UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

“Detección de la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina a partir de muestras de leche de vacas con mastitis subclínica en haciendas del cantón Mocha”

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

AUTOR: Doménica Nathaly Argüello Rodríguez

TUTOR: Dra. Sandra Margarita Cruz Quintana PhD.

Cevallos-Ecuador

Enero-2026

a) PRELIMINARES

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Titulación sobre el tema:

"Detección de la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina a partir de muestras de leche de vacas con mastitis subclínica en haciendas del cantón Mocha"

la alumna Doménica Nathaly Argüello Rodríguez, estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que dicho Trabajo de Titulación bajo la Modalidad Proyecto de investigación ha sido revisado en su totalidad, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento para la Titulación de Grado en la Universidad Técnica de Ambato.

Por lo tanto, autorizo la presentación del mismo, ante el organismo pertinente para ser sometido a la evaluación de los profesores calificadores designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad.

Ambato, Diciembre 2025

.....

Dra. Sandra Margarita Cruz Quintana Phd

C.C.: 1756730238

TUTOR(A)

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, **Doménica Nathaly Argüello Rodríguez** con cédula de ciudadanía N° **185029432-1**, declaro que los criterios emitidos en el trabajo de titulación, **"Detección de la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina a partir de muestras de leche de vacas con mastitis subclínica en haciendas del cantón Mocha"**, así como también los contenidos presentados, ideas, análisis, síntesis de datos y conclusiones, son de exclusiva responsabilidad de mi persona, como autora de este trabajo de Titulación.

Ambato, Diciembre 2025

.....

Doménica Nathaly Argüello Rodríguez

C.C.: 185029432-1

AUTOR(A)

DERECHOS DE AUTOR

Yo, **Doménica Nathaly Argüello Rodríguez** con C.C: **185029432-1**, en calidad de **autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación: "Detección de la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina a partir de muestras de leche de vacas con mastitis subclínica en haciendas del cantón Mocha"** autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este trabajo de titulación o parte de él, un documento disponible con fines netamente académicos para su lectura, consulta y procesos de investigación. Cedo una licencia gratuita e intransferible, así como los derechos patrimoniales de mi Trabajo de Titulación a favor de la Universidad Técnica de Ambato con fines de difusión pública; y se realice su publicación en el repositorio institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, siempre y cuando no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Ambato, Diciembre 2025

.....

Doménica Nathaly Argüello Rodríguez

C.C.: 185029432-1

AUTOR/A

TRIBUNAL DE GRADO

Los miembros del Tribunal de Grado del Trabajo de Titulación, **"Detección de la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina a partir de muestras de leche de vacas con mastitis subclínica en haciendas del cantón Mocha"** de Argüello Rodríguez Doménica Nathaly, estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de conformidad con el Reglamento para la Titulación de Grado para obtener el título terminal de Tercer Nivel de la Universidad Técnica de Ambato, una vez revisado y calificado.

Cevallos, enero 2026

REVISADO POR

Dra. Sandra Margarita Cruz Quintana, PhD.

TUTORA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACION

Para constancia firman:

Ing. Pomboza Tamaquiza Pedro Pablo, PhD.

PRESIDENTE

Mvz. Villavicencio Villavicencio Blanca Jeaneth, Mg.

MIEMBRO TRIBUNAL DE GRADO

Mvz. Lozada Ortiz Jenny Piedad, PhD.

MIEMBRO TRIBUNAL DE GRADO

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación quiero dedicar…

Al rey de reyes que nunca nos abandona, nunca nos falla y siempre va de nuestra mano como dice en Isaías 41:10 "Así que no temas, porque yo estoy contigo; no te angusties, porque yo soy tu Dios. Te fortaleceré y te ayudaré; te sostendré con la diestra de mi justicia"

A los dos amores más grandes de mi vida, Papá y Mamá, Geovanny Arguello y Cecibel Rodríguez que con su esfuerzo hicieron posible este logro, que en cada paso que doy están apoyándome con amor, que se sacrifican y trabajan arduamente día a día para que no me falte nada y darme lo mejor, que con sus consejos y ánimos no me dejaron sola en este camino, por siempre demostrarme que las cosas buenas se obtienen con esfuerzo y dedicación, por ser mi ejemplo de constancia y por siempre creer en mí. Este logro es por y para ustedes papitos.

A mi Chester, mi compañero de desvelos, que se dormía sobre mi computador cansado por la hora, porque siempre que necesite una mano su patita siempre estuvo ahí, que con su presencia hacía que las noches sean menos solitarias, que me recibía con mucha emoción cada fin de semana que llegaba a casa, que con su amor puro y sincero llenaba de calma los momentos de presión.

Y finalmente a esa Dome de 5 años que tontamente decía "quiero ser mecánica de perros", por no descansar hasta lograrlo, que aunque hubo momentos que no podía más nunca se rindió, que nunca dejo de luchar por llegar hasta aquí.

Doménica Nathaly Argüello Rodríguez

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco inmensamente a Dios, por darme la salud y la vida, por darme la fuerza necesaria para seguir cada que me quería dar por vencida, porque sin El nada es posible, por guiar mi camino y cuidarme en la trayectoria del mismo, por protegerme en los días y noches sola en una ciudad que no conocía, por la salud y vida de mis padres.

A papi y mami por su amor y apoyo incondicional durante todos estos años, por cada regaño y cada palabra de aliento, por hacer de mí una mujer de bien, por el esfuerzo que hacen, por nunca dejarme sola en ningún momento, porque sin ustedes no sería este sueño posible. Gracias por todo lo que hacen por mí.
A mi tío J.A. que ha sido un apoyo para mis padres y para mi durante toda esta etapa.

A mis amigas que hice en el camino D.Y, M.L con quienes compartí muchos momentos buenos y malos, que aunque no siempre estuvimos juntas siempre estuvieron ahí para darme un abrazo y ánimos. Gracias por su bonita amistad.

A mi tutora Dra. Sandra Cruz que me brindo su conocimiento, apoyo y paciencia durante todo este proyecto.

Finalmente, al Dr. Gabriel Guevara y Dr. Juan Pablo Valladares que me extendieron su mano compartiendo sus conocimientos y permitiéndome realizar prácticas, contribuyendo a mi vida profesional.

Doménica Nathaly Argüello Rodríguez

ÍNDICE DE GENERAL

A. PAGINAS PRELIMINARES
PORTADA……i
APROBACIÓN DEL TUTOR.....ii
DERECHOS DE AUTOR.....iv
TRIBUNAL DE GRADO.....v
DEDICATORIA.....vi
AGRADECIMIENTO.....vii
ÍNDICE DE GENERAL..... viii
ÍNDICE DE IMAGEN.....xi
ÍNDICE DE TABLAS.....xii
RESUMEN EJECUTIVO..... xiii
ABSTRACT.....xiv
INTRODUCCIÓN.....15
CAPÍTULO I.....19
1. MARCO TEÓRICO.....19
1.1 Antecedentes investigativos.....19
1.3 Marco teórico.....26
1.3.1 Mastitis bovina.....26
1.3.2 Mastitis subclínica.....27
1.3.3 Mastitis clínica.....28
1.3.4 Mastitis ambiental.....29
1.3.5 Prevalencia de mastitis.....30
1.3.6 Métodos bioquímicos para detección de *Staphylococcus aureus*.....31
1.3.7 Resistencia a antibióticos.....31

1.3.8 Staphylococcus aureus.....35
1.4 Objetivos.....37
1.4.1 Objetivo General.....37
1.4.2 Objetivos Específicos.....37
CAPÍTULO II.....38
2. METODOLOGÍA.....38
2.1 Ubicación del experimento.....38
2.2 Características del lugar.....39
2.3 Materiales y equipos.....40
2.3.1 Semovientes.....40
2.3.2 Equipos de campo.....40
2.3.3 Materiales y equipos de laboratorio.....40
2.3.4 Insumos de oficina.....41
2.3.5 Biológicos.....42
2.3.6 Reactivos.....42
2.4 Factores en estudio.....43
2.5 Manejo del experimento.....43
2.5.1 Fase 1: Toma de muestras.....43
2.5.2 Fase 2: Siembra en Agar manitol-salado, tinción Gram y prueba de catalasa-coagulasa.....46
2.5.3 Fase 3: Antibiograma.....50
2.6 Variables de respuesta.....53
2.6.1 Cualitativa.....53
2.6.2 Cuantitativa.....56
2.7 Diseño experimental.....56

2.8 Procesamiento de información 56
2.9 Análisis estadístico 57
2.9.1. Población y Muestra 57
2.10 Hipótesis 58
CAPÍTULO III. 60
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 60
3.1 Análisis y discusión de resultados 60
3.1.1 Identificación de *Staphylococcus aureus* de animales con mastitis subclínica mediante pruebas microbiológicas. 60
3.2 Evaluación del comportamiento bioquímico de *Staphylococcus aureus* aislado de muestras de leche con mastitis subclínica. 64
3.2.1 Determinación del perfil de susceptibilidad MRSA por método fenotípico. 70
3.3 Verificación de hipótesis 78
CAPÍTULO IV 79
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 79
4.1 Conclusiones 79
4.2 Recomendaciones 80
5. MATERIALES DE REFERENCIA 81
5.1 Referencias Bibliográficas 81
5.2 Anexos 92

ÍNDICE DE IMAGEN

Imagen 1. *Mapa geográfico del Cantón Mocha*.....38
Imagen 2. *Muestra positiva a CMT pocillos (a, b, d grado 1 y c grado3)*.....61
Imagen 3. *Colonias beta-hemolíticas*.....61
Imagen 4. *Selección de colonias positivas a fermentación de manitol*.....64
Imagen 5. *Observación microscópica e identificación de Staphylococcus*.....65
Imagen 6. *Prueba catalasa positiva*.....65
Imagen 7. *Prueba coagulasa positiva*.....66
Imagen 8. *Evaluación de cepas meticilino resistente*.....75
Imagen 9. *Halos de sensibilidad a los 8 antibióticos.*.....77
Imagen 10. *Obtención de sangre de ovino*.....97
Imagen 11. *Prueba de CMT*.....97
Imagen 12. *Toma de muestras*.....98
Imagen 13. *Siembra de muestras de leche en agar sangre*.....98
Imagen 14. *Selección de colonias beta-hemolíticas*.....99
Imagen 15. *Selección de colonias positivas a fermentación de manitol*.....99
Imagen 16. *Tinción Gram*.....100
Imagen 17. *Observación microscópica e identificación de Staphylococcus*.....100
Imagen 18. *Prueba catalasa positiva*.....101
Imagen 19. *Obtención de plasma*.....101
Imagen 20. *Prueba coagulasa positiva*.....101
Imagen 21. *Siembra de cepas en infusión cerebro corazón*.....102
Imagen 22. *Medición de densidad óptica*.....102
Imagen 23. *Siembra de cepas en agar Müller Hilton*.....103
Imagen 24. *Colocación de discos de antibióticos*.....103
Imagen 25. *Medición de halos de inhibición*.....104
Imagen 26. *Halos de sensibilidad antibiótica.*.....104

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación y mecanismo de acción de antibióticos.....33

Tabla 2. *Abreviatura de antibióticos.* 43

Tabla 3. *Interpretación de prueba CMT* 44

Tabla 4. *Interpretación de hemólisis en Agar sangre* 46

Tabla 5. *Interpretación de fermentación de manitol*.....47

Tabla 6. *Interpretación de tinción Gram y observación en el microscopio*.....48

Tabla 7. *Interpretación a prueba de catalasa* 49

Tabla 8. *Interpretación a prueba coagulasa* 50

Tabla 9. *Interpretación para la prueba de mastitis*.....53

Tabla 10.Valores referenciales del diámetro del halo de inhibición.....56

Tabla 11. Total, de vacas positivas a CMT y muestras beta-hemolíticas 62

Tabla 12. Muestras positivas a fermentación manitol salado, cocos positivos, catalasa y coagulasa positivas.....66

Tabla 13. *Sensibilidad in vitro de cepas de Staphylococcus aureus aisladas de muestras de leche de vacas con mastitis subclínica frente a ocho antibióticos (Penicilina G, Ciprofloxacina, Gentamicina, Clindamicina, Cloranfenicol, Linezolid, Trimetoprima sulfametoxazol, Tetraciclina)*.....72

Tabla 14. Tabla de resultados.....92

RESUMEN EJECUTIVO

La mastitis bovina representa una de las principales problemáticas sanitarias y económicas en la industria lechera, agravada por la emergencia de resistencia a los antimicrobianos. Esta investigación tuvo como objetivo definir la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) en muestras de leche de vacas con mastitis subclínica en haciendas del cantón Mocha, provincia de Tungurahua. El estudio se justificó por la necesidad de evaluar el riesgo que estos patógenos representan para la salud pública y la sostenibilidad productiva local.

La metodología empleada fue de tipo descriptiva y transversal. Se recolectaron muestras de leche de cuartos mamarios positivos a la prueba de California Mastitis Test. En el laboratorio, se realizó el aislamiento microbiológico y la identificación bioquímica mediante pruebas de catalasa, coagulasa y fermentación de manitol. Posteriormente, se determinó el perfil de resistencia mediante el método de difusión en disco.

Los resultados demostraron que la presencia de mastitis subclínica en el cantón tiene una prevalencia de 24,32 %. A demás de una prevalencia de *Staphylococcus aureus* del 7.60% mostrando una resistencia del 100 % a meticilina. El análisis de susceptibilidad reveló la existencia de cepas con resistencia fenotípica a betalactámicos, lo que sugiere una presión de selección derivada del uso empírico de antibióticos. Se concluye que la circulación de cepas resistentes en Mocha constituye un riesgo latente de transmisión zoonótica y pérdidas económicas.

DESCRIPTORES: Mastitis Subclínica, *Staphylococcus Aureus*, Resistencia a Meticilina, Microbiología Veterinaria, Salud Pública.

ABSTRACT

Bovine mastitis represents one of the main health and economic problems in the dairy industry, exacerbated by the emergence of antimicrobial resistance. This research aimed to define the prevalence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in milk samples from cows with subclinical mastitis on farms in the Mocha canton, Tungurahua province. The study was justified by the need to evaluate the risk that these pathogens represent for public health and local production sustainability. The methodology employed was descriptive and cross-sectional. Milk samples were collected from mammary quarters that tested positive for the California Mastitis Test. In the laboratory, microbiological isolation and biochemical identification were performed using catalase, coagulase, and mannitol fermentation tests. Subsequently, the resistance profile was determined using the disk diffusion method. The results demonstrated that the prevalence of subclinical mastitis in the canton is 24.32%. In addition to a prevalence of Staphylococcus aureus of 7.60%, showing 100% resistance to methicillin. Susceptibility analysis revealed the existence of strains with phenotypic resistance to beta-lactams, suggesting selection pressure resulting from the empirical use of antibiotics. It is concluded that the circulation of resistant strains in Mocha constitutes a latent risk of zoonotic transmission and economic losses.

KEYWORDS: Subclinical Mastitis, *Staphylococcus Aureus*, Methicillin Resistance, Veterinary Microbiology, Public Health.

INTRODUCCIÓN

La mastitis subclínica es uno de los problemas más comunes que enfrentan las ganaderías lecheras en todo el mundo. Al no mostrar signos visibles en las vacas afectadas, muchas veces pasa desapercibida por los productores, lo que permite que el agente causante permanezca en el hato y se propague silenciosamente entre los animales **(Castillo, 2009; Mata, 2002)**. Las consecuencias económicas que se presentan a raíz de esta patología son considerables: se reduce la producción de leche, baja su calidad y se incrementan los costos relacionados con tratamientos, descarte de animales y pérdida de productividad **(Pena, 2019)** .

Selena et al. (2021) menciona que dentro de los causantes del 80 y 90% de los casos de mastitis se encuentran microorganismos como *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus*, aprovechando situaciones vulnerables del animal para colonizar la glándula mamaria. Estos microorganismos pueden llegar a desarrollar una resistencia a los antibióticos como la meticilina, siendo esta una de las más complicadas para el manejo veterinario y salud pública **(Atencio, 2005)**.

En investigaciones realizadas en diferentes países se identificaron que en EE.UU. y Europa la resistencia a meticilina de los *Staphylococcus spp.* representa a más del 50% del total **(Algammal et al., 2020; Rodríguez et al., 2023)**. Por otro lado, en china y Sudáfrica se muestra una prevalencia de estos microorganismos con resistencia a penicilina del 80% y 50,3% respectivamente; dentro de países de Sudamérica se registra

la prevalencia con resistencia a ampicilina y penicilina es de > 85% en México, 50% en Argentina y en el país vecino Colombia 26% **(Khairullah et al., 2020)**.

