



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA ZOOTECNIA**

**“DIAGNÓSTICO DE MASTITIS SUBCLÍNICA MEDIANTE TRES  
MÉTODOS PARA EL CONTROL Y TRATAMIENTO EN VACAS  
HOLSTEIN”**

**Trabajo de titulación**

Tipo: Proyecto de Investigación.

Presentado para optar el grado académico de:

**INGENIERA ZOOTECNISTA**

**AUTORA:** ANABELL ESTEFANIA QUILAPANTA GUAMAN

**DIRECTORA:** Ing. PAULA ALEXANDRA TOALOMBO VARGAS, PhD

Riobamba – Ecuador

2021

**© 2021, Anabell Estefanía Quilapanta Guaman**

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho del Autor.

Yo, **ANABELL ESTEFANIA QUILAPANTA GUAMAN**, declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 19 de noviembre del 2021.

**Anabell Estefanía Quilapanta Guaman**

**060476504-0**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**  
**FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS**  
**CARRERA ZOOTECNIA**

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifica que: El trabajo de Investigación: Tipo Proyecto de Investigación, “**DIAGNÓSTICO DE MASTITIS SUBCLÍNICA MEDIANTE TRES MÉTODOS PARA EL CONTROL Y TRATAMIENTO EN VACAS HOLSTEIN**”, realizado por la señorita: **ANABELL ESTEFANÍA QUILAPANTA GUAMAN**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación

FIRMA

FECHA

Ing. Byron Leoncio Díaz Monroy, Ph.D.  
**PRESIDENTE DEL TRIBUNAL**

**BYRON  
LEONCIO  
DIAZ  
MONROY** Firmado digitalmente por  
BYRON LEONCIO  
DIAZ MONROY  
Fecha:  
2021.11.26  
08:53:00 -05'00'

2021/11/19

Dra. Paula Alexandra Toalombo Vargas, Ph.D.  
**DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**PAULA  
ALEXANDRA  
TOALOMBO  
VARGAS** Firmado digitalmente por  
PAULA ALEXANDRA  
TOALOMBO VARGAS  
Fecha: 2021.11.26  
21:35:23 -05'00'

2021/11/19

Ing. Carlos Ramiro Santos Calderón, Mgs.CP  
**MIEMBRO DEL TRIBUNAL**

**CARLOS RAMIRO  
SANTOS  
CALDERON** Firmado digitalmente  
por CARLOS RAMIRO  
SANTOS CALDERON  
Fecha: 2021.11.28  
20:51:28 -05'00'

2021/11/19

## DEDICATORIA

El presente trabajo lo dedico a Dios por ser quien a diario me cuida me bendice y me brinda sabiduría ayudándome en todo momento a levantarme de mis tropiezos, a mi amado padre Efraín Geovanny quien es el pilar fundamental en mi vida, por brindarme su amor y su apoyo incondicional en todo momento y porque todo lo que soy es gracias a él. A mis abuelitos Beatriz María y Juan Elías por ser quienes a diario me han apoyado con sus consejos y su inmenso amor .A mi madre Verónica del Roció que a pesar de no ser mi madre de sangre lo es de corazón a ella mil gracias .A mi hermano Alexander. A mis tíos Ana, Raquel, José Luis, Juan y Martha. A mi persona especial Álvaro gracias por su amor sé que es incondicional y mutuo gracias por siempre estar dispuesto a impartirme sus conocimientos que han sido de mucha ayuda , siempre brindándome su apoyo y un abrazo de aliento nunca dejándome sola .A la mejor amiga - hermana que la vida me pudo dar Katty por enseñarme que es una amistad verdadera por el apoyo en todo momento aún más en los momentos difíciles, gracias por esa alegría diaria enseñándome así que en la vida siempre hay un motivo para sonreír gracias por haber hecho de mi vida Universitaria la mejor.

**Este fany.**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por darme el mejor regalo del mundo que es mi padre quien con su infinito amor, comprensión y respeto siempre ha estado para mí demostrándome que siempre seré la niña de sus ojos, y por ser quien con su esfuerzo hizo posible esta investigación ,muchas gracias.

Además a la Facultad de Ciencias Pecuarias carrera de Zootecnia por brindarme la infraestructura y materiales para realizar esta investigación.

A mi Directora del Trabajo de Titulación Dra., Paula Toalombo por su paciencia y apoyo, a ella mil gracias por impartirme sus conocimientos para sacar adelante esta investigación junto a mi asesor Ing., Carlos Santos por su apoyo incondicional dentro de la Estación Experimental Tunshi brindándome siempre las facilidades para poder realizar mi trabajo de campo, a todos los Técnicos y trabajadores que laboran dentro Dios le pague.

Un agradecimiento al Ing. Cristian Vimos por su ayuda y apoyo dentro del Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal de la FCP.

**Este fany.**

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1

## CAPÍTULO I

1.	MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	3
1.1	Buenas prácticas Ganaderas (BPG).....	3
1.2.	Las Buenas Prácticas de Ordeño (BPO).....	6
1.3.	Manejo de los animales.....	7
1.4.	Ordeñado de la vaca.....	8
1.5.	Mastitis.....	10
1.6.	Etiología.....	12
1.7.	Tipos de Mastitis.....	15
1.8.	Efectos de la mastitis en la producción de leche.....	17
1.9.	Métodos de diagnóstico de la mastitis bovina.....	17
1.10.	Posibles tratamientos para mastitis.....	23
1.11	Fármacos.....	24
1.12.	Ozonoterapia.....	30
1.13.	Medios de cultivo.....	32

## **CAPÍTULO II**

<b>2.</b>	<b>MARCO METODOLÓGICO .....</b>	<b>39</b>
<b>2.1.</b>	<b>Localización y duración del experimento.....</b>	<b>39</b>
<b>2.2.</b>	<b>Unidades experimentales .....</b>	<b>40</b>
<b>2.3.</b>	<b>Materiales, Equipos, Reactivos e Instalaciones .....</b>	<b>40</b>
<b>2.4.</b>	<b>Tratamientos y diseño experimental.....</b>	<b>42</b>
<b>2.5.</b>	<b>Mediciones experimentales .....</b>	<b>42</b>
<b>2.6.</b>	<b>Análisis estadísticos .....</b>	<b>43</b>
<b>2.7.</b>	<b>Procedimiento experimental.....</b>	<b>43</b>
<b>2.8.</b>	<b>Metodología de evaluación.....</b>	<b>46</b>

## **CAPITULO III**

<b>3.</b>	<b>MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>53</b>
<b>3.1.</b>	<b>Incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH.....</b>	<b>53</b>
<b>3.2.</b>	<b>Eficacia de los tres métodos de detección, % .....</b>	<b>55</b>
<b>3.3.</b>	<b>Identificación de bacterias Gram positivas y Gram negativas causantes de la mastitis subclínica %. .....</b>	<b>60</b>
<b>3.4.</b>	<b>Cultivo de bacterias, UFC.....</b>	<b>62</b>
<b>3.5.</b>	<b>Antibiograma del cultivo, %.....</b>	<b>64</b>
<b>3.6.</b>	<b>Costo del cultivo y antibiograma. ....</b>	<b>67</b>
	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>69</b>
	<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>70</b>

## **BIBLIOGRAFÍA**

## **ANEXOS**



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1:</b>	Clasificación de la Mastitis. ....	<b>16</b>
<b>Tabla 2-1:</b>	Interpretación de CMT .....	<b>18</b>
<b>Tabla 3-1:</b>	Interpretación de resultados del DRAMINSKI 4Q.....	<b>21</b>
<b>Tabla 4-1:</b>	Valores de interpretación del Milk Checker N-4L .....	<b>23</b>
<b>Tabla 5-1:</b>	Dosis de Sulfametoxipiridazina en Bovinos .....	<b>28</b>
<b>Tabla 6-1:</b>	Dosis de Oxitetraciclina Bovinos .....	<b>29</b>
<b>Tabla 7-1:</b>	Diferencias Ozono vs Antibiótico.....	<b>32</b>
<b>Tabla 8-2:</b>	Condiciones Meteorológicas de la Estación Experimental Tunshi.....	<b>39</b>
<b>Tabla 9-3:</b>	Cultivo de bacterias UFC, del hato la Estación Experimental Tunshi FCP.....	<b>62</b>
<b>Tabla 10-3:</b>	Análisis de costos del cultivo y Antibiograma por Muestra. ....	<b>67</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1:</b> Interpretación de resultados con la prueba de CMT.....	19
<b>Figura 2-1:</b> Equipo Para Detección de Mastitis Draminski.....	20
<b>Figura 3-1.</b> Medidor de mastitis Milk Checker.....	22
<b>Figura 4-1.</b> Placa de agar sangre con crecimiento bacteriano.....	36

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico 1- 3:</b>	Incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH.....	53
<b>Gráfico 2-3:</b>	Eficacia de los tres métodos de detección.....	56
<b>Gráfico 3-3:</b>	% de cuartos infectados de acuerdo a la etapa de lactancia del hato de la Estación Experimental Tunshi (ESPOCH).....	57
<b>Gráfico 4-3:</b>	% de cuartos infectados de Mastitis Subclínica de acuerdo a la ubicación en la glándula mamaria del hato de la Estación Experimental Tunshi (ESPOCH) .....	59
<b>Gráfico 5-3:</b>	Identificación de bacterias Gram positivas y Gram negativas causantes de la mastitis subclínica %.....	60
<b>Gráfico 6-3:</b>	Análisis de Sensibilidad (%) para Bacterias Gram + mediante el método de Kirby Bauer, del hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH.....	64
<b>Gráfico 7-3:</b>	Análisis de sensibilidad % para <i>Staphylococcus aureus</i> mediante el método de Kirby –Bauer, del hato de la Estación experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH.....	65

**Gráfico 8-3:** Análisis de sensibilidad % para Bacilos mediante el método de Kirby – Bauer, del hato de la Estación experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH.....65

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** RECOLECCIÓN DE DATOS DE CAMPO
- ANEXO B:** EQUIPOS PARA DIAGNÓSTICO DE MASTITIS
- ANEXO C:** TOMA DE DATOS CON DRAMINSKI - MILK CHECKER Y CMT
- ANEXO D:** TOMA DE MUESTRAS
- ANEXO E:** PREPARACIÓN DEL AGAR COLUMBIA
- ANEXO F:** *BACILOS* GRAM + PRESENTES EN EL CULTIVO
- ANEXO G:** *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* GRAM + PRESENTES EN EL CULTIVO
- ANEXO H:** CRECIMIENTO BACTERIANO
- ANEXO I:** PREPARACIÓN DEL ANTIBIOGRAMA
- ANEXO J:** ANTIBIOGRAMA
- ANEXO K:** CERTIFICADO DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA ANIMAL
- ANEXO L:** RESULTADOS DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA Y BIOTECNOLOGÍA ANIMAL.

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo es diagnosticar la mastitis subclínica mediante tres métodos para el control y tratamiento en vacas Holstein de la Estación Experimental Tunshi – Facultad de Ciencias Pecuarias, para lo cual se evaluó mediante Milk Checker, Draminski y California Mastitis Test (CMT) determinando el mejor método de diagnóstico; se realizó el cultivo bacteriológico de las muestras reactivas a mastitis realizándose un antibiograma para la aplicación del mejor tratamiento antibiótico. Para el desarrollo del trabajo experimental se utilizaron 16 vacas en producción las mismas que fueron diagnosticadas a través de los tres métodos antes mencionados codificando cada cuarto de acuerdo a la posición en la que se encontraba, tomando los datos dos veces al día los cuartos positivos se tomaron muestras para posteriormente enviarlas a laboratorio. Para el análisis estadístico se utilizó una estadística descriptiva a través de frecuencias mediante tres métodos, Milk Checker, Draminski y CMT ya que no corresponde a un tipo de diseño experimental dándonos como resultado una incidencia de mastitis subclínica de acuerdo a CMT de 87,5%, el método más eficaz fue CMT con 92,19% de datos correctos, se obtuvo un 100% de Bacterias Gram + siendo estas sospechosamente en su mayoría *Staphylococcus aureus* con 51,4% y el 48,6% corresponde a *Bacilos* siendo estas B hemolíticas y no hemolíticas respectivamente, en el antibiograma realizado se tiene una sensibilidad a Tetraciclina, Penicilina y una resistencia a Ciprofloxacina. Se recomienda realizar un control de agua mediante un antibiograma para verificar la presencia o no de antibióticos producto de residuos de otras explotaciones, realizar un antibiograma por lo menos una vez al año para evitar crear resistencia antibiótica.

**Palabras claves:** <ZOOTECNIA>, < MILK CHECKER >, < CALIFORNIA MASTITIS TEST >, < TETRACICLINA>, < CIPROFLOXACINA >, < PENICILINA >, < BACTERIA (*Staphylococcus aureus*)>.

