



**Pontificia Universidad Católica del  
Ecuador Sede Ibarra**

**ESCUELA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Y AMBIENTALES**

**INFORME FINAL DEL PROYECTO**

**TEMA:**

“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”

**PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**INGENIERA ZOOTECNISTA**

**LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN:** Gestión sostenible y aprovechamiento de recursos naturales.

**AUTOR:** PAMELA GRACE CHAMORRO LÓPEZ

**ASESORA:** MSc. LENNYS BEATRIZ BERUTTI SUAREZ

Ibarra, 10 de Octubre 2023

**CERTIFICA:**

Haber revisado el presente informe final de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigente en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales (ECAA), de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCE I); en consecuencia, autorizo su presentación para los fines legales pertinentes.



.....

Lennys Berutti

C.C.: 1757289986

## PÁGINA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El jurado examinador, aprueba el presente informe de investigación en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra (PUCE I):



MSc. Lennys Berutti

C.C.:1757289986



Dra. Yadira Ordóñez Vivanco

C.C.: 1103764864




MVZ. Mónica Velástegui Moreno

C.C.:0503323024

## ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS

Yo PAMELA GRACE CHAMORRO LÓPEZ, declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 165 de Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, que manifiesta textualmente: “Se reconoce facultad de los autores y demás titulares de derecho de disponer de sus derechos o autorizar de sus obras o prestaciones, a título gratuito u oneroso, según las condiciones que determinen. Esta facultad podrá ejercerse mediante licencias libres, abiertas y otros modelos alternativos de licenciamiento o la renuncia”.

Ibarra, 10 de Octubre del 2023


f):  .....

PAMELA GRACE CHAMORRO

LÓPEZ C.C.: 0402116040

## AUTORÍA

Yo, PAMELA GRACE CHAMORRO LÓPEZ, portador de la cédula de ciudadanía N°0402116040, declaro que la presente investigación es de total responsabilidad del autor, y eximo expresamente a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra de posibles reclamos o acciones legales.

f):  .....

PAMELA GRACE CHAMORRO

LÓPEZ C.C.: 0402116040

## DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, PAMELA GRACE CHAMORRO LÓPEZ, con C.C.: 0402116040, autor del trabajo de grado intitulado: “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.”, previo a la obtención del título profesional de Ingeniería en Zootecnia, en la Escuela de Ciencias Agrícolas y Ambientales.

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE I el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de Universidad.

Ibarra, 9 de Octubre del 2023

f): ..........

PAMELA GRACE CHAMORRO

LÓPEZ C.C.: 0402116040

**DECLARACIÓN DE COMPORTAMIENTO ÉTICO EN LA  
ELABORACIÓN, DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE TRABAJO DE  
TITULACIÓN**

Por medio de la presente declaro conocer y aplicar en la elaboración, desarrollo y evaluación de Proyecto de Titulación: “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.”, lo propuesto en el Código de Ética de la investigación y el aprendizaje de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, aprobado por el Consejo Superior de la PUCE con fecha 25 de Septiembre de 2023

Para constancia firma:

f): ..........

Pamela Grace Chamorro López

Estudiante que ejecuta el trabajo de Titulación

C.C/ Pasaporte: 0402116040

Carrera: Ingeniería en Zootecnia

Ibarra, 10 de Octubre del 2023

## **DEDICATORIA**

La presente tesis quiero dedicar a mis padres Cristóbal y Yolanda por haber inculcado en mí el amor por el campo y los animales, porque han sabido formarme con buenos sentimientos, valores, perseverancia y enseñarme a seguir adelante a pesar de los momentos difíciles, siempre les tengo en mi corazón por todo el apoyo que me han brindaron durante estos años de estudio. Con mi más sincero amor los amo.

## **AGRADECIMIENTO**

Mi principal agradecimiento es a Dios por la salud que me brindo durante toda mi carrera y a mis hermanos, sobrinos Dome y Samuel quienes me han dado la fortaleza y enseñanza para seguir adelante, gracias por su comprensión y amor.

A mi amiga Karol por brindarme el apoyo incondicional a lo largo de esta carrera, gracias por siempre estar presente en mi vida.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTO	viii
ÍNDICE DE CONTENIDO	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
ÍNDICE DE ANEXOS	xv
RESUMEN	4
ABSTRACT	5
CAPITULO I	6
INTRODUCCION	6
CAPITULO II	8
OBJETIVOS	8
2.1. Objetivo general	8
2.2. Objetivos específicos	8
2.3. Pregunta de investigación	8
CAPITULO III	9
ESTADO DEL ARTE	9
3.1. Ganadería lechera	9
3.1.1. Ganadería de leche en Ecuador	9
3.1.2. Ganadería de leche en la provincia de Carchi	9
3.2. Mastitis	10
3.2.1. Posibles causas	10
3.2.1.1. Factores físicos	11
3.2.1.2. Factores genéticos	11
3.2.1.3. Factores nutricionales	11
3.3. Tipos de mastitis	12
3.3.1. Mastitis contagiosa	12
3.3.1.1. Mastitis originada en las pezoneras	12
3.3.2. Mastitis iatrogénica	13
3.3.3. Mastitis ambiental	13
3.3.4. De acuerdo a la intensidad de la infección	13
3.3.4.1. Mastitis subclínica	13
3.3.4.2. Mastitis clínica	13
3.3.4.3. Mastitis moderadamente aguda (MMA)	14
3.3.4.4. Mastitis severamente aguda (MSA)	14

3.3.4.5.	Mastitis crónica (MC)	14
3.3.4.6.	Mastitis por glándula ciega	15
3.4.	Tipos de diagnóstico para mastitis	15
3.4.1.	Palpación de la ubre	15
3.4.2.	Papel indicador	15
3.4.3.	Prueba California (CMT)	16
3.5.	Tipos de agentes patógenos causantes de la mastitis	16
3.5.1.	<i>Staphylococcus aureus</i>	16
3.5.2.	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	17
3.5.3.	<i>Streptococcus agalactiae</i>	17
3.5.4.	<i>Streptococcus uberis</i>	17
3.5.5.	Coliformes	18
3.5.6.	Pseudomonas	18
3.5.7.	Corynebacterium	18
3.6.	Buenas prácticas de ordeño	19
3.6.1.	Selladores de baja calidad	19
3.6.2.	Desinfectante de pezones	19
3.6.3.	Lavado de pezones	19
3.6.4.	Secado de pezones	19
3.7.	Ordeño	20
3.7.1.	Ordeño manual	20
3.7.2.	Ordeño mecánico	20
3.8.	Cultivo de bacterias y aislamiento en laboratorio	21
3.8.1.	Identificación morfológica y molecular del SA	21
3.8.2.	Toma de muestras de leche	21
3.8.3.	Siembra y aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i>	21
3.8.4.	Tinción Gram	22
3.8.5.	Prueba de Coagulasa	22
3.8.6.	Prueba de Catalasa	22
3.8.7.	Prueba $\alpha$ , hemolisinas $\beta$ .	23
MATERIALES Y MÉTODOS		24
4.1.	Zona de estudio	24
4.1.1.	Fase de campo	24
4.1.2.	Fase laboratorio	25
4.2.	Materiales	25
4.2.1.	Materiales de campo	25
4.2.2.	Materiales de laboratorio	25

4.2.3. Equipos de laboratorio	26
4.3. Metodología	26
4.3.1. Fase de campo	26
4.3.1.1. Selección de fincas ganaderas	26
4.3.1.2. Toma de muestras	27
4.3.2. Fase de laboratorio	30
4.3.2.1. Procedimiento para el aislamiento de <i>Staphylococcus aureus</i>	30
4.3.2.2. Tinción Gram	30
4.3.2.3. Prueba de coagulasa	31
4.3.2.4. Prueba de Catalasa	31
4.3.2.5. Prueba $\alpha$ , hemolisinas $\beta$ .	31
4.3.2.6. Caracterización molecular de <i>Staphylococcus aureus</i>	32
4.4. Determinación de la incidencia económica causada por la presencia de <i>Staphylococcus aureus</i> en la producción lechera de la Provincia del Carchi	33
CAPITULO V	36
RESULTADOS Y DISCUSIÒN	36
5.1. Presencia de mastitis	36
5.1.1. Resultados de la prueba de CMT realizada en campo	36
5.2. Caracterización microbiológica de <i>Staphylococcus aureus</i>	37
5.2.1. Conteo de UFC	37
5.3. Caracterización morfológica	40
5.3.1. Tinción Gram	40
5.4. Pruebas Bioquímicas	41
5.4.1. Prueba de coagulasa	41
5.4.2. Prueba catalasa	43
5.4.3. Prueba $\alpha$ , hemolisinas $\beta$	44
5.5. Caracterización molecular de <i>Staphylococcus aureus</i>	45
5.6. Determinación de la incidencia económica en los productores de leche de la Provincia del Carchi- Ecuador	46
CAPÍTULO VI	48
CONCLUSIONES	48
CAPÍTULO VII	49
RECOMENDACIONES	49
CAPITULO VIII	50
REFERENCIAS BIBLIOGRÀFICAS	50
ANEXOS	66

## ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1 Clasificación y selección del tamaño del hato por el número de vacas en producción	27
Tabla 2 Número de vacas en ordeño muestreadas con prueba CMT	27
Tabla 3 Interpretación de prueba CMT	28
Tabla 4 Reacciones de las pruebas bioquímicas de <i>Staphylococcus aureus</i>	31
Tabla 5 Resultados de prueba CMT realizada en campo	36
Tabla 6 Datos obtenidos de conteo de UFC en laboratorio	37
Tabla 7 Identificación molecular de asilados bacterianos	46
Tabla 8 Utilidad real (incidencia económica)	47

## ÌNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Ubicación geográfica Provincia del Carchi	24
Figura 2 Resultados en laboratorio carga microbiana de <i>Staphylococcus aureus</i>	39
Figura 3 Resultados tomados en microscopio en laboratorio prueba Tincion Gram	41
Figura 4 Resultado de coagulasa positivo y negativo realizado en laboratorio	42
Figura 5 Prueba de catalasa realizada en laboratorio	43
Figura 6 Resultado de prueba $\alpha$ , hemolisinas $\beta$ realizada en laboratorio	45

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Entrevista a medico veterinario	66
Anexo 2 Ejemplo de costos de producción de un ható	67
Anexo 3 Resumen costo de alimentacion en pastizales	68
Anexo 4 Costos de producción anual	68
Anexo 5 Determinación de costos unitarios	69
Anexo 6 Actividades de ordeño	69
Anexo 7 Limpieza de la ubre papel desechable	69
Anexo 8 Despunte de la ubre	70
Anexo 9 Toma de 10ml de muestra de leche para analizar en laboratorio	70
Anexo 10 Rotulación de las respectivas muestras	71
Anexo 11 Muestras de leche cruda de los diferentes predios de la Provincia del Carchi	71
Anexo 12 Prueba de CMT	72
Anexo 13 Toma de muestra de leche cruda en paleta para California Mastitis Test	72
Anexo 14 Reactivo CMT	73
Anexo 15 Preparacion de medio de cultivo Agar Sangre en laboratorio	74
Anexo 16 Disolución de agar como indican las e con sangre al 10% total especificaciones	74
Anexo 17 Preparación de cultivo Manitol Salado	75
Anexo 18 Agar Base Manitol Salado	75
Anexo 19 Procedimiento de siembra de muestras en laboratorio con disolución de Agar Manitol Salado en cajas Petri	76
Anexo 20 Adición de 1ml de muestra de leche	77
Anexo 21 Frotis con asa	78
Anexo 22 Incubación de cultivos en estufa durante 48h	78
Anexo 23 Secuencia cruda B652	79
Anexo 24 Secuencia cruda B653	79
Anexo 25 Secuencia ensamblada 21_B652	80
Anexo 26 Secuencia ensamblada 21_B653	80

## RESUMEN

La provincia del Carchi, destacada por su significativa producción con alrededor de una producción diaria de 4'751.697 litros que proveen una demanda local de los consumidores. Por tal razón uno de los principales problemas que afecta a los ganaderos es la presencia de mastitis, siendo la principal causa la presencia de la bacteria *Staphylococcus aureus*. Esta investigación propuso caracterizar microbiológica y molecularmente la bacteria *Staphylococcus aureus* y su incidencia económica en la provincia del Carchi, lo cual La metodología se dividió en dos fases. En la fase de campo: la cual se llevó a cabo en 8 fincas ganaderas, con un total de 301 vacas para muestreo y posterior realización de pruebas de California Mastitis Test (CMT). Para la fase de laboratorio, se sembraron 95 muestras en el medio de cultivo Manitol Salado, medio específico para el crecimiento de bacterias Gram positivas, las cuales se observaron a través del conteo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC) posterior a la siembra. Para la identificación bioquímica y morfológica se realizaron varias pruebas (Tinción Gram, coagulasa, catalasa,  $\alpha$  hemolisis  $\beta$ ) con las cuales se confirmaron la presencia de *Staphylococcus aureus* en las muestras y una vez confirmada su presencia se realizó la caracterización molecular, para ello fue necesario realizar la caracterización molecular implicó la secuenciación de ADN, realizada en el laboratorio IDGen en Quito. La incidencia económica se estimó en una pérdida anual del 4,73% en la producción lechera de la provincia del Carchi. Estos hallazgos no solo contribuyen al entendimiento de la problemática local, sino que también ofrecen una base para estrategias de manejo y prevención, con implicaciones directas en la sostenibilidad y rentabilidad de la industria lechera en la región.

**Palabras claves:** *Staphylococcus aureus*, mastitis bovina, incidencia económica, Carchi

## ABSTRACT

The province of Carchi, highlighted for its significant production with around a daily production of 4,751,697 liters that supply local consumer demand. For this reason, one of the main problems that affects livestock farmers is the presence of mastitis, the main cause being the presence of the *Staphylococcus aureus* bacteria. This research proposed to characterize microbiologically and molecularly the *Staphylococcus aureus* bacteria and its economic impact in the province of Carchi, which The methodology was divided into two phases. In the field phase: which was carried out on 8 livestock farms, with a total of 301 cows for sampling and subsequent testing of the California Mastitis Test (CMT). For the laboratory phase, 95 samples were sown in the Salted Mannitol culture medium, a specific medium for the growth of Gram positive bacteria, which were observed through the counting of Colony Forming Units (CFU) after sowing. For biochemical and morphological identification, several tests were performed (Gram stain, coagulase, catalase,  $\alpha$   $\beta$  hemolysis) with which the presence of *Staphylococcus aureus* in the samples was confirmed and once its presence was confirmed, molecular characterization was carried out, for this it was The necessary molecular characterization involved DNA sequencing, carried out at the IDGen laboratory in Quito. The economic impact was estimated at an annual loss of 4.73% in dairy production in the province of Carchi. These findings not only contribute to the understanding of the local problem, but also offer a basis for management and prevention strategies, with direct implications for the sustainability and profitability of the dairy industry in the region.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, bovine mastitis, economic impact, Carchi

# CAPITULO I

## INTRODUCCI

### ON

En el Ecuador, en la región Sierra, predomina el ámbito de la ganadería de ganado vacuno, debido a que aporta alrededor de 4'751.697 litros de leche diario que proveen la demanda local (Encuesta de Superficie y Producción Agropecuario Resultados provinciales [SIPA], 2022) Carchi es la tercera provincia a nivel nacional en producción con 408.006 litros diarios de leche, siendo así uno de los sectores más importantes de la economía por la generación de ingresos y empleo, convirtiéndose así en una actividad fundamental para muchas familias campesinas.

Este producto destinado al consumo humano, requiere una calidad óptima y está determinada por la presencia de porcentaje de grasa, proteína, presencia de minerales calcio, fósforo y vitaminas (Valle, 2022). Sin embargo la presencia de mastitis una enfermedad considerada muy común en el ganado debido a que es causada por más de 100 microorganismos principalmente *Staphylococcus*, *Streptococcus* y bacterias, además pueden existir factores que causan la afección como son: sistemas de producción, manejo, raza, aspectos ambientales de higiene y sanidad durante el ordeño, falta de sellado de pezones, lavado inadecuado, equipo o material contaminado, la comprensión y gestión eficaz de estos elementos son esenciales para garantizar la integridad del producto y, por fin, la satisfacción del consumidor. (Mera Andrade et. al., 2017).

*Staphylococcus aureus* es una bacteria que coloniza el tracto mamario de las vacas lecheras, dando lugar a infecciones muy recurrentes, es conocida por su habilidad para adaptarse y resistir a los tratamientos convencionales lo que crea un desafío significativo para el manejo y control de la mastitis bovina en el sistema de ordeño (Orlando, 2021).

En una producción lechera la mastitis bovina es una de las enfermedades más problemáticas pues puede ocasionar: disminución en la producción, calidad de la leche y pérdidas económicas. Según Ormaza & Rueda (2021) estimaron que un tercio de toda la explotación bovina está afectada en uno o más cuartos de la glándula mamaria, correspondiendo al 10% en casos de mastitis clínica y el 90% mastitis subclínica, asociándose a generar costos directos e indirectos.

La economía es fundamental en la vida de los campesinos por lo que se debe tener en cuenta que los costos directos son: leche descartada, costo de fármacos, servicio veterinario y los costos indirectos referentes a: incremento de células somáticas, baja calidad de la leche, disminución de producción en periodo de lactancia, tiempo empleado en la aplicación de tratamientos de los animales, mayor descarte (Navas, 2015).

El desarrollo de la mastitis subclínica no muestra signos clínicos que se observen con facilidad, para detectar si existe mastitis se debe realizar el conteo de células somáticas en leche que se diagnostica mediante pruebas bacteriológicas en laboratorio. La incidencia de nuevos casos en la población afecta especialmente a la industria láctea provocando pérdidas al momento de los procesos de producción (Condoy et. al., 2021).

La presente investigación tiene como objetivo determinar la presencia del agente causal *Staphylococcus aureus* en la provincia del Carchi y la incidencia económica que esta enfermedad causa, centrándose en analizar la tasa de incidencia mediante las pruebas de California Mastitis Test.

## CAPITULO II

### OBJETIVOS

#### 2.1. Objetivo general

Caracterizar Microbiológica y Molecularmente la bacteria *Staphylococcus aureus* aislada de la mastitis bovina y determinar su incidencia económica en la Provincia del Carchi-Ecuador.

#### 2.2. Objetivos específicos

- Caracterizar microbiológica y molecularmente la bacteria *Staphylococcus aureus* en las muestras recolectadas en la producción lechera en la Provincia del Carchi.
- Determinar la incidencia económica causada por la presencia de *Staphylococcus aureus* en la producción lechera de la Provincia del Carchi.

#### 2.3. Pregunta de investigación

¿Qué incidencia económica representa la presencia de la bacteria *Staphylococcus aureus* en la mastitis bovina en la producción lechera de la Provincia del Carchi- Ecuador?