Barberato et al. (2020) establece que la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina es del 7,6% dentro del continente americano, siendo los bovinos la especie que representa la tasa intermedia de las especies investigadas con un 2,4%, sin embargo, se destaca que, en un análisis de subgrupos, la prevalencia en América Latina es de 4,4%.

Al no aplicar tratamientos efectivos la mastitis subclínica ocasionada por *Staphylococcus aureus* podría desencadenar una serie de brotes incontrolables, pérdidas económicas altas para el productor, riesgos sanitarios dentro del hato y por ende para los productores. Además, el uso indiscriminado de los antibióticos causaría resistencia antimicrobiana dentro del hato provocando que ningún tratamiento sea eficaz para la eliminación de dicha bacteria. Por lo cual es necesario plantear las interrogantes: ¿Qué factores desencadenan la presencia de mastitis subclínica? ¿cuál es la prevalencia de *Staphylococcus aureus* dentro de los hatos lecheros? ¿A qué antibióticos presentan resistencia?

La investigación realizada en la parroquia Yanayacu-Mochapata del cantón Quero por **Bedoya (2024)** resalta la prevalencia de mastitis subclínica en hatos lecheros del cantón, además de la resistencia de microorganismos a antibióticos. Demostrando que el 35% de las muestras tomadas dieron positivo a mastitis subclínica y un 42 % de estas son

causadas por *Staphylococcus aureus*, el mismo que presenta resistencia a varios betalactámicos. Además dentro del mismo cantón, pero en la parroquia Yanayacu **(Lozada 2024)** identificó que el 35 % representa la prevalencia de mastitis subclínica del total de muestras tomadas, con un 100% asociado a *S. aureus* y mediante los procesos fenotípicos realizados se identificó el 100% de cepas SARM. Por tal motivo, se tuvo como objetivo investigar dentro del cantón Mocha, ya que geográficamente los dos cantones se encuentran cerca y presentan características productivas similares dentro de la producción lechera. Dicha similitud puede contribuir que se presenten patrones epidemiológicos iguales en cuanto la prevalencia de mastitis subclínica por *Staphylococcus Aureus* y la resistencia a antibióticos.

Dentro de esta investigación se buscó evaluar la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en muestras de leche de vacas con mastitis subclínica, lo cual es clave para entender la verdadera dimensión del problema en las haciendas del cantón Mocha. Este estudio no solo permitirá identificar la presencia de cepas resistentes, sino que también ayudará a sensibilizar a los productores y profesionales veterinarios sobre la importancia de un uso responsable de los antibióticos en la producción animal.

Contar con esta información es fundamental para fortalecer las estrategias de control sanitario y fomentar buenas prácticas dentro del sector lechero. De esta manera, se podrá asegurar la calidad e inocuidad de los productos lácteos, protegiendo tanto la salud de los animales como la de los consumidores. Además, los resultados que se

obtengan servirán como una base valiosa para futuras investigaciones en el campo de la resistencia antimicrobiana.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Antecedentes investigativos

En un estudio realizado previamente por **Quispe et al. (2021)** en Ayacucho, Argentina, donde evaluó 94 vacas Brown Swiss mediante la prueba de CMT, determinó que la prevalencia de mastitis subclínica es del 58,1% , dentro de la cual el grado más frecuente es el 1 con el 23,9%. Al realizar las pruebas microbiológicas obtuvo que los agentes etiológicos fueron en un 35, 2% de *Staphylococcus aureus* y un 12,7% de *Streptococcus agalactiae*, resaltando la resistencia a antibióticos de S. *aureus* a la penicilina con el 52% y de *S. agalactiae* a la sulfa-trimetoprima con el 33,3%.

Por otro lado **Ortiz (2023)** realizó una investigación en una hacienda del cantón Santo Domingo, en el cual la cantidad de animales para muestreo fueron 89, en dicha investigación se realizaron pruebas de CMT y se identificaron los agentes etiológicos, obteniendo como resultado que el 30,34% fue positivo a mastitis subclínica, mientras que el 69,66% fue negativo. Por otro lado para las pruebas de cultivo se tomaron en cuenta 31 cultivos de vacas que positivas a mastitis, en donde se identificó que el 100% de los cultivos tuvo un crecimiento bacteriano, predominando el crecimiento de *Staphylococcus aureus* con el 87,10%, mientras tanto que el 12,90% restante es de *Streptococcus* spp..

Además, se toma en cuenta los resultados del antibiograma, el cual muestra la sensibilidad de *Staphylococcus aureus* a amoxicilina, gentamicina, ampicilina, enrofloxacina, doxiciclina, ampicilina, norfloxacina, estreptomicina, cefalexina, kanamicina y ciprofloxacina; con una sensibilidad media a la azitromicina y resistencia a eritromicina y sulfa-trimetoprima; en cambio los *Streptococcus* spp. mostraron ser sensibles a ampicilina, azitromicina, amoxicilina, enrofloxacina, gentamicina, doxiciclina, eritromicina, norfloxacina, cefalexina, kanamicina y ciprofloxacina y presentan resistencia a estreptomicina y sulfa-trimetoprima.

En la provincia del Carchi, Ecuador, **Chamorro (2023)** desarrolló un estudio con el objetivo de evaluar la presencia de mastitis bovina y su impacto económico en la producción lechera, abarcando ocho fincas ubicadas en diferentes cantones. Mediante la aplicación del California Mastitis Test (CMT), se determinó que el 31,6% de las vacas evaluadas presentaron algún grado de mastitis subclínica, mientras que el 68,4% resultaron negativas. Entre las fincas evaluadas, La Escondida presentó el mayor porcentaje de casos positivos (39%), seguida por El Descanso, El Peñal y Los Arenales con un 33% cada una. En el análisis microbiológico, se observó que aunque la mayoría de las muestras se encontraban dentro de los límites establecidos por la normativa ecuatoriana, un porcentaje considerable presentó niveles elevados de unidades formadoras de colonias, indicando contaminación por *Staphylococcus aureus*, agente identificado mediante pruebas de tinción Gram, coagulasa, catalasa y hemólisis. Las pruebas moleculares confirmaron la identidad del patógeno en un 99,6% y 99,7% de similitud genética. En cuanto al impacto económico, se estimó que las vacas afectadas por mastitis

representaron una pérdida del 4,73% en la rentabilidad anual de las fincas, atribuida a la reducción en la producción de leche.

Maldonado et al. (2022) realiza un estudio en Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, donde se diagnostica la presencia de mastitis subclínica en vacas de raza Holstein mediante tres métodos: CMT, Milk Checker y Draminski. En dicha investigación obtuvo como resultado una alta incidencia de mastitis subclínica, siendo el método CMT el más sensible con una detección del 87,5% de los casos. A través del análisis bacteriológico, se determinó que el 100% de las muestras correspondían a bacterias Gram positivas, identificando a *Staphylococcus aureus* como el agente más prevalente con un 51,4% de incidencia. Además, el antibiograma reveló una alarmante resistencia del 100% de las cepas aisladas a la ciprofloxacina, 33,3% a la penicilina y 11,1% a la tetraciclina, lo que evidencia un problema creciente de resistencia antimicrobiana.

Chávez et al. (2025) menciona en su investigación que en la comunidad Tunshi, Chimborazo se reporta un 44,4% de mastitis subclínica evidenciada mediante CMT. Dentro de dicha investigación se realizó la identificación de los agentes patógenos, obteniendo como resultado la presencia de *Staphylococcus* spp. en 84,1% **y** *Escherichia* spp. 73,8 %. También se demostró que los agentes etiológicos encontrado presentan una sensibilidad a medicamentos como la gentamicina en un 100%, tetraciclina con 80,2 % y son resistentes a la penicilina en un 65,4%.

Mientras tanto **Sasig (2023)** evaluó la prevalencia de mastitis subclínica en la hacienda "Campo Alegre" de la provincia de Pichincha, obteniendo un 19% de animales positivos, demostrando que la prevalencia es baja a comparación de otras provincias evaluadas. Al realizar las pruebas microbiológicas se detectó que el 46,15% es debido a la presencia de *Staphylococcus simulans*, el 23,08% es de *Staphylococcus aureus*, el 15,38% es de *Staphylococcus chromogenes* y finalmente el 15,38% de coliformes. Dentro del antibiograma se obtuvo una sensibilidad del 92,31% a la cefalexina, sin embargo, se observó resistencia a enrofloxacina, ampicilina y gentamicina.

Otro antecedente relevante es el estudio realizado en la parroquia La matriz, del cantón Salcedo por **Mayorga (2023)** quien evaluó la presencia de infección intramamaria subclínica en bovinos lecheros mediante el método California Mastitis Test (CMT), determinando una prevalencia del 70% en un total de 50 vacas evaluadas. De dicho total el 44% presentó afectación en al menos un cuarto mamario, el 16% en dos cuartos, y el 10% en los cuatro cuartos. El aislamiento bacteriano reveló la presencia exclusiva de *Staphylococcus epidermidis* en el 100% de las muestras, sin detección de bacterias Gram negativas. De manera destacada, el antibiograma mostró una susceptibilidad del 100% del patógeno aislado frente a los once antibióticos evaluados, incluyendo penicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, ciprofloxacina y vancomicina, lo que sugiere una baja presión de selección antibiótica en ese entorno específico.

En estudios recientes, realizado en el cantón Cevallos, de la provincia de Tungurahua por **Balarezo (2025)**, donde se tomaron muestras de leche y muestras de

secreciones nasales de los operadores, a partir de dichas muestras se caracterizó la forma molecular de *Staphylococcus aureus* mediante la detección del gen *NucA*, el cual es el marcador especifico de dicha especie, demostrando la prevalencia de un 100%. Por otro lado, el gen *mecA* demuestra la resistencia a betalactámicos y a meticilina, no fue detectado en todas las muestras tomadas.

En la investigación realizada en la parroquia Yanayacu, cantón Quero-Tungurahua por **Lozada (2024)** dentro de tres hatos lecheros, se identificó una prevalencia del 35% de mastitis subclínica en vacas mediante la prueba CMT, y se confirmó la presencia de *Staphylococcus aureus* en el 42% de las muestras analizadas. La mayoría de los aislamientos presentaron características fenotípicas compatibles con *S. aureus*, incluyendo beta-hemólisis, fermentación de manitol, y pruebas positivas de catalasa y coagulasa. En las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, todas las cepas resultaron resistentes a penicilina y el 83.3% a oxacilina, mientras que mostraron alta sensibilidad a ciprofloxacina, azitromicina, trimetoprima sulfametoxazol y tetraciclina.

Por otro lado **Bedoya (2024)** realizó una investigación en el cantón Quero, parroquia Yanayacu-Mochapata, provincia de Tungurahua, donde se evaluaron 80 vacas lecheras mediante CMT, identificando 28 casos positivos de mastitis subclínica. A partir de estas muestras, se obtuvieron 21 cepas con características morfológicas compatibles con *Staphylococcus* spp. tras el cultivo en agar sangre y pruebas de tinción de Gram. Posteriormente, se aplicaron pruebas bioquímicas, incluyendo siembra en manitol salado, catalasa y coagulasa, confirmando la presencia de *Staphylococcus aureus* en 42,8% de los

casos positivos. Estas cepas presentan el 100% de sensibilidad a gentamicina, cloranfenicol y rifampicina, sin embargo, se presenta una resistencia del 25% a novobiocina, 16,6% a linezolid y 8,3% a clindamicina.

1.2 Fundamentación filosófica

La presente investigación se enmarca epistemológicamente en el paradigma positivista, también conocido como enfoque empírico-analítico. Este paradigma sostiene que la realidad es objetiva, medible y observable, existiendo independientemente del investigador. En el contexto de este estudio microbiológico, se asume que la presencia de *Staphylococcus aureus* y su resistencia a la meticilina son fenómenos biológicos concretos que pueden ser cuantificados mediante métodos científicos estandarizados. La validación del conocimiento se logra a través de la experimentación rigurosa en laboratorio y el análisis estadístico de los datos recolectados, buscando establecer leyes generales sobre la prevalencia de la resistencia bacteriana en la población bovina del cantón Mocha **(Hernández et al., 2018)**.

Ontológicamente, la investigación adopta una postura realista crítica. Se reconoce que existe una realidad externa la infección bacteriana y la resistencia genética que opera bajo leyes causales. Sin embargo, se entiende que nuestra medición de esa realidad, aunque objetiva, es una aproximación a la verdad biológica, mediada por las limitaciones de las técnicas diagnósticas sensibilidad y especificidad de las pruebas. Esta postura filosófica permite al investigador no solo describir el fenómeno, sino intentar explicar las

causas subyacentes, como el manejo zootécnico y el uso de antibióticos, entendiendo que estos factores interactúan en un sistema complejo de producción animal **(Bunge, 2020)**.

Axiológicamente, el estudio se fundamenta en principios éticos de responsabilidad social y bienestar animal. La ciencia no es neutra; tiene una finalidad. En este caso, el valor supremo que guía la investigación es la búsqueda de la salud pública "Una Salud" y la sostenibilidad productiva. Se asume el compromiso ético de generar conocimiento que no solo sea "verdadero" científicamente, sino "útil" para mejorar la calidad de vida de la comunidad ganadera y proteger a los consumidores. La filosofía detrás de este trabajo rechaza la investigación extractivista y promueve una ciencia aplicada que resuelva problemas concretos de la sociedad, como la inseguridad alimentaria y la resistencia antimicrobiana **(Kuhn, 2019)**.

Metodológicamente, se sigue la lógica del método hipotético-deductivo. Partiendo de teorías existentes sobre microbiología y resistencia bacteriana, se formulan hipótesis específicas sobre la situación en el cantón Mocha que serán sometidas a prueba empírica. Este enfoque filosófico garantiza la objetividad del proceso, ya que las conclusiones no se basan en opiniones o intuiciones del investigador, sino en la refutación o aceptación de hipótesis mediante la evidencia recolectada. Es una filosofía de la ciencia que valora la replicabilidad y la verificación como criterios de demarcación entre lo que es conocimiento científico y lo que no lo es **(Popper, 2008)**.

La investigación se apoya en una visión sistémica. Aunque el objeto de estudio es microscópico, filosóficamente se entiende que este elemento es parte de un sistema mayor: el agroecosistema de producción lechera. La bacteria no existe en el vacío, sino en relación con el huésped, el ambiente y el agente humano. Esta visión holística, derivada de la Teoría General de Sistemas, es fundamental para interpretar los resultados, ya que la resistencia a la meticilina no es solo un rasgo biológico, sino una propiedad emergente de las interacciones desequilibradas dentro del sistema productivo **(Von Bertalanffy, 2015)**.

1.3 Marco teórico

1.3.1 Mastitis bovina

La mastitis es una patología muy frecuente en vacas lecheras que ha ocasionado varias pérdidas económicas a productores durante años, la cantidad de causas vinculadas a microorganismos patógenos, el portador y el medio ambiente la convierten en una enfermedad compleja **(Porporatto & Felipe, 2011)**.

Chaneton (2010) manifiesta que en la mayoría de casos de mastitis reportadas es provocada por infección bacteriana, presentándose de manera clínica mostrando signos evidentes y detectables a través de inspección y palpación, mientras tanto la subclínica presenta ausencia de signos y es detectable mediante pruebas bioquímicas y microbiológicas.

Valle (2022) menciona que la leche proveniente de una vaca que presenta mastitis va a tener varios cambios en su composición entre los que se encuentran:

- Lactosa disminuida por el tejido dañado y la disminución de la actividad de enzimas dentro de las células secretoras.
- Permeabilidad capilar aumentada, separación de las uniones celulares y presencia de leucocitos localizados, lo que causa la presencia de sangre en}la leche.
- Conductividad eléctrica aumentada por la concentración de sodio y cloro aumentada y una concentración de potasio disminuida.
- Proteínas de calidad baja aumentadas.
- Caseína y proteína disminuidas.

1.3.2 Mastitis subclínica

La mastitis subclínica se caracteriza por la presencia de microorganismos patógenos acompañada de un aumento en el recuento de células somáticas en la leche, y a menudo puede evolucionar hacia una inflamación sin recibir tratamiento adecuado **(Herencia & Mamani, 2022)**. A diferencia de la mastitis clínica, esta forma no muestra alteraciones visibles ni en la leche ni en la ubre, lo que dificulta su detección a simple vista. Sin embargo, puede observarse una leve disminución en la producción lechera, además de cambios en la composición de la leche debido a la presencia de células inflamatorias y agentes infecciosos **(Moran et al., 2020)**.