LUIS ALBERTO  
CAMINOS  
VARGAS

Firmado digitalmente por LUIS  
ALBERTO CAMINOS VARGAS  
Nombre de reconocimiento  
(DN: c=EC, l=RIOBAMBA,  
serialNumber=0602766974,  
cn=LUIS ALBERTO CAMINOS  
VARGAS  
Fecha: 2021.08.10 17:39:54  
-05'00')



## ABSTRACT

The objective of this research work was to diagnose subclinical mastitis in Holstein cows from the Tunshi Experimental Station – Animal Science Faculty using three methods for the control and treatment. The evaluation was carried out using the Milk Checker, Draminski and California Mastitis Test (CMT) and the best method was determined. The bacteriological culture of the samples reactive to mastitis was carried out with an antibiogram in order to apply the best antibiotic treatment. For the development of the experimental work, 16 cows in production were used which were diagnosed using the three aforementioned methods. Each quarter was coded according to the position in which it occurred and data were collected twice a day. Samples from the quarters that tested positive were taken to later be send to the laboratory. For the statistical analysis, descriptive statistics with frequencies using three methods was used since it was not an experimental design. Results showed an incidence of subclinical mastitis according to CMT of 87.5%. The most effective method was CMT with 92.19% correct data. 100% of Gram + Bacteria were obtained; most of them *Staphylococcus aureus* which accounted for 51.4% and 48.6% correspond to *Bacilli* being these  $\beta$  hemolytic and non-hemolytic respectively. The antibiogram reported sensitivity to Tetracycline, Penicillin and resistance to Ciprofloxacin. It is recommended to carry out a water control using an antibiogram to verify the presence of antibiotics resulting from residues from other farms and also to carry out an antibiogram at least once a year to avoid cows to create antibiotic resistance.

**Keywords:** <MILK CHECKER>, <DRAMINSKI>, <CALIFORNIA MASTITIS TEST>, <TETRACYCLINE>, <CIPROFLOXACIN>, <PENICILLIN>, <STAPHYLOCOCCUS AUREUS>.

GLORIA ISABEL  
ESCUDERO  
OROZCO

Firmado digitalmente por GLORIA ISABEL  
ESCUDERO OROZCO  
DN: cn=GLORIA ISABEL ESCUDERO OROZCO,  
o=CED=SECURITY DATA S.A., 1.0=ENTIDAD DE  
CERTIFICACION DE INFORMACION  
Móvil: Soy el autor de este documento  
Ubicación:  
Fecha: 2021-08-12 18:28+19:00

## INTRODUCCIÓN

Según (Cervantes et al., 2017,p.2), hoy en día el mercado exige mayor calidad de los alimentos , lo que significa que el sector pecuario, debe producir leche libre de trazas de medicamentos y sin elevada cantidad de células somáticas de manera que no constituya un riesgo para la salud humana por lo que la mastitis es una enfermedad muy estudiada ya que afecta tanto la salud de los animales como la de los humanos, las pérdidas que provoca dicha enfermedad es muy representativa en la economía de cualquier modelo de producción bovina lechera ,es por ello la salud del sistema mamario es fundamental para que la vaca lechera pueda expresar su potencial genético lactacional.

Por otro lado como afirma (Mendoza et al., 2017, p. 2) la mayor parte de casos de mastitis se da de forma subclínica por lo que los animales afectados no presentan ningún tipo de sintomatología, sin embargo, estas alteraciones se ven reflejados en bajos niveles de producción y la leche presenta malas condiciones sanitarias y organolépticas

(Reyes & Arguello, 2015, p.15) Afirman que, la mastitis subclínica no presenta cambios visibles en la leche o ubre. Apenas se percibe una reducción en el rendimiento de la leche, siendo alterada su composición por la presencia de componentes inflamatorios y bacterias, lo que constituye un riesgo potencial tanto para la salud humana como la salud animal, de la misma manera (Rivera, 2014 p. 9) manifiesta que, también se pueden producir cambios químicos, físicos, fisiológicos y patológicos (tejidos) en conjunto, así como, organolépticos (gusto, olor, color y consistencia) de la leche

La presente investigación consiste en realizar un diagnóstico de mastitis subclínica mediante tres métodos de diagnóstico a nivel de campo la prueba de MILK CHECKER, DRAMINSKI Y CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT) para su posterior control y tratamiento, La identificación de los factores de riesgo facilita el control de la enfermedad, la utilización de un antibiograma se lo realiza para tener en cuenta sus resultados en un tratamiento. Los objetivos que se plantearon para el siguiente trabajo de investigación son evaluar tres métodos para el control de mastitis Milk Checker, Draminski y California Mastitis Test (CMT), de la misma manera determinar el mejor método de diagnóstico para

la detección de mastitis subclínica, efectuar el cultivo bacteriológico de las muestras reactivas para mastitis y realizar un antibiograma para la aplicación del mejor tratamiento antibiótico.



## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1 Buenas prácticas Ganaderas (BPG).

De acuerdo con (Jaramillo, 2016, p. 17) el manejo de la higiene en el hato lechero es un componente muy importante que se debe tener en cuenta en todas las fases productivas del animal y así incrementar las tasas de producción. Esta gestión consigue un equilibrio entre los animales y el medio ambiente y reduce la presencia de enfermedades costosas para los hatos lecheros, tanto en el tratamiento como en la mano de obra. Para lograrlo, los animales deben estar adecuadamente higiénicos desde su nacimiento hasta la fase de producción y reproducción.

(FEDEGAN, 2015, p. 17) Menciona que, Las Buenas Prácticas Ganaderas (BPG) se refieren a todas las medidas relacionadas con la conexión primaria de la cría de ganado destinado a garantizar la seguridad de los alimentos, la carne y la leche, la protección del medio ambiente y las personas que trabajan en la granja. La implementación de Buenas Prácticas Ganaderas permite prepararse para una producción ganadera competitiva abriendo grandes posibilidades al mercado de la carne, leche y sus derivados, son una oportunidad irrepetible y un desafío para los productores.

A continuación, se enumeran los requisitos que se deben tener para la certificación de Buenas Prácticas Ganaderas:

##### *1.1.1. Instalaciones*

Son las construcciones primordiales que debe tener el predio, como corral, embarcadero, brete, área de ordeño, y demás relacionadas con la comodidad para realizar los trabajos de rutina, la seguridad de los trabajadores, el bienestar de los animales, la facilidad de limpieza

entre otras condiciones. Además, la producción debe ubicarse acorde al Plan de Ordenamiento Territorial (POT) y cumplir las normas ambientales. El sitio de ordeño se sugiere que debe tener un área fácil de limpiar y desinfectar, al igual que los equipos utilizados en esta labor, asimismo de esta manera contribuir a disminuir el riesgo de contaminación y agentes colonizadores, optimizando la preservación del producto, de igual manera se propone un orden continuo tanto de los operarios como de los animales y la leche producida para ofrecer un producto primario higiénico. (Uribe et al., 2011, p. 82)

Del mismo modo es de suma importancia contar con áreas claramente identificadas (número o nombre), tales como potreros, sala de ordeño, sala de espera, corral de manejo, bodegas de alimentos, almacenamiento de medicamentos, potreros de cuarentena, entre otros de esta manera aseguraremos un buen confort de los animales (Tafur & Nieto , 2011, p. 32)

### **1.1.2. Bioseguridad**

La finca debe contar con registros de ingreso y salida de personas, vehículos y animales, con el propósito de minimizar el riesgo de ingreso o diseminación de enfermedades. De la misma manera se debe definir un área de estacionamiento y otra de cargue y descargue, alejada de las áreas de producción (Orozco, 2015, p. 11).

De acuerdo con (Méndez, 2015, p. 14) se debe formular y aplicar un plan de manejo sanitario y medidas de bioseguridad, los cuales cuente con programas de prevención, control y erradicación de enfermedades de control oficial y declaración obligatoria de acuerdo con la reglamentación del ICA. Programas sanitarios diseñado por un médico veterinario o médico veterinario zootecnista, teniendo en cuenta prevalencia de las enfermedades en la zona.

### **1.1.3. Sanidad**

Se debe destinar un área para el almacenamiento de basuras hasta su disposición final; no enterrarlas ni incinerarlas en la finca, pues contaminan el medio ambiente y son nocivas para animales y humanos. Separar las basuras y hacer un manejo apropiado de los desechos peligrosos y envases de pesticidas y plaguicidas. Es necesario contar con un programa de

manejo integrado de insectos y roedores con productos debidamente registrados ante el ICA. El manejo de excretas ha de realizarse de acuerdo con la normativa existente. (Leiva, 2016, p. 21).

#### **1.1.4. Bienestar Animal**

Las instalaciones del predio deben estar construidas de manera tal que garanticen el bienestar de los animales y los trabajadores. Se debe procurar que los animales no padezcan hambre ni sed. En el manejo de los animales no usar instrumentos que puedan causar lesiones y sufrimiento a los animales. En condiciones de confinamiento y estabulación, los animales deben contar con espacio suficiente para que manifiesten su comportamiento natural. (Orozco, 2015, p. 11)

#### **1.1.5. Registros**

Cada uno de los animales debe contar con un registro individual donde se evidencien las actividades realizadas, con el fin de hacer un seguimiento y facilitar la toma de decisiones. (Jaramillo, 2016, p. 18)

#### **1.1.6. Alimentación animal**

Todos los alimentos, suplementos alimenticios y sales mineralizadas empleados en la alimentación animal deben tener un registro ICA; igual que para los plaguicidas, fertilizantes y demás insumos agrícolas usados en la producción de forrajes y cultivos para la alimentación de los animales. No se puede emplear suplementos alimenticios ni alimentos que contengan harinas de carne, sangre y hueso o despojos de mamíferos (Uribe et al., 2011, p. 83)

#### **1.1.7. Personal**

Como menciona (González de la Cruz, 2012, p. 45) el personal que labora en la zona para ordeño, constituye uno de los elementos más importantes en el modelo de producción, sin embargo,

es poca la atención que la administración de los establos pone en la selección y supervisión de este personal, el ordeñador es un importante vector para la diseminación de microorganismos causantes de mastitis

## **1.2. Las Buenas Prácticas de Ordeño (BPO)**

Según (Juárez, B. & Moscoso, J., 2011, p. 7) La actividad de Buenas Prácticas de Ordeño (BPO) en hatos lecheros de ganado bovino, involucra la planificación y realización de ocupaciones, que favorecen al cumplimiento de los requisitos primordiales para evitar la contaminación de la leche (química, física y/o microbiológica) o reducirla a un nivel aceptable de tal manera que sea apta para el consumo humano, satisfaciendo las perspectivas de la producción lechera.

Las buenas prácticas de ordeño se consideran un principio básico en las granjas lecheras abarcan diferentes aspectos como: bienestar animal, nutrición animal, higiene y conservación de la leche. Estos se consideran muy importantes cuando se trata de leche. Las buenas prácticas de ordeño tienen como objetivo realizar la actividad con consideración. El bienestar animal se basa en las 5 libertades que son: libre de sed y hambre, libre de malestar, libre de dolor y enfermedad. (FAO, 2012, p. 5)

- **El acto de ordeño debe ser rápido.**

Ya que el mecanismo hormonal que lo regula es muy corto, y la liberación de oxitócica dura unos 5 minutos.

- **Obtener la mayor cantidad de leche con la mejor calidad.**

Es decir que no el 100% de la leche debe ser extraída, siempre queda un porcentaje mínimo de leche que es la leche residual. Es normal que así suceda, esta leche no causa ningún tipo de trastorno, ni mastitis como se piensa habitualmente. (FAO, 2012, p. 5)

### **1.2.1.        *Antes del ordeño.***

Antes de iniciar el ordeño, asegúrese de realizar las siguientes prácticas que incluyen la preparación del ganado, de la persona que va a ordeñar y de los utensilios que se van a utilizar durante el ordeño. (FAO, 2011, p. 20)

Antes de iniciar el ordeño se debe revisar el adecuado funcionamiento de los equipos mecánicos e implementar prácticas que garanticen la prevención sanitaria y faciliten la higiene de la ubre.

En lo referente al equipo y materiales, es importante la limpieza posterior al ordeño anterior. Los implementos deben estar bien escurrido para evitar contaminación con agua, detergente o desinfectante. Sobre el ordeñador, se requiere limpieza y ropa adecuada para el trabajo; es decir: overol, mandil, botas y guantes. (Gonzales, 2015, p. 17),

### **1.2.2.        *Orden del ordeño***

Las vacas a ordeñar deben ser separadas en un solo lote para ser llevadas a la zona de ordeño despacio y con la mayor tranquilidad, evitando los golpes. Debe planificarse el orden del ordeño: primero se ordeñarán las vacas primerizas, luego vacas viejas y, por último, las vacas con problemas. Así, se evitará el contagio de enfermedades como la mastitis dentro del hato. Esto se facilitará implementado la Prueba de California mastitis test por lo menos una vez a la semana.