## **CAPITULO III**

### **ESTADO DEL**

#### **ARTE**

### **3.1. Ganadería lechera**

La lechería es una herramienta agropecuaria importante para el desarrollo económico, alimentario y social, dentro de la población rural. La crianza de estos animales aporta de manera significativa al sector agroalimentario, gracias al uso que se ha dado a la leche y derivados de la vaca (Rosado, 2021).

#### **3.1.1. Ganadería de leche en Ecuador**

En el Ecuador existe una producción del 65% de leche cruda siendo una actividad dependiente del trabajo de la población campesina, aproximadamente se establecen 3,5 millones de hectáreas a la explotación lechera, existiendo 98 mil productores entre los que están pequeños, medianos y grandes productores.

La leche producida contribuye como medio de vida, favorece y asegura la alimentación y nutrición de todos los hogares. En los últimos años se ha observado un alto crecimiento de animales destinados a la explotación lechera por producir ganancias económicas significativas a los productores (Reina & Castillo, 2022).

En el año 2015, el (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos [INEC], 2015), llevó a cabo una encuesta que reveló que solo el 6,68% de los productores y ganaderos de leche reciben asesoramiento técnico especializado en manejo bovino a través de convenios proporcionados por el Ministerio de Agricultura y Ganadería, mientras el 93,22% restante carece de este apoyo crucial, lo que sugiere la posibilidad de una gestión deficiente en términos sanitarios, reproductivos y productivos dentro de las explotaciones lecheras ganaderas. Este desequilibrio en la asesoría técnica podría tener implicaciones directas en la eficiencia y calidad de la producción, subrayando la necesidad de abordar y mejorar la capacitación y apoyo técnico para los ganaderos en el sector lechero.

#### **3.1.2. Ganadería de leche en la provincia de Carchi**

En las comunidades de la Región Andina existe una elevada concentración de productores que se dedican a la explotación de la ganadería de leche siendo ésta la principal actividad de sustento de trabajo, debido a que existe un porcentaje del 78% del total de la población bovina, especialmente

### **3.2. Mastitis**

La mastitis bovina, según Bonifaz & Colango (2016) se detalla como una enfermedad e inflamación de la glándula mamaria que se presenta por problemas sanitarios, de manejo (sistema de producción, nivel de producción, manejo del hato ) y genéticos (raza), donde los pequeños y medianos productores de los hatos lecheros presentan con más incidencia este problema, causando cambios físico químicos y disminución de la calidad de la leche por las condiciones no asépticas en las que se desarrolla el ordeño.

Existen diferentes tipos de microorganismos como son: bacterias, hongos y mycoplasmas, estos microorganismos exhiben una notable capacidad de proliferación y multiplicación cuando se les proporcionan condiciones óptimas en su entorno. La supervivencia de estos organismos está estrechamente vinculada a la presencia de un medio ambiente propicio para su desarrollo, como ha sido destacado por (Bonifaz & Colango, 2016).

#### **3.2.1. Posibles causas**

La mastitis es la inflamación de la ubre de la vaca, sea cual sea su causa, se define como una enfermedad por la elevada cantidad de leucocitos en la leche originario de la glándula afectada, además, según (Gómez, 2015) en un tercio de todas las vacas de una explotación lechera está afectada uno o los cuatro cuartos de la ubre por cualquier tipo de mastitis, comúnmente causada por 137 especies bacterianas, siendo *Staphylococcus aureus* el principal microorganismo causante de la misma. Existen distintos factores que determinan la aparición de mastitis en bovinos, tales como: factores físicos (heridas, desinfectante de pezones, equipo de ordeño y personal a cargo); y factores nutricionales, a continuación, se detallan.

### **3.2.1.1. Factores físicos**

Silva (2021) señala que la aparición de la mastitis en vacas lecheras ligada como un factor a prácticas deficientes durante el proceso de ordeño, y el uso adecuado de productos de limpieza es esencial para prevenir esta afección. La falta de utilización de productos desinfectantes, aplicando de forma líquida o espuma, durante el proceso de ordeño puede aumentar significativamente el riesgo de infecciones. La higiene insuficiente, especialmente en la desinfección de pezones antes y después del ordeño, puede facilitar la proliferación de microorganismos patógenos. Además, la ausencia de procedimientos adecuados, como el uso de papel desechable para cada vaca, puede contribuir a la contaminación cruzada y, en última instancia, al desarrollo de mastitis.

- **Heridas**

Las heridas físicas cerca o en la punta del pezón, desencadenan la entrada de bacterias a las glándulas mamarias de las vacas, lo que llega a ocasionar que la contaminación dentro del pezón cause infecciones y las células somáticas se eleven (Vélez, 2022).

- **Malas prácticas**

El riesgo de mastitis bovina por malas prácticas, según Cadavid et. al., (2021) se debe al mal uso del equipo de ordeño, factores como agua de mala calidad, instrumentos no desinfectados correctamente, desencadenan que elementos externos, como patógenos, encuentren acceso al interior del bovino y causen infecciones, en especial en la zona del pezón debido a que es especialmente notable que los patógenos encuentren acceso al interior del bovino a través de la zona del pezón, la cual es particularmente delicada y, por lo tanto, más propensa a inflamaciones e infecciones. La importancia de la integridad de esta área resalta la necesidad de implementar medidas preventivas efectivas, incluyendo el sellado adecuado de los pezones antes y después del proceso de ordeño. Garantizar la correcta higiene y protección de esta zona sensible emerge como una estrategia clave para reducir significativamente el riesgo de mastitis en el ganado lechero, fortaleciendo así la salud mamaria y preservando la calidad de la leche producida.

### **3.2.1.2. Factores genéticos**

Desde una perspectiva genética, ciertas razas de ganado lechero, como Holstein o Jersey, exhiben una mayor susceptibilidad a desarrollar mastitis, según la investigación de Ibarra et al. (2022). Se establece una conexión directa entre la mastitis clínica y el recuento de células somáticas (RCS) en estas razas, siendo notable una disminución en el RCS en la leche, a pesar de su asociación con un mayor riesgo de mastitis. Esta correlación genética destaca la necesidad de comprender los factores hereditarios que contribuyen a la predisposición de ciertas razas a la mastitis, subrayando la importancia de estrategias de manejo personalizadas para mitigar los riesgos genéticos y promover la salud mamaria en el ganado lechero. Integrar esta perspectiva genética en el marco teórico enriquece la comprensión de los desencadenantes de la mastitis y subraya la importancia de enfoques holísticos en su gestión y prevención

### **3.2.1.3. Factores nutricionales**

Deficiencia de vitamina E, vitamina A, selenio o un balance energético negativo se relacionan con la presencia de mastitis, todo esto se da debido a una baja inmunidad general en las vacas; el factor determinante de todo esto es la baja alimentación que se le da al ganado lechero (Bedoya & Raigosa, 2019). Por lo tanto, la alimentación actual del ganado lechero debe estar enfocada a tener un alto nivel de vitaminas y minerales que no generen tensión fisiológica que pueda provocar mastitis clínica en vacas.

## **3.3. Tipos de mastitis**

La clasificación de la mastitis, según Bolaños et al. (2012), se distingue en dos categorías: según su origen y según la intensidad de la infección. A continuación, se ofrecen detalles más específicos sobre estas dos divisiones.

### **3.3.1. Mastitis contagiosa**

Según Mahmmod (2019) los microorganismos más contagiosos que llegan a ocasionar la mastitis son: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis* y *Mycoplasma spp.*

Estas bacterias, al ser altamente contagiosas, provocan un impacto negativo en los ingresos de la producción lechera. Se trata de patógenos que causan infecciones intramamarias subclínicas que tienden a volverse crónicas. Este fenómeno genera consecuencias adversas en la economía, ya que se asocia con la presencia elevada de células somáticas y una disminución en la

producción diaria de litros de leche, según señala Middleton (2019).

En particular, para patógenos como *Staphylococcus aureus*, la principal vía de transmisión se establece de manera directa, de una vaca a otra, a través de los equipos de ordeño y las manos del ordeñador. La mastitis contagiosa causada por esta bacteria presenta un desafío adicional, ya que tiene la capacidad de aislarse y resulta difícil de erradicar, impactando significativamente en la calidad de la leche, como señala García (2016). Este fenómeno resalta la importancia de estrategias específicas de control y prevención para abordar la persistencia y propagación de la mastitis contagiosa en el ganado lechero.

#### **3.3.1.1. Mastitis originada en las pezoneras**

Según Oyola & Urrera (2021), este tipo de mastitis se desarrolla cuando los pezones ya presentan alteraciones físicas y están contaminados debido al uso generalizado de pezoneras durante el ordeño en todo el hato. Esta situación se agrava cuando existen bovinos con lesiones o contusiones en la punta del pezón, lo que facilita la invasión de patógenos, penetrando e infectando el tejido de la ubre en el hato que utiliza las pezoneras. Este proceso puede dar lugar a alteraciones graves, como gangrena, y favorece la proliferación de microorganismos. Estos patógenos, que incluyen *Staphylococcus aureus*, *S. hycus*, *S. bovis*, *S. dysgalactiae*, entre otros, están ubicados en proximidad a la ubre de la vaca y pueden desencadenar casos de mastitis.

### **3.3.2. Mastitis iatrogénica**

Este tipo específico de mastitis, señalado por Apugllon & Pilar (2021), está asociado a la iatrogenia, es decir, a las complicaciones provocadas por intervenciones médicas. En particular, surge como consecuencia del mal uso de cánulas intramamarias, las cuales pueden introducir agentes patógenos, dando lugar a infecciones mastíticas. Entre los microorganismos frecuentemente implicados en este contexto se encuentran mohos y levaduras, incluyendo especies como *Candida*, *Cryptococcus* y *Trichasparum*. La mastitis iatrogénica no solo impacta negativamente en la salud mamaria del ganado lechero, sino que también resalta la importancia de prácticas cuidadosas y protocolos adecuados durante intervenciones médicas para prevenir la aparición de esta forma de infección.

### **3.3.3. Mastitis ambiental**

Diversos factores ambientales, presentes en el entorno donde se lleva a cabo la producción lechera, contribuyen significativamente al desarrollo de mastitis. Estos factores se manifiestan a través de la presencia de microorganismos en el ambiente, tales como *Escherichia coli*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella spp*, entre otros, según indica Luca (2021). Estos agentes patógenos, que se encuentran comúnmente en camas de animales, suelos y otros componentes del entorno de crianza, pueden ingresar a la glándula mamaria a través de las aberturas de los pezones, desencadenando infecciones que impactan tanto en la salud de las vacas como en la calidad de la leche producida. La comprensión detallada de cómo estos factores ambientales se presentan es crucial para implementar estrategias preventivas efectivas que reduzcan la incidencia de mastitis y promuevan un entorno saludable en la producción lechera.

### **3.3.4. De acuerdo a la intensidad de la infección**

La mastitis para Zaravia (2019) se clasifica según el curso de la infección, siendo esta: subclínica, clínica, moderadamente aguda, severamente aguda, crónica y por glándula improductiva o ciega, a continuación, se detallan los tipos de mastitis según esta clasificación.

#### **3.3.4.1. Mastitis subclínica**

Enfermedad sutil y difícil de dar un tratamiento, la vaca no presenta síntomas como signos de

inflamación de la ubre y la leche tiene una consistencia normal, es de larga duración y persistente en el grupo, difícil de tratar con antibióticos y afecta la calidad y la producción de la leche, es identificada a través de análisis de laboratorio por número elevado de células somáticas en la leche (Bonifaz & Colango, 2016).

#### **3.3.4.2. Mastitis clínica**

Esta enfermedad manifiesta síntomas visibles como la presencia de coágulos en la leche, ubre inflamada, caliente, enrojecida, dura, la vaca presenta dolor al momento del ordeño dependiendo el grado esta se clasifica en aguda, subaguda y peraguda, debido a que los signos pueden ir cambiando, de menor a mayor intensidad hasta presentar signos sistémicos como la fiebre, depresión y pérdida del apetito (Espinoza & Velásquez, 2023).

#### **3.3.4.3. Mastitis moderadamente aguda (MMA)**

Según Leal (2020), este tipo de mastitis depende de si la infección se da más allá de las 24 horas, siendo sus síntomas los siguientes: leche con natilla y cambio de coloración de esta. Este tipo de mastitis se trata de manera local limpiando el área sea de vía intramamaria o dentro del pezón.

La mastitis moderadamente aguda puede ocasionar una disminución del 30% en la producción lechera, lo que subraya la importancia de abordarla de manera inmediata. El tratamiento puede llevarse a cabo mediante el uso de antibióticos convencionales recomendados para estos casos o mediante un enfoque que implique la aplicación del antibiótico después de cada tres sesiones de ordeño. Esta estrategia no solo busca combatir la infección, sino también prevenir la posible resistencia a los antibióticos, según señala Tang (2016).

#### **3.3.4.4. Mastitis severamente aguda (MSA)**

La mastitis severamente aguda (MSA), según lo expuesto por Ríos (2021), se manifiesta en las primeras 72 horas con una constante fisiológica moderada. Este tipo de mastitis se caracteriza por un síntoma distintivo: la leche adquiere una consistencia similar a la natilla, aunque más densa, debido a la inflamación del pezón. Este endurecimiento del pezón no solo afecta la textura de la leche, sino que también genera un aumento de temperatura localizado. Identificar estos signos tempranos es crucial para abordar rápidamente la mastitis severamente aguda y minimizar su impacto en la producción lechera y la salud de la vaca. Este tipo de mastitis se trata con antibiótico,

pero aplicado cada 12 horas con una aplicación máxima de tres días (Gasque, 2015).

#### **3.3.4.5. Mastitis crónica (MC)**

La mastitis crónica se manifiesta cuando la condición persiste por más de cinco días, presentando síntomas distintivos, según lo señalado por Díaz (2022). Entre los indicios de esta forma avanzada de la enfermedad se encuentran la leche que sale de manera interrumpida, una ubre inflamada y endurecida, fiebre, taquicardia y atonía ruminal, entre otros. Esta enfermedad tiene un impacto significativo en la producción lechera, con una pérdida que supera el 50%.

El enfoque para el tratamiento de la mastitis crónica es principalmente sintomático. Ante la presencia de síntomas, se aplican analgésicos y antipiréticos para aliviar molestias, así como la administración de vitaminas para estimular el apetito. El tratamiento se realiza de manera local, similar a los otros tipos de mastitis, pero con una duración más prolongada. De acuerdo con Vilanova et al. (2018), el tratamiento debe extenderse por un máximo de cinco días, incluyendo la administración de soluciones salinas fisiológicas y antibióticos. Este enfoque prolongado se debe a la persistencia de la infección en la mastitis crónica, requiriendo cuidados específicos para su resolución efectiva.

#### **3.3.4.6. Mastitis por glándula ciega**

Ese tipo de mastitis genera que la mama se vea pequeña, fría y flácida, donde no se produce leche y las pérdidas se encuentran en un 70% de la producción. Siendo este tipo de mastitis de las más complicadas, con síntomas como: necrosis del parénquima, abscesos y exudados en el mismo, y en casos más extremos desprendimiento de este (Castañeda et. al., 2020).

El tratamiento de esta enfermedad, para Cano (2018) se trata de la misma manera que la mastitis crónica, pero en este caso se usan jeringas antimastíticas para el secado de la glándula y se deja por más tiempo el antibiótico en la ubre para que el foco de infección sea correctamente eliminado, salvando lo más que se pueda de la glándula mamaria de la vaca.

### **3.4. Tipos de diagnóstico para mastitis**

#### **3.4.1. Palpación de la ubre**

Mediante la palpación de la ubre, como destaca Carvajal (2022), es posible identificar diversas afecciones, que van desde lesiones traumáticas hasta alteraciones en la estructura de la ubre. Este método de evaluación permite detectar áreas dañadas o endurecidas en los pezones de la

vaca, así como trastornos en la salida de la leche. Lesiones específicas, como el aumento de tamaño del pezón, inflamaciones y una elevación de la temperatura superior a 39°C, entre otros indicadores, pueden ser claramente identificadas gracias a este examen palpatorio.

### **3.4.2. Papel indicador**

La prueba de papel indicador, también conocida como prueba de pH, se emplea para evaluar las transformaciones en la leche, siendo el cambio en el pH un indicador clave, según señala Cadavid et al. (2021). Este método permite identificar posibles casos de mastitis, ya que un pH normal de 6.6 se altera hacia un pH alcalino. No obstante, se ha descubierto que la relevancia de esta prueba es limitada, ya que el cambio de pH no resulta ser un indicador completamente preciso de la presencia de mastitis. Como resultado, en la actualidad, esta prueba ha perdido su utilidad y se considera no relevante para la detección efectiva de la enfermedad.

### **3.4.3. Prueba California (CMT)**

El California Mastitis Test, según Santamaria (2020), es un procedimiento sencillo de llevar a cabo en el campo, destinado a prever el conteo de células somáticas en muestras de leche. Destaca la sensibilidad del reactivo Lauril Sulfato de Sodio, el cual interactúa con el ADN celular, desencadenando una reacción química que permite anticipar la cantidad de células somáticas presentes en la leche.

La prueba se realiza cuando los pezones están limpios, secos y listos para ordeñar, ahí se introduce una bandeja inclinada en un ángulo de 60°, se ordeña la vaca hasta sacar una cantidad moderada de leche, la cual después se mezcla con el reactivo, iniciando un proceso de agitación suave por rotación durante 15 a 20 segundos y después se interpreta la prueba (Morales, 2022).

La CMT, para Avilés & Medina (2022), predice cuando existe una inflamación con un proceso infeccioso, mostrando el aumento de células somáticas por incremento de los neutrófilos que cumplen su acción y representan más del 90% de las mismas.

## **3.5. Tipos de agentes patógenos causantes de la mastitis**

Los agentes patógenos responsables de los distintos tipos de mastitis son, principalmente, bacterias que se transmiten de un animal a otro a través de diversos medios. Factores como el uso de paños húmedos reutilizados, la presencia de leche residual en pezoneras y la falta de conocimiento del personal de trabajo en temas relacionados son algunos de los principales elementos que contribuyen a la propagación de la infección en el cuarto de la ubre, según señala Rodríguez

(2013). Es fundamental comprender cómo estos agentes patógenos pueden ser transmitidos y qué prácticas contribuyen a su proliferación para implementar estrategias efectivas de control y prevención en la gestión del ganado lechero.

### **3.5.1. *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* es un microorganismo Gram positivo que posee relevancia médica significativa debido a su habilidad para provocar diversas infecciones en animales. Demostrar su prevalencia en casos peragudos en vacas, especialmente cuando el tejido de la ubre ya ha experimentado necrosis debido a la invasión de *Escherichia coli* y *Clostridium*, puede resultar desafiante. Los mecanismos de virulencia de esta bacteria están relacionados con su capacidad para invadir tejidos, según lo señalado por Felipe & Porporatto (2010). La comprensión de estos mecanismos y la consideración de la interacción con otros patógenos destacan la importancia de abordar la infección por *Staphylococcus aureus* de manera integral en la gestión de la salud mamaria en el ganado lechero.