Este tipo de mastitis representa una de las formas más persistentes dentro de los hatos lecheros, siendo común su aparición y responsable de importantes pérdidas económicas. Estas pérdidas no solo se deben a la disminución en el volumen de leche producido, sino también al aumento en el número de células somáticas, lo que afecta la calidad de la leche almacenada en los tanques **(de los Santos et al., 2022)**. En la práctica diaria, los casos de mastitis subclínica suelen pasar desapercibidos por largos periodos o no ser reconocidos oportunamente por el personal encargado del ordeño. Por este motivo, su detección precisa requiere del uso de herramientas de diagnóstico como el conteo de células somáticas y el cultivo bacteriológico **(Pakrashi et al., 2023)**.

1.3.3 Mastitis clínica

La mastitis clínica se manifiesta como una respuesta inflamatoria del tejido mamario frente a una infección, generando alteraciones visibles en la leche, como cambios de color o la presencia de coágulos de fibrina. A medida que la inflamación progresa, pueden observarse signos evidentes en la glándula mamaria, tales como hinchazón, aumento de temperatura, dolor y enrojecimiento **(Erskine, 2020)**. Cuando los síntomas se limitan al área local sin compromiso general del animal, se clasifica como un caso leve o moderado. En cambio, si se presentan signos sistémicos como fiebre, pérdida de apetito o shock, se considera un cuadro grave. En aquellos casos en los que la enfermedad se desarrolla rápidamente, como suele suceder en las formas más severas, se habla de mastitis

aguda. Las vacas con mayor compromiso clínico suelen mostrar una secreción serosa proveniente del cuarto mamario afectado **(Tang, 2020)**.

Aunque en los casos subclínicos varios cuartos pueden estar infectados simultáneamente, por lo general solo uno de ellos presenta síntomas clínicos visibles. Sin embargo, infecciones causadas por *Mycoplasma* spp. pueden afectar a múltiples cuartos al mismo tiempo **(Rosero et al., 2022)**. En situaciones más extremas, puede desarrollarse mastitis gangrenosa, especialmente cuando infecciones subclínicas crónicas por *Staphylococcus aureus* se agravan en momentos de inmunosupresión, como el periodo periparto. Al igual que en las formas subclínicas, el cultivo bacteriológico de leche proveniente de los cuartos afectados sigue siendo el método más confiable para identificar el agente causal de la mastitis clínica **(Bolaños et al., 2012)**.

1.3.4 Mastitis ambiental

Medrano et al. (2021); Rodríguez (2023) señalan que la mastitis ambiental es causada principalmente por bacterias oportunistas presentes en el entorno de los animales, en especial por microorganismos Gram negativos como *Escherichia coli, Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp. y *Proteus* spp.. No obstante, también se han identificado algunas bacterias Gram positivas asociadas a esta forma de mastitis, como *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae*. A diferencia de la mastitis contagiosa, los agentes de la mastitis ambiental no se transmiten directamente entre

animales, sino que provienen de fuentes externas como el suelo, el estiércol, la cama húmeda, el agua contaminada y otros elementos del ambiente donde habita el ganado.

1.3.5 Prevalencia de mastitis

La prevalencia de la mastitis bovina varía significativamente entre regiones geográficas y sistemas de producción, aunque se mantiene como una de las enfermedades más costosas y frecuentes en la industria lechera mundial. Estudios recientes indican que la mastitis subclínica suele presentar tasas de prevalencia mucho más altas que la forma clínica, oscilando frecuentemente entre el 20% y el 40% de los cuartos mamarios en hatos sin programas de control rigurosos **(Hogeveen et al., 2011)**.

En investigaciones realizadas en zonas tropicales y subtropicales, se ha reportado una prevalencia a nivel de vaca que puede superar el 50%, siendo *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* los patógenos contagiosos más comúnmente aislados **(Ruegg, 2017)**. Además, factores como la higiene durante el ordeño, la etapa de lactancia y la paridad del animal influyen directamente en estas tasas, donde las vacas multíparas tienden a mostrar una mayor susceptibilidad a infecciones intramamarias persistentes en comparación con las primíparas **(Abebe et al., 2016)**.

1.3.6 Métodos bioquímicos para detección de *Staphylococcus aureus*

La identificación fenotípica de Staphylococcus aureus se basa fundamentalmente en un perfil bioquímico distintivo que permite diferenciarlo de otras especies del género, conocidos comúnmente como estafilococos coagulasa negativos (ECN). El protocolo estándar inicia con la prueba de catalasa para confirmar el género Staphylococcus, seguida de la prueba de la coagulasa en tubo, la cual es considerada el estándar fenotípico debido a la capacidad de S. aureus para producir esta enzima que coagula el plasma, una característica ausente en la mayoría de las otras especies **(Kateete et al., 2010)**.

Adicionalmente, se emplean medios selectivos y diferenciales como el Agar Manitol Salado (MSA), donde S. aureus muestra su capacidad para fermentar manitol en condiciones de alta salinidad, virando el indicador de pH a color amarillo. Para confirmar resultados dudosos, se recurre frecuentemente a pruebas suplementarias como la detección de la actividad de la desoxirribonucleasa (DNasa) termoestable y la visualización de beta-hemólisis en agar sangre, conformando así una batería de pruebas que ofrece una alta especificidad diagnóstica a bajo costo **(Becker et al., 2014)**.

1.3.7 Resistencia a antibióticos

Awandkar et al. (2022) manifiesta en su investigación que la resistencia a los antibióticos en los agentes etiológicos de la mastitis subclínica bovina representa un desafío creciente para la salud animal y la producción lechera. Diversos microorganismos, entre ellos *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus*

agalactiae, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *Corynebacterium bovis*, *Trueperella pyogenes*, y *Mycoplasma* spp., han demostrado desarrollar mecanismos de resistencia frente a múltiples clases de antimicrobianos, como penicilinas, tetraciclinas, macrólidos y aminoglucósidos.

Oteo (2016) argumenta que esta resistencia suele originarse por el uso indiscriminado o prolongado de antibióticos, tanto en tratamientos curativos como preventivos, lo que genera una presión selectiva que favorece la proliferación de cepas resistentes. La persistencia de estas infecciones en la glándula mamaria reduce la eficacia de los tratamientos, incrementa el riesgo de transmisión entre animales y eleva los costos productivos. Por ello, la identificación precisa del agente causal y la evaluación de su perfil de sensibilidad antimicrobiana son esenciales para establecer terapias dirigidas y prevenir la propagación de cepas multirresistentes dentro del hato.

Tabla 1. *Clasificación y mecanismo de acción de antibióticos*

FAMILIA	ANTIBIÓTICO	MECANISMO DE ACCIÓN
Betalactámicos	Penicilina G	Se encarga de inhibir la síntesis de la pared celular de la bacteria. Actúa bloqueando la formación de enlaces cruzados entre cadenas de peptidoglicano mediante su unión a PBPs, provocando que la bacteria se rompa osmóticamente. Funciona eficazmente contra bacterias Gram + y ciertos cocos Gram - **(Pinilla et al., 2021)**.
Quinolona	Ciprofloxacina	Fluoroquinolona que se encarga de inhibir las topoisomerasas II y IV, las cuales son importantes en el mecanismo de réplica, transcripción y reparación del ADN. Este medicamento provoca que el ADN se rompa y por ende el crecimiento celular, siendo eficaz para bacterias Gram - **(Bladé, 1999)**.
Lincosamida	Clindamicina	Este antibiótico va actuar anulando la síntesis proteica uniéndose a una subunidad ribosomal 50S. no permite la formación de enlaces peptídicos,

		bloqueando el estiramiento de aminoácidos. Su uso es contra bacterias anaeróbicas y cocos Gram + **(Rotger y Martínez, 2016)**.
Anfenicol	Cloranfenicol	Antibiótico de amplio espectro que actúa inhibiendo la síntesis proteica, mediante su unión con la subunidad 50S del ribosoma. La actividad de la enzima peptidil transferasa es eliminada evitando la formación de enlaces peptídicos **(Velasco, 2001)**.
Aminoglucósido	Gentamicina	Su mecanismo de acción es actuar sobre la subunidad 30S del ribosoma. Inhibe la fase inicial de la síntesis proteica provocando un error en la lectura del ARN mensajero, provocando la muerte celular **(Sumano y Ocampo, 2006)**.
Oxazolidinona	Linezolid	Su unión a la subunidad 50S provoca que no se forme el complejo 70S necesario para la traducción. Es eficaz contra bacterias Gram + resistentes como el

		Staphylococcus aureus resistente a meticilina **(Suárez et al., 2006)**.
Sulfonamida trimetropim	+ Cotrimoxazol	Su forma de actuar es inhibiendo la síntesis del ac. fólico de la bacteria. La combinación de sulfametoxazol y trimetoprima inhiben la dihidropteroato sintetasa y dihidrofolato reductasa respectivamente. Además bloquea la síntesis de purinas y por lo tanto el ADN **(Botana, 2016)**.
Tetraciclina	Tetraciclina	Antimicrobiano de amplio espectro que actúa inhibiendo la síntesis de proteínas uniéndose a la subunidad 30S, impidiendo que el ARNt se una al ARNm. Este fármaco se activa contra varias bacterias, además de intracelulares **(Plumb, 2010)**.

1.3.8 Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus es una bacteria Gram positiva, catalasa y coagulasa positiva, que forma parte del microbiota normal de la piel y mucosas de animales y humanos, pero que también puede comportarse como un patógeno oportunista. Es uno de los agentes etiológicos más importantes en la mastitis bovina, especialmente en su forma

subclínica y crónica, debido a su capacidad para persistir en la glándula mamaria y evadir la respuesta inmunitaria del huésped. Se transmite principalmente durante el ordeño, a través de equipos contaminados, pezoneras no desinfectadas y las manos de los ordeñadores **(Díaz, 2009)**.

Una de las principales características que hace a *S. aureus* tan problemático en la mastitis es su habilidad para formar biopelículas sobre superficies y tejidos mamarios. Esta estructura le confiere protección frente al sistema inmunitario del animal y frente a muchos antibióticos, dificultando su erradicación. Además, puede invadir células epiteliales y sobrevivir intracelularmente, lo que contribuye a la recurrencia de infecciones y a la resistencia terapéutica **(Carolina et al. 2025)**.

En cuanto a la resistencia a los antibióticos, *S. aureus* ha desarrollado mecanismos para evadir la acción de múltiples antimicrobianos, como la producción de β-lactamasas, modificación de blancos ribosomales, bombas de eflujo y alteración de la permeabilidad de su membrana. De particular preocupación es la aparición de cepas de *S. aureus* resistentes a la meticilina (SARM), las cuales poseen el gen *mecA*, que codifica una proteína de unión a penicilina alterada (PBP2a), disminuyendo la eficacia de casi todos los antibióticos β-lactámicos. Estas cepas, además de afectar la salud animal, representan un riesgo para la salud pública debido a su potencial zoonótico **(Aliverti et al. 2022)**.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

- Definir la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina a partir de muestras de leche de vacas con mastitis subclínica en haciendas del cantón Mocha.

1.4.2 Objetivos Específicos

- Identificar *Staphylococcus aureus* de animales con mastitis subclínica mediante pruebas microbiológicas.
- Evaluar el comportamiento bioquímico de *Staphylococcus aureus* aislado de muestras de leche con mastitis subclínica (fermentación de manitol, catalasa y coagulasa).
- Determinar el perfil de susceptibilidad MRSA por método fenotípico (difusión en Agar).

CAPÍTULO II

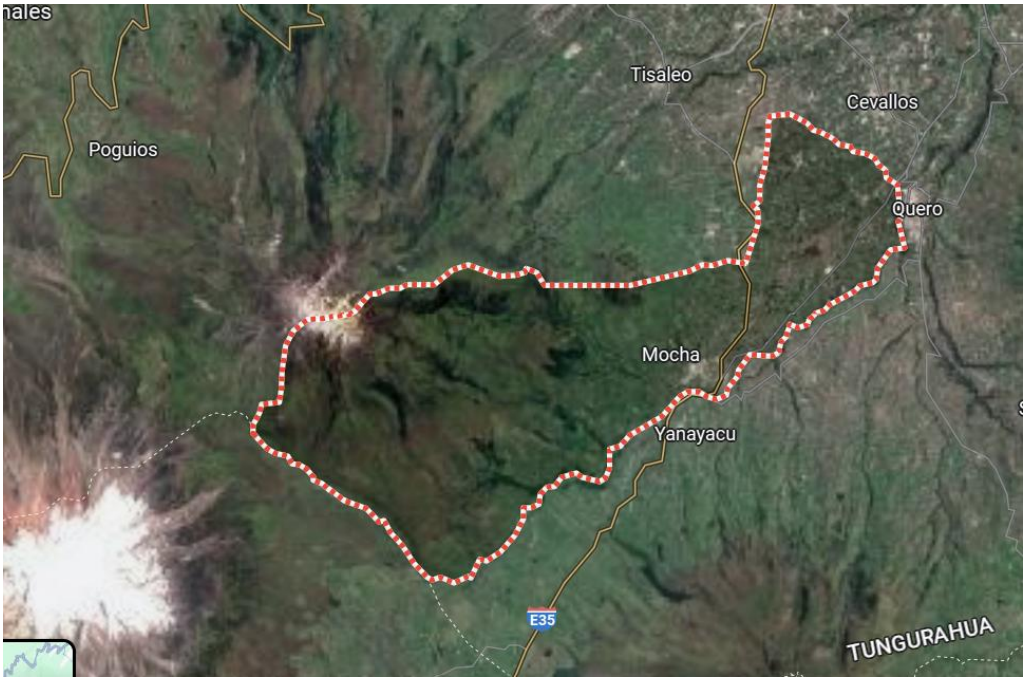
2. METODOLOGÍA

2.1 Ubicación del experimento

El trabajo a campo se realizó en las haciendas lecheras del cantón Mocha de la provincia de Tungurahua. A una altitud de 3280 m.s.n.m y cuyas coordenadas geográficas son: Latitud: -1.41667, Longitud: -78.66671° 25′ 0″ Sur, 78° 40′ 0″ Oeste **(*Gobierno Municipal de Mocha*, 2025).**

Imagen 1.

Mapa geográfico del Cantón Mocha



Fuente: **(Google maps, 2025)**.

Mientras tanto que el trabajo experimental se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología y biología molecular de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad técnica de Ambato, ubicada en el sector Querochaca, cantón Cevallos de la provincia de Tungurahua. Cordenadas geográficas de latitud 1°22"08.7" y longitud 78° 36'23.8" con una altitud de 2865 m.s.n.m. **(GAD Municipal Cevallos, 2025)**.

2.2 Características del lugar

El cantón Mocha, cuenta con una superficie de 82,3 km². Presenta un clima variado debido a su topografía, que oscila entre los 2.500 y 4.965 m.s.n.m. En las zonas más altas predominan los páramos, caracterizados por temperaturas inferiores a los 10 °C y marcadas variaciones climáticas a lo largo del día, con altos niveles de humedad **(*Gobierno Municipal de Mocha,* 2025)**.

El laboratorio de microbiología y biología molecular presenta una temperatura que oscila entre los 20-21°C. Manteniendo una humedad de 62 a 74 %. Por otro lado el viento viaja a una velocidad de 2 a 7 km/h. Dichas condiciones ambientales son adecuadas para para cada uno de los procesos experimentales investigativos que se realizan dentro del mismo **(GAD Municipal Cevallos, 2025)**.