## **1.3.        Manejo de los animales**

Debe usarse “manea”, es decir, una soga para atar los miembros posteriores de la vaca, para evitar que el movimiento de estos ocasionen dificultades durante el ordeño o la proliferación de suciedad y elementos extraños en el recipiente con la leche. Asimismo, las vacas deben ordeñarse siempre a la misma hora y en el mismo lugar, en el cual debe haber agua y alimento disponible. También se debe evitar la presencia de perros, gatos, etc.

### **1.3.1.      *Utensilios limpios***

Se deben usar recipientes adecuados y limpios (baldes, porongos, manteles, sogas, etc.). (Barrientos, 2017, p. 28)

### **1.3.2.      *Estimulación de la vaca***

Durante la estimulación de la vaca se dan los siguientes procedimientos:

- Traslado de las vacas al lugar del ordeño.
- El contacto de la piel de la ubre con la mano del ordeñador al momento de la limpieza de los pezones.
- Presencia cercana del ternero.
- El sonido de la máquina de ordeño o de los utensilios de ordeño.

## **1.4.          Ordeñado de la vaca**

(Barrientos, 2017, p. 26) Menciona que, el ordeño debe realizarse en forma suave y segura. Esto se logra apretando el pezón de la vaca con todos los dedos de la mano, haciendo movimientos suaves y continuos. El tiempo recomendado para ordeñar a la vaca es de 5 a 7 minutos. Si se hace por más tiempo, se produce una retención natural de la leche y se corre el riesgo de que aparezca una mastitis, lo cual resultaría en una significativa reducción de los ingresos y ganancias, ya que se deberá invertir dinero para comprar medicamentos para su curación.

### **1.4.1.      *Rutina durante el ordeño***

La rutina de ordeño es una serie de procedimientos que permiten obtener leche de calidad bajo ciertos parámetros técnicos y de higiene. Entre ellos:

#### ***1.4.1.1. Lavado de pezones***

El primer paso una vez ingresado el animal a su lugar de ordeño es el lavado de los pezones, se debe tener cuidado al momento de lavar los pezones ya que si se realiza un lavado de toda la ubre estaríamos pasando todas las bacterias y la suciedad de la ubre hacia los pezones, con la facilidad que puedan penetrar por la pezoneras. Este lavado actúa como estímulo para la liberación de oxitócica (Ortiz et al., 2014, p. 21)

#### ***1.4.1.2. Secado de pezones***

Las exigencias de leche de calidad son mayores y con el secado de pezones se evita la contaminación de la leche, utilizando para ello una toalla por vaca para evitar la diseminación de la enfermedad

#### ***1.4.1.3. Extracción de los primeros chorros***

En vaso de fondo negro Los primeros chorros de leche son los que tienen mayor contaminación porque es la leche que se encuentra en la cisterna del pezón por lo tanto debe ser extraída en un balde de fondo negro ya que de esta manera se pueden detectar los signos de mastitis, observando la presencia de grumos y alteración en el color. (Gonzales, 2015, p. 19),

#### ***1.4.1.4. Sellado de pezones***

Al terminar el ordeño y si éste se realizó sin el ternero— es necesario efectuar un adecuado sellado de los pezones de la vaca, introduciendo cada uno de los pezones en un pequeño recipiente con una solución desinfectante a base de tintura de yodo comercial. Esta solución debe prepararse utilizando dos partes de agua y una de tintura de yodo comercial. (Vélez, 2016, p. 63).}

## **1.5. Mastitis**

### **1.5.1. Generalidades**

Según (Prado, 2019, p. 10) La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria y los tejidos y se considera una de las enfermedades más importantes del ganado lechero en todo el mundo. En algunos casos, la ubre puede lesionarse permanentemente. Es una enfermedad extremadamente compleja que depende de varios factores y generalmente es subclínica en los rebaños. Su tratamiento y control resulta en altos costos y pérdidas para la industria láctea.

(Duran & Duarte, 2019, p. 37) Mencionan que la enfermedad puede cursar como subclínica (la de mayor prevalencia en un hato) o como clínica, con alteraciones macroscópicas de la leche y síntomas palpables de la ubre y, a veces, de tipo sistémico en todo el animal.

El propósito de la respuesta inflamatoria es destruir o neutralizar al agente ofensivo, reparar los tejidos dañados y retornar la glándula a su función normal (Ávila & Gutiérrez, 2010, p.5)

### **1.5.2. Factores que contribuyen a la mastitis**

Casi cualquier microorganismo capaz de invadir de manera oportunista el tejido mamario puede ser causante de esta patología. Una amplia gama de microorganismos está implicada en la ocurrencia de mastitis en el ganado bovino, incluyendo virus y agentes oportunistas bacterianos entre otros. Entre los factores que se interrelacionan para la ocurrencia de mastitis en el rebaño están (Álvarez, 2019, p. 81).

- el animal
- el ambiente
- el sistema de manejo (el de mayor incidencia)



### ***1.5.3. Factores relacionados con los animales:***

#### ***1.5.3.1. La raza.***

(Aguilar, F. & Alvarez, A., 2018,p. 81) Menciona que las razas de ganado lechero afectan en gran medida la susceptibilidad a los patógenos de esta enfermedad. Las vacas de alta producción tienen más probabilidades de ser afectadas. Los factores hereditarios representan del 10% al 20% de la susceptibilidad a la mastitis según la raza; desde el punto de vista genético se ha demostrado que existe una correlación entre el porcentaje de grasa láctea y la incidencia de mastitis clínica. Cuanto más una línea de vacas produce leche con mayor cantidad de grasa, será más susceptible a esta patología, de ahí la importancia de no seleccionar solamente sobre esta base.

#### ***1.5.3.2. Influencia de los pezones.***

La mecánica de los pezones incluye su forma y longitud, así como la integridad de estos y de la ubre. Comprometer la integridad de los pezones facilita la entrada de microorganismos que pueden ser forzados por la máquina de ordeño, especialmente al final de este. Los pezones lesionados (lesiones, queratina dañada dentro del pezón) o con aberturas demasiado grandes pueden ser fácilmente invadidos. En este punto es donde es necesario el ajuste del ordeño mecánico, su manejo correcto y la prevención de traumas y lesiones es fundamental. (Emad, 2018, p. 82)

#### ***1.5.3.3. Mecanismos de defensa de la ubre***

(Emad, 2018,p. 82) Señala que, las respuestas inmunes innatas de la vaca son la primera línea de defensa contra los patógenos de la mastitis. Los glóbulos blancos (leucocitos) son el principal agente para eliminar los microorganismos que han penetrado el pezón; en caso de que esta respuesta sea insuficiente, el organismo de la hembra muestra otras respuestas inmunitarias tales como liberación de citoquinas y fijación del complemento en lugar de inducir respuestas humorales y celulares específicas como respuesta inmune adquirida.

Según (Pereyra et al 2014,p 45), la inmunidad innata es la primera línea de defensa en estadios tempranos de la enfermedad, dentro de los cuales se encuentran las barreras físicas o anatómicas, factores solubles como la lactoferrina y el componente celular .

#### **1.5.3.4. Factores nutricionales**

Los alimentos balanceados con una cantidad adecuada de proteínas, contenido energético, vitaminas, micronutrientes y oligoelementos mantienen el cuerpo sano con un sistema inmune fuerte, capaz de proteger al animal contra los patógenos de la mastitis.

Dos prácticas nutricionales aumentan los riesgos de esta enfermedad:

- Cambios rápidos en la dieta
- Desequilibrio en los diferentes componentes de las raciones.

Aunque no existe una relación definitiva entre el contenido de proteínas en la dieta y la incidencia de esta patología, se cree que el nitrógeno o proteína excesiva en los piensos se menciona a menudo como uno de los factores causantes. El nitrógeno no proteico (como la urea y el amoníaco) altera los glóbulos blancos que protegen la ubre. Aumentos de amoníaco en la sangre afectan el metabolismo del animal. (Emad, 2018, p. 83)

### **1.6. Etiología**

(Ruiz et al., 2011,p. 9) destaca que , la etiología de la mastitis tanto clínica como subclínica varía según la región o el país. Debido a esto es importante identificar los agentes circulantes antes de implementar cualquier plan de tratamiento.

De la misma manera (Barrera et al.,2016, p.2) indica que, se han identificado aproximadamente 140 especies causantes de mastitis, que se dividen en patógenos contagiosos y ambientales; dentro de los primeros, los principales son *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* *Streptococcus uberis* *Streptococcus dysgalactiae*, y Bacterias Coliformes siendo su principal vía de entrada es el canal del pezón.

### **1.6.1. *Streptococcus agalactiae***

De acuerdo con (Camacho, 2017, p. 15), el *Streptococcus Agalactiae* es la causa más común de infecciones subclínicas pero muy rara vez produce una severa enfermedad (mastitis aguda) este organismo vive en la ubre de la vaca y sobrevive solamente un corto periodo de tiempo por fuera de la glándula mamaria, se disemina principalmente durante el ordeño por medio de la máquina de ordeño, las manos contaminadas del operador, materiales como tela utilizados para lavar la ubre.

Este organismo puede infectar también la ubre de una ternera joven se ha sido alimentada con leche contaminada la infección permanece en forma indefinida en la glándula mamaria de la novilla, el *Streptococcus agalactiae* puede ser erradicados del hato con un tratamiento apropiado combinando con buenas prácticas de manejo. Aun así puede llegar a diseminar fácilmente en el hato luego de la compra de un animal infectado.

### **1.6.2. *Staphylococcus aureus***

El *Staphylococcus aureus* vive dentro o fuera de la ubre en la piel puede causar tanto mastitis clínica como subclínica. Generalmente de la misma forma que el *Streptococcus agalactiae* la infección tiende a producir cicatrices que resultan en sacos de lesión encerradas en la ubre que son difíciles de alcanzar por los antibióticos tales sacos pueden romperse y abrirse en otras partes de la glándula más tarde (Camacho, 2017,p. 16).

### **1.6.3. *Streptococcus uberis* (SU)**

Como afirma (Jiménez & Timón, 2016 ,p. 87) El estreptococo *uberis* es un patógeno clasificado tradicionalmente como ambiental conocido mundialmente, siendo responsable de casos de mastitis clínica, mayoritariamente de mastitis subclínica en vacas en lactación y también es el microorganismo predominante aislado durante el período seco.

La diferencia con otros microorganismos ambientales es que se puede aislar de numerosos sitios tanto del propio cuerpo de la vaca como del entorno donde está la vaca. Por tanto, *S. dysgalactiae* tiene la habilidad de sobrevivir y multiplicarse tanto dentro como fuera de la ubre.

#### **1.6.4. *Streptococcus dysgalactiae***

(Guízar & Cedeño, 2016, p. 16) Anuncia que, la mastitis causada por patógenos medioambientales es un gran problema que afecta a los hatos lecheros. De entre los patógenos medioambientales, el *Streptococcus dysgalactiae* ha sido frecuentemente aislado de las infecciones intramamarias durante la lactación y el período seco.

El *Streptococcus dysgalactiae* es una de las especies bacterianas más importantes aislada en la mastitis bovina. El de la especie hemolítica, es un patógeno muy común en la mastitis clínica y subclínica. La prueba serológica de Lancefield a la bacteria *Streptococcus dysgalactiae*, del grupo C, la identifica como uno de los patógenos más comunes de mastitis bovina, que causa pérdidas económicas más grandes en la industria de la leche. Este patógeno es muy capaz de sobrevivir en la boca, vagina y piel de los animales saludables que pastan. (Guízar & Cedeño, 2016, p. 16).

#### **1.6.5. *Bacterias Coliformes***

Como menciona (Yarder, 2016, p. 3) Estas son causantes de mastitis subclínica en menos del 1%. Las bacterias coliformes como son (*Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*) son habitantes normales del suelo e intestino de las vacas. Se acumulan y multiplican en la materia fecal y en la cama. Estos pueden causar mastitis solamente si las partículas contaminadas del medio ambiente entran en contacto con la ubre.