### **3.5.2. *Streptococcus dysgalactiae***

Los patógenos medioambientales causantes de la mastitis son un problema muy grande, *Streptococcus dysgalactiae* está presente en la etapa de lactación y periodo seco. Esta especie de bacteria es más común en la mastitis clínica y subclínica y es muy capaz de sobrevivir en la piel y boca de los animales saludables que pastorean (Montes & García, 2006).

### **3.5.3. *Streptococcus agalactiae***

Jaramillo et al. (2018) describen a este microorganismo como una bacteria Gram positiva con un impacto significativo, parte de la flora del tracto gastrointestinal. Se encuentra de manera predominante en el ganado lechero, especialmente en las ubres afectadas. La infección suele originarse por la adquisición de animales enfermos, facilitando la propagación a individuos sanos a través del contacto directo. Además, se propaga en entornos donde los animales comparten el aire y los espacios, como en áreas de ordeño y otros equipos.

Para erradicar esta bacteria, la penicilina se presenta como un tratamiento efectivo. Asimismo, un

manejo adecuado de la limpieza, prácticas cuidadosas de ordeño, tratamiento adecuado de infecciones en la ubre, y la higiene durante el periodo de vacas secas contribuyen a la eliminación exitosa del microorganismo, como señala Shane (2019). La comprensión de las vías de transmisión y las estrategias de manejo eficaces se revela crucial para mitigar la presencia y el impacto de esta bacteria en la salud de las vacas lecheras.

#### **3.5.4. *Streptococcus uberis***

Es considerada una bacteria Gram positiva debido a su capacidad para retener la tinción de cristal violeta en una prueba de tinción de Gram., este microorganismo se encuentra de mayor manera en la piel externa de la ubre y dentro de los pezones; mayormente existe un contagio de *Streptococcus uberis* después del primer parto y durante el secado de la vaca siendo menos agresivo a comparación de *Staphylococcus aureus*, comúnmente encontrado en el ambiente, especialmente en suelos, aguas superficiales y vegetación. El *Streptococcus uberis* es responsable de mastitis que se presentan en las vacas, en especial en el periodo de secado de las mismas, la prevención de infecciones por *Streptococcus uberis* implica prácticas de manejo adecuadas en la producción de leche, como una higiene estricta durante el ordeño y la limpieza de los equipos de ordeño (Norhan et. al., 2021).

### **3.5.5. Coliformes**

Estos organismos, conocidos como coliformes, tienen su origen en la materia fecal, ya que son habitantes naturales del intestino de los animales y, además, se encuentran en el entorno ambiental. Entre las principales bacterias coliformes se destacan *Escherichia coli* y *Enterobacter aerogenes*. La presencia de estas bacterias en la leche está directamente relacionada con la falta de higiene adecuada durante el proceso de ordeño, según señala Rodríguez (2013). La calidad de la higiene durante esta fase resulta crucial para prevenir la contaminación por coliformes, asegurando la producción de leche segura y libre de patógenos.

### **3.5.6. Pseudomonas**

Se trata de un bacilo Gram negativo que cuenta con tres flagelos polares y se clasifica como un microorganismo fitopatógeno. Según Ribeiro et al. (2018), la *Pseudomonas aeruginosa* no se desarrolla en medios anaeróbicos. Esta bacteria desempeña un papel en la coagulación de la leche mediante la producción de enzimas, haciendo uso de sus propiedades bacteriolíticas y proteínas termoestables.

La presencia de este microorganismo se manifiesta en casos de infecciones persistentes, con exacerbaciones agudas o subagudas intermitentes. Las infecciones causadas por *Pseudomonas* suelen originarse por el uso incorrecto de tratamientos intramamarios o derivar de fuentes contaminadas, como el agua, el suelo o una higiene deficiente en las máquinas de ordeño, según lo señalado por Iglewski (2005).

### **3.5.7. Corynebacterium**

De acuerdo con Torres (2017), *Corynebacterium* es un bacilo pequeño anaeróbico Gram positivo, caracterizado por su resistencia a exudados o materiales contaminados. Esta bacteria tiende a provocar mastitis, siendo más frecuente tanto en vacas secas como en lactancia, manifestándose con una inflamación que se distingue por un exudado purulento de olor desagradable.

La transmisión de *Corynebacterium* ocurre a través de material contaminado de una glándula mamaria enferma hacia otras durante el proceso de ordeño, o mediante moscas portadoras del bacilo que llegan a posarse en los pezones de las vacas. El tratamiento para eliminar esta bacteria implica la aplicación de limpieza con yodo y el uso de penicilina, como señala Reboli (2015).

### **3.6. Buenas prácticas de ordeño**

#### **3.6.1. Selladores de baja calidad**

Los selladores para pezones de vacas deben ser productos que protejan la piel de la ubre sin alterar el pH de la leche. Sin embargo, algunos químicos pueden resultar demasiado agresivos para la piel del pezón, incluyendo ácidos cáusticos que tienen el potencial de causar daño, generando heridas e infecciones en la vaca. Este tipo de lesiones pueden propiciar la entrada de bacterias perjudiciales para la salud del animal, como señalan Blanco & Molina (2018).

#### **3.6.2. Desinfectante de pezones**

En el mercado, se encuentran diversos tipos de desinfectantes de pezones, sin embargo, no todos poseen los principios activos necesarios para destruir eficazmente los microorganismos que podrían ingresar y provocar infecciones. Entre los principios activos que se suelen utilizar se incluyen el yodo, la clorhexidina, el ácido sulfónico de alquilbenceno, el cloro, los amonios cuaternarios y los ácidos grasos. Estos componentes son esenciales para controlar la microflora cercana a los pezones. Cuando la capacidad de control de estos principios activos resulta insuficiente, pueden desarrollarse infecciones, según indican Flores & Patiño (2022).

#### **3.6.3. Lavado de pezones**

Un aspecto crucial en el lavado de pezones es la precaución, ya que una ejecución incorrecta puede resultar en la contaminación de la ubre de la vaca y desencadenar infecciones, como señala Rojas (2022). La correcta técnica de lavado de pezones, según lo destacado por Sánchez & Duriel (2022), está intrínsecamente relacionada con la adecuada higiene tanto de la persona que manipula esta zona como de los insumos utilizados en el proceso. Esto implica una limpieza y desinfecciones efectivas, el uso de agua limpia y la precaución de no mojar completamente la ubre de la vaca, dado que esta área es delicada y difícil de secar, como subraya Burbano (2018).

#### **3.6.4. Secado de pezones**

Durante el procedimiento de secado de pezones, la principal finalidad es prevenir la entrada de

microorganismos patógenos en las ubres de las vacas. Comúnmente, se emplea un paño o toalla específica por vaca en este proceso para evitar la contaminación del animal.

### **3.7. Ordeño**

El proceso de ordeño se realiza de tres maneras: manual, durante la lactancia y mediante el uso de equipos mecánicos. Cada una de estas modalidades requiere la implementación de medidas de bioseguridad adecuadas, según indica Burbano (2018).

Según Ormaza & Rueda (2021), los equipos de ordeño deben operar dentro de parámetros establecidos por normativas que garantizan un uso adecuado y cumplen con estándares esenciales para su manejo. Estos equipos se han diseñado para reducir el tiempo de ordeño, mejora la eficiencia en la extracción de leche y la inocuidad en la industria lechera, pero el mal funcionamiento y manejo inadecuado pueden facilitar el transporte de microorganismos desde la máquina hasta la ubre de la vaca, incrementando el riesgo de desarrollar mastitis,

#### **3.7.1. Ordeño manual**

Ortiz et al. (2014) describen el ordeño manual como el proceso en el cual se utiliza la mano para apretar la ubre de la vaca hasta obtener la leche. En este método, se pueden emplear tres o cinco dedos, según el tamaño de la ubre de la vaca. Es importante destacar que este tipo de ordeño, al ser llevado a cabo por varias personas o con un cuidado inadecuado en términos de higiene en cada vaca ordeñada, puede ser más propenso a la propagación de enfermedades o infecciones.

#### **3.7.2. Ordeño mecánico**

Según Parada (2022), el ordeño mecánico depende de normas de limpieza y desinfección necesarias para utilizar estos implementos. Los pasos a seguir son colocación de pezoneras, retiro de pezoneras y sellado de los pezones. Para la colocación de pezoneras se deben aplicar pasos anteriores de limpieza de las ubres, se colocan primero las posteriores y luego las anteriores, observar que queden perfectamente ajustadas y evitar el deslizamiento debido a la entrada de aire.

Durante el retiro, es fundamental cortar el vacío para prevenir fluctuaciones y evitar el riesgo de sobreordeño. En cuanto al sellado de pezones, un paso esencial consiste en aplicar un desinfectante líquido o en espuma para garantizar que el esfínter del pezón permanezca sellado hasta el próximo ordeño (INTAGRI, 2021).

### **3.8. Cultivo de bacteria *Staphylococcus aureus* y aislamiento en laboratorio**

Para Duquesne et al. (2015), la utilización de medios de cultivo, ya sean generales o específicos, resulta imprescindible en la identificación del crecimiento de las bacterias causantes de la mastitis. Estos cultivos se desarrollan en un medio propicio y a una temperatura óptima que favorece la multiplicación de los gérmenes presentes en la leche, permitiendo la realización de pruebas que confirmen la presencia de estas bacterias.

En el contexto de los medios de cultivo, destaca el manitol salado como una herramienta valiosa en microbiología. Este medio posee propiedades selectivas que favorecen el crecimiento de bacterias capaces de fermentar el manitol, al tiempo que inhibe el desarrollo de otras. Su aplicación facilita la identificación precisa de especies bacterianas en muestras, constituyendo así una contribución esencial en el análisis microbiológico.

.

#### **3.8.1. Identificación morfológica y molecular del SA**

El uso de laboratorio para Paredes & Mosquera (2017), dentro de la identificación de la mastitis bovina es un componente necesario para la investigación y eliminación de los microorganismos causantes de esta enfermedad en animales productores de leche. Existen diferentes métodos para comprobar su existencia como toma de muestras de leche en campo para posterior análisis en laboratorio e identificación mediante medios de cultivo.

#### **3.8.2. Toma de muestras de leche**

La recolección de muestras de leche es fundamental para llevar a cabo un examen microbiológico. Para ello, se requiere un riguroso protocolo de limpieza durante la toma de muestras, ya que los gérmenes ambientales podrían interferir en el análisis e influir en los resultados de las pruebas de identificación de la mastitis (Camacho, 2017).

#### **3.8.3. Siembra y aislamiento de *Staphylococcus aureus***

Dentro de la siembra y aislamiento de *Staphylococcus aureus*, según Anangó (2020), se puede observar que este patógeno forma colonias de manera muy rápida, lo cual permite que invada de manera eficaz las ubres de la vaca. Este microorganismo tiene dos fases de infección dentro de la ubre; en la primera fase se encarga de invadir la ubre, y en su segunda fase, se encarga de secretar toxinas para mantenerse viva dentro del organismo de la vaca y, por ende, expandirse

(Anangó, 2020).

Mientras que en el aislamiento se realiza un cultivo microbiológico, con el principal objetivo de determinar la multiplicación de *S. aureus*, e identificar el agente que causa la infección para poder tratarlo y eliminarlo de manera eficaz, optimizando el manejo y tratamiento de la infección. Existen diferentes métodos de identificación del patógeno, estos son: Tinción Gram, prueba de Coagulasa, prueba de Catalasa y Prueba  $\alpha$ , hemolisinas  $\beta$  (Zabetta, 2019).

### **3.8.2.1. Tinción Gram**

Esta técnica permite diferenciar microorganismos, tanto patógenos como no patógenos, en función de sus características morfológicas. Según Aliverti et al. (2021), estos microorganismos son bacterias, divididas en dos categorías: Gram positivas, que adquieren un tono azul-violeta al entrar en contacto con el tinte, y Gram negativas, que se decoloran y luego se tiñen con safranina. Este cambio de coloración se debe a que las bacterias Gram positivas poseen una pared celular más gruesa, lo que impide que la coloración se elimine, a diferencia de las Gram negativas, cuya pared más delgada las hace susceptibles a la decoloración.

### **3.8.2.2. Prueba de Coagulasa**

La prueba de la Coagulasa reside en la detección y confirmación de la enzima coagulasa dentro de una bacteria, para Guazha (2020), esta prueba contiene una alta efectividad para comprobar la existencia de *S. aureus*. La efectividad de esta prueba en *S. aureus* se da debido a que este microorganismo contiene dos tipos de coagulasa: Endocoagulasa y Exocoagulasa.

- Endocoagulasa: forma coagulos o grumos dentro de la pared celular.
- Exocoagulasa: esta actúa mediante la activación del factor complejo coagulasa – CFR.

### **3.8.2.3. Prueba de Catalasa**

Esta prueba, según Castañeda (2020), se encarga de revalidar la reacción que causa la enzima catalasa mediante una prueba de microscopio, descomponiendo el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en agua y oxígeno, realizando esto para defenderse del efecto del peróxido de hidrógeno. Al momento de realizar el proceso de descomposición se llega al resultado deseado, donde el *Staphylococcus aureus* se descompone como catalasa negativa.

### **3.8.2.4. Prueba $\alpha$ , hemolisinas $\beta$ .**

Esta prueba mide la capacidad de que las toxinas  $\alpha$  y las hemolisinas  $\beta$ , sean capaces de provocar lisis de eritrocitos y con esto determinar la existencia de *Staphylococcus aureus*. Para determinar la actividad hemolítica en cepas de *S. aureus*, se realiza un estudio cuantitativo y cualitativo, donde se llega a conocer la capacidad hemolítica bacteriana presente (Adame et. al., 2022).



#### **4.1.2. Fase laboratorio**

El estudio de la caracterización microbiológica de la bacteria *Staphylococcus aureus* se realizó en los laboratorios de microbiología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra y la caracterización molecular se envió 2 muestras al laboratorio IDGen en la ciudad de Quito.

### **4.2. Materiales**

#### **4.2.1. Materiales de campo**

- Cooler a 4°C
- Frascos estériles
- Guantes
- Mandil
- Mascarilla
- Alcohol
- Paleta
- Reactivo C.M.T

#### **4.2.2. Materiales de laboratorio**

- Cajas Petri
- Rollo de kraft
- Cinta testigo
- Agar (Mannitol Salt)
- Piurgen ® ADN Mini Kit (Thermo Fisher Scientific)
- Portaobjetos
- Asa de siembra
- Agua destilada
- Colorantes (Cristal violeta, lugol, alcohol, safranina)
- Pipeta
- Plasma reconstituido
- Tubo de ensayo
- Asa estéril
- Agua oxigenada
- Gotero

- Cultivo bacteriano
- Agar (Sangre)
- Plasma bovino 10ml

#### **4.2.3. Equipos de laboratorio**

- Baño maría
- Microscopio
- Mechero
- Cámara de flujo laminar
- Micropipeta
- Autoclave
- Balanza Analítica (ADAM)
- Estufa ((Memmert)
- Contador de colonias Stuart (BioCote)

### **4.3. Metodología**

#### **4.3.1. Fase de campo**

##### **4.3.1.1. Selección de fincas ganaderas**

La investigación y análisis de incidencia de *Staphylococcus aureus* se desarrolló en la provincia del Carchi- Ecuador tomando como criterios tamaños del hato (tabla 1), la accesibilidad a las fincas y el acceso a la información por parte del productor. Para ello se realizó una entrevista (anexo 1) a tres reconocidos Médicos Veterinarios Zootecnistas (MVZ) que trabajan en la zona Carchi y cuentan con experiencia y atienden una población de aproximadamente 24 fincas distribuidas en toda la provincia. Con los resultados de la entrevista se procedió a seleccionar 8 fincas distribuidas en los 6 cantones de la provincia: Tulcán, Espejo, Huaca, Mira, Montúfar y Bolívar como indica la tabla 2 que además contaban con la información necesaria para el desarrollo de la investigación, tales como, análisis y recopilación de resultados de células somáticas del último año y Unidades Formadoras de Colonias presentes en sus muestras de leche basados en las normas (NTE INEN 9:2012, 2012).

**Tabla 1**

*Clasificación y selección del tamaño del hato por el número de vacas en producción*

<b>Tamaño de hato</b>	<b>Vacas en lactancia</b>
Pequeño	<25
Mediano	26 a 99
Grande	>100

**Nota.** Tamaño del hato dependiendo del nivel de producción, tomado de Acuña & Rivadeneira (2023).

#### **4.3.1.2. Toma de muestras**

Antes de proceder con la recolección de muestras, se llevó a cabo la prueba de California Mastitis Test (CMT) en cada una de las fincas con el propósito de verificar la presencia de mastitis. La selección de las muestras se basó en el análisis del número total de vacas en lactancia en cada finca ganadera, siendo un total de 301 según se detalla en la tabla 2. Este análisis resultó en la toma de muestras de 95 vacas, con la detección de 205 cuartos positivos debido a la presencia de gel obtenido en las pruebas de CMT realizadas.

**Tabla 2**

*Número de vacas en ordeño muestreadas con prueba CMT*

<b>Número de fincas</b>	<b>Número de vacas en ordeño</b>	<b>Positivas en pruebas de CMT</b>
1° La Joya	50	12
2° La Magdalena	26	9
3° El Descanso	70	23
4° E Guanto	25	8
5° El Peñal	27	9
6° La Escondida	28	11
7° El Encanto	30	9
8° Los Arenales	45	15

Las pruebas de CMT se realizaron al momento del ingreso de cada animal a la sala de ordeño, tomando 2 ml de leche por cada uno de los cuartos de la ubre de la vaca y se prosiguió a añadir 2ml de reactivo CMT en cada cuarto de la paleta utilizada; se homogeneizó y se registraron los datos en la libreta de campo dependiendo el grado de infección que presentó como indica la tabla 3 (Bonifaz & Colango, 2016).

**Tabla 3**

*Interpretación de prueba CMT*

Negativo		Positivo
No se forma precipitado por el reactivo, por lo tanto, no existe infección de mastitis.	<b>Trazas:</b>	Se forma una ligera precipitación que se desaparece al momento de agitar, se debe comparar entre los demás cuartos, si presenta solo un cuarto precipitación se considera infección
	<b>Tipo 1</b>	Se forman grumos al momento de realizar agitación, después de agitar 20 segundos los grumos desaparecen, no existe formación de gel.
	<b>Tipo 2</b>	Al instante se forma un gel que da la apariencia de la clara del huevo.
	<b>Tipo 3</b>	Formación instantánea de gel y no se pierde con la agitación

*Nota.* Identificación de tipos de mastitis con prueba CMT tomado de Acuña & Rivadeneira (2023).