2.3 Materiales y equipos

2.3.1 Semovientes

- Vacas lecheras

2.3.2 Equipos de campo

- Overol
- Botas
- Nariguera
- Cabo
- Guantes de látex
- Paleta para CMT
- Tubos para muestras de leche
- Rollo de papel

2.3.3 Materiales y equipos de laboratorio

- Autoclave
- Balanza analítica
- Nevera
- Espectrofotómetro
- Incubadora
- Centrifugadora
- Vortexer
- Agitador magnético
- Microscopio
- Asa de siembra
- Cajas Petri

- Gradilla
- Portaobjetos
- Matraz Erlenmeyer
- Tubos de ensayo
- Mechero bunsen
- Varilla de agitación
- Vaso de precipitación
- Cuchara de medición
- Micropipeta
- Tubos Falcon
- Puntas de micropipetas
- Mechero bunsen
- Cofia
- Mascarilla
- Zapatones
- Mandil
- Agua destilada

2.3.4 Insumos de oficina

- Computadora
- Esferográficos
- Hojas A4
- Impresora
- Celular
- Marcador
- Cuaderno

2.3.5 Biológicos

- Muestras de leche

2.3.6 Reactivos

- Reactivo CMT
- Agar sangre
- Sangre de ovino
- Agar manitol-salado
- Agar Tripticasa Soya
- Cristal violeta
- Lugol
- Alcohol-cetona
- Colorante safranina
- Agar Müller-Hilton
- Infusión cerebro-corazón
- Discos de antibióticos (Penicilina G, Gentamicina, Clindamicina, Sulfametoxazol + Trimetoprima, Cloranfenicol, Linezolid, Ciprofloxacina, Tetraciclina)

2.4 Factores en estudio

Tabla 2. *Abreviatura de antibióticos.*

ANTIBIÓTICO	SIMBOLOGÍA
Penicilina G	P
Ciprofloxacina	CIP
Clindamicina	CD
Cloranfenicol	C
Gentamicina	CN
Linezolid	LNZ
Cotrimoxazol	SXT (sulfametoxazol + trimetoprima)
Tetraciclina	TE

2.5 Manejo del experimento

La investigación se realizó en 3 fases:

2.5.1 Fase 1: Toma de muestras

- **Identificación de vacas con mastitis subclínica mediante la prueba de CMT.**

- Se realizó una adecuada higiene y secado de los pezones de la vaca.
- Los dos primeros chorros de leche fueron descartados (despunte), con el fin de eliminar residuos y obtener una muestra más representativa.

- Se extrajo aproximadamente dos chorros de leche de cada cuarto mamario y depositar por separado en los pocillos correspondientes de la paleta de CMT.
- Se inclinó la paleta para eliminar el exceso, dejando alrededor de 2 ml por pocillo.
- Se añadió 2 ml del reactivo CMT en cada muestra y se mezclan suavemente mediante movimientos circulares.
- Se observó si se produce una reacción de gelificación, lo cual indicará la presencia de células somáticas elevadas, asociadas con inflamación o mastitis subclínica.
- Al identificar el cuarto afectado, se tomó 15 ml de leche en un tubo de muestra estéril.
- Las muestras fueron correctamente identificadas y trasladadas en un cooler con hielo hacia el laboratorio.

Tabla 3. *Interpretación de prueba CMT*

GRADO	INTERPRETACIÓN
N (negativo)	La mezcla mantiene un estado líquido.
T (trazas)	Tiende a formarse un precipitado que desaparece inmediatamente.
1(+)	Hay un precipitado mayor, pero no hay formación de gel.
2(+ +)	Hay precipitado denso y se presenta concentrado en el centro.
3(+ + +)	Hay la formación de un gel denso que se adhiere a las paredes de la paleta.

Fuente: **(Life-Ecuador, 2025)**.

- **Preparación de Agar sangre**

- Se esterilizó los materiales a una temperatura de 120°C en la autoclave.
- Se pesó 32 gr de Agar sa ngre base, colocar en un matraz Erlenmeyer y disolver en 744 ml de agua destilada.
- Se homogenizó y esterilizó la solución a 120 °C de temperatura.
- Se dejó temperar la solución hasta una temperatura que las manos puedan tocar el matraz sin quemarse.
- Se colocó el matraz en el agitador magnético a una temperatura de 40 – 42 °C para evitar que se solidifique antes de la mezcla con la sangre.
- Se agregó sangre de ovino en un 7% (56 ml) por los bordes del matraz.
- En placas Petri estériles se plaqueó y dejó reposar alrededor de 45 min hasta que se solidifique.

- **Siembra de las muestras**

- Se marcó cada caja con la respectiva identificación.
- Con ayuda de una micropipeta tomar 10 µL de la muestra de leche y se colocó en las cajas Petri con Agar sangre.
- Se esperó que la muestra se seque durante 5 - 6h.
- Se estrió la muestra por los cuadrantes en sentido de las manecillas del reloj con ayuda de un asa de siembra previamente esterilizada.
- Se dejó incubar las cajas de 24 - 48h a una temperatura de 37 °C.
- Las muestras beta-hemolíticas se pasaron a sembrar en agar manitol salado.

Tabla 4. *Interpretación de hemólisis en Agar sangre*

BETA-HEMOLÍTICAS	Hay lisis completa de los glóbulos rojos por lo cual se observa un halo transparente y claro alrededor de la colonia.
ALFA-HEMOLÍTICAS	Se presenta una lisis parcial de los glóbulos rojos y se observa un halo de color verde grisáceo alrededor de la colonia.
GAMMA-HEMOLÍTICAS	Hay crecimiento de colonia, sin embargo, no presenta hemolisis.

Fuente: **(Serrano y Gutiérrez, 2018).**

2.5.2 Fase 2: Siembra en Agar manitol-salado, tinción Gram y prueba de catalasa-coagulasa

- **Preparación de Agar manitol-salado**

- Se disolvió 88.8 gr de Agar manitol salado en 800ml de agua destilada para obtener alrededor de 22 a 25 cajas Petri.
- Se llevó a autoclavar a una temperatura de 120 °C para homogenizar y esterilizar el medio.
- Se dejó que el medio de cultivo baje un poco la temperatura para su manipulación.
- Se plaqueó el medio en cajas Petri esterilizadas anteriormente.
- Se dejó solidificar aproximadamente por 45 min.
- Se volteó las cajas y se llevaron a refrigeración hasta la siembra.

- **Siembra en Agar manitol-salado**

- Se recogió la mitad de colonia de cada una de las muestras que presentaron hemolisis en agar sangre.
- Se llevó a sembrar la colonia en cajas con el medio de cultivo manitol salado previamente identificadas con ayuda de un asa estéril.
- Se llevó a la incubadora durante 24 h a una temperatura de 37°C.
- Las muestras que presentaron el cambio de color rosado a amarillo son positivas a fermentación de manitol salado.
- Se llevaron las muestras positivas a tinción Gram.

Tabla 5. *Interpretación de fermentación de manitol*

CAMBIO DE COLOR (naranja o amarillo)	**SIN CAMBIO DE COLOR**
Al obtener un cambio de color esta bacteria es positiva a la fermentación de manitol con su producción de ácido, además el rojo fenol que actúa como indicador cambia a amarillo por el pH disminuido del medio de cultivo.	El color de rojo fenol se mantiene debido a que dicha bacteria que creció es una de las especies que no fermentan manitol.

Fuente: **(Pahissa, 2009).**

- **Tinción Gram**

- Se colocó una gota de agua destilada en el porta objetos.
- Se seleccionó la mitad de la colonia que presenta fermentación de manitol salado con ayuda del asa de siembra.

- Se colocó y dispersó la muestra en el agua destilada del porta objetos y se identificó la muestra.
- Se dejó secar por aprox. 20 min.
- Se agregó cristal violeta a la muestra por 1 min y lavar con agua destilada.
- Se agregó lugol a la muestra por 1 min y lavar.
- Se agregó alcohol-cetona por 10 seg y lavar.
- Se agregó colorante safranina durante 1 min y lavar.
- Una vez secas las muestras se observó en el microscopio con el lente de inmersión en aceite de 100X.

Tabla 6. *Interpretación de tinción Gram y observación en el microscopio*

TINCIÓN GRAM	En las bacterias Gram positivas como los *Staphylococcus* retienen el colorante cristal violeta tomando un color morado o azul oscuro.
OBSERVACIÓN DE MICROSCOPIO	En la imagen que proporciona el microscopio se logra visualizar figuras esféricas agrupadas en racimos de uva.

Fuente: **(Harvey y Champe, 2008).**

- **Prueba catalasa**

- Se identificó cada placa con la numeración de cada muestra.
- Se colocó una gota de agua oxigenada en el porta objetos.
- Se tomó una muestra del agar manitol salado con ayuda del asa de siembra.
- Se colocó la muestra en la gota de agua oxigenada.
- Se observó la reacción de la muestra, la cual produce espuma.
- Se clasificó las muestras en positivas y llevarlas a realizar la prueba de coagulasa.

Tabla 7. *Interpretación a prueba de catalasa*

POSITIVO	NEGATIVO
Presencia de burbujas de forma inmediata ya que la bacteria produce la enzima catalasa descomponiendo el H2O2 en H2O y en O2.	No hay presencia de burbujas y por ende la bacteria no produce la enzima catalasa.

Fuente: **(Gómez y Gómez, 2020).**

- **Prueba coagulasa**

- **Obtención de plasma**

- Se tomó 5 ml de sangre de ovino previamente recolectada.
- Se colocó en dos tubos de muestra estériles con un tapón.
- Se llevó a la centrifugadora a 3000 rpm durante 15 min.
- Se pasó el plasma a un tubo y se botó el sedimento que no será utilizado.

- **Prueba**

- Se agregó 1000 µL de plasma en tubos previamente identificados y esterilizados.
- Se tomó parte de la colonia que dio positivo a tinción Gram y a catalasa.
- Se llevó la muestra hacia el fondo del tubo y se mezcló con el plasma.
- Se colocó todas las muestras en la incubadora durante 3 - 24h a una temperatura de 37°C.

Tabla 8. *Interpretación a prueba coagulasa*

POSITIVO	La bacteria produce la enzima coagulasa causando que el fibrinógeno se convierta en fibrina formando el coagulo.
NEGATIVO	El plasma permanece liquido sin ningún coagulo.

Fuente: **(Varón et al., 2023).**

- **Preparación y siembra en Agar Tripticasa-soya**

- Se disolvió 32 gr de Agar tripticasa-soya en 800 ml de agua destilada.
- Se llevó al autoclave a esterilizar a una temperatura de 120 °C.
- Se dejó que la temperatura baje hasta que se pueda manipular.
- Se llevó a plaquear en cajas Petri estériles.
- Se dejó solidificar durante 40 min.
- Se volteó la placa y se colocó en la refrigeradora.
- Las colonias de las muestras positivas a manitol, catalasa y coagulasa fueron sembradas en agar tripticasa de soya.
- Se llevó a incubar durante 24h a una temperatura de 37 °C.

2.5.3 Fase 3: Antibiograma

- **Preparación de la infusión Cerebro-corazón**

- Se pesó 29.6 gr de infusión cerebro- corazón y se mezcló con 800 ml de agua destilada.

  Se llevó a autoclavar a una temperatura de 120 °C.

- Dejase dejó a enfriar para llevarlo a refrigeración hasta utilizarla.

- **Paso de muestras de Agar tripticasa-soya a caldo cerebro-corazón**

- Se tomó 5 ml de infusión y se colocó en tubos estériles.
- Se tomaron varias colonias con ayuda del asa de siembra del medio de cultivo tripticasa de soya.
- Se colocaron las colonias en los tubos con infusión y se mesclaron en el vortexer para conseguir una mezcla homogénea.
- Una vez disueltas las colonias en la infusión se llevaron a incubar durante 3h a una temperatura de 37°C.

- **Medición de densidad óptica**

- Pasado el tiempo en incubación se volvió a mezclar en el vortexer.
- Se encendió el espectrofotómetro y se calibró a una longitud de onda de 600 nm.
- Se colocó en una cubeta 1000 µL de infusión cerebro-corazón para usar como blanco.
- Se retiró el blanco, se tomó de cada tubo de muestra 1000 µL y se colocó en una cubeta para ponerlo en el espectrofotómetro.
- En caso de que la densidad óptica haya resultado superior a 0.5 Av se colocó en el tubo de muestra más infusión cerebro-corazón.

- Se homogenizó la muestra con ayuda del vortexer y se llevó nuevamente al espectrofotómetro.
- Una vez obtenido dentro del rango la densidad óptica se sembró en agar Muller Hilton para antibiograma.

- **Preparación de Agar Müller Hilton**

- Se disolvió 30.4 gr de Agar Müller Hilton en 800 ml de agua destilada.
- Se llevó a la autoclave a 120°C.
- Se dejó que la temperatura reduzca hasta que sea manipulable**.**
- Se colocó el medio de cultivo en placas esterilizadas.
- Se dejó solidificar durante 40 min, se volteó y se colocó en la refrigeradora hasta ser usadas.

- **Antibiograma**

- De los tubos con la muestra dentro del rango de densidad óptica se humedesió un hisopo estéril.
- Se sembró en todos los cuadrantes por toda la superficie del medio de cultivo en 3 réplicas de cada muestra.
- Se colocó el disco blanco en el centro de todos los medios de cultivo.
- Se puso en cada disco de los diferentes antibióticos en los medios de cultivo considerando una distancia prudente entre los mismos.

- Se llevó a la incubadora durante 18-20h a 37°C.

2.6 Variables de respuesta

2.6.1 Cualitativa

2.6.1.1 Identificación de grado de mastitis mediante prueba CMT

Para identificar el grado y tipo de mastitis se toma en cuenta los valores de la siguiente tabla:

***Tabla 9**. Interpretación para la prueba de mastitis*.

GRADO	INTERPRETACIÓN
N (negativo)	La mezcla mantiene un estado líquido.
T (trazas)	Tiende a formarse un precipitado que desaparece inmediatamente.
1(+)	Hay un precipitado mayor, pero no hay formación de gel.
2(+ +)	Hay precipitado denso y se presenta concentrado en el centro.
3(+ + +)	Hay la formación de un gel denso que se adhiere a las paredes de la paleta.

Fuente: **(Life-Ecuador, 2025).**

2.6.1.2 Manitol

Medio de cultivo especialmente diseñado para detectar la presencia de *Staphylococcus aureus*. Este medio contiene pluripeptona y extracto de carne, que aportan nutrientes esenciales como carbono, nitrógeno, vitaminas y minerales necesarios para el crecimiento bacteriano. Además, su alta concentración de sal (NaCl) ayuda a inhibir el desarrollo de otras bacterias no deseadas. El medio incluye rojo de fenol como indicador de pH, lo que permite diferenciar visualmente las cepas. Si se trata de una bacteria coagulasa positiva, como *S. aureus*, esta fermenta el manitol y produce ácido, lo que cambia el color del medio a un amarillo brillante. En cambio, las cepas coagulasa negativas no generan este cambio y las colonias se observan rodeadas de zonas rojas o púrpuras **(Uzcátegui, 2025).**

2.6.1.3 Catalasa

Es útil para diferenciar bacterias del género *Staphylococcus* de las del género Streptococcus. Esto se debe a que los *Staphylococcus* suelen ser catalasa positivos, mientras que los Streptococcus son catalasa negativos. Para llevar a cabo esta prueba, se coloca una pequeña muestra de la colonia bacteriana sobre un portaobjetos y se añade una gota de peróxido de hidrógeno. Si la bacteria produce la enzima catalasa, se observa una efervescencia inmediata, lo cual indica una reacción positiva. Esta reacción confirma que la bacteria tiene la capacidad de descomponer el peróxido en agua y oxígeno, lo que es característico de los *Staphylococcus* **(Antonio et al., 2020)**.

2.6.1.4 Coagulasa

Es utilizada para identificar la presencia de estafilocoagulasa, una enzima extracelular característica de Staphylococcus aureus. Esta enzima reacciona con la protrombina presente en el plasma, formando un complejo que provoca la coagulación. Para realizar la prueba, se utiliza plasma fresco ovino, que se mezcla con la muestra bacteriana. Si se observa la formación de coágulos o aglutinación, el resultado se considera positivo, lo cual indica que la bacteria produce coagulasa y, por tanto, es probablemente *S. aureus* **(Antonio et al., 2020)**.

2.6.1.5 Antibiograma

Las cepas de *Staphylococcus aureus* se clasifican como sensibles (S), Intermedia (I), Resistente (R), mediante la medición del diámetro de los halos de inhibición observados, dichos valores se comparan con los referenciales establecidos por Clinical and Laboratory Standards Institute **(CLSI, 2024)**.

2.6.2 Cuantitativa

Tabla 10.*Valores referenciales del diámetro del halo de inhibición*

ANTIBIÓTICO	UNIDAD	SENCIBLE	INTERMEDIO	RESISTENTE
Penicilina G	10 unit	≥ 29	-	≤ 28
Ciprofloxacina	5 ug	≥ 21	16-20	≤ 15
Clindamicina	2 ug	≥ 20	15-20	≤ 14
Cloranfenicol	30 ug	≥ 18	13-17	≤ 12
Gentamicina	10 ug	≥ 15	13-14	≤ 12
Linezolid	30 ug	≥ 26	23-25	≤ 22
Rifampicina	-	≥ 20	17-19	≤ 16
Tetraciclina	30 ug	≥ 19	15-18	≤ 4

Fuente: **(CLSI, 2024).**

2.7 Diseño experimental

Se realizó una investigación transversal, observacional y analítica; mediante la identificación de mastitis subclínica en vacas lecheras de haciendas del cantón Mocha y posteriormente se logró la identificación de la presencia de *Staphylococcus aureus* mediante pruebas microbiológicas.