A diferencia de las bacterias descritas antes, los coliformes no se adhieren a los conductos y al alvéolo de la ubre, en lugar se multiplican rápidamente en la leche y producen toxinas que son absorbidas dentro del torrente circulatorio. Los mecanismos de defensa de la vaca

pueden eliminar las bacterias de la ubre, pero las toxinas permanecen y la vaca puede llegar a morir (Camacho, 2017, p. 16)

## **1.7. Tipos de Mastitis**

La mastitis es una enfermedad de la glándula mamaria que afecta sobre todo a las vacas de alta producción, puede presentarse de forma asintomática (subclínica) y sintomática (clínica) que, al no poder ser identificada pasa desapercibida (Martínez, 2015, p. 12)

La forma clínica se presenta apenas en un 1.40%, mientras que la subclínica en un 98.6%; además, se caracteriza por disminución del volumen de producción, y el aumento de células somáticas con cambios importantes en la composición de la leche, lo que afecta su calidad y la economía del productor (Murillo, 2017, p. 41)

### **1.7.1. Mastitis clínica**

Es caracterizada por presentarse de manera súbita, hay inflamación y enrojecimiento de la ubre, dolor, disminución de la producción y alteraciones en la leche de los cuartos afectados. La leche puede contener grumos, coágulos, con consistencia de agua y los animales presentan fiebre, depresión y anorexia (Romero, 2016, pp. 1-2)

### **1.7.2. Mastitis Subclínica**

(Bolaños, 2012, p.11) Menciona que, en la práctica la mastitis subclínica no se detecta a tiempo, por eso es importante realizar con frecuencia el conteo de células somáticas mediante técnicas de laboratorio y hacer un cultivo bacteriológico; de lo contrario el impacto económico será mayor por reducción en la producción y por el aumento de células somáticas en los tanques de enfriamiento de la leche.

Sin embargo, los casos de mastitis subclínica se caracterizan por disminución en la producción y calidad de la leche encontrando en las pruebas diagnósticas un aumento en el conteo celular por aumento de 27 componentes inflamatorios y bajas concentraciones en caseína, lactosa y lacto albúmina (Ramírez et al., 2011,p. 22).

De la misma manera (Reyes & Argüello,2015, p. 5) mencionan que, la duración de la mastitis subclínica depende del microorganismo causal y de la eficacia de los mecanismos de defensa del huésped.

Es de suma importancia señalar que la mastitis subclínica sigue siendo la primera causa de uso de antibacterianos para su control y, es el uso de esta leche con residuos de antibióticos el principal problema en la producción de alimentos sanos, cuando se intente tratar un caso de mastitis se deben tener en cuenta tres aspectos fundamentales: Eficacia del tratamiento; relación costo: beneficio; residuos de fármacos en la leche (Sumano et al., 2014,p.45) como se indica en la tabla 1-1.

**Tabla 1-1:** Clasificación de la Mastitis.

<b>Formas de mastitis</b>	<b>Vaca</b>	<b>Ubre</b>	<b>Leche</b>
<b>Clínica hiper aguda</b>	Muy enferma puede morir. No tiene coordinación muscular.	Fibrosis mamaria. Puede agravarse.	Frecuentemente aguada y con manchas de sangre.
<b>Clínica aguda</b>	No hay cambios observables.	El cuarto afectado se muestra duro, rojo e inflamado	Purulenta y acuosa.
<b>Clínica subaguda</b>	No hay cambios observables.	El cuarto afectado puede estar inflamado	No se ven cambios, pero la producción puede reducirse.
<b>Clínica Subclínica</b>	No hay cambios observables.	No hay cambios observables.	No hay cambios observables

**Fuente:** Modificado de Philpot et al., 2000.

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021.

## **1.8. Efectos de la mastitis en la producción de leche**

La enfermedad reduce la producción de leche y altera su composición. La caseína, la cual es la proteína principal de la leche, disminuye y otras proteínas de menor valor nutricional se incrementan, por lo tanto, afecta la calidad de los productos lácteos como el queso.

La mastitis incrementa la conductividad de la leche, el sodio y el cloro se elevan, el potasio que es el mineral principal de la leche disminuye y debido a que la mayoría del calcio en leche se encuentra asociado a la caseína, la disminución de esta provoca al mismo tiempo la disminución del calcio en la leche. (Valdivieso & Ballesteros, 2018, p. 54)

## **1.9. Métodos de diagnóstico de la mastitis bovina**

(Boscán et al, 2010, p. 207) expresa que, el diagnóstico de Mastitis Bovina debe estar orientado al conocimiento de la prevalencia de la enfermedad en el hato, tipo epidemiológico de la enfermedad y la resistencia bacteriana de los agentes involucrados. Las pérdidas económicas en un hato se llegan a determinar por la disminución de la producción, para lo cual es necesario identificar y corregir a tiempo los puntos críticos que favorecen a la difusión de la enfermedad.

### **1.9.1. Prueba de Mastitis de California, CMT**

Es el método diagnóstico de mastitis a nivel de campo más utilizado a nivel mundial. Esta técnica nos permite valorar de manera cualitativa el grado de mastitis en que se encuentra el animal (Fernández et al, 2012 pág. 6)

Mide cuantitativamente el recuento de células somáticas (RCS) de la leche, obtenidas del reactivo Alquilaril Sulfonato de sodio al 3%, el cual libera el ADN de los leucocitos actuales en la leche, generando grados de espesamiento, formando una especie de gelatina o coágulo cuando hay mayor presencia de células debido a la infección (Fernández et al, 2012, p. 7).

Una vez la vaca está lista para ser ordeñada, con pezones limpios y secos, se escurren los 3 ó 4 primeros chorros de leche de cada pezón en los compartimentos de la bandeja apropiada (Boscán et al, 2010, p. 207).

Se inclina la bandeja en un ángulo de 60° para igualar la cantidad de leche (deben quedar entre 2 y 4 ml de leche); Se agrega una cantidad igual de reactivo y se inicia un proceso de agitación por rotación durante 15 a 20 segundos. La manera de interpretar CMT se detalla en la tabla 2-1.

**Tabla 2-1:** Interpretación de CMT

	<b>Tipos de Reacción</b>	<b>Celularidad/ml</b>
Negativo	La mezcla se mantiene líquida, de color azul.	< 200000
Trazas	Mezcla ligeramente viscosa de color azul.	200000 - 500000
1	Mezcla viscosa no adherida al fondo de color azul oscuro.	400000 - 1500000
2	Mezcla viscosa que se adhiere al fondo de color violeta	400000 - 1500000
3	Mezcla muy viscosa fuertemente adherida que forma un solo grumo de color violeta.	> 5000000

**Fuente:** Wolter et al, 2004, p .16

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021

El CMT es una prueba sencilla y útil para detectar la mastitis subclínica por valorar groseramente el recuento de células de la leche. No proporciona un resultado numérico, sino más bien una indicación de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de una reacción vestigial se considera sospechoso (Blowey & Edmonson, 1995, p. 208).



Los resultados pueden ser interpretados en cinco clases desde el resultado negativo en el que la leche y el reactivo siguen siendo acuosos, hasta el recuento de células más elevado en el que la mezcla de la leche y el reactivo casi se solidifica. Esto se determina en relación a la reacción de gelificación según (Bedolla, 2004, p 8) tal como se observa en la figura 1-1.



**Figura 1-1:** Interpretación de resultados con la prueba de CMT.

**Fuente:** Bedolla, 2007 ,p. 3

### 1.9.2. *Equipo Para Detección de Mastitis Draminski*

Según (Morales & Ruiz, 2017, p.15) La Prueba de Conductividad Eléctrica (PCE) DRAMINSKI, se ha utilizado como un indicador de la mastitis durante la última década, se basa en el aumento de conductividad eléctrica de la leche debido a su mayor contenido electrolítico especialmente iones de Sodio (Na) y de Cloro (Cl) en la leche.

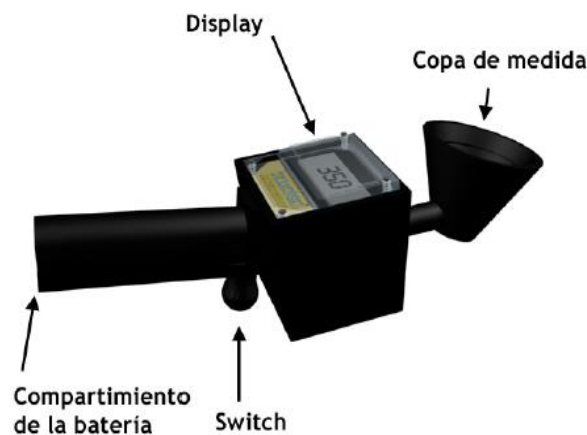
Según menciona (Medina & Montalvo, 2003, p. 29) La Prueba de Conductividad Eléctrica (PCE) (DRAMINSKI), en la última década, se ha utilizado como un indicador de la mastitis se basa en el aumento de conductividad eléctrica de la leche debido a su mayor contenido electrolítico especialmente iones de sodio y de cloro y se ha desarrollado como un método para monitorear el estado de la mastitis en la vaca

El incremento de sodio y cloro al estar afectado un cuarto mamario con mastitis subclínica es debido a que después de la invasión bacteriana se produce: congestión capilar, edematización del tejido secretor y obstrucción de los conductos intralobulares. También existen cambios en la composición de la leche que es producido por alteraciones de la permeabilidad capilar algunos de ellos son:

- Disminuye la cantidad y la calidad de caseína sintetizada
- Disminuye la grasa butirosa
- Disminuye la lactosa
- Aumenta la concentración de sodio
- Aumentan los cloruros
- Aumentan las proteínas del suero sanguíneo
- Aumentan enzimas
- Aumentan las células somáticas (Martínez, 2014, p. 24)

#### 1.9.2.1. El equipo

Construido en materiales resistentes, y con sellos y juntas de goma en todas las uniones, este equipo fue diseñado para trabajar en las condiciones más adversas durante una gran cantidad de tiempo. (INSAVET, 2016 ,p. 4) como se indica en la figura 2-1.



**Figura 2-1:** Equipo Para Detección de Mastitis Draminski

Fuente: INSAVET, 2016 pág. 4

### **1.9.2.2. Interpretación de los resultados**

(Morales & Ruiz, 2017, p. 6) Afirman que, una diferencia de 40 o más unidades en la lectura del o los cuartos respecto al cuarto de mayor valor indica la presencia de mastitis subclínica en o los cuartos afectados de acuerdo a la tabla 3-1.

#### **Ejemplo:**

Unidad de medida. MS/cm (mili Siemens/centímetros)

**Tabla 3-1:** Interpretación de resultados del DRAMINSKI 4Q

<b>Cuartos de la ubre</b>	<b>Valor</b>
Cuarto trasero izquierdo-CTI	560u
Cuarto delantero izquierdo- CDI	430u
Cuarto trasero derecho-CTD	450u
Cuarto delantero derecho-CDD	430u

**Fuente:** Morales & Ruiz, 2017, p. 6

Interpretando los resultados, se refleja que para ese ejemplo el cuarto afectado Con mastitis subclínica es el trasero izquierdo (CTI) permaneciendo los restantes normales.

### **1.9.3. Equipo de Detección de Mastitis Milk Checker**

Con el medidor de mastitis Milk Checker podrá realizar un diagnóstico totalmente preciso de la mastitis subclínica incluso cuando se encuentra en la fase inicial. El medidor de mastitis Milk Checker es capaz de mostrar en la pantalla los resultados de la medición de la leche en muy pocos segundos y en formato numérico. Gracias a este medidor se, podrá tener siempre bajo control la salud de una explotación ganadera desde antes del nacimiento

de la leche y durante todo el periodo de lactación. Como consecuencia, la calidad de su leche será mayor y podrá incrementar sus beneficios se podrá evitar que la mastitis afecte a el ganado, ya que es capaz de detectarla en su fase inicial, incluso cuando los síntomas todavía no son visibles (PCE Ibérica S.L, 2019) como se observa en la figura 3-1.



**Figura 3-1.** Medidor de mastitis Milk Checker

Fuente: PCE Ibérica S.L, 2019.

#### *1.9.3.1. Características del Medidor de Mastitis Milk Checker.*

- **Recipiente de medición**

Utilice el mismo recipiente para las cuatro ubres. No necesitará enjuagarlos. Ordeñe la leche directamente en el recipiente de medición y a continuación pulse la tecla PRUEBA. A continuación, tire la leche y compruebe la siguiente ubre.

- **Protector contra salpicaduras**

Protege la pantalla de las salpicaduras de la leche. Carcasa de diseño robusto La carcasa del Milk Checker está hecha de plástico resistente, lo cual hace que este medidor sea 100 % impermeable.

- **Sensor de temperatura**

Obtiene resultados precisos independientemente de la temperatura del recinto. De este modo, podrá comprobar su ganado en cualquier momento del día o época del año.

- **Sensor de electrodos**

Sirven para medir la conductividad eléctrica de la leche con una gran precisión. Así, podrá detectar las diferencias, aunque sean mínimas, entre las ubres.

- **Pantalla digital**

Indica simultáneamente los resultados de la medición de las cuatro ubres de una manera clara y con una cifra para los decimales. (PCE Ibérica S.L, 2019) como se indica en la tabla 4-1.