Además, se calculó el porcentaje de tasa de prevalencia de mastitis según la fórmula de Calderón & Rodríguez (2008).

$$P = \frac{C}{N}$$

Donde

P= Prevalencia

C= Número de casos afectados por la enfermedad  
N= Número de población muestral

Los datos registrados como positivos al momento de la prueba de CMT fueron sometidos a una segunda toma de muestra con la finalidad de la realizar los análisis microbiológicos y moleculares de cada uno de los cuartos con afectados esta toma de muestra fue realizada de acuerdo con la metodología de Echeverri et. al., (2008) quien señala que:

- La ubre de la vaca se sometió a limpieza y desinfección con yodo y posterior limpieza de cada cuarto con papel.
- Una vez limpia la ubre, se realizó el CMT, escurriendo los 3 primeros chorros de leche en la paleta designada, se inclinó la paleta a un ángulo de 60° igualando la cantidad de leche entre 2 y 4 ml por cada división, se agregó la misma cantidad de reactivo y posterior a esto se agito por rotación durante 15 a 20 segundos y se interpretaron los resultados de acuerdo con la tabla 3.
- Después de todo este proceso se tomó una muestra en frascos de plástico estériles de 100 ml por cuarto afectado y se refrigeraron en un cooler a 4°C.
- Se trasladó a los laboratorios de microbiología de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Ibarra para posterior análisis.

### **4.3.2. Fase de laboratorio**

#### **4.3.2.1. Procedimiento para el aislamiento de *Staphylococcus aureus***

El cultivo y aislamiento de la bacteria se llevó a cabo según el procedimiento de Younis et. al., (2018). Se preparó el medio de cultivo Manitol Salado Agar Base como especifica las indicaciones del fabricante, en 100ml de agua destilada se diluyeron 111g de agar y se procedió a esterilizar en la autoclave a 120°C, a continuación, se realizó la siembra de 95 cajas petri (una para cada muestra) colocando 20 ml de solución Manitol Salado por cada caja y una vez solidificado se colocó 1ml de la muestra. Utilizando el método por estría se procedió a flamear toda la longitud del asa durante 30 segundos en el mechero de bunsen para evitar una posible contaminación bacteriana, seguido se realizó el frotis con el asa en la cuarta parte de la caja y se giró para ejecutar otro frotis en la otra cuarta de la caja, finalmente se colocó papel Parafilm para sellar la caja y evitar contaminación. Realizado este procedimiento de siembra en cada caja se identificaron y se procedió a incubar por un tiempo de 24 a 48 horas a una temperatura de 37°C, finalizando este tiempo de incubación se visualizaron los resultados determinando presencia o ausencia de *Staphylococcus aureus*, y a través del conteo de UFC en las cajas más representativas.

#### **4.3.2.2. Tinción Gram**

Según Regasa, Mengistu, & Abraha (2019) el proceso de Tinción Gram se utilizó para clasificar la bacteria estudiada en Gram positiva o Gram negativa, esta tinción se basó en analizar las diferencias en la composición de la pared celular bacteriana. Al finalizar el tiempo de incubación se procedió a realizar la coloración de Gram, para ello, en la cámara de flujo laminar previamente esterilizada se tomó una colonia con un asa de siembra estéril y se realizó un frotis sobre el portaobjetos de vidrio formando un área circular y uniforme, se dejó secar al aire durante unos minutos a continuación se aplicó dos gotas de solución de yodo y se dejó actuar durante dos minutos, se procedió a lavar con agua destilada y se añadió cristal violeta, se dejó actuar durante cinco minutos, se lavó y se añadió safranina y se dejó actuar durante tres minutos, se lavó y se agregó alcohol y se procedió a observar en el microscopio.

#### 4.3.2.3. Prueba de coagulasa

La prueba de coagulasa se realizó según el procedimiento de Thirunavukkarasu (2014). Se utilizó una micropipeta estéril p1000 y se añadió 0,5 ml de plasma bovino en un tubo de ensayo a continuación con un asa estéril se emulsificaron 4 colonias de *Staphylococcus aureus* al azar de 10 cultivos bacterianos y se mezclaron con suavidad, se procedió a incubar en un baño maría a 37°C durante 4 horas, este resultado indica la presencia de *Staphylococcus aureus* en las muestras confirmando como coagulasa positiva después de transcurrido este tiempo debido a la presencia de coágulos.

#### 4.3.2.4. Prueba de Catalasa

En un portaobjetos se depositaron dos gotas de agua oxigenada al 30% y se pusieron en contacto con una colonia de *Staphylococcus aureus* tomadas al azar de 5 cultivos bacterianos, se tomó con un asa estéril de siembra de una de las cajas de muestra, para interpretar los resultados se utilizó la tabla 4.

**Tabla 4**

*Reacciones de las pruebas bioquímicas realizadas a Staphylococcus aureus*

Patógeno	Catalasa	Coagulasa	Tinción Gram
<i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+
	Presencia de burbujas O <sub>2</sub>	Formación de coágulos	Formación de cocos en racimos

*Nota.* Resultados de pruebas realizadas en laboratorio tomado de Acuña & Rivadeneira (2023).

#### 4.3.2.5. Prueba $\alpha$ , hemolisinas $\beta$ .

Siguiendo la metodología de Moraveji et. al., (2014) se realizó un cultivo de *Staphylococcus aureus* en agar sangre previamente esterilizado, se realizó en el centro de cada caja Petri un trazado de siembra en línea recta y se procedió a la realización del frotis, el análisis se realizó con agar sangre bovino y se incubó a 30°C por 24h, una prueba positiva se caracterizó por la presencia acentuada de hemólisis.

#### **4.3.2.6. Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus***

Para la secuenciación de ADN, se enviaron 2 muestras (2 cajas sembradas directamente con muestra de leche) a un laboratorio especializado en la ciudad de Quito IDgen-identificación molecular, en donde emplearon como método de determinación: identificación molecular por barcoding 16S para bacterias.

#### **4.4. Determinación de la incidencia económica causada por la presencia de *Staphylococcus aureus* en la producción lechera de la Provincia del Carchi**

Para dar cumplimiento a este objetivo se procedió a conversar con los dueños de los 8 hatos mencionados anteriormente quienes suministraron la información del último año de costos de producción como:

- Alimentación y pastizales
- Cuidados y seguimientos
- Mano de obra
- Gastos de servicios básicos
- Gastos de equipo de ordeño
- Gastos operacionales
- Gastos administrativos
- Gastos en ventas

Con los costos de producción analizados y mencionados anteriormente se hizo un resumen como indica el Anexo 5 para realizar la determinación de los costos unitarios referentes a:

- Producción anual de litros de leche por finca: Se preguntó el número de vacas que ordeñan y se realizó una multiplicación de los litros diarios que produce cada finca por los 365 días del año.
- Costos de producción Unitario (A/C): Se hizo referencia de cuánto cuesta producir un litro de leche alrededor de un año por cada finca por lo que se realizó una división entre gastos operacionales y producción anual de litros de leche en cada finca para obtener un resultado.
- Costo total unitario (B/C): Se hizo referencia a cuanto fue el monto de inversión en el ordeño (equipamiento y adecuación) y se dividió el costo total de producción de cada finca entre la producción anual de litros de leche para obtener un resultado por cada finca.
- Precio de venta: Se estimó un precio de venta de 0.54 centavos, debido a que todos

los productores entregan a la misma industria lechera.

- Utilidad por litro: Hace referencia a cuál es la ganancia que el productor tiene al producir un litro de leche y se calculó un promedio del costo unitario por las 8 fincas dividido para el precio de venta.
- Pérdida en producción durante presencia de mastitis: Según (Bonifaz & Colango, 2016) mencionan que la presencia de mastitis causa una pérdida del 15% durante la lactancia, en base a este porcentaje se calculó la incidencia económica.
- Producción sin presencia de mastitis: Hace una hipótesis de cuál sería la producción real si en el hato no existe mastitis y se multiplicó la producción anual de litros de leche por el 15% de pérdida.
- Diferencia en pérdida de producción: se restó la producción anual de litros de leche menos la producción sin presencia de mastitis.

El resultado de la incidencia económica se calculó con el número total de vacas en ordeño (301) de las cuales 206 no presentan ningún grado de mastitis (0,7%) y 95 vacas presentan algún grado de mastitis (0,3%), de las cuales en las 8 fincas las 301 vacas producen 2'634.000 litros anuales, con estos datos mencionados se calculó la incidencia económica:

- Producción sin presencia de mastitis: hace referencia a cuántos litros producen las 206 vacas en ordeño sin mastitis y se multiplicó la producción anual de litros de leche por el porcentaje (0,7%) de vacas sanas.
- Producción de animales con algún grado de mastitis: hace referencia de cuántos litros producen las 95 vacas que presentan algún grado de mastitis y se calculó multiplicando la producción anual de litros de leche por el porcentaje (0,3%) de vacas con presencia de mastitis.
- Producción real de animales con presencia de mastitis: se hizo referencia de cuál sería la producción de litros de leche real como indica (Bonifaz & Colango, 2016) que se refieren a que las vacas con algún grado de presencia de mastitis disminuyen la producción del 15% y para obtener un dato real de cuál es la producción de litros de estos animales se multiplico la producción real de animales con presencia de mastitis por 15%.

- Utilidad real (incidencia económica): hace referencia de cuál es el porcentaje de ganancia económica con los animales que presentan mastitis en el caso de que no presentaran ningún grado de mastitis y se multiplicó la producción real de animales con presencia de mastitis por la utilidad por litro.
- Pérdida de litros por presencia de mastitis: se refiere a cuantos litros está dejando de producir una vaca en lactancia por presentar algún grado de mastitis y se restó producción real de animales con presencia de mastitis menos producción real de animales con presencia de mastitis.

**CAPITULO V**  
**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**5.1. Presencia de mastitis**

**5.1.1. Resultados de la prueba de CMT realizada en campo**

Tras la aplicación del California Mastitis Test (CMT) a las 301 vacas muestreadas en las fincas de la provincia del Carchi, se obtuvieron los resultados detallados en la Tabla 5, que exhibe la presencia de mastitis en cada una de las fincas

**Tabla 5**

*Resultados de prueba CMT realizada en campo*

Fincas	Nombre de la finca	Cantón	N° vacas	por finca	Finca			
					CMT Negativo por Finca	CMT Positivo por Finca		
1	La Joya	Montutar	50	(17%)	38	(76%)	12	(24%)
2	La Magdalena		26	(9%)	18	(69%)	8	(31%)
3	El Descanso	Tulcán	70	(23%)	47	(67%)	23	(33%)
4	El Guanto		25	(8%)	17	(68%)	8	(32%)
5	El Peñal	Bolívar	27	(9%)	18	(67%)	9	(33%)
6	La Escondida	Mira	28	(9%)	17	(61%)	11	(39%)
7	El Encanto	Espejo	30	(10%)	21	(70%)	9	(30%)
8	Los Arenales	Huaca	45	(15%)	30	(67%)	15	(33%)
<b>Vacas muestreadas CMT</b>			<b>301</b>	<b>100%</b>	<b>206</b>		<b>95</b>	

La tabla 5 representa el número total de la población por cada finca muestreada y el número de casos positivos y negativos con la prueba CMT. El muestreo se realizó en 301 vacas en producción y dio como resultado 206 vacas negativas y 95 positivas con algún grado de mastitis.

## 5.2. Caracterización microbiológica de *Staphylococcus aureus*

### 5.2.1. Conteo de UFC

En la Tabla 6 se presentan los datos del conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) que se realizó a las 95 placas Petri previamente sembradas con 1 ml de leche en cada una de las muestras. El conteo se realizó con el equipo “Colony Counter” en el laboratorio de microbiología, dando un aproximado del total de UFC. Estas muestras se presentan a continuación:

**Tabla 6**

*Datos obtenidos de conteo de UFC en laboratorio*

Nombre de la finca	Nº muestras/ una muestra por cuarto	UFC
La Joya	1	31
	2	31
	3	15
	4	23
	5	30
	6	16
	7	21
	8	105
	9	16
	10	47
	11	16
	12	93
Los Arenales	1	5
	2	10
	3	5
	4	8
	5	27
	6	1
	7	4
	8	0
	9	4
	10	12
	11	4
	12	3
	13	3
	14	22
	15	5
El Descanso	1	1
	2	10

	3	3
	4	19
	5	15
	6	6
	7	12
	8	8
	9	9
	10	38
	11	7
	12	7
	13	6
	14	513
	15	26
	16	13
	17	26
	18	2
	19	3
	20	3
	21	0
	22	7
	23	0
	1	2
	2	13
	3	4
	4	3
	5	8
La Escondida	6	30
	7	4
	8	4
	9	1
	10	4
	11	1
Magdalena	1	261
	2	24
	3	23
	4	31
	5	11
	6	76
	7	4
	8	6
	9	3

El Encanto	1	13
	2	6
	3	12
	4	0
	5	2
	6	3
	7	5
	8	7
	9	14
El Peñal	1	37
	2	23
	3	13
	4	24
	5	25
	6	3
	7	8
	8	43
	9	31
Guanto	1	4
	2	1
	3	3
	4	2
	5	1
	6	2
	7	0
	8	6
<b>Total muestras por cuarto</b>		<b>95</b>

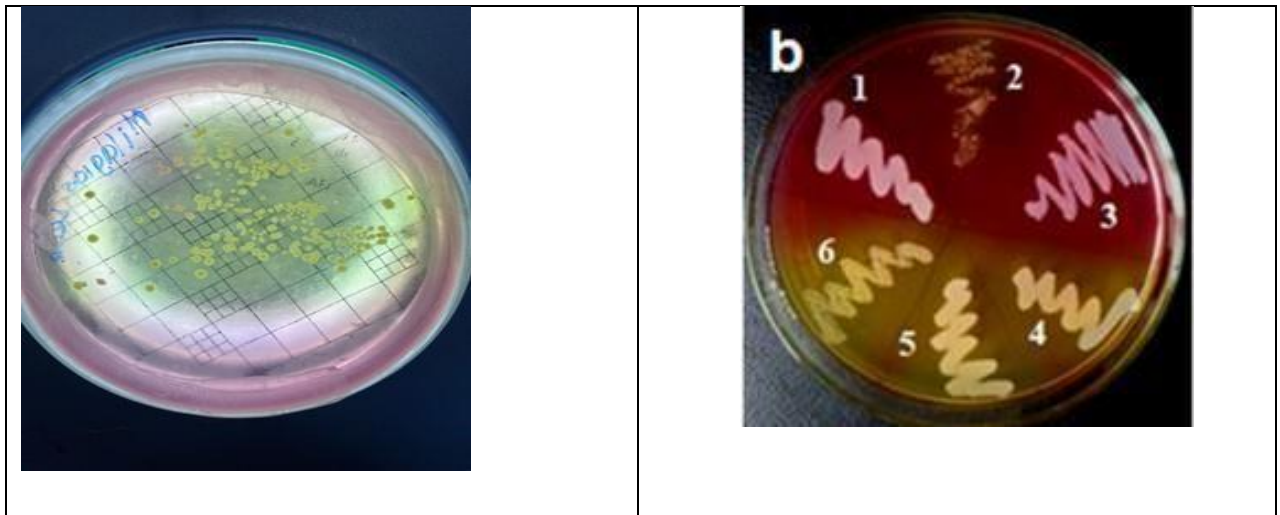
En la Tabla 6 y Figura 2A se muestra el resultado del crecimiento de la bacteria *S. aureus* realizado en laboratorio y se puede observar que la cantidad de UFC no es alta en comparación de los límites que permite la (Norma Técnica Ecuatoriana [NTE INEN 9:2012], 2012), (NTE INEN 1529-5, 2006) en donde se expone que por  $\text{cm}^3$  el límite máximo permitido es  $1.5 \times 10^6$  aunque se debe tomar en cuenta que la siembra se realizó en un tipo de agar en el que no se desarrollan todas las bacterias solo las que han logrado satisfacer sus necesidades nutricionales dentro de ese agar el cual está desarrollado para el crecimiento de bacterias Gram positivas. Por otro lado, al ser un conteo manual pueden existir colonias que no fueron contabilizadas debido a que su tamaño era muy pequeño o se encontraban alrededor de la caja por lo cual se dificulta su conteo, una comparación con Figura 2B del cultivo de *S. aureus* corresponde a las

muestras 4, 5 y 6 del estudio de Huma et al., (2022) que identificó que en la leche bovina la bacteria con mayor presencia fue *S. aureus*, principal responsable de la mastitis. Además, en la norma INEN 1529-5 destaca que se debe escoger placas de dos diluciones consecutivas que presenten entre 15 y 300 UFC mediante contador de colonias.

**Figura 2**

*Resultados en laboratorio carga microbiana de Staphylococcus aureus*

<b>A</b>	<b>B</b>
	



**Nota.** En la Figura 2A indica el resultado del crecimiento del cultivo de *S. aureus* en laboratorio y en la Figura 2B corresponde a las muestras 4, 5 y 6. Las muestras 1, 2 y 3 corresponden a otra bacteria aislada, *S. epidermis*. Tomado de (Huma, Sharma, Kour, & Lee, 2022).

### 5.3. Caracterización morfológica

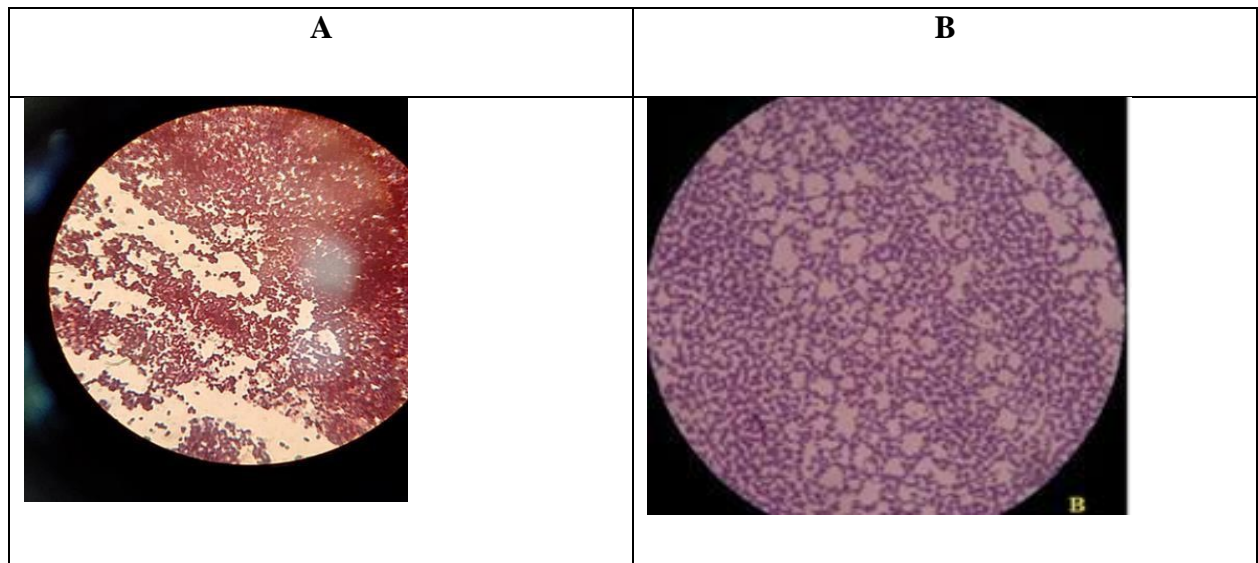
Para la caracterización morfológica (Tinción Gram) se tomó una muestra representativa y al azar de 10 cultivos bacterianos con crecimiento de un máximo de  $1.5 \times 10^6$  UFC de *Staphylococcus aureus* como indican la (Norma Técnica Ecuatoriana [NTE INEN 9:2012], 2012); (NTE INEN 1529-5, 2006).