2.8 Procesamiento de información

Los datos obtenidos durante las 3 fases de la investigación fueron recopilados y registrados en una base de datos en Microsoft Excel® 2016 lo que permitió la elaboración de tablas y gráficos. Posteriormente se realizaron pruebas estadísticas no paramétricas;

para la comparación de la sensibilidad antimicrobiana de las cepas ante diferentes antibióticos se aplico la prueba de Kruskal-Wallis, y complementariamente se aplico la prueba U de Mann-Whitney para la identificación de diferencias significativas entre cepas, considerandose el nivel singnificativo de $p < 0,05$.

2.9 Análisis estadístico

2.9.1. Población y Muestra

La población de estudio estuvo conformada por vacas lecheras pertenecientes a hatos del cantón Mocha, las mismas que fueron evaluadas durante el periodo de muestreo. Mientras que la muestra fue seleccionada de manera no probabilística, teniendo en consideración a animales clínicamente sanos, pero con un diagnóstico positivo a mastitis subclínica mediante la prueba de California Mastitis Test (CMT). Dicho procedimiento se hizo con personal capacitado en la recolección aséptica de las muestras garantizando la integridad de las mismas y por ende el éxito del trabajo experimental.

Para el cálculo de la muestra, se consideró una población de 670 vacas lecheras pertenecientes a 14 haciendas registradas en el cantón Mocha, según los datos que proporciona la Agencia de Regulación y Control Fito y Zoosanitario del Ecuador (AGROCALIDAD). Tomando en cuenta una prevalencia del 20% de *Staphylococcus aureus* en vacas que presentan mastitis subclínica dentro de América Latina.

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

Donde:

n = tamaño de la muestra

Z = nivel de confianza 95%

p = prevalencia / probabilidad 20%

q = complemento de p (1-p)

d = error aceptado 5%

Para el cálculo:

n = 670

Z = 95% = 1.96

p = 20% = 0.2

q = 1 – 0.023 = 0.97

d = 5% = 0.05

$$n = \frac{670 * 1.96^2\ 0.2 * 0.97}{0.05^2 * (670 - 1) + 1.96^2\ 0.2 * 0.97}$$

$$n = \frac{670 * 3.8416 *\ 0.2 * 0.97}{0.0025 * 669 + 3.8416 *\ 0.2 * 0.97}$$

$$= \frac{499.33}{2{,}41} = 206$$

2.10 Hipótesis

- Hipótesis nula (H0): No existe prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en vacas lecheras con mastitis subclínica en las haciendas del cantón Mocha.

- Hipótesis alternativa (Ha): Existe prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en vacas lecheras con mastitis subclínica en las haciendas del cantón Mocha.

CAPÍTULO III.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de resultados

3.1.1 Identificación de *Staphylococcus aureus* de animales con mastitis subclínica mediante pruebas microbiológicas.

Los resultados obtenidos en la fase 1 de la investigación se presentan en la tabla N°11. En esta etapa se evaluaron 211 vacas en producción dentro de 14 haciendas lecheras del cantón Mocha cuyo objetivo fue identificar la presencia de mastitis subclínica aplicando California Mastitis Test (CMT). De los animales evaluados, 163 (24,32%) resultaron positivas a la prueba, proporcionando evidencia de la presencia elevada de mastitis subclínica en la población evaluada. Además, se registraron 342 cuartos mamarios afectados, lo cual demuestra que más de un cuarto estuvo comprometido en varios animales.

Imagen 2. *Muestra positiva a CMT pocillos (a, b, d grado 1 y c grado3)*

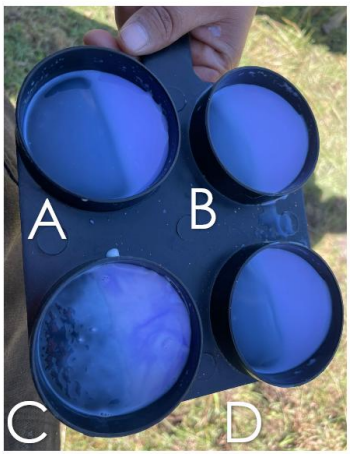


Imagen 3. *Colonias beta-hemolíticas*



Posteriormente, se recolectó 15 ml de leche de cada cuarto afectado siguiendo las medidas asépticas para el análisis bacteriológico dentro del laboratorio. Las muestras obtenidas fueron sembradas en agar sangre e incubadas a 37°C durante 24 horas para

determinar la presencia de agentes patógenos relacionados con mastitis. A continuación se observó la presencia de beta-hemólisis en 80 muestras, indicando la actividad hemolítica procedente de agentes infecciosos como *Staphylococcus aureus.* Dichas muestras positivas a beta-hemólisis fueron seleccionadas para la identificación específica y continuar con las siguientes fases de la investigación.

Tabla 11. Total, de vacas positivas a CMT y muestras beta-hemolíticas

Total, de vacas	**Vacas positivas a CMT**	**Numero de cuartos afectados**	**Muestras beta-hemolíticas**	**Prevalencia de mastitis subclínica**
211	163	342	80	24,32%

Dentro del estudio realizado se obtuvo que la prevalencia de mastitis subclínica en el cantón Mocha, provincia de Tungurahua es del 24,32%. En comparación con el estudio de **Bedoya, (2024) y Lozada (2024)** que reportaron una prevalencia del 35% en el cantón Quero, se puede mencionar que a pesar de ser cantones aledaños la mastitis subclínica en el cantón Mocha es menor. Sin embargo, es un valor moderado, que atribuye a la frecuencia de la enfermedad dentro de la provincia. **Díaz (2022)**, en el cantón Patate demostró que la prevalencia es del 55%, lo cual es superior, evidenciando que los agentes infecciosos están en mayor circulación dentro del cantón. Por otro lado en el cantón Pasa demostró una prevalencia elevada del 86% siendo uno de los porcentajes más altos dentro de la provincia y resaltando una situación epidemiológica crítica frente a la observada en Mocha **(Chacha, 2025)**.

En contraste a otras provincias, **Sigsig (2023)** obtuvo menor incidencia de mastitis subclínica con el 19%, en la hacienda Campo Alegre en Pichincha, posicionándose por debajo de lo hallado en la presente investigación. Al ser menor este porcentaje sugiere un mejor manejo sanitario antes, durante y después del ordeño. Finalmente en la provincia de Chimborazo en Tunshi demostraron que la prevalencia fue del 87,5%, siendo uno de los valores más altos de los estudios analizados, lo que demuestra la variabilidad epidemiológica de la enfermedad presente entre provincias cercanas geográficamente **(Maldonado et al., 2022)**.

Mientras tanto se reportó que el 23,39% de las muestras aisladas presento beta-hemolisis, coincidiendo con varios estudios que mencionan que la beta-hemólisis es característica de *Staphylococcus* spp. principalmente de *Staphylococcus aureus,* manifestando una zona clara alrededor de la colonia en el medio de cultivo Agar sangre, debido a la producción de hemolisinas beta, provocando el daño tisular e inflamación de la glándula mamaria y por ende la persistencia de la infección **(Touaitia et al., 2025)**. Las cepas de *Staphylococcus aureus* beta-hemolíticas son más invasivas llegando a colonizar de manera rápida el tejido mamario, formando biopelículas y provocando que la eliminación del mismo sea dificultosa y provocando infecciones recurrentes y crónicas **(Tong et al., 2015)**.

En cuanto la presencia de mastitis subclínica en cuartos mamarios se identificó que los más afectados son los cuartos posteriores, lo cual coincide con **(Vélez et al., 2019)** que obtuvo una prevalencia alta en los cuartos mamarios posteriores. Indicando que los

factores asociados a estos resultados pueden ser por la posición anatómica, contacto frecuente con zonas contaminadas o el contacto con las superficies.

3.2 Evaluación del comportamiento bioquímico de *Staphylococcus aureus* aislado de muestras de leche con mastitis subclínica.

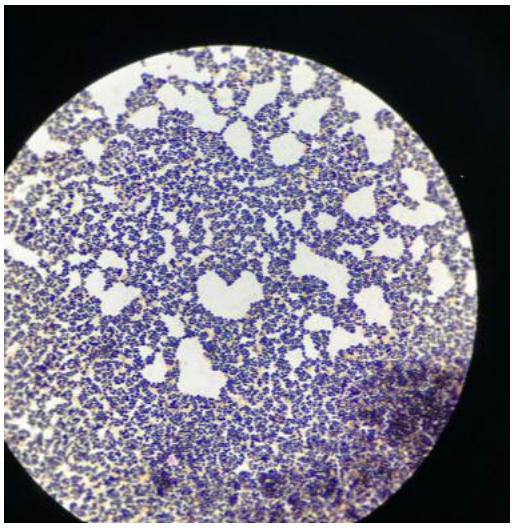
En la segunda fase del estudio se identificó microbiológicamente de las muestras beta-hemolíticas positivas 61 muestras presentaron crecimiento en agar manitol salado, evidenciando el cambio de color de rojo a amarillo característico de la presencia de *Staphylococcus.*

Imagen 4. *Selección de colonias positivas a fermentación de manitol*



Posteriormente se realizó tinción Gram a colonias de muestras positivas en el medio selectivo, dentro de la cual se obtuvo 53 muestras que se observaron cocos positivos en forma de racimos de uva, dicha morfología coincide con el género *Staphylococcus.* Estas muestras positivas a tinción fueron llevadas a prueba de catalasa obteniendo 48 positivas, confirmando la presencia de *Staphylococcus* productores de catalasa.

Imagen 5. *Observación microscópica e identificación de Staphylococcus*



Al realizar la prueba coagulasa para determinar la presencia de *Staphylococcus aureus*, de las 48 muestras catalasa positiva 26 muestras provocaron coagulación del plasma, lo cual nos permitió confirmar su identificación como *Staphylococcus aureus*. Seguido de todas las pruebas microbiológicas las 26 muestras finales son seleccionadas para la fase final de la investigación para detectar cepas meticilino-resistentes. Mostrándose los resultados obtenidos en la tabla N° 12.

Imagen 6. *Prueba catalasa positiva*



Imagen 7. *Prueba coagulasa positiva*



Tabla 12. Muestras positivas a fermentación manitol salado, cocos positivos, catalasa y coagulasa positivas

Total, de muestras positivas a manitol salado	**Tinción Gram (cocos gran positivos en forma de racimos)**	**Total, de muestras positivas a catalasa**	**Total, de muestras positivas a coagulasa**	**Prevalencia de *Staphylococcus aureus***
61	53	48	26	7.60%

El proceso en el medio de cultivo se basa en las propiedades selectivas y diferenciales del Agar Salado Manitol (MSA). Según **Procop et al. (2020)** en el texto de *Koneman*, la alta concentración de NaCl al 7.5% actúa como agente selectivo

inhibiendo el microbiota acompañante y favoreciendo a los estafilococos halotolerantes; simultáneamente, la diferenciación ocurre mediante la fermentación del manitol. **Murray et al. (2015)** explican que *Staphylococcus aureus* metaboliza anaeróbicamente este carbohidrato produciendo ácidos orgánicos que reducen el pH del medio, lo que provoca que el indicador rojo de fenol vire a un color amarillo intenso, creando halos distintivos alrededor de las colonias, a diferencia de los estafilococos coagulasa-negativos que no fermentan y permanecen rojos.

Para la identificación morfológica y bioquímica, la tinción de Gram revela, como describen **Miller et al. (2019)**, cocos Gram positivos color violeta agrupados en racimos irregulares similares a uvas, debido a su división celular en múltiples planos. La confirmación bioquímica es crucial: **Jawetz et al. (1991)** señalan que la presencia de la enzima catalasa diferencia al género *Staphylococcus* de los estreptococos, mientras que **Riddell y Sanyal, (2025)** establecen que la prueba de la coagulasa es el marcador definitivo de virulencia para *S. aureus*, demostrando la capacidad de la bacteria para convertir fibrinógeno en fibrina y formar un coágulo visible en plasma.

Mediante las pruebas realizadas para evaluar el comportamiento bioquímico de las cepas aisladas se obtuvo una prevalencia de *Staphylococcus aureus* del 7.60%, un valor relativamente bajo a lo reportado por **Bedoya (2024) y Lozada (2024)** los resultados evidenciaron una prevalencia del 42% para *Staphylococcus aureus* en mastitis subclínica dentro del cantón Quero, una cifra que contrasta notablemente con los valores reducidos observados en el vecino cantón de Mocha. A pesar de las similitudes agroecológicas entre

ambas localidades, esta variabilidad porcentual subraya la influencia decisiva de las prácticas de manejo. Es probable que las diferencias radiquen en la ejecución de protocolos de bioseguridad, tales como la desinfección durante el ordeño y las estrategias de control sanitario implementadas. Consecuentemente, el perfil epidemiológico más favorable de Mocha podría reflejar no solo una gestión más eficaz, sino también una posible presencia de cepas de menor virulencia o una contención efectiva que limita la diseminación del patógeno entre los rebaños.

En contraste a otros lugares del Ecuador se observa una variabilidad considerable de la presencia del patógeno, en el norte del país en Carchi se muestra una alta prevalencia de *Staphylococcus aure*us con el 100% **(Rosero et al., 2022)**, en Imbabura con un 60,4% **(Mora Ponce, 2023)** mientras que en el cantón Cayambe **(Serrano Vincenti et al., 2016)** identificaron una presencia menor con un 22%, al mostrar prevalencias elevadas reflejan una circulación mayor del patógeno, extendiéndose hacia el país vecino Colombia donde **Gómez et al. (2021)** reportaron una prevalencia del 31,94%, país fronterizo a dichas provincias.

Mientras que al sur del país **Cuenca et al. (2021)** demostró que la provincia de Cañar hay una prevalencia de *Staphylococcus aureus* del 9.5% siendo bajo al igual que el del cantón Mocha, al extenderse hacia Perú país fronterizo se demostró una prevalencia del 35.2 % llevando a un contraste de prevalencia de baja a moderada. Las prevalencias elevadas al norte del país sugieran a mayor flujo comercial de animales entre países, mientras que al sur hay una menor comercialización teniendo relación con los valores de

incidencia. Mocha al encontrarse en una provincia intermedia podría salir beneficiada en condiciones de manejo y bioseguridad, con una menor exposición a los factores de riesgo.

Desde la perspectiva de la salud pública, *Staphylococcus aureus* representa una amenaza latente debido a su capacidad para producir enterotoxinas termoestables que resisten los procesos convencionales de pasteurización. Aunque el tratamiento térmico elimina las bacterias viables, las toxinas preformadas en la leche cruda altamente contaminada pueden permanecer activas, causando intoxicaciones alimentarias estafilocócicas en los consumidores finales **(Hennekinne et al., 2012)**. Además, el uso recurrente de terapias antibióticas para controlar este patógeno en el ganado ha convertido a los hatos lecheros en reservorios potenciales de cepas resistentes a la meticilina (MRSA), lo que plantea un grave riesgo de transmisión de resistencia antimicrobiana hacia la población humana a través de la cadena alimentaria **(Sabulal et al., 2024).**

En cuanto a la calidad de la leche, la infección por *S. aureus* frecuentemente manifestada como mastitis subclínica altera drásticamente la composición fisicoquímica del producto, elevando el recuento de células somáticas (RCS) y modificando la integridad de proteínas y grasas. La actividad enzimática de la bacteria degrada la caseína y aumenta la lipólisis, lo que resulta en rendimientos queseros deficientes, problemas de coagulación y la aparición de sabores rancios o desagradables en los productos terminados **(Li et al., 2019)**. Esta degradación impide que la industria procesadora obtenga derivados lácteos de alta calidad y vida útil prolongada, afectando directamente la competitividad del producto en el mercado.

El impacto económico es severo y multifactorial, constituyendo una de las principales causas de merma en la rentabilidad de las explotaciones lecheras a nivel mundial. Las pérdidas financieras no se limitan a los costos visibles de tratamientos veterinarios y el descarte obligatorio de leche con residuos de antibióticos, sino que se concentran mayoritariamente en la reducción crónica del volumen de producción láctea por vaca y la necesidad de sacrificio prematuro (culling) de animales de alto valor genético que no responden al tratamiento **(Heikkilä et al., 2018)**. Asimismo, la baja calidad composicional impide a los productores acceder a bonificaciones industriales por calidad, generando una pérdida directa de ingresos netos y disminuyendo la eficiencia económica global del sistema productivo **(Hogeveen et al., 2019)**.