**Tabla 4-1:** Valores de interpretación del Milk Checker N-4L

	<b>ABS</b>	<b>DIF</b>
	<b>Conductividad (mS/cm)</b>	<b>Diferencia (mS/cm)</b>
Leche normal	< 6.2	< 0.5
Leche anormal	≥ 6.2	< 0.5
Leche infectada (mastitis)	< 6.2	≥ 0.5
Leche infectada (mastitis)	≥ 6.2	≥ 0.5

**Fuente:** Manual del Milk Checker N-4L.

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021

### **1.10. Posibles tratamientos para mastitis**

De acuerdo con (Pyörälä, 2016, p.1) el tratamiento de la mastitis subclínica con antimicrobianos durante la lactancia es rara vez económico dado los altos costos del tratamiento y en general la pobre eficacia. Todo tratamiento para mastitis debe basarse en la evidencia, es decir, la eficacia de cada producto y la duración del tratamiento deben demostrarse a través de estudios científicos.

(Lopez, 2011, p. 228) Menciona que, el tratamiento de la mastitis debe tener en cuenta el diagnóstico bacteriológico y considerar las directrices nacionales e internacionales sobre el uso prudente de antimicrobianos. En casos de mastitis aguda, en los cuales no existe un diagnóstico bacteriológico, el tratamiento debe iniciarse sobre la base de los datos del rebaño y la experiencia personal. Un rápido diagnóstico bacteriológico facilitaría la selección adecuada de los antimicrobianos.

## **1.11 FÁRMACOS**

Cuando se intente tratar un caso de mastitis se deben tener en cuenta tres aspectos fundamentales: eficiencia, costo beneficio y residuos de fármaco en leche.

### **1.11.1 Ciprofloxacina**

Son compuestos antimicrobianos sintéticos contra Gram Positivos y eficaces contra agentes patógenos bacterianos intestinales.

El sitio de acción de las Quinolonas es el ADN girasa es una enzima esencial para la replicación del material genético bacteriano, son bactericidas, antagónico en presencia de inhibidor de la síntesis proteínica como Cloranfenicol y Tetraciclinas. (Aguilar, 2014, p. 4)

#### **1.11.1.1. Farmacocinética:**

Se puede absorber por el tubo digestivo con relativa eficacia y puede alcanzar valores terapéuticos en sangre

#### **1.11.1.2. Vías de Administración**

Vía oral, intramuscular, intravenosa y subcutánea

#### **1.11.1.3. Dosis**

3-6 mg/kg

**1.11.1.4.**      *Frecuencia*

8 horas

**1.11.1.5.**      *Tiempo de retiro*

Carne 7 días

Leche 3 días

**1.11.1.6.**      *Excreción*

Las principales vías de excreción son fecales, renales, secreción de la mucosa del colon.

**1.11.2.**      *Penicilina*

**1.11.2.1.**      *Mecanismo de Acción*

Son antibióticos bactericidas que inhibe la formación de la pared celular.

**1.11.2.2.**      *Farmacocinética*

Después de la absorción de las penicilinas se absorben con facilidad en la mayoría de los tejidos y líquidos corporales sin embargo debe tomarse en cuenta que las penicilinas tienen dificultades de atravesar las barreras hematoencefálicas, mamarias o prostáticas normales aunque con dosis masivas o ante la presencia de procesos inflamatorios la distribución se facilita permitiendo alcanzar niveles aceptables.

**1.11.2.3.**      *Excreción*

La gran mayoría de las penicilinas administradas por vía parental se elimina a través de la orina aunque puede encontrarse rastros de eliminación también en la leche, pequeñas cantidades en saliva y leche.

**1.11.2.4. Dosis:**

Penicilina Potásica 10.000 – 40000 UI / Kg (IM)

Penicilina Sódica 10.000 – 20000 UI/ Kg (IV- IM)

Penicilina Procainica 10.000 – 20000 UI/ Kg (IM- SC)

**1.11.2.5. Periodo de Retiro:**

Carne: 6 hasta 30 días

Leche: 2 a 3 días

**1.11.3. Tilosina**

**1.11.3.1. Familia - Macrólidos**

(Madigan et al , 2003, p. 5). Principalmente contra bacterias Gram positivas y en ocasiones en Gram negativas. Actúa inhibiendo la síntesis de proteínas en la bacteria, tradicionalmente se considera a los macrólidos como agentes bacteriostáticos, sin embargo, pueden ser bactericidas en altas concentraciones, contra microorganismos susceptibles, ejercen sus efectos mediante la unión a la subunidad ribosomal 50s. Esta unión inhibe la translocación del aminoacil RNA de transferencia y por ende la síntesis de polipéptidos bacterianos

**1.11.3.2. Farmacocinética.**

Buena absorción y rápida, máximo nivel en plasma a las 3 horas, se metaboliza en hígado, se excreta por bilis y orina



### **1.11.3.3.** *Efectos adversos.*

Alteración de la flora intestinal y como consecuencia disminución de bacterias que compiten con microorganismos patógenos, aumentando así el riesgo de la enfermedad.

### **1.11.3.4.** *Uso en medicina veterinaria:*

Se usa principalmente en infecciones respiratorias y digestivas del ganado, infecciones de mico plasmas, tratamiento de difteria, mastitis, endometritis, pio dermatitis, abscesos hepáticos (ANUPCO, 2018).

(Nieto, 2016, p. 29) Plantea que, en bovinos, luego de la administración subcutánea, el fármaco se absorbe rápidamente y se distribuye extensamente en todos los tejidos, penetra rápidamente hacia la leche por su afinidad a células epiteliales y alcanza concentraciones altas, su elevado volumen de distribución es la prueba más clara de su gran penetrabilidad tisular.

### **1.11.3.5.** *Dosis*

2 mg / Kg por día, vía IM una concentración plasmática de 0.8 en 24 horas

## **1.11.4.** *Sulfametoxipiridazina*

### **1.11.4.1.** *Familia - Sulfonamida.*

Pertenece al grupo de sulfonamidas de absorción rápida y eliminación lenta. Actúan sobre microorganismos Gram positivos: (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*; *Bacillus anthracis* y *Clostridium*), Gram negativos (*Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*; *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*,

Haemophilus ducreyï, Salmonella y Brucella) Actinomicetas y Clamidas (Actinomyces israeli; Chlamydia trachomatis) (Herera, 2012, p. 14)

#### 1.11.4.2. *Farmacocinética:*

De acuerdo con ( Litter, 2001,p. 292), las sulfonamidas se absorben por vía oral y tónica, tienen mala absorción por vía oral y se absorben bien por el estómago y el intestino delgado, su velocidad de absorción es variable para los distintos compuestos por lo cual se clasifican en acción corta media o larga dependiendo de la vida media.

#### 1.11.4.3. *Excreción*

La orina constituye la principal vía de excreción de las sulfas, también se describe un grado importante de eliminación por vía biliar, la leche y el sudor. La cantidad de fármaco eliminado en la orina depende de la sulfamida administrada y de la especie a la que se administra (Pérez, 2010, p. 275) la dosis se detalla en la tabla 5-1.

**Tabla 5-1:** Dosis de Sulfametoxipiridazina en Bovinos

<b>Especie</b>	<b>Antibiótico</b>	<b>Vía</b>	<b>Dosis mg/kg</b>	<b>Interval o (hrs)</b>	<b>Observaciones</b>
Bovinos	Sulfametoxipiridazina	IV, IM	25	12	Dosis de ataque de 50 mg/kg

**Fuente:** Pérez, 2010, p. 283

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021

#### 1.11.5. *Oxitetraciclina*

##### 1.11.5.1. *Familia*

Tetraciclinas

### 1.11.5.2. Mecanismo de acción

Para que las tetraciclinas lleguen a los ribosomas de las bacterias Gram negativas se necesitan como mínimo dos procesos:

- Difusión a través de los canales hidrófilos formados por porinas.
- Transporte activo por un sistema que depende de energía y que bombea las tetraciclinas a través de la membrana citoplasmática interna.

Una vez en el interior de la célula, se unen en forma irreversible a los receptores existentes en la subunidad ribosomal 30S de los ribosomas bacterianos en los que impiden que el complejo ARN transferente se una al sitio aceptor del complejo ARN mensajero-subunidad 30S. Esta unión irreversible impide en forma eficaz la incorporación de los aminoácidos que alcanzan la cadena polipeptídica inhibiendo de esta forma la síntesis de proteínas.

### 1.11.5.3. Excreción

(Pérez, 2010, p. 327) Las tetraciclinas son excretadas a través de la orina y las heces, la ruta primaria para muchas es el riñón. La excreción se realiza por filtración glomerular, siendo afectada en caso de alteración o enfermedades renales. Cerca del 10 a 20% de la dosis total administrada se elimina por las heces, independiente de la vía de administración como se puede observar en la tabla 6-1.

**Tabla 6-1:** Dosis de Oxitetraclina Bovinos

<b>Especie</b>	<b>Antibiótico</b>	<b>Vía</b>	<b>Dosis mg/kg</b>	<b>Intervalo (hrs)</b>	<b>Observaciones</b>
Bovinos	Oxitetraclina	IV,IM	10	12 – 24	IV lenta

**Fuente:** Pérez, 2010, p. 329

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021

## **1.12. Ozonoterapia**

(Fierro, 2006, p. 1), los efectos básicos del ozono le confieren propiedades terapéuticas y biológicas que posibilitan la aplicación de la ozonoterapia en un amplio campo de especialidades tales como el de la mejora ambiental a través de la potabilización del agua, la alimentación (se emplea en la desinfección de frutas y verduras) y la medicina, donde ha adquirido relevancia debido a su eficacia en enfermedades asociadas al déficit de las defensas antioxidantes.

(Ogata, et al ,2000, p.13) Estudiaron la infusión de ozono en el cuarto inflamado de vacas con mastitis clínica y estiman que el método de ozonoterapia es probado y resulta ser eficaz, seguro, y rentable; y no conlleva ningún riesgo de residuos de medicina en la leche. De la misma manera (Arichavala & Argudo, 2012,p.70) encontraron una recuperación más rápida con el uso de ozono. El suministro de ozono por medio de inyección en la ubre, ofrece una cura rápida, segura y efectiva contra las mastitis de las vacas, evitando los efectos secundarios de la antibiótico terapia, consiguiendo resultados mucho más rápidos, saludables y efectivos.

### ***1.12.1. Acciones fundamentales de la ozonoterapia.***

#### ***1.12.1.1 El efecto antiinflamatorio***

Que posee el Ozono se basa en la capacidad para oxidar compuestos que poseen dobles enlaces de carbono, un ejemplo es el caso del ácido araquidónico y sus derivados como las prostaglandinas y leucotrienos, que son sustancias biológicamente activas que participa en el mantenimiento de procesos inflamatorios ( Bernal, 2014, p. 33)

#### ***1.12.1.2 Acción Oxigenante***

En las grandes ciudades, donde existen gran cantidad de locales cerrados y poco ventilados, es con mucha frecuencia apreciable el enrarecimiento del aire como consecuencia de una carencia de oxígeno, la cual habitualmente identificamos como aire viciado. El ozono, por su mayor poder oxigenante, contribuye a mejorar la eficiencia de las células de los organismos superiores en cuanto al aprovechamiento del oxígeno disponible, mediante la

estimulación de varias enzimas que intervienen en estos procesos. (Arichavala & Argudo, 2012,p.43)

### **1.12.1.3**      *Efecto bactericida*

( Bernal, 2014, p. 28) Manifiesta que, una de las ventajas más importantes del ozono, con respecto a otros bactericidas es que este efecto se manifiesta a bajas concentraciones (0,01 p.p.m. o menos) y durante periodos de exposición muy cortos. Incluso a concentraciones ínfimas de ozono (del orden de 0.01 p.p.m.) es ya perfectamente observable un efecto bacteriostático.

### **1.12.2.**      *Aplicación del ozono*

El ozono medicinal se incluye en un flujo de oxígeno puro en una concentración muy pequeña (99.95 partes de oxígeno por 0.05 partes de ozono cuando es para uso interno y 5 partes de ozono en 95 de oxígeno en aplicaciones externas). Hay diversas formas de llevar el oxígeno hasta el lugar donde es requerido. Dada la diversidad de patologías en las que se utiliza la ozonoterapia. (Fierro, 2006, p. 2)

### **1.12.3.**      *Ozono vs. Antibióticos*

De acuerdo con (Arichavala & Argudo, 2012,p.70), es necesario tener consciencia que la propuesta que aquí se plantea tiene ventajas sostenidas y constantes sobre los tratamientos antibióticos, además de algunas cualidades que muy difícilmente se podrán encontrar con los antibióticos. Sin embargo, hay que mencionar que la ozonoterapia es un tratamiento que está en vías de evolución por lo que todavía necesita perfeccionarse, con la diferencia que es un proceso que no provoca efectos secundarios ni a corto ni a largo plazo.