#### 5.3.1. Tinción Gram

En la Figura 3A se muestra el resultado de la prueba de tinción Gram realizada en el laboratorio, se observaron bacterias Gram positivas debido a la presencia de la bacteria *Staphylococcus aureus* con una coloración violeta. Por ende, se hallaron cocos Gram positivos con forma esférica, en la Figura 3B los investigadores Agudelo et. al., (2016). tomaron muestras de leche bovina de las cuales se aisló *S. aureus* para la inoculación en agar nutritivo, la cual creció formando colonias pequeñas de manera circular con bordes lisos y blanquecinos, así como una consistencia cremosa y convexa además se observaron una coloración violeta en ambos casos.

### Figura 3

Resultados tomados en microscopio en laboratorio prueba Tinción Gram



*Nota.* En la Figura 3A se muestra el resultado de la prueba Tinción Gram presentando una coloración violeta en forma de cocos de racimos y en la Figura 3B una comparación de resultados tomado de (Agudelo et al., 2016).

#### 5.4. Pruebas Bioquímicas

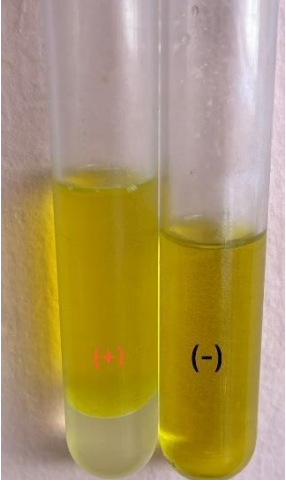


Se tomó una muestra representativa y al azar de 10 cultivos bacterianos con crecimiento de un máximo de  $1.5 \times 10^6$  UFC de *Staphylococcus aureus* como indican la (Norma Técnica Ecuatoriana [NTE INEN 9:2012], 2012) para la realización de las pruebas bioquímicas.

##### 5.4.1. Prueba de coagulasa

En la Figura 4A se aprecia el resultado en laboratorio de la prueba coagulasa, un resultado positivo porque se formó una coagulación del plasma, en consecuencia, se afirma la presencia de la bacteria *Staphylococcus aureus* y en la Figura 4B se hace comparación de los resultados de la prueba de coagulasa de (Guazha, 2020), explicando que la prueba de la coagulasa se utiliza de forma frecuente por la capacidad de la bacteria para generar enzima extracelular que coagula el plasma, pues, permite distinguir la presencia de *Staphylococcus aureus* positivo de los negativos.

### Figura 4

Resultado de coagulasa positivo y negativo realizado en laboratorio

A	B
	 <p data-bbox="1007 607 1262 640">Prueba negativa (1)</p>
	 <p data-bbox="834 976 1082 1010">Prueba positiva (+)</p>

**Nota.** La Figura 4A se mostró el resultado de la prueba de coagulasa realizada en laboratorio y 4B es una comparación de (Guazha, 2020).

La prueba coagulasa positiva en sangre de *S. aureus* se produce debido a la producción de la enzima producida por *Staphylococcus aureus* que tiene la capacidad de coagular el fibrinógeno presente en el suero sanguíneo. Esto significa que cuando se agrega una muestra de *Staphylococcus aureus* a una solución que contiene fibrinógeno (sangre), la coagulasa de la bacteria puede convertir el fibrinógeno en fibrina, lo que da como resultado la formación de un coágulo visible en la solución (Guazha, 2020).

#### 5.4.2. Prueba catalasa

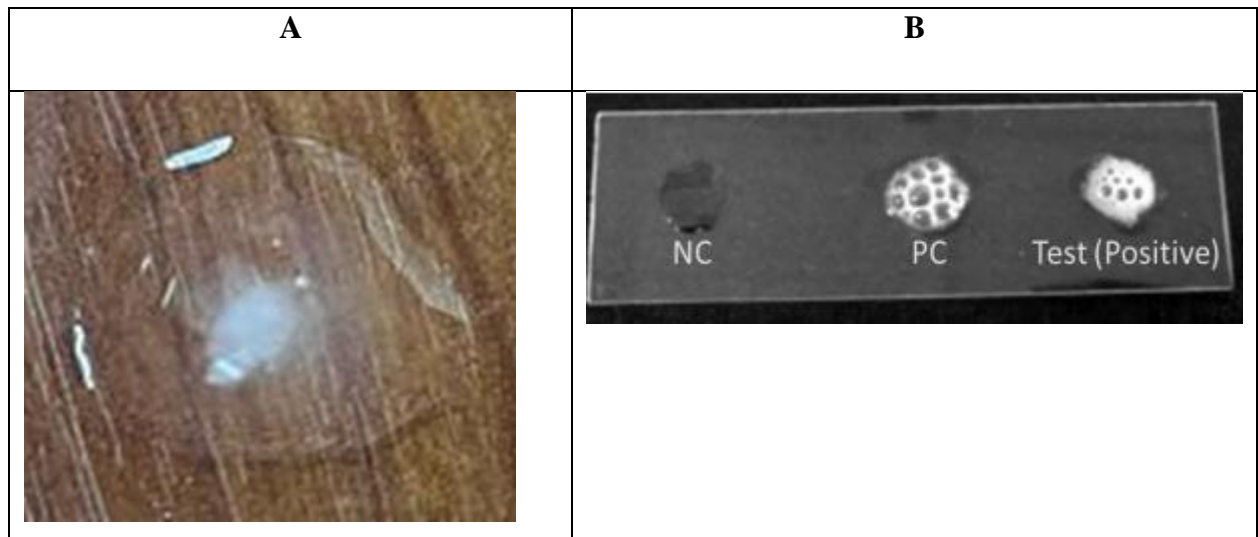
Se tomó una muestra representativa y al azar de 5 cultivos bacterianos para identificación de la prueba de catalasa.

En la Figura 5A se presenta el resultado de la prueba catalasa realizada en el laboratorio se observó efervescencia al colocar una gota de peróxido de hidrógeno directamente a una colonia, con esto se identificó y diferenció la presencia de la bacteria *Staphylococcus aureus*. y en la Figura 5B se presenta el resultado de la prueba catalasa de Jahan et al., (2015), donde se observa el contraste entre el grupo control, el grupo positivo y el ejemplo de grupo positivo. Como se observa, en el estudio de Jahan et al., (2015) se encontró de igual manera en la prueba catalasa

positiva; el peróxido de hidrógeno reaccionó en agua y oxígeno, produciendo las burbujas que se observan en la imagen (14B-PC).

### Figura 5

*Prueba de catalasa realizada en laboratorio*



**Nota.** La Figura 5A se mostró el resultado de la prueba de catalasa realizada en laboratorio y 5B es una comparación. Tomado de (Jahan et al., 2015).

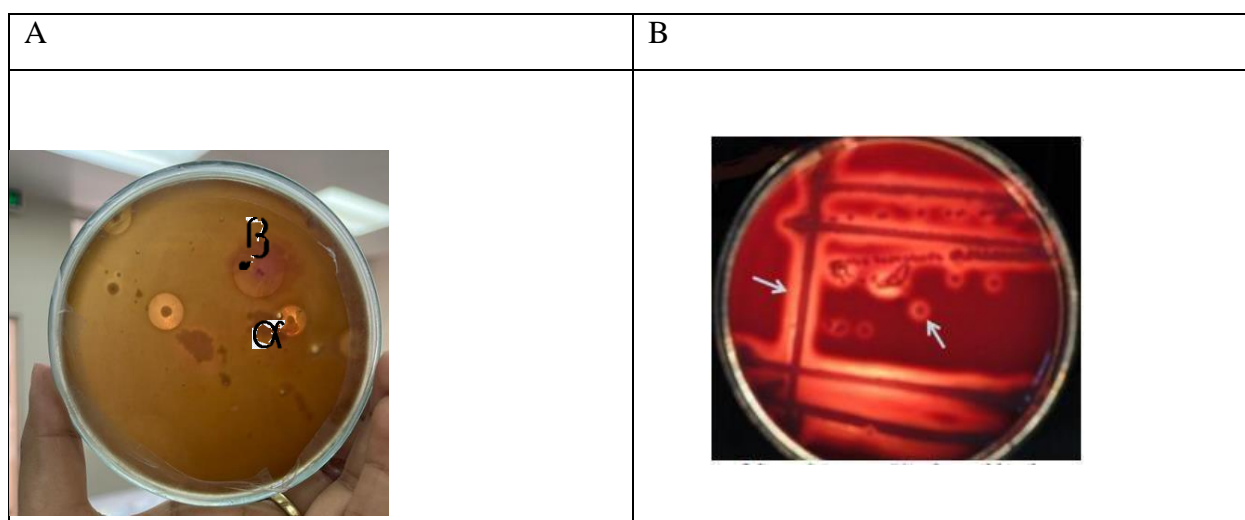
Según Castañeda (2021), esta prueba implica el uso de una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno, proporcionando al microorganismo protección contra la fagocitosis. En otras palabras, cuando se obtiene un resultado positivo para catalasa, como es el caso de *S. aureus*, se indica que el microorganismo sintetiza catalasa y puede desintoxicar el peróxido de hidrógeno. Esto se evidencia mediante una reacción espumante en la colonia, lo que confirma la presencia de *Staphylococcus aureus*.

#### 5.4.3. Prueba $\alpha$ , hemolisinas $\beta$

Se realizó un cultivo en 10 cajas petri con la bacteria aislada de *S. aureus* en medio de cultivo Agar Sangre para posterior identificación. La Figura 6A presenta los resultados de las pruebas de hemólisis  $\alpha$  y  $\beta$  realizadas en el laboratorio, revelando un resultado positivo para la hemólisis  $\alpha$ , evidenciado por la descomposición de los glóbulos rojos circundantes y la decoloración verdosa en el medio de cultivo. En cuanto a la hemólisis  $\beta$ , se detectó la presencia de *Staphylococcus aureus*, ya que se formó una zona de claridad alrededor de las colonias. Este hallazgo indica la capacidad de la bacteria para lisar los glóbulos rojos, revelando un potencial de virulencia y patogenicidad. Resultados similares fueron obtenidos en un estudio previo

realizado por Jahan et al. (2015), indicando que la hemólisis  $\alpha$  se atribuye a proteínas secretadas por la bacteria, las cuales descomponen los glóbulos rojos, liberando hemoglobina y nutrientes. Por otro lado, la hemólisis  $\beta$  implica la degradación controlada de los glóbulos rojos circundantes, permitiendo a la bacteria evadir el sistema inmunológico y provocar infecciones invasivas al liberar nutrientes esenciales. Estos resultados respaldan la propagación y supervivencia de *Staphylococcus aureus* en el medio.

**Figura 6**  
Resultado de prueba  $\alpha$ , hemolisinas  $\beta$  realizada en laboratorio



**Nota.** La Figura 6A se mostró el resultado de la prueba  $\alpha$ , hemolisinas  $\beta$  realizada en laboratorio y 6B es una comparación. Tomado de (Jahan et al., 2015).

### 5.5. Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus*

En la Tabla 7 se presenta los resultados de la identificación molecular de aislados bacterianos en dos muestras de leche de la finca El Descanso ubicada en el cantón Tulcán y finca La Escondida ubicada en el cantón Mira mediante la técnica de secuenciación correspondiente al marcador 16s. a partir de las lecturas resultantes de la secuenciación Sanger se obtuvieron las secuencias ensambladas donde se determinó la identidad de los aislados Anexo 23 y Anexo 24.

**Tabla 7**

Identificación molecular de aislados bacterianos

Código IDgen	Muestra	Calidad	Longitud	Organismo	Fragmento	% de identidad	Nº Accesoión
B652	El Descanso	97.6	1404	<i>Staphylococcus devriesei</i>	16s	99.7	MF678876.1

B653	La Escondida	98	1377	<i>Staphylococcus aureus</i>	16s	99.6	CP040998.1
------	--------------	----	------	------------------------------	-----	------	------------

**Nota.** Elaborado por laboratorio IDgen

En la muestra de leche con el código B652 se identificó la presencia de la bacteria *Staphylococcus devriesei* con un porcentaje de identidad de 99,7%. Mientras que en la segunda muestra se mostró calidad de 98 con longitud de 1377 se mostró la presencia de *Staphylococcus aureus*, representando un 99,6% de identidad. A decir de Escobar y González (2022) cuando no se tiene resultados adecuados en la identificación de las secuencias y características de las cepas estudiadas se debería utilizar mecanismos más específicos como PCR.

## 5.6. Determinación de la incidencia económica en los productores de leche de la Provincia del Carchi- Ecuador

Para la determinación de la incidencia económica se consideró la producción de leche de las 8 fincas como indica la Tabla 8.

**Tabla 8**

*Utilidad real (incidencia económica)*

<b>Incidencia económica de las 8 fincas de investigación</b>	
<b>Descripción</b>	<b>Valor</b>
Utilidad por litro	0,05 \$
Vacas en ordeño 100%	301
Vacas sanas 70%	206
Vacas con presencia de mastitis 30%	95
Producción anual de litros leche de 8 fincas	2.634.000
Producción lechera de vacas sin presencia de mastitis	1.802.671
Producción lechera de animales con algún grado de mastitis	831.328
Producción real de animales con presencia de mastitis	956.028
Pérdida de litros por presencia de mastitis	124.699
Utilidad real recibida	131.700,00 \$

Pérdida monetaria por producción de animales enfermos	6234,96 \$
<b>Incidencia económica</b>	<b>4,73%</b>

Para la incidencia económica se consideró el porcentaje de pérdida del 15% durante la producción con presencia de mastitis según el estudio de (Bonifaz & Colango, 2016).

En la Tabla 8 se presenta el estudio de la incidencia económica de las 8 fincas que presentaron algún grado de mastitis. De las cuales se realizó los costos de producción como indica el Anexo 2 y Anexo 3 además se indagó cuantos litros producen anualmente vacas sanas y con algún grado de mastitis, calculando así cual debería ser la producción real de animales sin presencia de mastitis resultando con un déficit de 124. 699 litros. Con lo que se llega a determinar que existe una pérdida anual de 4,73%. En cambio, en el trabajo de Trujillo, et al. (2009) la pérdida se ubicó en \$ 757.513, donde el 70 al 80% presentan pérdidas por mastitis. Tanto en pérdidas por mastitis clínica y subclínica, los productores deben esforzarse por mejorar las competencias de las operaciones durante el proceso de ordeño, esto con la finalidad de tener calidad adecuada de la leche, reflejando el aspecto económico de forma positiva.

## CAPÍTULO VI

### CONCLUSIO

#### NES

- En las fincas analizadas se identificó que hay una presencia en promedio del 32% de mastitis y un 68% de casos negativos. Con mayor prevalencia de mastitis en animales del Cantón Tulcán (finca 3), Huaca (finca 8) y Montúfar (finca 1).
- Para la caracterización microbiológica y molecular de la bacteria *Staphylococcus aureus* se aplicaron cinco pruebas. En la tinción Gram y coagulasa se demostró la presencia de *Staphylococcus aureus* al presentar forma en racimos de coco y coloración violeta. Además, en la prueba catalasa se evidencio la presencia de esta bacteria mientras que en la prueba  $\alpha$  y hemolisinas  $\beta$  se detectó descomposición de los glóbulos rojos circundantes, virulencia y patogenicidad. En la identificación molecular mediante la técnica de secuenciación del marcador 16s se evidenció una identidad del 99,7% de la bacteria *Staphylococcus devriesei* y 99,6% de *Staphylococcus aureus*.
- Se calculó la incidencia económica causada por la presencia de *Staphylococcus aureus* en las producciones lecheras por lactancia de 305 días de la Provincia del Carchi, la cual arrojó una pérdida monetaria por producción de animales enfermos de 6234,96\$ correspondiendo a una pérdida anual del 4,73% por la presencia de algún grado de mastitis.

## CAPÍTULO VII

### RECOMENDACIONES

- Se sugiere tomar en cuenta los resultados de la presencia, caracterización microbiológica y molecular de *S. aureus*, para el control y prevención de la mastitis.
- Además, se recomienda mejorar el proceso de ordeño en las fincas ganaderas e implementar el manual de BPO, evitando así agentes infecciosos en la ubre mediante el lavado y desinfección (ubre) con soluciones yodadas, así como el secado y sellado de los pezones, lo cual ayuda el control oportuno de problemas infecciosos. Es decir, implementar estrategia para reducir la presencia de la mastitis a través de programas de control y prevención.
- Se recomienda el uso de placas de identificación rápida para bacterias *S. aureus* con la finalidad de disminuir el tiempo de identificación.
- Seleccionar una finca con el mayor número de casos positivos para hacer un estudio específico e investigar por qué existe mayor propagación de *S. aureus* con la finalidad de implementar un protocolo para evitar la propagación y determinar la incidencia económica exacta de esta finca.