3.2.1 Determinación del perfil de susceptibilidad MRSA por método fenotípico.

En la fase final del estudio, se evaluó el perfil de susceptibilidad fenotípica de 26 aislamientos de *Staphylococcus aureus* asociados a casos de mastitis, empleando el método de difusión en agar. Los resultados revelaron un escenario de resistencia crítica: se determinó una resistencia absoluta (100%) a la penicilina en todas las cepas evaluadas, anulando su utilidad terapéutica. De igual forma, se observaron tasas de resistencia alarmantes frente a antibióticos de importancia clínica y veterinaria como la tetraciclina (18 cepas resistentes), el linezolid (14 resistentes) y la clindamicina (13 resistentes). La ciprofloxacina mostró un comportamiento dividido con una eficacia

limitada (12 cepas resistentes), lo que sugiere una presión selectiva previa sobre estos grupos farmacológicos.

En contraste, el cloranfenicol se posicionó como el antimicrobiano de mayor eficacia *in vitro*, logrando sensibilidad en 21 de las 26 cepas, seguido por la gentamicina (19 sensibles) y el sulfametoxazol-trimetoprima (17 sensibles), los cuales representan las mejores alternativas terapéuticas en este grupo de estudio. Es notable que, a pesar de la alta prevalencia de resistencia a múltiples fármacos, estos tres antibióticos conservan una actividad moderada a alta. Sin embargo, la presencia de fenotipos con sensibilidad intermedia, especialmente frente al linezolid y cloranfenicol, advierte sobre la transición hacia niveles de resistencia superiores si no se manejan con prudencia.

Al analizar la Tabla N°12, se observa una marcada variabilidad en la susceptibilidad *in vitro* de las 26 cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis subclínica bovina frente al panel de ocho antibióticos evaluados. Los datos, procesados mediante pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis y U de Mann-Whitney), revelan un gradiente significativo de resistencia: la cepa 21 se destaca estadísticamente como la más resistente (rango promedio 475,50 y media de escala 3, indicando resistencia total), diferenciándose claramente del grupo de cepas con menor desempeño, como las cepas 91, 137 y 170, que presentan los rangos más bajos (alrededor de 200-225) y medias cercanas a 1,4, lo que sugiere una tendencia hacia la resistencia o sensibilidad intermedia. El solapamiento de letras (por ejemplo, "gh" o "efgh") indica que existe un grupo amplio de cepas con comportamientos de resistencia intermedios estadísticamente similares entre sí,

lo cual es clínicamente relevante para evitar tratamientos empíricos fallidos y subraya la necesidad de realizar antibiogramas específicos para cada caso de mastitis en el rebaño.

Tabla 13. *Sensibilidad in vitro de cepas de Staphylococcus aureus aisladas de muestras de leche de vacas con mastitis subclínica frente a ocho antibióticos (Penicilina G, Ciprofloxacina, Gentamicina, Clindamicina, Cloranfenicol, Linezolid, Trimetoprima sulfametoxazol, Tetraciclina)*

Cepas de Staphylococcus aureus	**Sensibilidad in vitro Rangos promedios**	**Media dela escala 1S-3R**
21	475,50 a	3
106	433,88 abc	2,75
164	433,88 abc	2,75
188	406,13 bcd	2,58
90	392,25 bcde	2,5
27	378,08 bcdef	2,41
131	377,21 cdef	2,41
87	343,54 defgh	2,20
38	343,54 defgh	2,20
77	322,29 efgh	2,08
139	315,79 efgh	2,04
93	309,00 efgh	2
136	301,63 fgh	1,95
36	287,75 gh	1,87
85	280,96 gh	1,83
162	280,67 gh	1,83
22	274,17 gh	1,79

166	267,38 gh	1,75
141	260,29 gh	1,70
78	253,50 gh	1,66
88	252,92 gh	1,66
86	246,13 h	1,62
89	246,13 h	1,62
170	225,75 h	1,5
137	211,88 h	1,41
91	204,79 h	1,37

La tabla N°13 indica Cepas de *Staphylococcus aureus* que en una misma columna compartan letras, no difieren estadísticamente según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$.

El hallazgo de la Cepa 21 (Media 3.0) es alarmante y consistente con el aumento global de cepas MDR (Multidrug-Resistant). Según **Magiorakos et al. (2012)**, la multirresistencia se define como la falta de sensibilidad a al menos un agente en tres o más categorías de antimicrobianos. Dado que la tabla evalúa 8 antibióticos de distintas familias (beta-lactámicos, fluoroquinolonas, aminoglucósidos, etc.), una media de 3 sugiere que esta cepa cumple con el criterio de MDR.

En la literatura, la resistencia más común en *S. aureus* es hacia la Penicilina G, mediada por el gen *blaZ* que produce beta-lactamasas. Estudios recientes como el de **Ren et al. (2020**) en China reportaron tasas de resistencia a penicilina superiores al 80% en

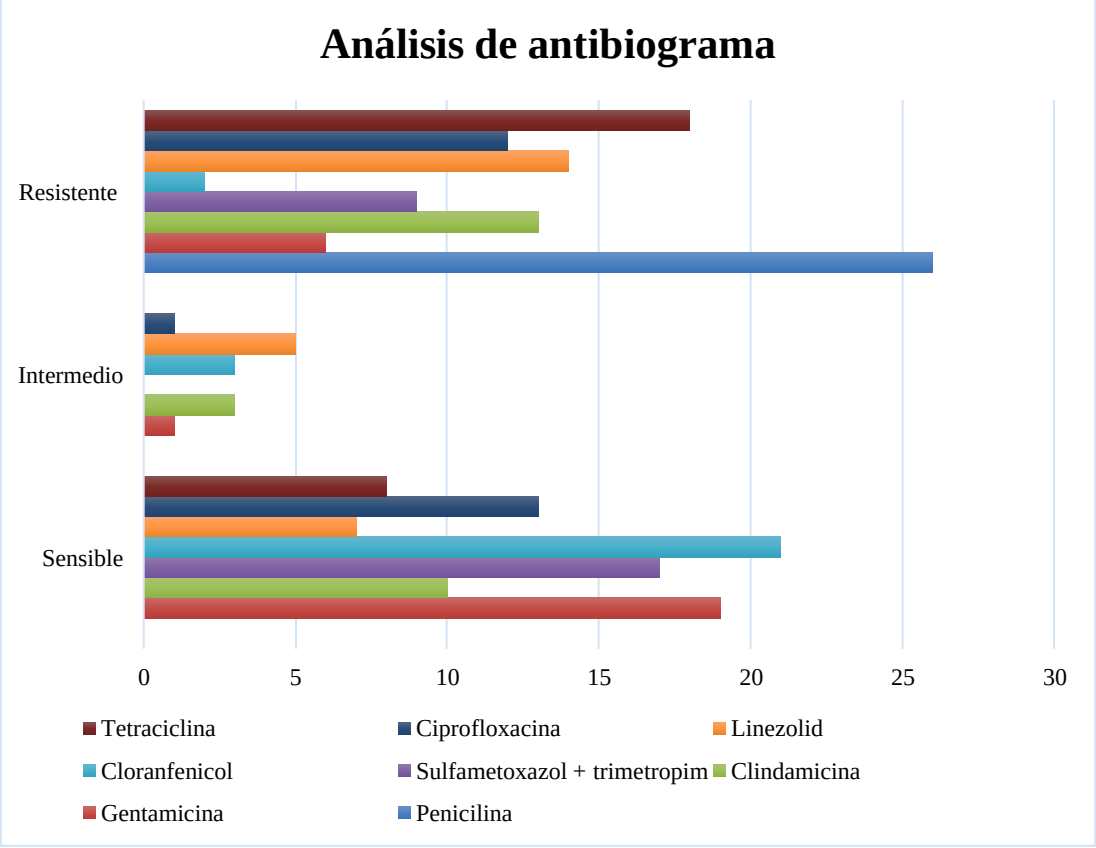
aislados de leche, lo que explicaría por qué muchas cepas en la tabla tienen medias superiores a 2,0.

Aunque la tabla muestra que muchas cepas (del grupo 'h' como la 86, 89, 91) son sensibles *in vitro* (medias < 1.7), autores como **Melchior et al. (2006)** y **Gomes et al. (2016)** advierten que la sensibilidad en laboratorio no garantiza la cura clínica en el animal. Esto se debe a la capacidad de *S. aureus* para formar biopelículas (biofilms) y sobrevivir intracelularmente. Una cepa puede parecer sensible a la Gentamicina o Ciprofloxacina en la placa de Petri, pero en la ubre, el biofilm impide que el antibiótico penetre en concentraciones adecuadas. Por tanto, incluso las cepas de la parte inferior de la tabla podrían causar infecciones crónicas recurrentes, resultando en las pérdidas económicas mencionadas por **Heikkilä et al. (2018)**. La inclusión de antibióticos como Linezolid y Ciprofloxacina en el panel es crítica. El Linezolid es un antibiótico de "último recurso" en medicina humana para tratar MRSA.

Si las cepas de la parte superior (21, 106) mostraron resistencia a Linezolid, esto representa una grave alerta de salud pública bajo el concepto de "Una Salud". **Sabulal et al. (2024)** destacan que la transferencia de genes de resistencia desde el ganado hacia los humanos a través de la cadena alimentaria es una preocupación creciente. La presencia de cepas con medias altas sugiere que el uso indiscriminado de antibióticos en la granja podría estar seleccionando bacterias que ponen en riesgo la eficacia de tratamientos humanos vitales.

La Tabla N°13 demuestra una heterogeneidad crítica en la población de *S. aureus* causante de mastitis subclínica. Mientras que existe un grupo de cepas que teóricamente respondería a terapias convencionales, la presencia de cepas con medias de resistencia > 2,5 evidencia la circulación de fenotipos multirresistentes. Esto valida la necesidad de realizar antibiogramas previos al tratamiento para evitar el fracaso terapéutico y sugiere que los protocolos de control no deben basarse solo en antibióticos, sino en bioseguridad y descarte de animales portadores de cepas crónicas (MDR).

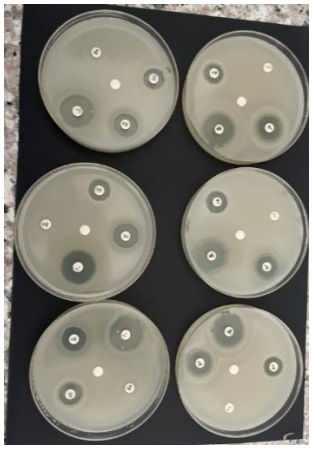
Imagen 8. *Evaluación de cepas meticilino resistente*



El análisis del antibiograma presentado en la imagen N° 8 revela un patrón alarmante de multirresistencia, dominado principalmente por la ineficacia absoluta de la Penicilina y una alta resistencia a la Tetraciclina. Además, la presencia de resistencia a antibióticos de reserva como el Linezolid sugiere la posible circulación de genes promiscuos como el *cfr*, lo cual eleva la gravedad del problema al limitar drásticamente las opciones terapéuticas y convertir al ganado en un reservorio de patógenos peligrosos.

Respecto a la clasificación de estas cepas como "Meticilino Resistentes" (MRSA) sin la presencia explícita de un disco de meticilina en el gráfico, esto obedece a un estándar internacional del CLSI. La meticilina ya no se utiliza en pruebas de laboratorio por ser una molécula inestable; en su lugar, se emplea la Cefoxitina como marcador subrogado. La Cefoxitina es un inductor más potente de la resistencia; por tanto, si una cepa muestra resistencia fenotípica a la Cefoxitina, se infiere automáticamente que es resistente a la meticilina y, por extensión, a todos los antibióticos betalactámicos, validando la clasificación mostrada en el estudio sin necesidad de usar el fármaco original.

Imagen 9. *Halos de sensibilidad a los 8 antibióticos.*



Desde una perspectiva molecular, esta resistencia a la meticilina no ocurre por destrucción del antibiótico, sino por la presencia del gen *mecA* o su variante *mecC*, ubicado en el casete cromosómico *SCCmec*. Este gen codifica para una proteína de unión a penicilina alterada, conocida como PBP2a **(Markey et al. 2013)**. A diferencia de las PBPs normales, la PBP2a tiene una afinidad extremadamente baja por los betalactámicos, lo que le permite seguir construyendo la pared celular bacteriana incluso en presencia de altas concentraciones de antibiótico. Esto explica por qué, las terapias basadas en penicilinas fracasan totalmente, obligando a considerar alternativas con mayor sensibilidad mostrada, como la Gentamicina o el Cloranfenicol **(Schwarz et al. 2010)**.

Los halos de inhibición, observados como áreas circulares claras alrededor de los discos impregnados con antibiótico en un medio de cultivo inoculado como se observan en la imagen N°9, representan la zona donde la concentración del fármaco es suficiente para detener el crecimiento bacteriano visible. El diámetro de estas zonas es inversamente proporcional a la concentración inhibitoria mínima (CIM); es decir, un halo más grande

generalmente indica una mayor sensibilidad del microorganismo al agente antimicrobiano, mientras que la ausencia o reducción del halo sugiere resistencia.

Como explican **Brock (1999)**, el tamaño de la zona de inhibición no depende únicamente de la toxicidad del antibiótico, sino que también está influenciado por factores críticos como la tasa de difusión del compuesto a través del agar, la solubilidad del fármaco y la tasa de crecimiento del microorganismo evaluado, por lo que la interpretación de estos resultados debe estandarizarse rigurosamente para garantizar su validez clínica.

3.3 Verificación de hipótesis

Se acepta que hay prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina en vacas lecheras con mastitis subclínica en las haciendas del cantón Mocha.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Con los estudios realizados se obtuvo que el 100% de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche de vacas con mastitis subclínica son resistentes a meticilina (MRSA) en el cantón Mocha.
- Se detectó la prevalencia del 24,32 % de mastitis subclínica mediante la prueba california mastitis test con 163 animales positivos, evidenciando que la infección intramamaria se presenta de manera significativa en el cantón Mocha.

- Se realizaron procedimientos microbiológicos obteniendo que 26 (15.95%) muestras resultaron positivas a Staphylococcus aureus, mostrando su fisiología y comportamiento ante la fermentación de manitol, liberación de catalasa y formación de coagulo en la prueba coagulasa.

- Se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana y identificó la resistencia del 100% de cepas a penicilina, una alta resistencia a tetraciclina (69,23%), clindamicina (50%) y ciprofloxacina (46,15%). Mientras tanto que una resistencia moderada para sulfametoxazol-trimetoprima (34,61%) y gentamicina (23,07%). Al fármaco que las cepas presentaron sensibilidad fue el cloranfenicol (80,7%).

4.2 Recomendaciones

- Realizar investigaciones adicionales con un mayor número de muestras y seguimiento longitudinal, integrando la evaluación de factores específicos e incorporando otros grupos farmacológicos para determinar la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus*.

- Comprender el uso racional de antibióticos para el tratamiento de enfermedades, basándose en los resultados obtenidos en el antibiograma, evitando la propagación de *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente, además de otras bacterias.

- Realizar capacitaciones a los trabajadores sobre la correcta asepsia de las ubres que deben tener al momento de recolección de leche para disminuir la propagación de agentes patógenos dentro del hato.

5. MATERIALES DE REFERENCIA

5.1 Referencias Bibliográficas

Abebe, R., Hatiya, H., Abera, M., Megersa, B., & Asmare, K. (2016). Bovine mastitis: Prevalence, risk factors and isolation of Staphylococcus aureus in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. *BMC Veterinary Research*, *12*(1), 270. https://doi.org/10.1186/s12917-016-0905-3

Algammal, A. M., Hetta, H. F., Elkelish, A., Alkhalifah, D. H. H., Hozzein, W. N., Batiha, G. E. S., Nahhas, N. El, & Mabrok, M. A. (2020). Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA): One Health Perspective Approach to the Bacterium Epidemiology, Virulence Factors, Antibiotic-Resistance, and Zoonotic Impact . *Infection and Drug Resistance*, *13*, 3255–3265. https://doi.org/10.2147/IDR.S272733

Aliverti, F., Lucas, M., Buldain, D. C., Marchetti, M. L., & Mestorino, O. N. (2022). *Susceptibilidad antimicrobiana de Staphylococcus aureus aislados de vacas Holstein portadoras de mastitis subclínica en la provincia de Buenos Aires, Argentina*. *15*, 5–14.

Antonio, J., Nieto, S., & Ramos, S. V. (2020). *Metodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología*.

Atencio-Bracho, L. (2005). *Staphylococcus aureus: Sensibilidad a antibióticos, metales pesados y patrón plasmídico. Ciencia 13(1), 5-13, 2005*. Red Universidad del Zulia.