Son fuentes nutritivas, naturales o sintéticas que se asemejan al nicho ecológico de los microorganismos en el cual se desarrollan; estas necesidades nutricionales se han determinado mediante extensas investigaciones (De la Cruz, 2012, p. 34) y al observar una diferencia entre la utilización del ozono y antibiotico como se puede ver en la tabla 7-1.

**Tabla 7-1:** Diferencias Ozono vs Antibiótico

<b>EFICACIA DE OZONO:</b>	<b>EFICACIA DE ANTIBIÓTICO:</b>
El ozono puede esterilizar todos los organismos patógenos (la bacteria, el virus, mycetes, la levadura) y trabajar contra sus toxinas.	El antibiótico puede esterilizar (no siempre) sólo una clase de bacteria o de hongos este no trabaja contra virus, levaduras ni contra toxinas de organismo patógenos.
Efectos antibacterianos son los mismos utilizado solo o cuando es mezclado con la leche.	El efecto antibacteriano de los antibióticos tiende a disminuirse cuando son mezclados con la leche en el interior de la ubre.
El trabajo de ozono es más rápido; a veces sólo 1 tratamiento puede curar la ubre inflamada. Se han hecho trabajos que comparan la eficacia del ozono como tratamiento complementario	El tratamiento con antibióticos toma al menos 3 días de duración, el patógeno cultivado in vitro es a menudo el agente de mastitis, el antibiótico es a menudo ineficaz in vivo debido a la resistencia al antibiótico, cuando no se realiza antibiograma.

**Fuente:** Suarez, 2013, p. 32

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021

### **1.13.1. Tipos de Medios de Cultivos**

Según la proporción de agar, existen tres tipos:

#### **1.13.1.1. Líquidos (caldos).**

No contiene ningún agente gelificante, por lo que los microorganismos crecen por todo el medio. El crecimiento en este tipo de medios es más rápido puesto que la movilidad permite acceder de una forma más fácil a los nutrientes. (Barrero, 2016, p. 40)

#### **1.13.1.2. Sólidos.**

Tienen una proporción de agar de, aproximadamente, el 1,5%. El crecimiento se desarrolla en la superficie del medio. Estos medios pueden depositarse en placas de Petri o en tubos de ensayo.

#### **1.12.1.3. Semisólidos.**

Son aquellos que contienen una proporción de agar inferior al 0,5%. Se utilizan para pruebas bioquímicas y de movilidad.

#### **1.13.2. Preparación de Medios de Cultivo**

Los medios de cultivo pueden adquirirse comercialmente listos para su uso o se pueden preparar en el laboratorio a partir de material deshidratado (el cual contiene los componentes necesarios para elaborar cada uno de los tipos de medios existentes). Para su elaboración hay que seguir las instrucciones dadas por el fabricante, que se especifican en el prospecto del envase. Normalmente consiste en disolver el medio deshidratado en agua destilada, proceso que se conoce como reconstitución. (Barrero, 2016, p. 42)

La cantidad de agua será la que indica el fabricante. En el caso de medios que contienen agar como agente gelificante, hay que disolver agitando y calentando a la vez, debido a que el agar funde en torno a 100 °C. Para ello se puede utilizar un termoagitador magnético, una vez reconstituido el medio de cultivo, hay que esterilizarlo para asegurarse de que no crecerá ningún microorganismo contaminante, ya que el objetivo del cultivo es determinar el crecimiento de los microorganismos presentes en muestras clínicas para su posterior identificación.

La esterilización se realiza con la ayuda de un autoclave a 121 °C durante 15-20 min. Los medios de cultivo en tubo se fraccionan antes de esterilizar y se introducen en el autoclave tapados con algodón graso y papel de aluminio.

Posteriormente se recomienda esperar a que la temperatura baje a unos 45-50 °C para fraccionarlo en placas, siempre cerca del mechero para evitar contaminación ambiental. El fraccionamiento consiste en depositar una pequeña cantidad en la placa, hasta que alcance

unos 4 mm de altura. Dejar enfriar a temperatura ambiente hasta que solidifique por completo. Una vez sólido, se invierte y se almacena refrigerado a 4 °C.

Los medios de cultivo que incluyen en su composición sustancias termolábiles, es decir, que se alterarían tras someterse a un tratamiento con calor, necesitan un procedimiento alternativo para su esterilización. Generalmente se realiza filtración con membranas de un diámetro de poro de 0,2 a 0,45 µm. Los virus no se eliminan, pero sí las bacterias y hongos que pudieran contaminar el medio. (Barrero, 2016 ,p. 42)

### ***1.13.3. Medios de cultivo utilizados habitualmente***

Existen muchos tipos de medios de cultivos diferentes;

#### ***1.13.3.1. Agar sangre.***

Permite el crecimiento de la mayoría de las bacterias con importancia clínica. Está compuesto por un medio base rico en nutrientes más un suplemento de sangre desfibrinada animal en una proporción del 5-10%. Es un medio diferencial porque permite comprobar si las bacterias son hemolíticas, es decir, si tienen capacidad para romper los glóbulos rojos presentes en el medio. (Barrero 2016,p.43).

#### ***1.13.3.2 Agar Columbia Base***

(Britania, 2019) Manifiesta que, es un medio de cultivo nutritivo utilizado para el crecimiento de diversos microorganismos al ser suplementado con sangre permite el crecimiento de microorganismos existentes y la clara visualización de reacciones de hemólisis también puede ser utilizado como base para la preparación de Agar chocolate su fórmula cumple con los requerimientos de la Armonización de Farmacopeas Europeas, Japonesas y de los Estados Unidos de Norteamérica.

#### ***1.13.3.3. Agar MacConkey.***



(De la Cruz, 2012, p 34) Afirma que, este medio se utiliza para el aislamiento de bacilos Gram negativos de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos. Permite diferenciar bacterias que utilizan o no, lactosa en muestras clínicas. Todas las especies de la familia Enterobacteria se desarrollan en el mismo; el medio preparado es de color rojo purpura; los inhibidores no permiten el desarrollo de otras bacterias especialmente de las Gram positivas. Las bacterias degradan la lactosa, haciendo variar el pH, y el indicador es el cambio de color, la Escherichia coli es una de las especies bacterianas, capaz de fermentar la lactosa

#### **1.13.4. Tipos de hemólisis:**

##### **1.13.4.1. Betahemólisis.**

Consiste en la lisis o eliminación total de los glóbulos rojos. Esto genera un halo transparente en la zona donde crece este tipo bacteriano. En este caso se habla de bacterias betahemolíticas.

##### **1.13.4.2. Alfa- hemólisis.**

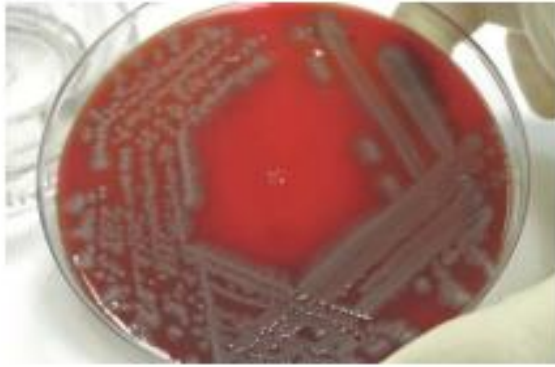
Lisis parcial de los glóbulos rojos, desarrollando un halo verdoso en torno a las zonas donde crecen estas bacterias

##### **1.13.4.3. Gamma- hemólisis.**

Es la ausencia de hemólisis.

(Hogan et al.,1999, p. 41) Mencionan que, el suero y la sangre completa se añaden para promover el crecimiento de los microorganismos menos resistentes.

La preparación de agar sangre según se realiza según lo indicado por (Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical "Leopoldo Inquieta Pérez", 2003) pesar el agar Nutriente a razón de 39g. Por litro de agua destilada. Calentar la suspensión hasta que la solución llegue a ebullición para permitir una disolución completa y luego esterilizar a 121°C durante 15 minutos, El medio fundido se deja enfriar a 45°C, y se coloca en placas Petri tal como se observa en la figura 4-1.



**Figura 4-1.** Placa de agar sangre con crecimiento bacteriano.

**Fuente:** Barrero,2016.p. 44.

#### ***1.13.5. Factores determinantes en la preparación de un medio de cultivo***

Los factores siguientes son importantes en la preparación de un medio de cultivo:

##### ***1.13.5.1. Fluidez***

El medio deshidratado comercialmente disponible o la mezcla del propio microbiólogo se disuelve en primer término en agua. Si se requiere un medio sólido, se agrega agar. (Fernández et al ., 2014, p.28)

##### ***1.13.5.2. PH***

Se verifica el pH del medio y se regula si es preciso. En preparaciones comerciales no suele ser necesario el ajuste. Para amortiguar los propios medios sintéticos se utilizan generalmente buffers de fosfato, porque el crecimiento óptimo de la mayor parte de las bacterias se encuentra en el intervalo de amortiguación de los iones fosfato.

##### ***1.13.5.3 .Esterilización:***

Se debe esterilizar el medio. Este procedimiento asegura la destrucción de todos los microorganismos no deseados que están presentes durante su preparación. Si los componentes del medio son estables al calor se llevan a cabo la esterilización en una autoclave (121 ° C durante 15 minutos). Si se requiere sangre y ciertos componentes inestables, como antibióticos o compuestos oxidables al calor en el medio, se los debe esterilizar por separado mediante filtración u otros procesos, y luego se agregan al medio esterilizado cuando éste se enfría hasta una temperatura de 50°C. (Fernández et al., 2014,p.28)

#### **1.13.6.            *Antibiograma***

De acuerdo con (Pedrique, 2002, p.16), el antibiograma consiste en medir la sensibilidad de una cepa bacteriana que se sospecha es la responsable de una infección a uno o varios antibióticos. Además por medio del antibiograma se determina la evolución de las resistencias bacterianas. Para la realización del antibiograma se utiliza por lo general el agar Muller - Hinton el cual fue preparado y luego chorreado en placas Petri, con el medio solidificado se procedió a tomar las placas con las colonias ya identificadas. Los materiales utilizados fueron tubos de ensayo, agua destilada.

(Acuña & Rivadeneia,2008,p. 71 ) Refieren que usualmente se utiliza el agar de Mueller-Hinton en las pruebas de sensibilidad de microorganismos aeróbicos de rápido crecimiento. Cuando se trata de estreptococos u otros microorganismos exigentes, se le añade al Mueller-Hinton, 5% de sangre desfibrinada. De los métodos existentes, el más popular es el del disco de papel. La variante más utilizada de este método es la de Kirby Bauer, la cual consiste en utilizar una sola concentración de antibiótico y medir el tamaño de la zona de inhibición.

#### **1.13.6.1.            *Pruebas de sensibilidad antimicrobiana***

(Acuña & Rivadeneia,2008,p. 72 ) Por facilidad de manejo y disponibilidad de reactivos la prueba de sensibilidad antimicrobiana más usada es el método de difusión con discos sobre Agar Mueller Hinton. La selección de principios activos a probar dependerá de: la

disponibilidad de productos comerciales en el mercado local, la legislación del país sobre uso de antibióticos, el tipo de microorganismo aislado, si es para vaca en lactancia o en el periodo seco y si se va a usar vía parenteral o vía intramamaria. En una caja de Agar de 100 mm de diámetro se pueden colocar ocho sensidiscos como máximo.

### **1.13.6.2**      *Discos para Antibiogramas*

(Bernal & Guzman, 2007, p. 113) Manifiestan que los discos, para antibiograma son producidos por casas comerciales bajo un riguroso protocolo de control internacional. Cada disco contiene una concentración predeterminada que permite una correlación más o menos precisa con la concentración mínima inhibitoria que dicho antibiótico.

Para que los resultados del antibiograma de discos sean realmente confiables Se debe, tener particular cuidado al respecto siguiendo las indicaciones siguientes:

- Los recipientes individuales que contienen los discos deben mantenerse refrigerados de 4-5°C. o almacenados a -20°C
- Hasta que sean utilizados los discos que contienen drogas de la familia de la penicilina o de las cefalosporinas deben mantenerse siempre congelados, excepción de una pequeña cantidad de discos para el trabajo diario, los cuales pueden mantenerse refrigerados hasta por una semana.
- Los nuevos recipientes con discos de sensibilidad deben colocarse a temperatura ambiente antes de abrirlos para ponerlos en uso.
- Los dispensadores que contienen discos para pruebas de susceptibilidad deben almacenarse con un desecante en el refrigerador pero debe permitirse que alcancen la temperatura ambiente antes de ser utilizados.
- Se debe desechar todo disco cuya fecha de expiración, expresamente puesta por la casa .

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Localización y duración del experimento.

La presente investigación se realizó en la Unidad Académica y de Investigación Bovinos de Leche en la “Estación Experimental Tunshi, de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias” la misma que se encuentra ubicada a 12 km de la ciudad de Riobamba – Lícito, provincia de Chimborazo con una longitud de 79°40´ Oeste, una longitud de 0.1° 65´ Sur y una altitud de 2750 m.s.n.m. Para el cultivo y antibiograma se realizara en el laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias tal como se observa en la tabla 8-2.