## CAPITULO VIII

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acuña, V., & Rivadeneira, A. (2023). *Aislamiento, Identificación y antibiograma de patógenos presentes en la leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha*. Obtenido de <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/2553/1/T-ESPE-IASA%20I-003435.pdf>
- Adame, R., Toribio, J., Castro, N., Talavera, K., Flores, J., Pineda, A., & Ramírez, A. (2022). *Diversidad genética y factores de virulencia de cepas de Staphylococcus aureus aisladas de la piel de ubre bovina. [Revista mexicana de ciencias pecuarias]*. Obtenido de [https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242021000300655&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2007-11242021000300655&script=sci_arttext)
- agrifam. (29 de Diciembre de 2016). *agrifam*. Obtenido de <https://agrifam.misiones.gob.ar/pollitos-camperos-aportan-la-seguridad-alimentaria/>
- Agritotal. (2 de Julio de 2023). *Agritotal*. Obtenido de <https://www.perplexity.ai/search/e078145c-ac68-4af1-b3b8-55ba9e10ed37?s=u>
- Agudelo, E., Gutiérrez, L., Bedoya, O., & Montoya, O. (2016). Evaluación In Vitro de la actividad antimicrobiana de cepas ácido lácticos comerciales sobre bacterias causantes de mastitis bovina. *Revista de la Asociación Colombiana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 24(38), 79-93.
- Aliverti, F., Lucas, M., Buldain, D. C., Marchetti, M. L., & Mestorino, O. N. (2021). *Susceptibilidad antimicrobiana de Staphylococcus aureus aislados de vacas Holstein portadoras de mastitis subclínica en la provincia de Buenos Aires, Argentina [Revista Cuyana]*. Obtenido de <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/169878>

- Almeida, P. (22 de Enero de 2023). *Avinews*. Obtenido de <https://avinews.com/ecuador-carne-de-pollo-tiene-perdidas/>
- Alvarado, I. M. (17 de Marzo de 2018). *repositorio*. Obtenido de unac: [https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/14958/TFG\\_Isaac%20Moreno%20Alvarado.pdf?isAllowed=y&sequence=1](https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/14958/TFG_Isaac%20Moreno%20Alvarado.pdf?isAllowed=y&sequence=1)
- Anangó, D. (2020). *Resistencia antibiótica de Staphylococcus aureus en vacas con mastitis en tres estratos lecheros del cantón Mejía. [Tesis de grado, Universidad de las fuerzas armadas]*. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/24834/1/T-IASA%20I-005703.pdf>
- Apolo, N. (2018). *Caracterización de molecular y biotecnológica de bacterias pigmentadas de lácteos artesanales elaborados en la parroquia Jima*. Cuenca: UAZUAY.
- Apugllon, G., & Pilar, E. (2021). *Diagnóstico microbiológico de las mastitis bovina y evolución de tres alternativas de tratamiento en el criadero Jersey "el Puente" de Chimborazo*[Tesis de Grado Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/16271>
- avicultura. (23 de Marzo de 2016). *avicultura*. Obtenido de <https://avicultura.com/investigaciones-sobre-la-sostenibilidad-a-nivel-de-granja-en-la-produccion-de-huevos-y-de-carne-de-ave/>
- Avila, A. (2003 de Junio de 2003). *scrib*. Obtenido de [file:///C:/Users/jerem/Downloads/scribd.vdownloaders.com\\_01crianza-de-pollos-camperos-aviculturas-alternativas.pdf](file:///C:/Users/jerem/Downloads/scribd.vdownloaders.com_01crianza-de-pollos-camperos-aviculturas-alternativas.pdf)
- Avilés, C. F. (junio de 2020). *pirhua*. Obtenido de [https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/4614/PYT\\_Informe\\_Final\\_Proyecto\\_Hidrop%C3%B3nicos.pdf?isAllowed=y&sequence=1](https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/4614/PYT_Informe_Final_Proyecto_Hidrop%C3%B3nicos.pdf?isAllowed=y&sequence=1)
- Avilés, N., & Medina, A. (2022). *Comparación de la prueba california mastitis test y tarro de fondo obscuro en el diagnóstico de amstitis subclínica en bovinos lecheros del cantón*

*Cuenca de la provincia de Azuay [Tesis de grado, Universidad de Guayaquil].*

Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/60516>

Bedoya, O., & Raigosa, T. (2019). *Evaluación de los factores asociados a la presentación de mastitis clínica y subclínica en la Finca Palo Blanco.* Obtenido de

<http://hdl.handle.net/10567/2568>

Bernal, L. (12 de diciembre de 2020). *ciencia.lasalle.* Obtenido de

<https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1107&context=ai>

Blanco, A., & Molina, R. (2018). *Evaluación de tres selladores de pezones para la prevención de casos nuevos de mastitis en ganado lechero (Bos taurus) en San Carlos, Costa Rica. [Revista agroinnovación en el trópico húmedo].* Obtenido de

<https://revistas.tec.ac.cr/index.php/agroinn/article/view/3931/0>

Bonifaz, N., & Colango, F. (2016). *Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba california mastitis test con identificación del agente etiológico en paquiestancia, Ecuador [Revista de Ciencias de la Vida LA GRANJA].* Obtenido de

<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=476051632003>

Burbano, S. (2018). *Evaluación de tres selladores de pezones para la prevención de casos nuevos de mastitis en ganado lechero (Bos taurus) en San Carlos, Costa Rica.*

*[Revista agroinnovación en el trópico húmedo].* Obtenido de

<https://revistas.tec.ac.cr/index.php/agroinn/article/view/3931/0>

Cadavid, J., Quijano, L., & Rodríguez, J. (2021). *Detección de mastitis subclínica en*

*producción lechera mediante métodos cuantitativos y cualitativos, en hatos del*

*departamento del cauca. [Tesis de grado, Universidad Antonio Nariño.* Obtenido de

<http://repositorio.uan.edu.co/handle/123456789/5898>

Calderón, A., & Rodríguez, V. (2008). *Prevalencia de mastitis bovina y su etiología*

*infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano*

*cundiboyacense (Colombia)[ Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias].* Obtenido

de <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v21n4/v21n4a06.pdf>

- Camacho, J. (2017). *Determinación de la variación genética de Staphylococcus aureus causante de mastitis en vacas lecheras en Jalisco*. Obtenido de <https://riudg.udg.mx/bitstream/20.500.12104/84931/1/MCUCBA10322.pdf>
- Cano, P. (2018). Nuevas Alternativas en el Diagnóstico Clínico de. *Agrovet Market Animal Health*, 3.
- Carvajal, C. (2022). *Identificación de agentes causales de mastitis clínica y sensibilidad antibiótica en vacas lecheras de la zona de Viloma, Cochabamba [Tesis de grado, Universidad mayor de San Simón]*. Obtenido de <http://ddigital.umss.edu.bo:8080/jspui/handle/123456789/28329>
- Castañeda, H. (2020). *Agentes patógenos causantes de mastitis aislados de leche de vacas lecheras. Revista veterinaria Argentina*,. Obtenido de [https://www.researchgate.net/profile/Hugo-Vazquez/publication/343555080\\_agentes-patogenos-causantes-de-mastitis-aislados-de-leche-de-vacas-](https://www.researchgate.net/profile/Hugo-Vazquez/publication/343555080_agentes-patogenos-causantes-de-mastitis-aislados-de-leche-de-vacas-)
- Castañeda, H., Padilla, F., Castañeda, M., Camacho, J., & Salas, E. (2021). Variación genética de *Staphylococcus aureus* causante de mastitis en vacas lecheras en Jalisco. *Abanico veterinario*, 10(1), 1-15. Obtenido de <https://riudg.udg.mx/bitstream/20.500.12104/84931/1/MCUCBA10322.pdf>
- Castelló, F. (1 de Febrero de 2022). *avicultura*. Obtenido de <https://avicultura.com/editorial-la-sostenibilidad-entendemos-lo-que-es/>
- Chasi, E. (2015). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba California mastitis Test con identificación del agente etiológico, en el Centro de acopio de leche la comunidad Muyurcu, Cayambe Ecuador 2014*. Quito: UPS.
- Colina, L. (12 de Septiembre de 2022). *lacolina*. Obtenido de <https://lacolina.com.ec/sector-avicola-en-ecuador/>
- Condoy, M. C., Bracho, D. G., García, L. R., Rojas, J. G., & Carrasco, J. T. (2021). *Detección de Mastitis Subclínica Bovina y factores asociados, en fincas lecheras de la Provincia del*

Cañar – Biblián, Ecuador [Revista Científica Universidad del Zulia].

doi:<https://doi.org/10.52973/rcfcv-luz313.art3>

Díaz, T. (2022). *Determinación de la prevalencia de mastitis en vacas Holstein mestizas de la Asociación ASOPROPEM del cantón Patate [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]*. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/17850>

Duquesne, A., Castro, N., Monzote, A., & Paredes, I. (2015). *Caracterización de aislamientos de Staphylococcus aureus comunitarios en muestras purulentas [Revista Cubana de Medicina General Integral]*. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/mgi/v31n3/mgi04315.pdf>

Echeverri, J., Jaramillo, M., & L. R. (2008). *Evaluación comparativa de dos metodologías de diagnóstico de mastitis en un hato lechero del Departamento de Antioquia [Revista Lasallista de Investigación]*. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rlsi/v7n1/v7n1a07.pdf>

Encuesta de Superficie y Producción Agropecuario Resultados provinciales [SIPA]. (2022). *Resultados Produccion litros diarios Region*. Obtenido de <http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/cifras-agroproductivas>

Escamilla, M. (2019). *Establecimiento de las condiciones de crecimiento que permitan estudiar la cascada de esporulación*. Morelos: UPEM.

Escobar, D., & González, A. (2022). *Aislamiento, caracterización fenotípica e identificación molecular de cepas de Staphylococcus aureus en vacas lecheras con mastitis en la provincia de Cañar*. Cuenca: UCACUE.

Espin, D. (11 de Diciembre de 2020). *avinews*. Obtenido de <https://www.perplexity.ai/search/0fc0d2ef-d22b-4ee2-b1e0-b23febc4981e?s=u>

Espinoza, G., & Velásquez, C. (2023). *Mastitis clínica y eficiencia reproductiva en vacas Holstein en el valle de Huaura [Revista Perú]*. doi:<https://doi.org/10.51431/par.v1i1.819>

- Felipe, V., & Porporatto, C. (2010). *Mastitis, confort animal y calidad de leche*. Obtenido de [https://books.google.com.ec/books?id=jPQqf00FgDYC&printsec=frontcover&source=gb\\_s\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.ec/books?id=jPQqf00FgDYC&printsec=frontcover&source=gb_s_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false)
- Fernández Bolaños, Omar Fernando; Trujillo Graffe, José Eduardo; Peña Cabrera, John Jaiver; Granja Salcedo, Yury Tatiana. (2012). *Mastitis Bovina: Generalidades y tipos de diagnóstico*. Obtenido de REDVET: [https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infecciosas/bovinos\\_leche/78-mastitis.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/78-mastitis.pdf)
- Flores, M., & Patiño, L. (2022). *Prevalencia de mastitis en la estación agraria Paysandú y su correlación con la pluviometría*. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10567/3334>
- Galeano, D. (2017). *Aislamiento e identificación de staphylococcus aureus en Aislamiento e identificación de staphylococcus aureus en departamento de Risaralda*. Pereira: UNILIBRE. Obtenido de <https://repository.unilibre.edu.co/bitstream/handle/10901/16150/AISLAMIENTO%20E%20IDENTIFICACION%20DE%20STAPHYLOCOCCUS%20AUREUS%20EN%20DEPARTAMENTO%20DE%20RISARALDA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- García, Á. (2016). *Sitio Argentino de Producción Animal*. Obtenido de Mastitis Contagiosa vs Ambiental: [https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infecciosas/bovinos\\_leche/121-Mastitis\\_Contagiosa.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/121-Mastitis_Contagiosa.pdf)
- García-Vilanova Comas, G. C. (2018). *Etiología de la mastitis crónica: propuesta de secuencia diagnóstica*. Obtenido de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0210573X16300648>
- Gasque, R. (2015). *Mastitis bovina*. Obtenido de [https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infecciosas/bovinos\\_leche/107-Mastitis\\_bovina.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/107-Mastitis_bovina.pdf)
- Gómez, J., Tovar, J., Bergonzoli, G., & Lucumí, A. (2021). Prevalencia bayesiana de *Staphylococcus aureus* en vacas lecheras en el Valle del Cauca, Colombia. *CES Med. Zootec.*, 16(3), 47-61.

- Gómez, R. (2015). *Mastitis Bovina*. Obtenido de [https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/infeciosas/bovinos\\_leche/107- Mastitis\\_bovina.pdf](https://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infeciosas/bovinos_leche/107-Mastitis_bovina.pdf)
- González, M. (7 de Diciembre de 2010). *Engormix*. Obtenido de [https://www.engormix.com/avicultura/avicultura-alternativa/cria-pollo-campo\\_f12019/](https://www.engormix.com/avicultura/avicultura-alternativa/cria-pollo-campo_f12019/)
- Guazha, C. (2020). *Aislamiento e identificación de bacterias patógenas presentes en la leche de vacas con mastitis de las Islas Santa Cruz e Isabela de la provincia de Galápagos - Ecuador*. Quito : ESPE.
- Guazha, C. (2020). *Aislamiento e identificación de bacterias patógenas presentes en leche de vacas con asititis de las islas Santa Cruz e Isabela, de la provincia de Galápagos - Ecuador [Tesis de grado, Universidad de las fuerzas armadas]*. Obtenido de <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/23029/1/T-ESPE-044038.pdf>
- Hernandez, P. (19 de Junio de 2021). *lasalle*. Obtenido de <https://www.lasalle.edu.co/Noticias/InvestigacionPertinente/uls/Beneficios-del-uso-de-forraje-verde-hidroponico>
- Herrera, F., Arteaga, T., Estrada, J., Escobedo, J., & Reyes., J. (2019). *Desafíos de la agricultura ganadera mundial. Experiencias ganaderas, agrícolas y forestales en la conservación de los recursos naturales*. Obtenido de [http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/99763/150319+ICAR+web.pdf?s\\_equ\\_ence=1](http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/99763/150319+ICAR+web.pdf?s_equ_ence=1)
- Huma, Z., Sharma, N., Kour, S., & Lee, S. (2022). Phenotypic and Molecular Characterization of Bovine Mastitis Milk Origin Bacteria and Linkage of Intramammary Infection with Milk Quality. *Frontiers in Veterinary Science*, 1-11. doi:<https://doi.org/10.3389/fvets.2022.885134>
- Ibarra, M., Ormaza, D., Rueda, R., & Huera, D. (2022). *Mastitis bovina en el cantón Montufar – Carchi. Prevalencia, agente causal y factores de riesgo. [Revista Axioma]*. Obtenido de <https://doi.org/10.26621/ra.v1i26.735>

Iglewski, B. (2005). Pseudomonas. *Medical Microbiology*, 6-7.

Instituto de Investigación Geológico y Energetico [IIGE]. (2012).

Obtenido de <https://carchi.gob.ec/2016f/index.php/carchi/atlas-provincial.html>

Instituto Nacional de Estadísticas y Censos [INEC]. (2015).

Obtenido de

[https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas\\_agropecuarias/CNA/Tomo\\_CNA](https://www.ecuadorencifras.gob.ec/documentos/web-inec/Estadisticas_agropecuarias/CNA/Tomo_CNA)

Jahan, M., Rahman, M., Parvej, S., Chowdhury, S., Haque, E., Talukder, A., & Ahmed, S. (2015). Isolation and characterization of *Staphylococcus aureus* from raw cow milk in Bangladesh. *J. Adv. Vet. Anim. Res.*, 2(1), 49-55. doi:10.5455/javar.2015.b47

Jaramillo, A., Cobo, C., Moreno, Y., & Ceballos, A. (2018). *Resistencia antimicrobiana de Streptococcus agalactiae de origen humano y bovino*. Obtenido de <https://revistas.ces.edu.co/index.php/mvz/article/view/4595>

Junior, M. P. (30 de Abril de 2020). *avinews*. Obtenido de

<https://avinews.com/en/poultry-nutrition-during-the-first-and-last-week/>

K, Norhan; El-Aziz, Abd; M, Ahmed; M, Hend; A, Rehab; Elkader, Abd; A, Hosam; Saad; El-Kazzaz, Waleed; Khalifa, Eman. (2021). *Streptococcus uberis* ambiental asociado con mastitis clínica en vacas lecheras: rasgos de virulencia, resistencia a antimicrobianos y biocidas, y tipificación epidemiológica. doi:10.3390/ani11071849

Laca, A. (12 de Agosto de 2021). *Avinews*. Obtenido de <https://avinews.com/impactos-ambientales-derivados-de-la-produccion-de-huevos-alternativas-de-mejora-sostenible/>

Leal, M. (2020). *Caracterización de mastitis en la población bovina de la estación agraria Paysandú en el departamento de Antioquia en el año 2020. [Tesis de grado, Universidad de Pamplona]*. Obtenido de <http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/899>

Loqui, A., Zambrano, M., López, D., & Casignia, D. (2020). Forraje hidropónico de maíz: análisis bromatológico de cuatro híbridos de maíz para alimentación animal. *RECIAMUC*, 76-80. doi:10.26820/reciamuc/4.(2).abril.2020.76-80

- Luca, M. (2021). *Estudio de las bacterias patógenas presentes en la leche de la vaca con Mastitis [Tesis de grado, Universidad Estatal Península de Santa Elena]*. Obtenido de <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/6303>
- Luna, K., Albuja, M., Aragón, P., & Basantes, F. (2019). *Niveles de diversificación de ingresos económicos en hogares agropecuarios de la parroquia La Paz, Carchi, Ecuador [Tesis de Grado Universidad Técnica del Norte]*. Obtenido de <https://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/ne/article/view/1300>
- Mahmmod, Y. (2019). *Nuevo método de detección de patógenos de mastitis contagiosa en vacas*. Obtenido de <https://ddd.uab.cat/record/203120>
- Martín, E. G. (2012). *wpsa-aeca*. Obtenido de [https://www.wpsa-aeca.es/aeca\\_imgs\\_docs/15\\_07\\_05\\_pollos1.pdf](https://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/15_07_05_pollos1.pdf)
- Mera Andrade, R., Muñoz Espinoza, M., Artieda Rojas, J. R., Ortíz Tirado, P., González Salas, R., & Vega Falcón, V. (2017). *Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche [REDVET - Revista electrónica de Veterinaria.]*. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653574004.pdf>
- Middleton, J. (2019). *Mastitis contagiosa: Staphylococcus aureus y Streptococcus agalactiae [Revista Selecciones Veterinarias]*. Obtenido de <https://www.seleccionesveterinarias.com/nota/556-alteraci%C3%83%C2%B3n-valvular-en-un-cocker>
- Montes, M., & García, J. (2006). Género Streptococcus: una revisión práctica para el laboratorio de microbiología. *PROGRAMA DE CONTROL EXTERNO DE CALIDAD SEIMC*, 2-3.
- Morales, R. (2022). *Incidencia de la mastitis subclínica mediante la prueba de california mastitis test en la granja "Don Doménico", Montero, Santa Cruz. [Tesis de grado, Universidad Mayor San Simón]*. Obtenido de <http://ddigital.umss.edu.bo:8080/jspui/handle/123456789/27789>
- Moraveji, Z., Tabatabaei, M., & Aski, S. (2014). *Caracterización de hemolisinas de cepas de Staphylococcus aisladas*. Obtenido de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27175125/>