Awandkar, S. P., Kulkarni, M. B., & Khode, N. V. (2022). Bacteria from bovine clinical mastitis showed multiple drug resistance. *Veterinary Research Communications*, *46*(1), 147–158. https://doi.org/10.1007/S11259-021-09838-8,

Balarezo, A. (2025). *Identificación de genes de resistencia de Staphylococcus aureus a βlactámicos mediante técnicas moleculares a partir de muestras de leche de bovinos con mastitis subclínica y de secreciones nasales de los operarios*.

Barberato-Filho, S., de Cássia Bergamaschi, C., de Sá Del Fiol, F., Antoniazzi, F. B., Stievano, J. M., Justo, A. C., de Paula Souza, C., & Silva, M. T. (2020). Staphylococcus aureus resistente à meticilina nas Américas: Revisão sistemática e metanálise da prevalência na pecuária. *Rev Panam Salud Publica;44, sept. 2020*, *44*(1). https://doi.org/10.26633/RPSP.2020.48

Becker, K., Heilmann, C., & Peters, G. (2014). Coagulase-Negative Staphylococci. *Clinical Microbiology Reviews*, *27*(4), 870–926. https://doi.org/10.1128/CMR.00109-13

Bedoya Lozada, P. S. (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*. Tesis de grado, Universidad Tecnica de Ambato.

Bladé Font, Arturo. (1999). *Apuntes sobre mecanismos de acción de fármacos: Farmacología*. 252.

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 diagnóstico. *Revista Veterinaria REDVET*, *13*(11).

Botana López, L. M. (2016). Frmacología veterinaria fundamentos y aplicaciones terapéuticas. En *Farmacología Veterinaria. Fundamentos y aplicaciones terapéuticas* (1a edición). Panamericana.

Brock, T. D. (1999). *Brock Biología de los Microorganismos /*. México: Prentice Hall,.

Carolina, A., Chiriboga, V., Lozada Escobar, K. M., Sebastián, P., & Lozada, B. (2025). Método neutrosófico para el análisis del perfil de resistencia antibiótica de Staphylococcus aureus aislado de vacas con mastitis subclínica. *Neutrosophic Computing and Machine Learning. ISSN 2574-1101*, *37*, 254–264.

Castillo, M. (2009). *Estudio de prevalencia de mastitis subclínica en la zona alta del estado Mérida. Revista Agricultura Andina. Vol. 16, 2009*. Red Revista Agricultura Andina.

Chacha, G. (2025). *Prevalencia de mastitis clínica y subclínica e identificación de factores de riesgo ambientales en vacas lecheras*. Univerisdad Técnica De Ambato.

Chamorro López Pamela Grace. (2023). *Caracterización Microbiológica y Molecular de la bacteria Staphylococcus aureus aislada de la mastitis bovina y determinación de su incidencia económica en los productores de leche de la Provincia del Carchi- Ecuador*.

Chaneton, L. (2010). *Nuevos enfoques en el diagnóstico, prevención y tratamiento de la mastitis bovina a través del uso de moléculas con acción antimicrobiana*. Universidad de Buenos Aires.

Chávez Rosero, K., Condolo Ortiz, L., Vinueza Veloz, P., Tiama Paucar, N., Chávez Rosero, K., Condolo Ortiz, L., Vinueza Veloz, P., & Tiama Paucar, N. (2025).

Patrones de resistencia a los antibióticos en bacterias aisladas de mastitis subclínicas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *36*(1), 30199. https://doi.org/10.15381/RIVEP.V36I1.30199

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

Cuenca, M., Reinoso, L., Gonzales, J., & Torrachi, J. (2021). Etiology of Subclinical Bovine Mastitis In Biblian- Ecuador. *Journal of Animal Health and Production*.

de los Santos, R., González-Revello, Á., Majul, L., Umpiérrez, A., Aldrovandi, A., Gil, A., Hirigoyen, D., & Zunino, P. (2022). Subclinical bovine mastitis associated with Staphylococcus spp. In eleven Uruguayan dairy farms. *Journal of infection in developing countries*, *16*(4), 630–637. https://doi.org/10.3855/JIDC.12960

Díaz Arias, T. J. (2022). *Determinación de la prevalencia de mastitis en vacas Holstein mestizas de la Asociación ASOPROPEM del cantón Patate*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Díaz, J. A. (2009). *Apoptosis de células endoteliales inducida por aislamientos colombianos de staphylococcus aureus. Bitsua, 4 (1)*. Universidad de Pamplona.

GAD Municipal Cevallos. (2025, mayo 13). *Ubicación del Cantón Cevallos*. https://www.cevallos.gob.ec/ubicacion/

Gobierno Municipal de Mocha. (s/f). Recuperado el 13 de mayo de 2025, de https://www.municipiomocha.gob.ec/gadmocha/

Gómez Jurado, G. J., & Gómez Meza, J. E. (2020). *Laboratorio de microbiología*. 125.

Gómez López, J. C., Tovar Cuevas, J. R., Bergonzoli, G., Lucumí Moreno, A., Gómez López, J. C., Tovar Cuevas, J. R., Bergonzoli, G., & Lucumí Moreno, A. (2021). Prevalencia bayesiana de Staphylococcus aureus en vacas lecheras en el Valle del

Cauca, Colombia. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, *16*(3), 47–61. https://doi.org/10.21615/CESMVZ.6432

Google maps. (2025). *Cantón Mocha—Google Maps*. https://www.google.com/maps/place/Cantón+Mocha/@-1.4104209,-78.7882222,24988m/data=!3m1!1e3!4m6!3m5!1s0x91d375d62fb7e695:0x2fed662f603c97b7!8m2!3d-1.4249326!4d-78.6909263!16s%2Fm%2F0b6jrng!5m1!1e4?entry=ttu&g_ep=EgoyMDI1MDUyMS4wIKXMDSoASAFQAw%3D%3D

Harvey, R. A. (2007), & Champe, P. A. 2007). (2008). Microbiología Harvey 2a Edición. *Lippincot´s Ilustrated Reviews*, *2da*, 2–425.

Herencia, D. S., & Mamani-Mango, G. D. (2022). Mastitis subclínica bovina y factores de riesgo ambientales en pequeños productores de ganado lechero criado en alta montaña. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, *33*(1). https://doi.org/10.15381/RIVEP.V33I1.20466

Hogeveen, H., Huijps, K., & Lam, T. (2011). Economic aspects of mastitis: New developments. *New Zealand Veterinary Journal*, *59*(1), 16–23. https://doi.org/10.1080/00480169.2011.547165

Jawetz, E., Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., & Mietzner, T. A. (1991). Jawetz, Melnick, & Adelberg's medical microbiology. *(No Title)*. https://cir.nii.ac.jp/crid/1130000796643964544

Juan Pablo Uzcátegui-Varela. (2025). *Detección de patógenos bacterianos en carne fresca de pollo comercializada a cielo abierto entre vendedores minoristas del*

área metropolitana de Mérida, Venezuela | Veterinaria (Montevideo). https://revistasmvu.com.uy/index.php/smvu/article/view/1409

Kateete, D. P., Kimani, C. N., Katabazi, F. A., Okeng, A., Okee, M. S., Nanteza, A., Joloba, M. L., & Najjuka, F. C. (2010). Identification of Staphylococcus aureus: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, *9*(1), 23. https://doi.org/10.1186/1476-0711-9-23

Khairullah, A. R., Ramandinianto, S. C., & Effendi, M. H. (2020). A Review of Livestock-Associated Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (LA-MRSA) on Bovine Mastitis. *Systematic Reviews in Pharmacy*, *11*(7), 172–183. https://doi.org/10.31838/SRP.2020.7.28

Life-Ecuador. (2025). *California Mastitis Test*. https://www.life.com.ec/wp-content/uploads/2022/02/CMT.pdf

Lozada Escobar Kevin Marcelo. (2024). *Identificación fenotípica de Staphylococcus aureus meticilino resistente mediantecultivo microbiológico a partir de muestras de leche de vacas con mastitis subclínicay muestras de secreciones orofaríngeas del personal encargado del ordeño*. Tesis de grado, Universidad Tecnica de Ambato.

Maldonado Arias, D. F., Santos Calderón, C. R., Quilapanta Guamán, A. E., & Mena Miño, L. A. (2022). Diagnóstico de Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos para el Control y Tratamiento en Bovinos de Leche Holstein. *Dominio de las Ciencias, ISSN-e 2477-8818, Vol. 8, Nº. Extra 1, 2022 (Ejemplar dedicado a:*

Febrero Especial 2022), págs. 773-790, *8*(1), 773–790. https://doi.org/10.23857/dc.v8i1.2603

Maldonado-Arias, D. F., Ramiro Santos-Calderón, C. I., & Alfredo Mena-Miño, L. I. (2022). Diagnosis of Subclinical Mastitis Using Three Methods for Control and Treatment in Holstein Dairy Cattle. *Febrero Especial*, *8*(1), 773–790.

Markey, B., Leonard, F., Archambault, M., Cullinane, A., & Maguire, D. (2013). Section 3: Mycology. *Clinical Veterinary Microbiology. Edwards R, Hewat C (editors). 2th. ed. Missouri, USA: Mosby Elsevier*, 457–521.

Mata, H. T. (2002). *Evaluación de la efectividad de una vacuna contra Mastitis por Staphylococcus aureus y Streptococcus agalactiae en Vacas Lecheras. Ciencia veterinaria, Vol. 4, 2002*. Red Universidad Nacional de La Pampa.

Mayorga Sanchez, K. T. (2023). *Estudio bacteriologico de mastitis subclinica al incio del proceso de secado en vacas de ordeño automatizado*.

Medrano-Galarza, C., Germán Ahumada-Beltrán, D., Romero-Zúñiga, J. J., & Donado-Godoy, P. (2021). *Prevalencia, incidencia y factores de riesgo de mastitis subclínica en lecherías especializadas en Colombia*. https://doi.org/10.15517/am.v32i2.43794

Miller, S., Totora, G., Funke, B., & Case, C. (2019). *Course Syllabus SP25 Microbiology BIO 271 ZY*.

Mora Ponce, M. A. (2023). *Determinación de la presencia de Staphylococcus aureus y su prevalencia en fincas productoras de leche en la provincia de Imbabura*. PUCE - Ibarra.

Moran, S. S. S., Bermúdez, I. J. S., Villalva, J. C. G., & Loor, J. I. L. (2020). Mastitis subclínica en hatos lecheros medianos del Cantón Babahoyo provincia de Los Ríos. *Journal of Science and Research*, *5*(CININGEC), 200–210. https://doi.org/10.5281/zenodo.4428818

Murray, P. R., Rosenthal, K. S., & Pfaller, M. A. (2015). *Medical Microbiology E-Book: Medical Microbiology E-Book*. Elsevier Health Sciences.

Ortiz Ardila Jonathan Isaac. (2023). *Prevalencia e identificación de bacterias causantes de mastitis subclínica en vacas lactantes en la hacienda Martha Cecilia*. Tesis de grado,Universidad Agraria del Ecuador.

Oteo Iglesias, J. (2016). *La resistencia a los antibióticos: La amenaza de las superbacterias*. 9–124.

Pahissa Berga, A. (2009). Epidemiología clínica y factores de riesgo de la infección producida por Staphylococcus aureus. *Infecciones producidas por Staphylococcus aureus*, 69–74.

Pakrashi, A., Ryan, C., Guéret, C., Berry, D. P., Corcoran, M., Keane, M. T., & Mac Namee, B. (2023). Early detection of subclinical mastitis in lactating dairy cows using cow-level features. *Journal of dairy science*, *106*(7), 4978–4990. https://doi.org/10.3168/JDS.2022-22803

Pena, Susana. (2019). *Análisis económico del tratamiento antibiótico en mastitis bovina*.

Pinilla Bermúdez, G., Navarrete Ospina, J., & Muñoz Molina, L. C. (2021). *Formación de biopelícula como mecanismo de persistencia y resistencia bacteriana*.

Plumb, D. C. . (2010). *Plumb, Manual de farmacología veterinaria*. 1239.

Porporatto, Carina., & Felipe, V. (2011). *Mastitis, confort animal y calidad de leche*. 52.

Procop, G. W., Church, D. L., Hall, G. S., & Janda, W. M. (2020). *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Jones & Bartlett Learning.

Quispe, R., Peña, G., Andía, V., Quispe, R., Peña, G., & Andía, V. (2021). Resistencia antimicrobiana de Síaphylococcus aureus y Sírepíococcus agalacíiae aislados de leche de vacas con mastitis. *Revista veterinaria*, *32*(1), 79–83. https://doi.org/10.30972/VET.3215640

Riddell, S. W., & Sanyal, S. (2025). Essentials of Diagnostic Microbiology. En J. B. Domachowske (Ed.), *Introduction to Clinical Infectious Diseases: A Problem-Based Approach* (pp. 709–731). Springer Nature Switzerland. https://doi.org/10.1007/978-3-031-84089-0_62

Rodríguez, M. F., Gomez, A. P., & Ceballos-Garzon, A. (2023). Antimicrobial Resistance Profiles of Staphylococcus Isolated from Cows with Subclinical Mastitis: Do Strains from the Environment and from Humans Contribute to the Dissemination of Resistance among Bacteria on Dairy Farms in Colombia? *Antibiotics 2023, Vol. 12, Page 1574*, *12*(11), 1574. https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS12111574

Rodríguez Torres Javiera. (2023). *Epidemiología de los patógenos causantes de mastitis bovina en Chile*. Universidad Andrés Bello.

Ronald J. Erskine. (2020). *Mastitis en el ganado vacuno—Sistema reproductivo—Manual de veterinaria de MSD*. https://www.msdvetmanual.com/es/sistema-reproductivo/mastitis-en-grandes-animales/mastitis-en-el-ganado-vacuno

Rosero, E. M. I., Montenegro, D. J. O., Abad, R. J. R., & Ordoñez, D. S. H. (2022a). Mastitis bovina en el cantón Montufar – Carchi. Prevalencia, agente causal y factores de riesgo. *AXIOMA*, *1*(26), 5–10. https://doi.org/10.26621/RA.V1I26.735

Rosero, E. M. I., Montenegro, D. J. O., Abad, R. J. R., & Ordoñez, D. S. H. (2022b). Mastitis bovina en el cantón Montufar – Carchi. Prevalencia, agente causal y factores de riesgo. *AXIOMA*, *1*(26), 5–10. https://doi.org/10.26621/RA.V1I26.735

Rotger Anglada, Rafael., & Martínez Grueiro, Mercedes. (2016). *Fármacos antimicrobianos: Mecanismos de acción y resistencia*.

Ruegg, P. L. (2017). A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *Journal of dairy science*, *100*(12), 10381–10397.

Sasig, L. (2023). *Evaluación de la prevalencia de mastitis subclínica en la hacienda "Campo Alegre"* .

Schwarz, S., Silley, P., Simjee, S., Woodford, N., van Duijkeren, E., Johnson, A. P., & Gaastra, W. (2010). Assessing the antimicrobial susceptibility of bacteria obtained from animals. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, *65*(4), 601–604.

Selena, M., Villegas, L., Javier, B., & Valenzuela, S. (2021). *Estudio de las bacterias patógenas presentes en la leche de la vaca con Mastitis*.

Serrano Berríos, Carolina; Gutiérrez Ilabaca, R. (2018). *Manual de microbiología*.

Serrano Vincenti, S., Reisancho Puetate, A., Borbor-Córdova, M. J., & Stewart-Ibarra, A. M. (2016). Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba decalifornia mastitis test con identificación del agente etiológico,en paquiestancia, Ecuador. *La Granja*, *24*(2), 43–52. https://doi.org/10.17163/LGR.N24.2016.04

Sigsig, L. (2023). *Evaluación De La Prevalencia De Mastitis Subclinica En La HAcienda Campo Alegre*. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo.

Suárez, Esteban., Suárez, Federico., & Suárez, Santiago. (2006). *Manual de farmacología médica*. Corpus Editorial.

Sumano López, H. S., & Ocampo Camberos, Luis. (2006). *Farmacología veterinaria / Héctor S. Sumano López, Luis Ocampo Camberos*.