**Tabla 8-2:** Condiciones Meteorológicas de la Estación Experimental Tunshi.

Parámetros	Promedios
Temperatura , °C	13.10
Humedad relativa, %	71
Precipitación, mm/año	558.60
Helófanía, horas luz	8.5

**Fuente:** Estación Meteorología, Facultad de Recursos Naturales. ESPOCH (2019)

**Realizado por:** Quilapanta Guman Anabell, 2021

La presente investigación tendrá una duración de 60 días, distribuidos de la siguiente manera: Selección de los animales para el trabajo, aplicación de los tres métodos de

diagnóstico para detección de mastitis subclínica, cultivo y antibiograma de las muestras; tratamiento, evaluación de las variables de estudio, tabulación de datos y presentación del informe final .

## **2.2. Unidades experimentales**

Para el desarrollo del trabajo experimental se utilizarán 16 vacas en producción que será tomado como unidades experimentales.

## **2.3. Materiales, Equipos, Reactivos e Instalaciones.**

### **2.3.1. *Materiales de trabajo***

- Overol
- Botas
- Mascarilla
- Mandil
- Cofias
- Vacas Holstein

### **2.3.2. *Materiales de oficina***

- Computadora
- Registros
- Lápiz
- Libreta

### **2.3.3. *Materiales de campo***

- CMT (California Mastitis Test)

#### **2.3.4. *Materiales de laboratorio***

- Agares( Columbia/ Mueller Hinton )
- Frascos de vidrio estériles con tapa rosca
- Marcador permanente.
- Tubos de ensayo estériles.
- Gradilla
- Probeta
- Reverbero
- Lámpara de alcohol
- Franela
- Toallas absorbentes
- Algodón
- Tubos de vidrio estériles
- Cajas Petri
- Hisopos estériles
- Asa y aguja de inoculación
- Placas portaobjetos
- Discos de antibióticos
- Pinza para discos
- Agua Destilada
- Alcohol Industrial
- Sangre (Equino)
- Kit para tinción Gram: cristal violeta, lugol, acetona y safranina
- Regla

#### **2.3.5. *Equipos***

- Equipo Draminski
- Equipo Milk Checker
- Equipo de Ordeño
- Microscopio
- Autoclave

- Refrigerador
- Estufa Bacteriológica
- Balanza
- Cámara de Flujo Laminar
- Cuenta Colonias

#### **2.3.6. Instalaciones**

- Corrales
- Sala de ordeño
- Laboratorio

#### **2.4. Tratamientos y diseño experimental**

La investigación no corresponde a un tipo diseño experimental, se va a trabajar con una estadística descriptiva a través de Frecuencia mediante tres métodos de diagnóstico; Milk Checker, Draminski y CMT.

#### **2.5. Mediciones experimentales**

Las variables que se tomarán en consideración para el trabajo experimental se detallan a continuación.

- Incidencia de mastitis subclínica en el hato, %.
- Eficacia de los tres métodos de detección, %.
- Identificación de los cuartos infectados de acuerdo al periodo de lactancia %.



- Identificación de Bacterias Gram positivas y Gram negativas causantes de la mastitis subclínica %.
- Cultivo de Bacterias ,UFC
- Antibiograma del cultivo, %.
- Costo del Cultivo y Antibiograma, \$.

## **2.6. Análisis estadísticos**

Análisis Estadístico Descriptivo:

- Medidas de tendencia central
- Promedio
- Desviación Estándar

## **2.7. Procedimiento experimental**

Las actividades que se realizaron en la presente investigación se indican a continuación:

### **2.7.1. Actividades de campo**

#### **2.7.1.1. Manejo de animales**

Los animales antes durante y después del ordeño deben ser tratados de manera adecuada de acuerdo a las buenas prácticas zootécnicas, tomando en cuenta algunas de las prácticas como son un buen manejo al trasladar a los animales a la sala de ordeño se trabajó con 16 animales en producción para la investigación los mismos que fueron ordeñados en horas de la tarde (3 pm) ,de esta manera se evitara el estrés de los animales, hay que tener en cuenta también un buen lavado de las ubres antes del ordeño de la misma manera el secado y sellado de pezones utilizando soluciones de yodo.

#### **2.7.1.2. Alimentación**

Se realizó lo que es el pastoreo en las horas de la mañana y la tarde más una adición de concentrado en el momento que se encuentren en ordeño, tomando en cuenta que también se les brindo sales minerales agua a voluntad de acuerdo a sus necesidades.

#### **2.7.1.3. Diagnóstico de Mastitis**

Antes de realizar el ordeño se procedió a iniciar el diagnostico con la utilización de los tres métodos como son Draminski, Milk Checker y California Mastitis Test (CMT) las mismas que serán realizadas a las 16 vacas en el mismo momento de ordeño tanto en horas de la madrugada como en horas de la tarde, de esta manera podremos obtener datos para analizar cuál de los tres métodos es el más eficaz

#### **2.7.1.4. Identificación de mastitis Subclínica en el Hato**

Después de haber obtenido los diferentes datos de incidencia de mastitis se procedió a identificar cuáles son vacas positivas a mastitis y que cuartos están infectados para su posterior toma de muestras.

#### **2.7.1.5. Toma de muestras**

Después de haber realizado el diagnostico se tomó la muestra de los cuartos de las vacas que dieron positivas de la Estación Experimental Tunshi se recogió la muestra en frascos totalmente estériles mismo que será rotulado de acuerdo al número de la vaca y al cuarto

afectado, las muestras fueron recogidas en el ordeño de la madrugada además de eso se observó las características físicas de la leche.

#### **2.7.1.6. *Traslado de las muestras***

Las muestras de cada grupo se trasladaron en refrigeración en un Cooler al laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, donde se procedió a Identificar Bacterias Gram positivas y Gram negativas causantes de la mastitis subclínica para su posterior aislamiento bacteriano y la realización del antibiograma.

#### **2.7.2. *Actividades de laboratorio***

1. Una vez ingresadas las muestras al laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Pecuarias se identificó la muestra y se empezó a registrar en datos del laboratorio.
2. Se procedió a realizar el agar preestablecido para la investigación tomando en cuenta los protocolos recomendados por el Laboratorio de Biotecnología
3. Se realizó el cultivo bacteriológico de las muestras obtenidas de la Estación Experimental Tunshi
4. Una vez establecido los cultivos se procedió a realizar las tinciones bacteriológicas para identificar tanto bacterias Gram Positivas como Gram Negativas.
5. Una vez obtenido todos los cultivos se procedió a seleccionar las colonias para inocular las bacterias en la caja Petri y se implantara los discos de antibióticos en estudio (Penicilina, Ciprofloxacina, Tetraciclina).
6. Interpretación de resultados

## **2.8. Metodología de evaluación**

La metodología de la evaluación se realizó de la siguiente manera:

### **2.8.1. *Incidencia de Mastitis***

Para determinar la presencia de mastitis, se realizó la prueba de CMT (California Mastitis Test), Milk Checker, Draminski a las 16 vacas en producción de la Estación Experimental Tunshi.

Los cuartos de cada ubre se codificó con números de acuerdo a la posición de cada cuarto:

1= CPI: Cuarto Posterior Izquierdo

2= CPD: Cuarto Posterior Derecho

3= CAI: Cuarto Anterior Izquierdo

4= CAD: Cuarto Anterior Derecho

#### **2.8.1.1. *Prueba Draminski***

1. Sostener el detector de mastitis subclínica debajo de la ubre y exprimir el primer chorro de leche dentro de la copita de medida.
2. Retirar el instrumento de la ubre para poder leer de una manera clara el resultado
3. Apretar el botón de encendido del detector

4. Después de la estabilización inicial que dura aproximadamente de 1,5 a 2 segundos., la resistencia eléctrica de la leche se registra en la pantalla.
5. Soltar el botón de encendido y tirar la leche
6. No se olvide de anotar el resultado.
7. Sosteniendo el detector de mastitis subclínica por el mango, sumergir la copita de medida en el balde, baldes o recipiente con agua caliente para quitar los residuos de leche.
8. La copita de medida (en particular los electrodos), se pueden limpiar con tapones de algodón en vez de remojarlos en agua caliente.
9. Repetir este procedimiento para cada una de las ubres.

#### **2.8.1.2. Prueba de CMT**

1. Para realizar esta prueba se necesita de paletas de plástico con recipientes de 7 cm de diámetro por 2 cm de alto, un dosificador y el reactivo para California Mastitis Test.
2. En las 16 vacas se tomaron muestras de leche (2ml) individualmente de cada cuarto, en la paleta de diagnóstico, se adiciono igual cantidad de reactivo california
3. Se procedió a realizar movimiento circular a la paleta para homogenizar la leche con el reactivo por 20 segundos
4. Se procedió a la lectura de la reacción observando si hay formación de grumos o gel.

#### **2.8.1.3. Prueba de Milk Checker**

Con Milk Checker, solo se necesitan unos segundos para detectar la mastitis subclínica.

1. Presione el botón ON / OFF para encender Milk Checker.

2. A continuación, ordeñe la muestra directamente del pezón en la taza colectora, llénelo casi hasta el borde (unos 20 ml).
3. Presione el botón TEST
4. La pantalla mostrará el valor absoluto de la conductividad eléctrica (ABS) de la tetina en la parte superior izquierda de la pantalla. (OBS: los valores en este ejemplo son solo para fines ilustrativos)
5. Vacíe la taza de muestreo.
6. Repita el proceso con la segunda ubre
7. La medida del segunda cuarto aparecerá en la parte superior derecha de la pantalla.
8. Repita con los cuartos restantes. Después de medir el último cuarto, Milk Checker mostrará las 4 medidas en el siguiente orden: superior izquierda, superior derecha, inferior izquierda e inferior derecha.
9. Presione el botón TEST nuevamente para mostrar la diferencia de conductividad eléctrica (DIF). Mostrará la diferencia de medidas con el pezón con la conductividad eléctrica más baja (mostrando el valor 0.0) en el orden de menor a mayor.
10. Después de terminar la prueba, presione el botón RESET para borrar la pantalla y luego realice la prueba en la siguiente vaca.

### **2.8.2. Cultivo de Bacterias.**

Se etiquetaran los frascos para el muestreo (fecha, vaca, cuarto afectado). Tomando en cuenta que se debe eliminar la suciedad de la glándula mamaria y de los pezones, mediante un lavado y secado, antes de proceder a la colección de la muestra. Secamos los pezones

completamente con toallas individuales. Para tomar la muestra se, coloco el frasco a 45° para la recolección de la muestra. Evitando que los pezones tocan el frasco, llenamos el frasco de 2 – 3 ml con un máximo de 5 ml (1-3 chorros).

Los métodos de cultivo que se utilizaran en el laboratorio de Biotecnología son, la utilización del agar Columbia para hacerle como base al agar sangre y para realizar el Antibiograma se utilizó el agar Mueller Hinton

#### **2.8.2.1. Base Agar Columbia**

Tiene el siguiente procedimiento:

1. Disolver 32,76 gramos de medio en 780 ml de agua destilada en frascos Herméticos.
2. Distribuir en tres frascos herméticos de 400 ml la solución
3. Calentar hasta ebullición en la plancha de agitación magnética, agitando, para su total homogeneización.
4. Autoclavar a 121 °C durante 45 minutos más los hisopos y el asa de cultivo
5. Enfriar por 15 minutos, Si se desea mayor sensibilidad,

#### **2.8.2.2. Preparación de agar Sangre**

Tiene el siguiente procedimiento:

1. Agregar de 3 a 5 % de sangre desfibrinada estéril al medio esterilizado fundido y enfriado a 45 -50 °C
2. Homogenizar y distribuir en placas Petri estéril.

3. Con el asa de cultivo distribuir a manera de estría la muestra en cada una de las cajas
4. Dejar las cajas en la Estufa por 48 horas para posteriormente observar el crecimiento bacteriano en una temperatura de 37 a 39 °C.