- Navas, A. H. (2015). *Prevalencia de Mastitis Bovina mediante la prueba California Mastitis Test con identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la Comunidad Pulisa, Cayambe-Ecuador*. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9826/1/UPS-YT00250.pdf>
- Norma Técnica Ecuatoriana [NTE INEN 9:2012]. (2012). Obtenido de [https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-10/Documento\\_BL%20NTE%20INEN%209%20Leche%20cruda%20Requisitos.pdf](https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-10/Documento_BL%20NTE%20INEN%209%20Leche%20cruda%20Requisitos.pdf)
- NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 9:2012. (2012). Obtenido de [https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-10/Documento\\_BL%20NTE%20INEN%209%20Leche%20cruda%20Requisitos.pdf](https://www.gob.ec/sites/default/files/regulations/2018-10/Documento_BL%20NTE%20INEN%209%20Leche%20cruda%20Requisitos.pdf)
- NTE INEN 1529-5. (2006). *Control microbiológico de alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos*. Quito: INEN.
- Olmos, X. (2017). *cepal*. Obtenido de [https://www.cepal.org/sites/default/files/publication/files/43288/S1700618\\_es.pdf](https://www.cepal.org/sites/default/files/publication/files/43288/S1700618_es.pdf)
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación [FAO]. (2022). Obtenido de <https://www.fao.org/dairy-production-products/production/es/>
- Ormaza, D., & Rueda, R. (2021). *Identificación del agente etiológico y evaluación de nosodes en el tratamiento de mastitis bovina en el Cantón Montúfar [Tesis de grado, Universidad Politécnica Estatal del Carchi]*. Obtenido de <http://repositorio.upec.edu.ec/handle/123456789/1032>
- Ortiz, T., Gutiérrez, S., Rodríguez, H., & Olivera, M. (2014). *Manual de Buenas Prácticas de Ordeño [Tesis de grado, Universidad de Antioquia]*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/281865217\\_Manual\\_de\\_Buenas\\_Practicas\\_de\\_Orden](https://www.researchgate.net/publication/281865217_Manual_de_Buenas_Practicas_de_Orden)
- Oyola, L., & Urrera, M. (2021). *Conceptos generales y métodos establecidos para el diagnóstico y tratamiento de la mastitis bovina [Tesis de Grado Universidad Cooperativa de Colombia]*. Obtenido de

[http://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/34784/1/2021\\_conceptos\\_generales\\_metodos.pdf](http://repository.ucc.edu.co/bitstream/20.500.12494/34784/1/2021_conceptos_generales_metodos.pdf)

- Parada, Y. (2022). *Prevalencia de mastitis en Arauca, presentación de mastitis diagnosticada a través de la prueba CTM en ganado doble propósito [Tesis de grado, Universidad de Santander]*. Obtenido de <https://repositorio.udes.edu.co/server/api/core/bitstreams/335f9cc8-d4f7-40bb-a4ab-056fe0123419/content>
- Paredes, M., & Mosquera, J. (2017). *Comparación del efecto de tres concentraciones de propóleos en el tratamiento de mastitis subclínica de vacas lecheras [Tesis de grado Universidad Central del Ecuador]*. Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/13919>
- Pasachova, J., Ramírez, S., & Muñoz, L. (2019). Staphylococcus aerus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *NOVA*, 17(32), 25-38.
- Pasquier, A., & Dávila, M. (2020). *Evaluación del forraje verde hidropónico como sustitución parcial de concentrado en pollos de engorde del centro de prácticas San Isidro Labrador de la UNA - Camoapa, agosto-septiembre 2019*. Universidad Nacional Agraria. En <https://repositorio.una.edu.ni/4204/1/tnl02p284.pdf>.
- Ponce, E. (2021). *Comportamiento productivo de pollos camperos (Gallus gallus domesticus) con niveles de adición de forraje verde hidropónico de maíz en la alimentación*. La Libertad: Universidad Estatal Península de Santa Elena.
- Quilapanta, A. (2021). *Diagnóstico de mastitis subclínica mediante tres métodos para el control y tratamiento en vacas Holstein. [Tesis de grado, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]*. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/15637>
- Regasa, S., Mengistu, S., & Abraha, A. (2019). *Safety Assessment, Isolation, and Antimicrobial Susceptibility Profile of Staphylococcus aureus in Selected Dairy Farms of Mukaturi and Sululta Town, Oromia Region, Ethiopia*. . doi: 10.1155/2019/3063185

- Reina, R., & Castillo, M. J. (2022). *La producción de leche en Ecuador [Revista Veterinaria Digital]*. Obtenido de <https://www.veterinariadigital.com/articulos/la-produccion-de-leche-en-ecuador/>
- Reinoso, E., Dieser, S., & Moliva, M. (2022). *Manual de herramientas moleculares : conceptos básicos y técnicas empleadas en el estudio de la genética microbiana* (Primera ed.). Río Cuarto - Argentina: Universidad Nacional de Río Cuarto.
- Reyes, P. A. (enero de 2020). *Producción de forraje*. Obtenido de <https://biblioteca.inia.cl/bitstream/handle/20.500.14001/68837/Capitulo%2010.pdf?isAllowed=y&sequence=13>
- Ribeiro, J., Teider, P., Oliveira, A., Rios, E., Tamanini, R., & Belota, V. (2018). *Potencial proteolítico de especies de Pseudomonas do leite cru caprino e bovino*. Obtenido de <https://www.scielo.br/j/pvb/a/cmbXY8K4fYc5mCshtzW4fPm/abstract/?lang=pt>
- Ríos, G. (2021). *Moléculas naturales con potencial uso como alternativas para el control de Mastitis Bovina [Tesis de grado, Universidad de Cundinamarca]*. Obtenido de <https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/handle/20.500.12558/3466>
- Rodríguez, K. (2013). *Evaluación del uso de flameado de ubres en la población de mesófilos aerobios, E. coli, Coliformes y Mastitis Subclínica en leche cruda de bovino. [Tesis de grado, Universidad Técnica del Cotopaxi]*. Obtenido de <http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/1632>
- Rojas, D. (2022). *Diseño de un sistema de buenas prácticas de ordeño para el "centro agropecuario San Isidro" en el municipio de Mizque [Tesis de grado, Universidad San Simón]*. Obtenido de <http://ddigital.umss.edu.bo:8080/jspui/handle/123456789/29404>
- Roman, C. (18 de Septiembre de 2013). *gob.mx*. Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura%7Chidalgo/es/articulos/forraje-verde-hidroponico-opcion-que-ofrece-sagarpa-ante-la-sequia>
- Rosado, A. (2021). *Comportamiento productivo y económico de la ganadería lechera en la Hacienda Tunshi desde el 2010 hasta el 2017 [Tesis de Grado Escuela Superior*

*Politécnica de Chimborazo*]. Obtenido de  
<http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/14684>

Sáenz, J. A. (14 de Abril de 2021). *veterinariadigital*. Obtenido de  
<https://www.veterinariadigital.com/articulos/sistemas-de-produccion-avicola-y-alojamiento-en-gallinas-ponedoras/>

Sáenz, J. A. (1 de julio de 2021). *veterinariadigital*. Obtenido de  
<https://www.veterinariadigital.com/articulos/manejo-de-la-cama-en-el-galpon-mejoras-en-rendimiento-y-bienestar/>

Samaniego, G., Choez, K., & Lucas, E. (2021). Staphylococcus aureus: factores asociados a su hipervirulencia y adhesión y formación de biopelículas. *Polo del Conocimiento*, 6(9), 1826-1860. Obtenido de  
<https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>

Sánchez, D., & Duriel, G. (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]*. doi:<http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v33i1.20466>

Sánchez, D., & Mamani, G. (2022). Mastitis subclínica bovina y factores de riesgo ambientales en pequeños productores de ganado lechero criado en alta montaña [Revista Inv Vet Perú]. 33(1), 1-9.

Sánchez, Y., & Angarita, M. (2018). Determinación de hemólisis en cepas de Staphylococcus spp. causantes de mastitis bovina. *Revista Investig Salud Univ Boyacá*, 5(1), 15-30.

Santamaria, R. (2020). *Prevalencia de mastitis subclínica en ganado bovino (Bos taurus) mediante la prueba de California Mastitis Test en el distrito de Pacora, provincia de Lambayeque [Tesis de postgrado Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo]*. Obtenido de <https://repositorio.unprg.edu.pe/handle/20.500.12893/8867>

Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo [SENPLADES]. (2014). Obtenido de <https://www.planificacion.gob.ec/zona-de-planificacion-1-norte/>

- Senthilkumar, A. M. (2020). *Prevalence and detection of Subclinical Mastitis by California Mastitis Test*. Obtenido de <https://www.ijemas.com/abstractview.php?ID=18082&vol=9-7-2020&SNo=116>
- Serres, J. R. (15 de Enero de 2022). *abcavicola*. Obtenido de <https://www.abcavicola.com/profile/a9535004-a681-45ce-bdfa-68cfa7dcc815/profile>
- Shane, A. (2019). Estreptococos del grupo B ( *Streptococcus agalactiae*). *National Library of Medicine*, 5-6.
- Silva, F. (2021). *Caracterización de los agentes bacterianos casuales de Mastitis Bovina [Examen complejo, Universidad de Babahoyo]*. Obtenido de <http://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/10332>
- Solano, F. (2021). *Efecto de la calidad de la canal y morfométrico del tracto gastrointestinal de pollos de engorde con la alimentación de diferentes niveles de forraje verde hidropónico de maíz*. UTE. En <https://repositorio.upse.edu.ec/handle/46000/6356>.
- TABOADA, F. G. (9 de junio de 2011). *repositoriodigital*. Obtenido de <https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/8314/1/Tesis%20MOD%20ELO%20DE%20PRODUCCION%20DE%20FV.pdf>
- Tang, J. (2016). *Mastitis en Ganado Lechero: Etiología, Tipos y Tratamientos Modernos*. Obtenido de Agrovvet Market Animal Health: <https://www.agrovvetmarket.com/investigacion-salud-animal/pdf-download/mastitis-en-ganado-lechero-etilogia-tipos-y-tratamientos-modernos>
- Terán, R. (2017). *Factores de gestión determinantes en las explotaciones lecheras de la provincia de Carchi, Ecuador [Universidad Politecnica Estatal del Carchi]*. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/pdf/cjas/v51n2/cjas02217.pdf>
- Thirunavukkarasu, S. (2014). *Evaluación de la prueba de coagulasa directa en tubo*. doi:10.7860/JCDR/2014/6687.4371.
- Torres, J. (2017). *Evaluación de tolerancia, seguridad y eficacia de dos lisados de corynebacterium administrados en el periodo seco y la lactancia temprana en vacas*

- lecheras. [Tesis de grado, Universidad Autónoma de Querétaro]. Obtenido de <http://ri-ng.uaq.mx/handle/123456789/1273>
- Trujillo, A., Moreno, F., & Rodríguez, G. (2009). Efectos de la mastitis subclínica en algunos hatos de la cuenca lechera del Alto Chicamocha (departamento de Boyacá). *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(17), 23-35.
- Valle, K. S. (2022). *Mastis y calidad de la leche en vacas lecheras*. Obtenido de <file:///C:/Users/Pame%20Chamorro/Downloads/07.pdf>
- Valls, J. L. (15 de junio de 2020). *avinews*. Obtenido de <https://avinews.com/recepcion-de-los-pollitos-lo-primero-prepara-la-nave-avicola/?reload=yes>
- Vélez, G. (2021). *Parámetros productivos en pollos de engorde alimentados parcialmente con harina de maíz (Zea mays L.) hidropónica*. UNESUM. En <https://repositorio.unesum.edu.ec/bitstream/53000/3382/1/VELEZ%20RESABALA%20GEORGE%20HAGY%20DOCUMENTO%20DE%20TITULACION.pdf>.
- Vélez, J. (2022). *Incidencia de mastitis bovina subclínica mediante la prueba de california mastitis test (CMT) con identificación del agente etiológico [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana]*. Obtenido de <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/22967>
- Vítores, J. (2021). *Comportamiento morfométrico del TGI de pollos de engorde alimentados parcialmente con harina de maíz en hidroponía*. Jipijapa : UNESUM.
- Vilanovas, A. G., Caravajal, G., Marco, S., & Fuster Diana a, F. V. (s.f.).
- Villarroel, N. (16 de Abril de 2017). *Microbiología clínica*. Obtenido de <http://identificacionbacterias.web16.top/pruebas-cocos-g/prueba-de-coagulasa>
- Younis, S., & Azeem, S. (2018). *Isolation of Staphylococcus aureus from Ice-Cream Samples*. Obtenido de <https://article.scholarena.com/Isolation-of-Staphylococcus-Aureus-from-Ice-Cream-Samples.pdf>
- Zabetta, E. (2019). *Aislamiento e identificación de bacterias vinculadas a mastitis bovina en leche cruda comercializada por el tambo Complejo Agropecuario Casilda*. Obtenido de

[http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/80584/Documento\\_completo.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/80584/Documento_completo.pdf?sequence=1)

Zagal, M. (3 de Abril de 2016). *scielo.org*. Obtenido de

[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2448-61322016000100029&script=sci\\_arttext](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S2448-61322016000100029&script=sci_arttext)

Zaravia, j. (2019). *Microorganismos causales de amstitis en el centro de producción y fomento vacuno de Callqu*. Obtenido de <https://repositorio.unh.edu.pe/handle/UNH/2983>

## ANEXOS

### **Anexo 1**

#### *Entrevista a médico veterinario*



#### Entrevista a Médicos Veterinarios Zootecnistas

1. ¿Puede proporcionar información sobre la población con la que trabaja en cada cantón en el Carchi?
2. ¿Cuántos hatos ganaderos se encuentran en el cantón que usted conoce [nombre del cantón] de la provincia del Carchi?
3. ¿Cuál es el tamaño promedio de los hatos en este cantón?
4. ¿Cuál es la prevalencia actual de mastitis en los hatos de la provincia del Carchi según los datos proporcionados?

## Anexo 2

### Ejemplo de costos de producción de un hato

COSTO DE PRODUCCION DE LITRO DE LECHE								
COSTO DE LITRO DE LECHE								
DESCRIPCION	UNIDAD	PRECIO UNITARIO	CANTIDAD	COSTO TOTAL	Depreciacion	Costos dia	Costo Mes	Costos Año
<b>ADMINISTRATIVA</b>								
Gerente		\$600,00	1	\$600,00				\$7.200,00
Costo de transporte		\$0,01	2.500	\$25,00				
Costo publicidad		\$0,01	2500	\$25,00		\$50,00	\$1.500,00	\$18.000,00
<b>PROFESIONAL</b>								
Chequesos	Hora	180	1	180		180	180	2160
<b>OPERATIVA</b>								
Vaqueros	Jornal	\$450,00	3	1350				
Ternerero	Jornal	\$450,00	1	450				
Ordenadoras	Jornal	\$225,00	3	675				
Tractorista	Jornal	\$470,00	1	470		2945	2945	35340
Afiliación a la Seguridad Social	Hora	\$328,36	12	3940,32				
Beneficios sociales (décimo tercero, cuarto).	Hora	\$490,23	1	490,23				
Beneficios sociales (décimo cuarto).	Hora	\$2.945,00	1	2945				
Fondos de reserva	Hora	\$245,31	1	245,31				
Vacaciones laborales remuneradas	Hora	\$1.472,50	5	7362,5				14983,36
<b>Alimentacion del ganado</b>								
Pastizal	KG			\$166.940,00				\$166.940,00
Minerales	KG	\$18,00	300	\$5.400,00				
Melaza	Litro	\$500,00	1	\$500,00		\$14.540,00		\$174.480,00
Balanceado	KG	\$24,00	30	\$8.640,00				
Vitaminas	CC							
Desparasitacion	CC							
Antibioticos	CC							
Antiinflamatorios	CC			\$1.800,00		\$60,00	\$1.800,00	\$21.600,00
Vacunas (perfil reproductivo)	CC							
Vacunas Agrocalidad	CC							
Analisis de laboratorio (perfil reproductivo)								
<b>Desinfectantes</b>								
Detergente Alcalino	Litro			\$190,00				
Detergente Acido	Litro			\$195,00				
Sanitizante clorado	Litro			\$150,00		\$655,00		\$3.930,00
Sellador de ubres (yodo)	Litro			\$120,00				
<b>Equipo de ordeno</b>								
Electrico								
Gasolina								
Pezoneras (cuantas al año)		\$42,00	8	\$336,00		\$1.216,00		\$2.432,00
Mangueras		\$18,00	35	\$630,00				
Mantenimiento				\$250,00				
Depreciacion equipo de ordeno		\$8.000,00	1	\$8.000,00	\$800,00			\$160,00
<b>Bomba de vacio</b>								
Lubricantes		150	3	450		1,25	37,5	450
Depreciacion bomba de vacio		6000	1	6000	600			120
<b>Tanque de enriamiento</b>								
Mantenimiento		\$0,00	0	\$650,00				\$650,00
Luz		\$0,00	0	\$230,00				
Agua		\$0,00	0	\$180,00				
Gas		\$0,00	0	\$50,00		\$482,00		\$5.784,00
Internet		\$0,00	0	\$22,00				
Telefono		\$0,00	0					
Depreciacion tanque de enriamiento		\$12.000,00	1	\$12.000,00	\$1.200,00			\$240,00
<b>Reproducción</b>								
Numero de inseminaciones por preñez		2,6	134	348,4				
Cuantos terneros nacen en el año		230	15	3450				
Cuantas terneras nacen en el año		0	0	0				
Venta de vacas de descarte		400	3	1200				
Cuantos días abiertos tiene		90	0,54	48,6				

### Anexo 3

#### Resumen costo de alimentación en pastizales

COSTO DE PRODUCCIÓN DEL PASTO								
DESCRIPCIÓN	CANTIDAD	UNITARIO	CANTIDAD	TOTAL	Depreciación	Costos día	Costo mes	Costos año
<b>PREPARACIÓN DEL SUELO</b>								
P	Trabajo	Horas						
R	Trasera	Horas						
dispone de la maquinaria y el propietario realiza el trabajo								
P	Depreciación maquinaria (arado)	Horas	\$3.000,00	1	\$3.000,00	\$300,00		\$100,00
P	Depreciación maquinaria (trasera)	Horas	\$4.300,00	1	\$4.300,00	\$430,00		\$90,00
A	Depreciación maquinaria (tractor)	Horas	\$38.000,00	1	\$38.000,00	\$3.800,00		\$1.100,00
<b>SIEMBRA</b>								
A	Semilla kg por ha gramíneas y leguminosas	Saco	\$250,0	1	\$250,0		\$250,0	\$16.000,0
<b>FERTILIZACIÓN</b>								
N	Urea 48/0/0	Saco	\$33,00	4	\$132,00			
D	Urea de obra manual (siembra, fertilización, control)	Horas	\$13,00	4	\$52,00			
E	Urea de obra maquinaria (siembra)	Horas	\$8,00	4	\$32,00		\$286,00	\$18.304,00
L	Depreciación maquinaria siembra (vibradora)	Horas	\$200,00	1	\$200,00	\$20,00		\$4,00
<b>SISTEMA DE RIEGO</b>								
T	Bomba	Unidad	\$0,00	0				
E	Instalaciones de sistema de riego	Horas	\$0,00	0				
R	Canones de riego	Unidad	\$0,00	0				
R	Acete	Galón	\$1,75	30	\$52,50			
E	Combustible	Galón	\$0,00	0				
N	Electricidad	Amperios	\$0,00	0				
O	Consumo de agua	m <sup>3</sup>	\$0,00	0			\$0,00	\$107.520,0
	Depreciación Bomba		\$3.000,00	1	\$3.000,00	\$300,00		\$0,00
	Depreciación Canones de riego		\$2.000,00	1	\$2.000,00	\$190,00		\$28,00
	Depreciación de tubos		\$7.500,00	1	\$7.500,00	\$750,00		\$110,00
<b>Fertilizantes para mantenimiento</b>								
	Urea	Saco	\$33,00	4	\$132,00			
	Fosfaterciencia	Saco	\$33,00	4	\$132,00			
	Depreciación tosa estercoiera							
	Consumo de agua	m <sup>3</sup>	\$0,10	400	\$40,00		\$320,0	\$20.480,0
<b>Maquinaria</b>								
	Protoguarda	hora	\$0,00	0	\$120,00		\$120,0	\$3.072,0
	Depreciación moto guatana		\$800,00	1	\$800,00	\$80,00		\$12,00
<b>TOTAL</b>								

