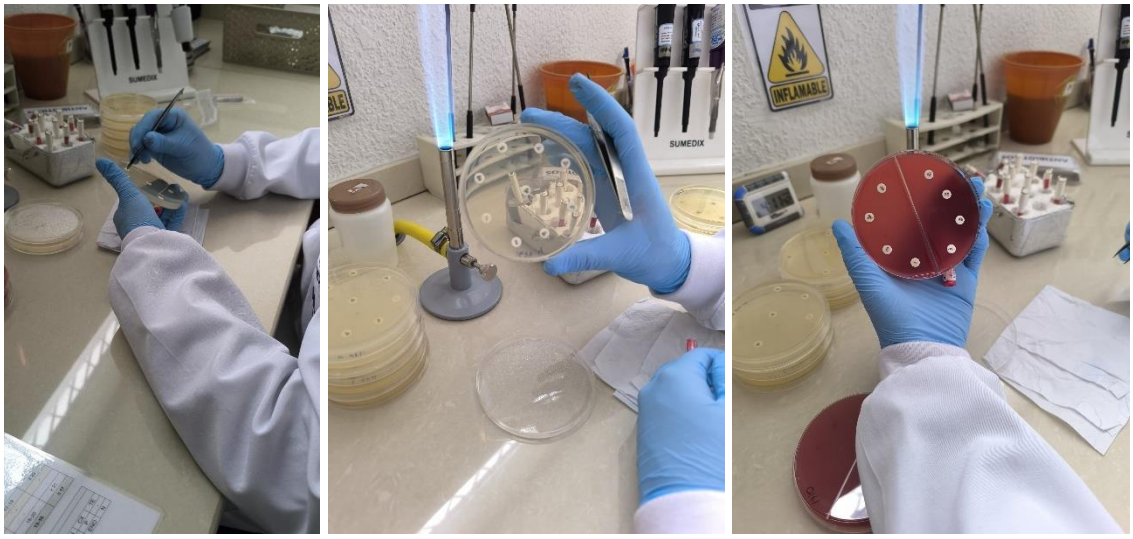
Anexo 4: Cultivo, rotulación e incubación de agares.







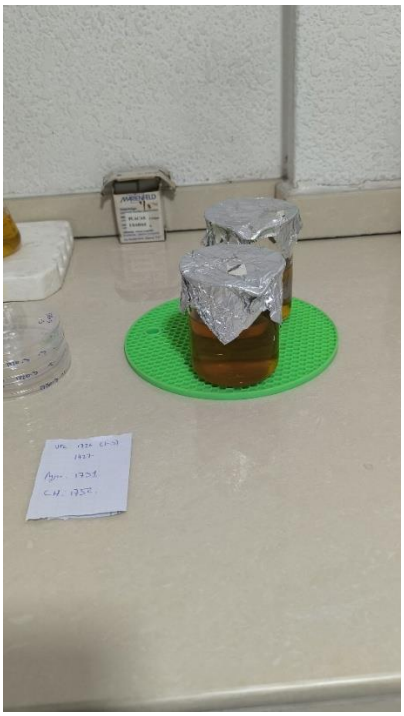
Anexo 5: *Aplicación de discos AB, método Kirby-Bauer y medida de halos de resistencia.*

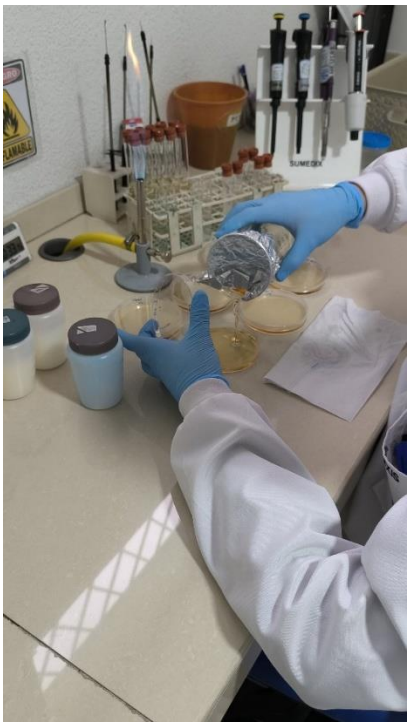




Anexo 6: *Proceso de conteo de unidades formadoras de colonias.*









Anexo 7: *Encuesta de buenas prácticas de ordeño.*

ENCUESTA SOBRE BUENAS PRÁCTICAS DE ORDEÑO

Nombre del predio/hacienda:

_____

Instrucciones: Marque la respuesta que corresponda a su situación en la finca.

1. Antes del ordeño

¿El lugar de ordeño se mantiene limpio y libre de excremento y contaminantes?

[ ] Sí [ ] No

¿Se arrean las vacas con tranquilidad, sin gritos ni uso de perros?

[ ] Sí [ ] No

¿Se establecen horarios fijos de ordeño?

[ ] Sí [ ] No

¿Se inmoviliza a la vaca de manera adecuada antes del ordeño?

[ ] Sí [ ] No

¿El personal se lava las manos y brazos antes de ordeñar?

[ ] Sí [ ] No

¿Los utensilios de ordeño (baldes, bidones, pezoneras) se limpian antes de usarse?

[ ] Sí [ ] No

¿El ordeñador usa ropa adecuada para el ordeño (mascarilla, gorra, guantes, mandil, botas)?

[ ] Sí [ ] No

2. Durante el ordeño

¿Se lavan los pezones con agua limpia y tibia antes del ordeño?

[ ] Sí [ ] No

¿Se secan los pezones con papel desechable antes del ordeño?

[ ] Sí [ ] No

¿Se realiza el ordeño con movimientos suaves y continuos?

[ ] Sí [ ] No

¿El ordeño dura entre 5 y 7 minutos por vaca?

[ ] Sí [ ] No

¿Se sellan los pezones con una solución desinfectante al finalizar el ordeño?

[ ] Sí [ ] No

¿Las vacas se sueltan sin generarles estrés al finalizar el ordeño?

[ ] Sí [ ] No

3. Después del ordeño

¿Se filtra la leche antes de almacenarla?

[ ] Sí [ ] No

¿Se enfría y almacena la leche de inmediato?

[ ] Sí [ ] No

¿Si no hay tanque de enfriamiento, se mantiene la leche en bidones bien cerrados y a la sombra?

[ ] Sí [ ] No

¿Se transporta la leche inmediatamente al centro de acopio o planta procesadora?

[ ] Sí [ ] No

¿Se lavan los utensilios usados con agua y detergente?

[ ] Sí [ ] No

¿Se limpia el local de ordeño (pisos y paredes) con agua y detergente después de cada ordeño?

[ ] Sí [ ] No

¿Se destina el estiércol y la orina del ganado para compostaje o manejo adecuado?

[ ] Sí [ ] No

4. Comentarios adicionales:

_____

_____

_____