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

Tong, S. Y. C., Davis, J. S., Eichenberger, E., Holland, T. L., & Fowler, V. G. (2015). Staphylococcus aureus infections: Epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clinical Microbiology Reviews*, *28*(3), 603–661. https://doi.org/10.1128/CMR.00134-14;REQUESTEDJOURNAL:JOURNAL:CMR;WGROUP:STRING:PUBLICATION

Touaitia, R., Mairi, A., Ibrahim, N. A., Basher, N. S., Idres, T., & Touati, A. (2025). Staphylococcus aureus: A Review of the Pathogenesis and Virulence Mechanisms. *Antibiotics*, *14*(5), 470. https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS14050470

Valle Sánchez, K. (2022). Mastitis y calidad de la leche en vacas lecheras. *RECIENA*, *2*(1), 55–60. https://doi.org/10.47187/WXA7VD11

Varón López, M., Ocampo Guerrero, M. L., & Gallego Santos, J. E. (2023). *Manual de laboratorio en microbiología general*.

Velasco Martín, A. (2001). *Compendio de farmacología general*. 323.

Vélez, R. H. A., Aguayo, M. D. Z., Veliz, L. M. D. L. C., Palacios, C. A. C., Demera, M. H. D., Zambrano, P. F. R., & Moreira, Y. A. M. (2019). Prevalencia de mastitis subclínica en el ganado bovino, mediante la prueba California Mastitis Test, en el cantón Rocafuerte de la provincia Manabí, Ecuador. *Revista Amazónica. Ciencia y Tecnología*, *8*(1), 62–70. https://doi.org/10.59410/RACYT-V08N01EP06-0108

5.2 Anexos

Tabla 14. *Tabla de resultados*

No.	Hacienda	Identificación	Total cuartos positivos CMT	Hemólisis	Fermenta manitol	Gram positivas Staphylococcus	Catalasa positiva	Coagulasa positiva	Confirmada S. aureus	Número registrado de la muestra
1	1	PITUZA	1	1	0	0	0	0	0	
2	2	BLANCA	3	1	2	3	4	5	6	22
3	2	MILAGROS	1	0	0	0	0	0	0	
4	2	ALFONSINA	1	0	0	0	0	0	0	
5	2	KEYLA	1	0	0	0	0	0	0	
6	2	RUBI	4	1	2	3	4	5	6	21
7	2	GABY	1	0	0	0	0	0	0	
8	2	RENATA	2	1	2	3	4	0	0	
9	2	ESPERANZA	2	0	0	0	0	0	0	
10	2	CHOCOLATE	2	0	0	0	0	0	0	
11	2	MALVA	2	1	2	3	4	5	6	27
12	2	MORENA	4	0	0	0	0	0	0	
13	2	GENOVEVA	3	1	2	3	4	0	0	
14	3	SALLY	3	1	2	3	4	5	6	38
15	3	JUANA	3	1	2	3	4	0	0	
16	3	BABOSA	2	0	0	0	0	0	0	
17	3	GORDA	4	0	0	0	0	0	0	
18	3	COLADA	3	1	2	3	4	0	0	
19	3	ROSA	4	1	2	3	4	0	0	
20	3	CORAZON	2	0	0	0	0	0	0	
21	3	CHOMA	3	1	2	3	4	0	0	
22	3	PRINCESA	4	1	2	3	4	5	6	36
23	3	MANZANILLA	2	0	0	0	0	0	0	
24	3	GLORIA	2	1	2	3	4	0	0	
25	3	MARINA	3	0	0	0	0	0	0	

26	3	MILAGROS	2	0	0	0	0	0	0	
27	3	ZORAYA	3	1	2	3	4	0	0	
28	4	BRUMA	3	1	0	0	0	0	0	
29	4	LULU	1	0	0	0	0	0	0	
30	4	ESTRELLA	2	0	0	0	0	0	0	
31	4	CORAZON	2	1	2	0	0	0	0	
32	4	PINTA	2	1	2	3	0	0	0	
33	4	VICKY	3	1	2	3	4	5	6	78
34	4	COLORADA	4	1	0	0	0	0	0	
35	4	LINA	1	0	0	0	0	0	0	
36	4	XIMENA	4	0	0	0	0	0	0	
37	4	LOLA	4	1	2	3	4	5	6	77
38	4	CEBU	2	1	0	0	0	0	0	
39	4	NEGRA	1	0	0	0	0	0	0	
40	5	84	2	1	2	3	4	0	0	
41	5	38	3	0	0	0	0	0	0	
42	5	49	1	1	2	3	4	5	6	89
43	5	1249	2	0	0	0	0	0	0	
44	5	117	2	0	0	0	0	0	0	
45	5	31	2	1	2	3	4	5	6	91
46	5	28	2	1	2	3	4	5	6	93
47	5	87	4	0	0	0	0	0	0	
48	5	99	2	1	2	3	4	5	6	90
49	5	46	4	1	2	3	4	5	6	86
50	5	66	1	0	0	0	0	0	0	
51	5	57	2	1	2	3	4	5	6	85,92
52	5	90	3	0	0	0	0	0	0	
53	5	88	3	0	0	0	0	0	0	
54	5	45	4	1	2	3	4	5	6	88,87
55	5	34	1	0	0	0	0	0	0	
56	5	89	1	0	0	0	0	0	0	
57	5	1293	4	0	0	0	0	0	0	
58	5	95	4	0	0	0	0	0	0	
59	5	43	4	0	0	0	0	0	0	
60	6	FLOR	2	1	2	0	0	0	0	
61	6	NEGRA	1	1	2	3	4	0	0	
62	6	BERTHA	2	0	0	0	0	0	0	
63	6	MARIA NEGRA	4	1	0	0	0	0	0	
64	6	LEYDI	1	0	0	0	0	0	0	

65	6	MAYA	2	1	2	3	4	0	0	
66	6	NICHA	1	0	0	0	0	0	0	
67	6	CINTHIA	3	1	2	0	0	0	0	
68	6	PRINCESA	1	0	0	0	0	0	0	
69	6	GEMELA	4	1	0	0	0	0	0	
70	6	ALICIA	2	0	0	0	0	0	0	
71	6	LIDIA	2	1	2	0	0	0	0	
72	6	MINA	1	0	0	0	0	0	0	
73	6	MICHE	3	1	2	3	4	0	0	
74	6	LOLA	4	1	2	0	0	0	0	
75	6	CANELA	2	1	2	3	4	0	0	
76	7	LUCIA	2	0	0	0	0	0	0	
77	7	GUAYACA	3	0	0	0	0	0	0	
78	7	CASILDA	4	1	0	0	0	0	0	
79	7	NAVIDAD	3	0	0	0	0	0	0	
80	7	MAYELA	2	0	0	0	0	0	0	
81	7	PEQUEÑA	1	0	0	0	0	0	0	
82	7	GRACIELA	1	0	0	0	0	0	0	
83	7	RUPERTA	4	1	2	3	4	5	6	106
84	7	PERLA	2	0	0	0	0	0	0	
85	7	FERNANDA	1	0	0	0	0	0	0	
86	7	ROJA	3	1	0	0	0	0	0	
87	8	YERSI	1	0	0	0	0	0	0	
88	8	LUCERO	2	1	2	3	4	0	0	
89	8	JERSI NEGRA	3	0	0	0	0	0	0	
90	8	JEPI ROJA	1	1	2	3	4	0	0	
91	8	MARIA JOSE	2	0	0	0	0	0	0	
92	8	GARDENIA	2	0	0	0	0	0	0	
93	8	MANZANA	1	1	0	0	0	0	0	
94	8	MARIA CHUNCHU	2	1	2	3	4	5	6	141
95	8	MARI	3	0	0	0	0	0	0	
96	8	PAMELA	2	1	2	3	4	0	0	
97	8	ROSETA	1	1	0	0	0	0	0	
98	8	PIRATA	1	1	2	3	4	5	6	131
99	8	JOSEFINA	1	0	0	0	0	0	0	
100	8	BRANDI	1	0	0	0	0	0	0	

101	8	CHIVERA	1	0	0	0	0	0	0	
102	8	ROJA	1	0	0	0	0	0	0	
103	8	DAYA	1	0	0	0	0	0	0	
104	8	PECOSA	2	0	0	0	0	0	0	
105	9	BARABARA	1	0	0	0	0	0	0	
106	9	JERSE	2	1	0	0	0	0	0	
107	9	PINTA	3	1	2	3	0	0	0	
108	9	MARIA JUANA	3	1	2	3	0	0	0	
109	9	VIEJA	2	1	0	0	0	0	0	
110	9	CHIQUI	4	1	2	3	4	5	6	136,139
111	9	CARETA	3	0	0	0	0	0	0	
112	9	CACHUDA	2	1	2	3	4	5	6	137
113	9	CARATECA	1	0	0	0	0	0	0	
114	9	CHINCHOSA	2	0	0	0	0	0	0	
115	10	SOL	1	0	0	0	0	0	0	
116	10	LOMO AMARILLO	1	1	0	0	0	0	0	
117	10	SOFIA	2	1	0	0	0	0	0	
118	10	MARIA BELEN	1	0	0	0	0	0	0	
119	10	16	1	0	0	0	0	0	0	
120	10	MARIBEL	4	0	0	0	0	0	0	
121	10	LILI	4	1	2	3	4	5	6	164
122	10	MARISOL	1	0	0	0	0	0	0	
123	10	YARI	1	0	0	0	0	0	0	
124	10	TATIANA	1	1	2	3	0	0	0	
125	10	MARTINA	3	1	0	0	0	0	0	
126	10	ETELVINA	1	1	0	0	0	0	0	
127	10	ROSANA	3	1	2	3	4	5	6	162
128	10	FLOR	3	0	0	0	0	0	0	
129	10	NAYELITA	1	0	0	0	0	0	0	
130	10	ESMERALDA	1	0	0	0	0	0	0	
131	10	OREO	2	0	0	0	0	0	0	
132	10	MATILDE	3	0	0	0	0	0	0	
133	11	BELEN	1	1	2	0	0	0	0	
134	11	ROXANA	1	0	0	0	0	0	0	
135	11	RUBI	1		0	0	0	0	0	

136	11	DANIELA	2	0	0	0	0	0	0	
137	11	NACEL	1	1	0	0	0	0	0	
138	11	BRONZUIS	1	1	2	0	0	0	0	
139	11	REINA	1	1	2	3	0	0	0	
140	11	BROU	1	1	2	3	4	5	6	166
141	11	JOSE	2	0	0	0	0	0	0	
142	12	JOSEFA	2	1	2	0	0	0	0	
143	12	LILIANA	1	0	0	0	0	0	0	
144	12	LINA	2	1	0	0	0	0	0	
145	12	ROSA	3	1	2	3	4	0	0	
146	12	MARIA	2	1	0	0	0	0	0	
147	12	JUANA	2	1	2	3	4	0	0	
148	12	SHEYLA	2	0	0	0	0	0	0	
149	12	KEYLA	2	1	2	3	4	0	0	
150	12	KIARA	1	1	2	3	4	0	0	
151	12	NIÑA	1	1	2	3	4	0	0	
152	12	PINTA	4	0	0	0	0	0	0	
153	13	LEILA	1	0	0	0	0	0	0	
154	13	MARIA	1	0	0	0	0	0	0	
155	13	PRINCESA	1	0	0	0	0	0	0	
156	13	CHELA	1	1	2	3	4	5	6	170
157	14	CECI	1	1	2	3	4	5	6	188
158	14	ROSARIO	2	1	2	3	4	0	0	
159	14	MONA	1	0	0	0	0	0	0	
160	14	ROSITA	1	0	0	0	0	0	0	
161	14	CANDY	3	1	2	3	4	0	0	
162	14	MOCHA	3	1	2	3	4	0	0	
163	14	ANTO	1	0	0	0	0	0	0	
TOTAL			342	80	61	53	48	26	26	

Imagen 10. *Obtención de sangre de ovino*



Imagen 11. *Prueba de CMT*



Imagen 12. *Toma de muestras*



Imagen 13. *Siembra de muestras de leche en agar sangre*



Imagen 14. *Selección de colonias beta-hemolíticas*



Imagen 15. *Selección de colonias positivas a fermentación de manitol*

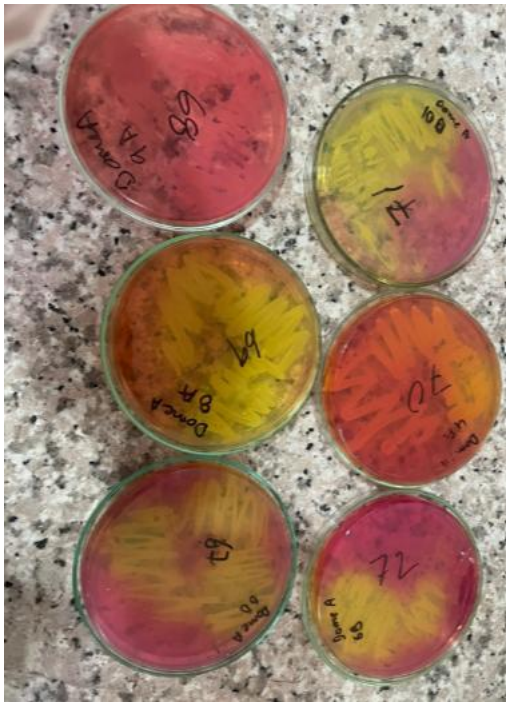


Imagen 16. *Tinción Gram*

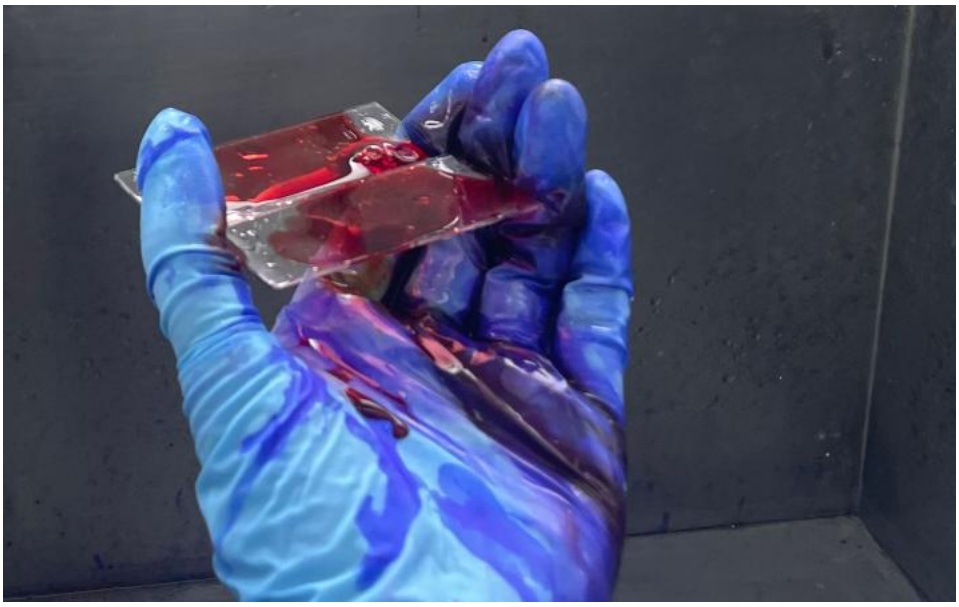


Imagen 17. *Observación microscópica e identificación de Staphylococcus*

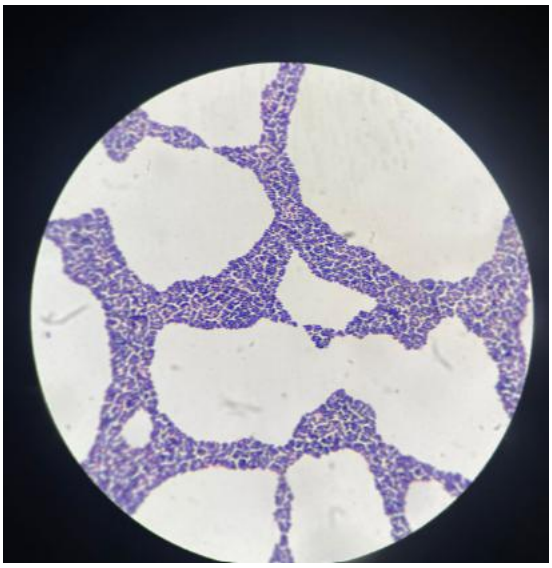


Imagen 18. *Prueba catalasa positiva*



Imagen 19. *Obtención de plasma*



Imagen 20. *Prueba coagulasa positiva*



Imagen 21. *Siembra de cepas en infusión cerebro corazón*



Imagen 22. *Medición de densidad óptica*



Imagen 23. *Siembra de cepas en agar Müller Hilton*



Imagen 24. *Colocación de discos de antibióticos*



Imagen 25. *Medición de halos de inhibición*



Imagen 26. *Halos de sensibilidad antibiótica.*