### Anexo 4

#### Costos de producción anual

COSTO DE PRODUCCIÓN	CASO 1		CASO 2		CASO 3	
	DETERMINACIÓN DE COSTOS					
ALIMENTACION - PASTIZALES	76649	148407,46	83641	96931	\$180.300,00	\$320.421,00
CUIDADOS Y SEGUIMIENTOS	48358,46		1410		\$94.321,00	
MANO DE OBRA	23400		11880		\$45.800,00	
<b>COSTOS INDIRECTOS</b>		4019,3				
Gastos de servicios básicos	1335		2940	4219,94	\$5.800,00	\$9.445,00
Gastos de equipos de ordeño	2684,3		1279,94		\$3.645,00	
<b>TOTAL COSTO DE PRODUCCION</b>		152426,76		101150,94		\$329.866,00
<b>GASTOS OPERACIONALES</b>		95280,855		18036		\$40.183,00
GASTOS ADMINISTRATIVOS	1680,855		5400		\$22.183,00	
GASTOS DE VENTAS	93600		12636		\$18.000,00	
<b>COSTO TOTAL</b>		<b>247707,62</b>		<b>119186,94</b>		<b>\$370.049,00</b>

## Anexo 5

### Determinación de costos unitarios

DETERMINACIÓN DE COSTOS UNITARIOS									
	CASO 1	CASO 2	CASO 3	CASO 4	CASO 5	CASO 6	CASO 7	CASO 8	PROMEDIO
PRODUCCIÓN ANUAL LITROS DE LECHE	474,000	219,000	912,000	206,000	180,000	233,000	204,000	197,100	336,375,000
COSTO DE PRODUCCIÓN UNITARIO (A/C)	0,32	0,40	0,30	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33	0,33
COSTO TOTAL UNITARIO (B/C)	0,32	0,34	0,41	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44	0,44
PRECIO DE VENTA									
UTILIDAD POR LITRO									0,05

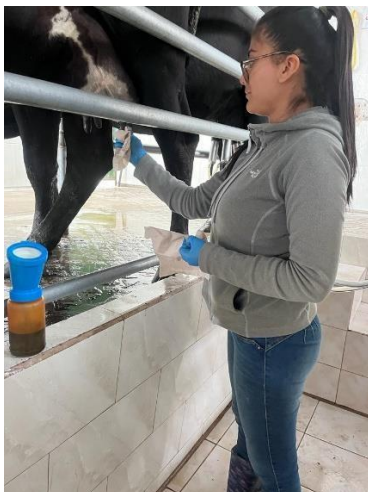
## Anexo 6

### Actividades de ordeño, pre-sellado de la ubre



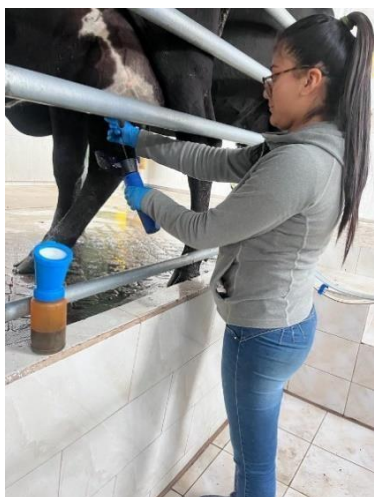
## Anexo 7

### Limpieza de la ubre papel desechable



## **Anexo 8**

*Despunte de la ubre*



## **Anexo 9**

*Toma de 10ml de muestra de leche para analizar en laboratorio*



## **Anexo 10**

*Rotulación de las respectivas muestras*



## **Anexo 11**

*Muestras de leche cruda de los diferentes predios de la Provincia del Carchi*



## **Anexo 12**

*Prueba de CMT*



## **Anexo 13**

*Toma de muestra de leche cruda en paleta para California Mastitis Test*



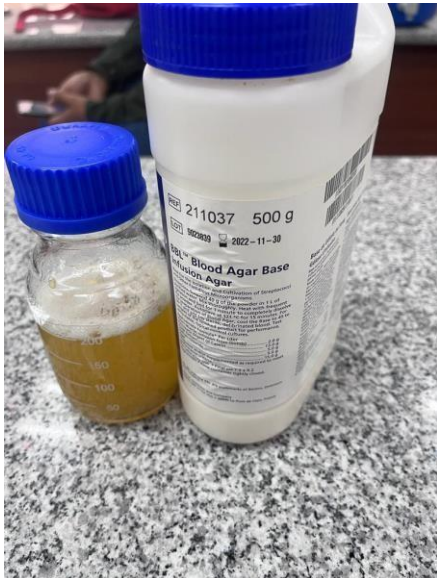
## **Anexo 14**

*Reactivo y resultados prueba CMT*



## **Anexo 15**

*Preparacion de medio de cultivo Agar Sangre en laboratorio*



## **Anexo 16**

*Disolución de agar como indican las especificaciones con Sangre del 10% total*



## Anexo 17

### *Preparación de cultivo Manitol Salado*



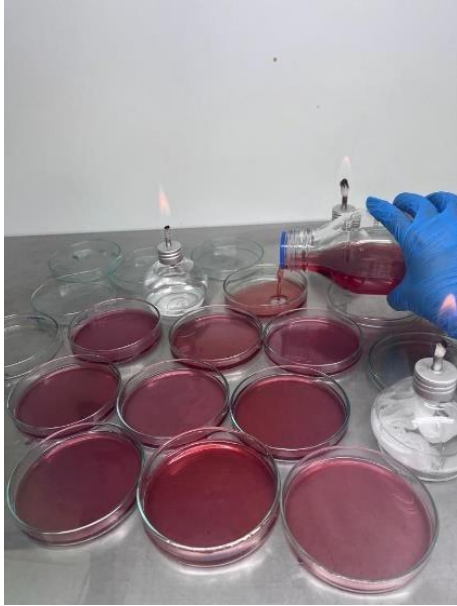
## Anexo 18

*Disolución de Agar Base Manitol Salado en agua destilada*



**Anexo 19**

*Procedimiento de siembra de muestras en laboratorio con disolución de Agar Manitol Salado en cajas Petri*



## **Anexo 20**

*Adición de 1ml de muestra de leche*



## **Anexo 21**

*Frotis con asa*



## **Anexo 22**

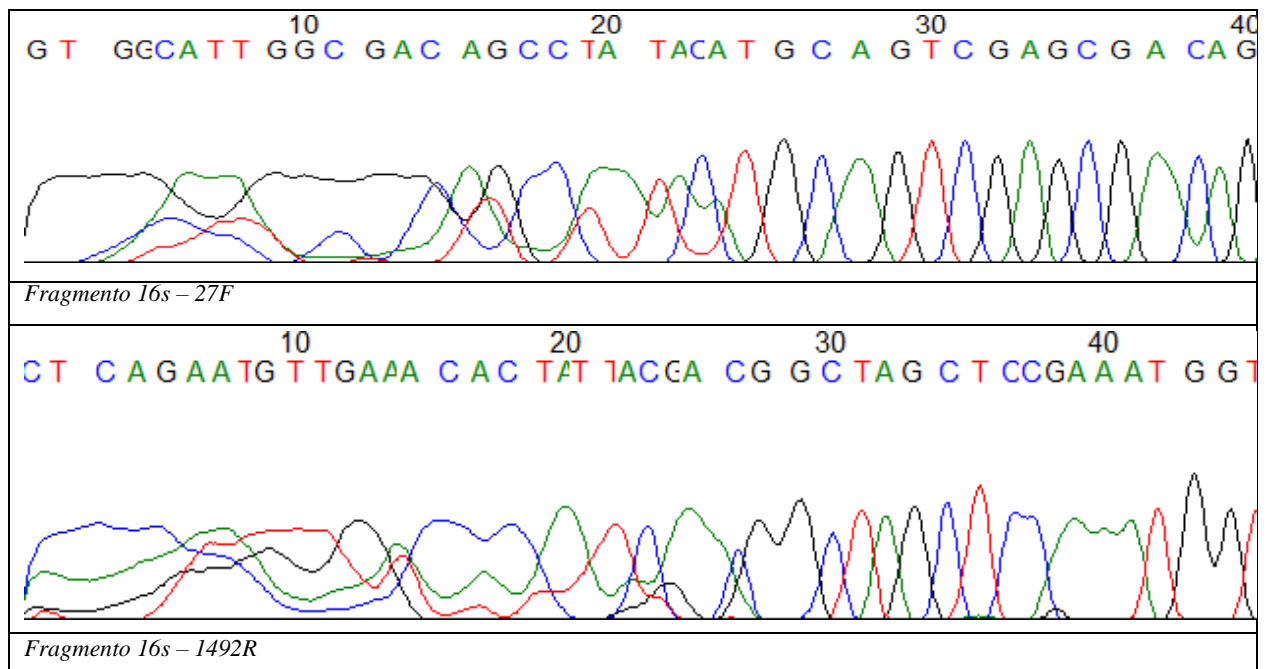
*Incubación de cultivos en estufa durante 48h*



Caracterización molecular de *Staphylococcus aureus*

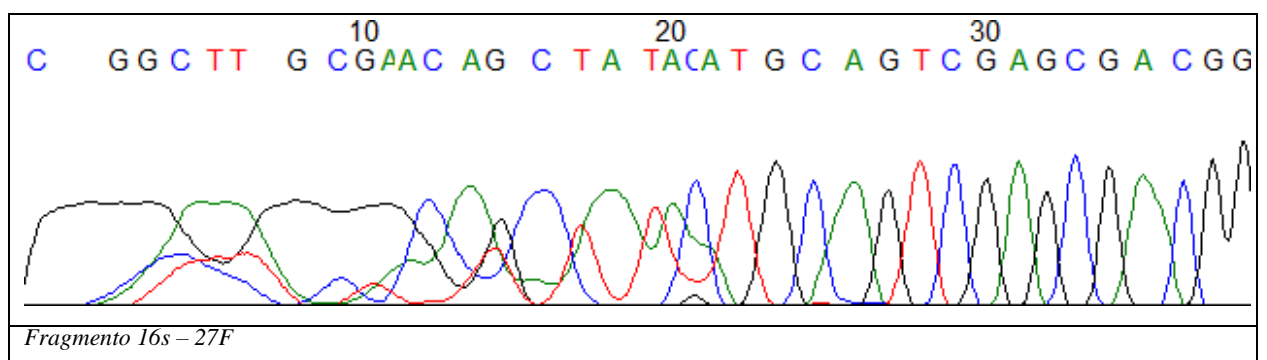
**Anexo 23**

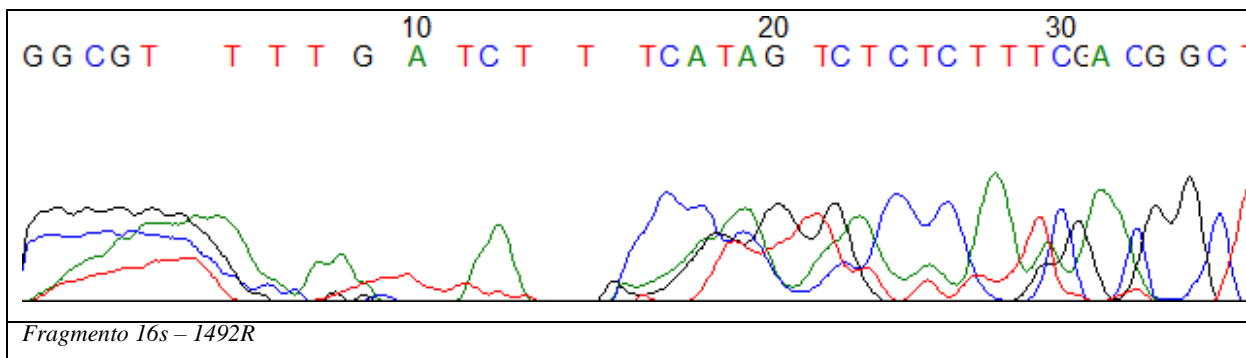
*Secuencia cruda B652*



**Anexo 24**

*Secuencia cruda B653*





## Anexo 25

### Secuencia ensamblada 21\_B652

AATGGTTACTCCACCGGCTTCGGGTGTTACAACTCTCGTGGTGTGACGGGCGGTGTGTACAAGACC  
 CGGGAACGTATTCAC  
 CGTAGCATGCTGATCTACGATTACTAGCGATTCCAGCTTCATGTAGTCGAGTTGCAGACTACAATCCG  
 AACTGAGAACAACCTT  
 TATGGGATTTGCTTGACCTCGCGGTTTCGCTGCCCTTTGTATTGTCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCA  
 AATCATAAGGGGCA  
 TGATGATTTGACGTCATCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTACCCGGCAGTCAACTTAGAGTGCCCAACTG  
 AATGCTGGCAACTAA  
 GTTTAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACCCAACATCTCACGACACGAGCTGACGACAACCATG  
 CACCACCTGTCACCTT  
 GTCCCCGAAGGGGAAAACCTCTATCTCTAGAGCGGTCAAAGGATGTCAAGATTTGGTAAGGTTCTTC  
 GCGTTGCTTCGAATT  
 AAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGTCCCCGTCAATTCCTTTGAGTTTCAACCTTGCGGTCTGAC  
 TCCCCAGGCGGAGTG  
 CTTAATGCGTTAGCTGCAGACTAAGGGGCGGAAACCCCTAACACTTAGCACTCATCGTTTACGGC  
 GTGGACTACCAGGGT  
 ATCTAATCCTGTTTGATCCCCACGCTTTCGCACATCAGCGTCAGTTACAGACCAGAAAGTCGCCTTCG  
 CCACTGGTGTTCCTCC  
 ATATCTCTGCGCATTTACCGCTACACATGGAATTCCACTTTCCTCTTCTGCACTCAAGTTTCCAGTT  
 TCCAATGACCCTCCAC  
 GGTTGAGCCGTGGGATTTACATCAGACTTAAAAACCGCCTACGCGCGCTTACGCCAATAATTC  
 CGGATAACGCTTGCC  
 ACCTACGTATTACCGGGCTGCTGGCACGTAGTTAGCCGTGGCTTTCTGATTAGGTACCGTCAAGACG  
 TGCATAGTTACTTAC  
 ACGTATGTTCTTCCCTAATAACAGAGTTTTACGATCCGAAGACCTTCATCACTCACGCGGCGTTGCTC  
 CGTCAGGCTTTCGCCC  
 ATTGCGGAAGATTCCCTACTGCTGCCTCCCGTAGGAGTCTGGACCGTGTCTCAGTTCAGTGTGGCCG

ATCACCTCTCAGG

TCGGCTACGTATCGTTGCCTTGGTAAGCCGTTACCTTACCAACTAGCTAATACGGCGCGGGTCCATCT  
ATAAGTGATAGCAA

ACCATCTTTCACATCGAACCATGCGGTTTCGAAATATTATCCGGTATTAGCTCCGGTTTCCCGAAGTT  
ATCCCAGTCTTATAGG

TAGGTTACCCACGTGTTACTCACCCGTCCGCCGCTAACGTCAAAGGAGCAAGCTCCTCATCTGTCGCT  
CGACTGCA

## **Anexo 26**

*Secuencia ensamblada 21\_B653*

TGCAGTCGAGCGACGGACGAGAAGCTTGCTTCTCTGATGTTAGCGGCGGACGGGTGAGTAACACGT  
GGATAACCTACCTAT  
AAGACTGGGATAACTTCGGGAAACCGGAGCTAATACCGGATAATATTTGAACCGCATGGTTCAAA  
AGTGAAAGACGGTCTT  
GCTGTCACTTATAGATGGATCCGCGCTGCATTAGCTAGTTGGTAAGGTAACGGCTTACCAAGGCAAC  
GATGCATAGCCGACC  
TGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGAAGTGAACACGGTCCAGACTCATACGGGAGGCAGCAGTAGG  
GAATCTTCCGCAAT  
GGGCGAAAGCCTGACGGAGCAACGCCGCGTGAGTGATGAAGGTCTTCGGATCGTAAACTCTGTTA  
TTAGGGAAGAACATA  
TGTGTAAGTAACTGTGCACATCTTGACGGTACCTAATCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCA  
GCCGCGGTAATACGT  
AGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGCGCGTAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGT  
GAAAGCCCACGGCT  
CAACCGTGGAGGGTCATTGGAAACTGGAAACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGAATTCATGTG  
TAGCGGTGAAATGC  
GCAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCTGTAAGTGAACGCTGATGTGCG  
AAAGCGTGGGGATC

AAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGAGTGCTAAGTGTTAGGGGGTTTCCG  
CCCCTTAGTGCTGCA  
GCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGG  
GGACCCGCACAAGC  
GGTGGAGCATGTGGTTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAAATCTTGACATCCTTTGACAA  
CTCTAGAGATAGAGC  
TTTCCCCTTCGGGGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTN  
GGTTAAGTCCCGC  
AACGAGCGCAACCCTTAAGCTTAGTTGCCATCATTAAAGTTGGGCACTCTAAGTTGACTGCCGGTGAC  
AAACCGGAGGAAGGT  
GGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCTTATGATTTGGGCTACACACGTGCTACAATGGACAATACA  
AAGGGCAGCGAAACC  
GCGAGGTCAAGCAAATCCCATAAAGTTGTTCTCAGTTCGGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGA  
AGCTGGAATCGCTAG  
TAATCGTAGATCAGCATGCTACGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCAC  
GAGAGTTTGT