### **2.8.3. *Tinción de Bacterias Gram***

Una vez estabilizado el aislado bacteriano, realizar la tinción Gram con cada una de las colonias:

1. Se tomó una pequeña muestra de cada colonia y fue diluida en solución salina que será colocado en el porta objetos.
2. Con ayuda del mechero fijamos la muestra, sin calentar más de lo que la mano puede soportar.
3. Se colocó cristal violeta esperar 1 minuto y enjuagar.
4. Se colocó Lugol esperar 1 minuto y enjuagar.
5. Se colocó alcohol cetona esperar 1 minuto y enjuagar.
6. Se colocó safranina esperar 1 minuto y medio y enjuagar
7. Secamos la muestra y observamos en el microscopio a 100X
8. Las bacterias teñidas de color violeta son Gram + y las de color rosa Gram-



#### 2.8.4. *Antibiograma*

Para realizar la técnica se utilizara un antibiograma disco- placa y de realizar el siguiente procedimiento:

1. Primero se seleccionó las colonias
2. Se preparó una suspensión del inculo
3. Se utilizó agar Mueller Hinton
4. Se preparó 42,56 gramos de medio en 1120 ml de agua destilada
5. Distribuir en tres frascos herméticos de 400 ml la solución
6. Calentar hasta ebullición en la plancha de agitación magnética, agitando, para su total homogeneización.
7. Autoclavar a 121 °C durante 45 minutos más los hisopos
8. Distribuir la solución en cajas Petri
9. Se inoculó la placa en forma de estría
10. Se procedió a colocar los discos de antibióticos

11. Dejamos incubar a la placa

12. Después del tiempo de incubación que fue 24 horas se midió las zonas de inhibición

13. Se interpretaron los resultados

#### **2.8.4.1. Selección de colonias**

Se seleccionara de 3 a 5 colonias diferenciándolas por sus características de forma, color, tamaño del microorganismo patógeno que se va a analizar.

Se tomara las colonias con un hisopo de algodón y de colonias bien aisladas en el cultivo.

#### **2.8.4.2. Colocar discos de antibiogramas**

Primero se debe tener los discos fuera del congelador para que estén a temperatura ambiente. Se colocara los discos dentro de los 15 minutos siguientes de la inoculación en la placa de Petri. Se procederá a colocar uno a uno los discos, presionando cada disco para asegurarnos que tengan contacto con la superficie de la placa.

#### **2.8.5. Costo del Cultivo y Antibiograma, \$.**

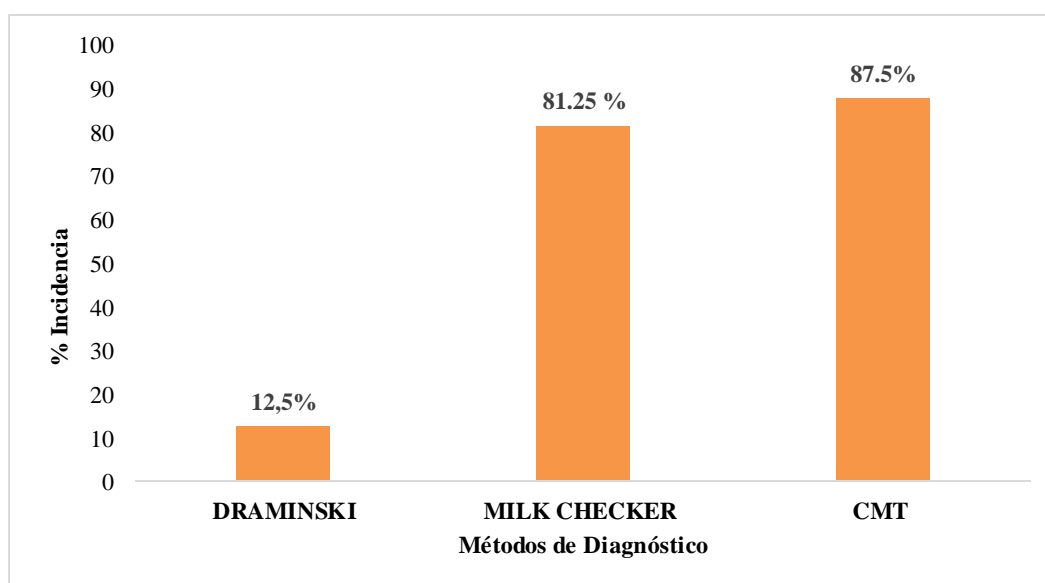
El analizar el costo del cultivo y antibiograma como un indicador se estimó mediante el análisis de costos por unida

## CAPITULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1. Incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH.

De acuerdo como se observa en el gráfico número 1-3 pudimos determinar la incidencia de mastitis en el hato ganadero de las 16 vacas en producción de la Estación Experimental Tunshi; de acuerdo a los tres métodos de diagnóstico de mastitis aplicados se determinó que la mayor incidencia de mastitis se detectó con California Mastitis Test (CMT) con 87.5 %; Milccheiker 81.25% y Draminski 12.5%.



**Gráfico 1-3.** Incidencia de mastitis subclínica en el hato de la Estación experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021

Esto posiblemente se deba a que CMT es un método cualitativo que resultó ser más sensible, (Hernández & Beltrán, 2016 :pág.1) mencionan que este métodos funciona con un reactivo Alquilauril Sulfonato de sodio al 3% que al mezclarse en igual cantidad el reactivo

disuelve o rompe las paredes celulares externas y las nucleares de cualquier leucocito, constituidas principalmente de grasa, el ADN se libera desde el núcleo y se gelifica formando una masa fibrosa.

(Padilla, 2007,p.75) Al evaluar dos métodos de diagnóstico de mastitis subclínica en la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH, se pudo determinar que la incidencia dentro del hato fue de 49,49%; así mismo (Velasquez, 2019 pág. 63) según su investigación realizada en los meses de julio, agosto y septiembre del 2018, la incidencia de mastitis dentro del hato fue de 55,56% .

Pudiéndose observar que los valores son menores en relación a los obtenidos en la presente investigación; se puede identificar que existe un incremento de la incidencia conforme pasan los años esto posiblemente se deba a distintos factores como son ; condiciones de estrés del animal ,factores asociados a la vaca como son edad , etapa de lactancia en la que se encontraban así también puede deberse a el golpe de las ubre con los corvejones en el momento del traslado de los animales, la calidad del agua

Coincidiendo con (Rodríguez, 2005, p.12) donde manifiesta que el mayor número de casos de mastitis se da durante el período seco y la primera etapa de lactancia haciendo notar que la etapa de lactancia es un factor predisponente en la aparición de la enfermedad.

En cambio (Proaño & Utreras, 2014, p.9) menciona que la presencia de mastitis se da por diferentes factores que interactúan entre, si es así que esta enfermedad puede ser ocasionada por malas prácticas de ordeño, de la misma manera (Molina & Rivadeneira, 2017, p. 30) menciona que la causa de mastitis subclínica está influenciada por factores físicos como heridas ocasionadas por golpes ya que al causar infecciones se incrementa la posibilidad de entrada de bacterias patógenas a la glándula mamaria a través de daños en la piel o el canal del pezón

Además (Alvarez, 2018, p. 19) señala que la utilización de agua de mala calidad, no potable, influye negativamente ya que es utilizado en el sistema de lavado de los implementos y equipo de ordeño.

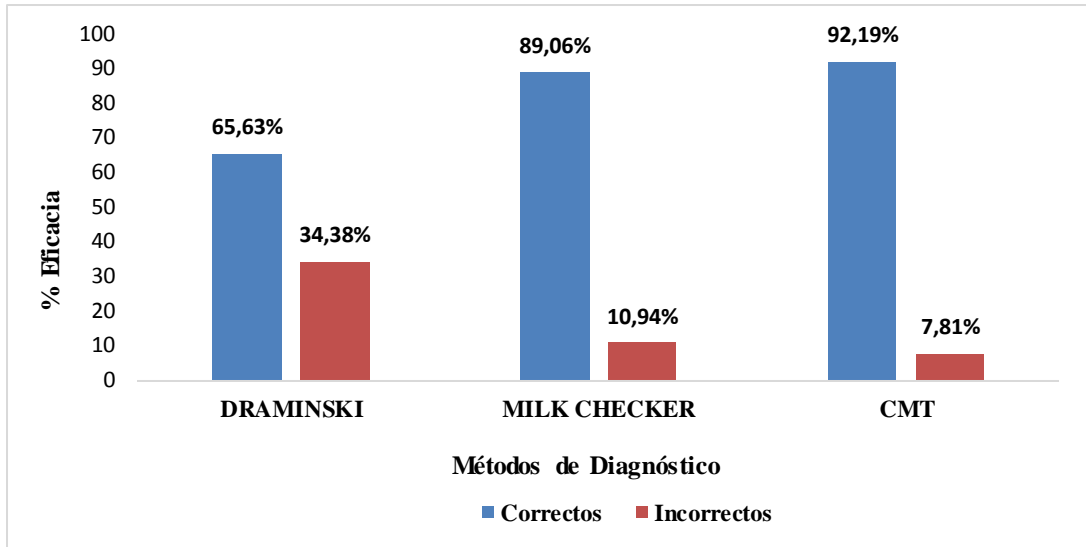
Por otra parte (Conlago & Bonifaz, 2016, p. 5) determinaron un 70% de incidencia es su investigación realizada en la región Oriental de la provincia del Azuay mediante el método CMT, pudiéndose observar que este valor es menor en relación a los obtenidos en la presente investigación, esto posiblemente se deba a condiciones nutricionales, ambientales estos pueden ser épocas del año, humedad se puede mencionar también factores como la raza.

Es así que (Corbellini, 2017, p. 3) en efecto señala que la condiciones climáticas, nutricionales, suelen agravar los casos subclínicos, aumentando la prevalencia de casos clínicos, (Watson, 1984, p. 82) recalca que las plantas que contienen una mayor actividad estrogénica ayudan a desencadenar procesos inflamatorios de la glándula mamaria entre ellos está el trébol, pasto azul, trigo, cebada, etc.

Igualmente otros de los factores que pueden contribuir a dar resistencia o susceptibilidad a los animales es la raza a la cual pertenece el animal tal como manifiesta (Echeverria, 2014, p. 58) coincidiendo con (Santivañes & Biffa, 2013, p. 6) que manifiestan que según algunos estudios las vacas Holstein tienen un mayor riesgo de sufrir mastitis a comparación de la raza Jersey.

### **3.2. Eficacia de los tres métodos de detección, %.**

Como se observa en el grafico 2-3 al determinar la eficacia mediante los tres métodos de diagnóstico se observó que con (CMT) se obtuvo 92,18% de muestras correctos con referencia a Milk Checker con 89,05% y Draminski con 65,62% al determinar las pruebas incorrectas con CMT se obtuvo 7,81% en comparación con Milk Checker y Draminski con 19,93% y 34,37 % respectivamente.



**Gráfico 2-3:** Eficacia de los tres métodos de detección

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021.

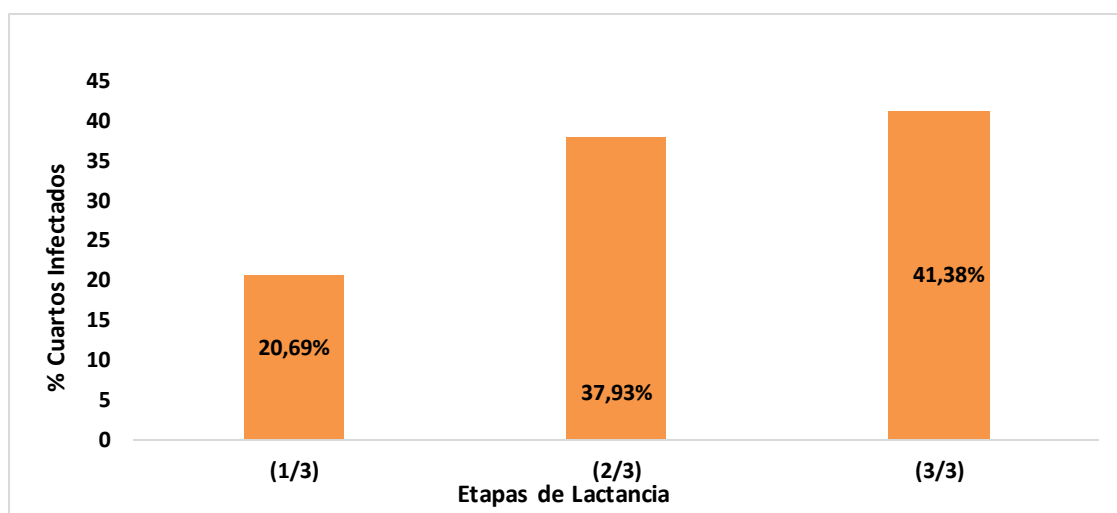
El que sea CMT el método más eficaz probablemente se deba a que CMT es valorado según la experiencia y existe una gran variabilidad en sus interpretaciones, tal como manifiesta (Medina & Montalvo, 2013, p.12) donde destaca que es una prueba subjetiva ya que las interpretaciones de la reacción de gelificación depende de la apreciación personal del técnico.

De la misma manera (Blowey & Edmonson, 1995; citado por Gonzales, 2014) señalan que CMT no proporciona un resultado numérico, sino más bien una indicación de si el recuento es elevado o bajo, por lo que todo resultado por encima de una reacción vestigial se considera sospechoso.

(Sánchez et al , 201,5 p. 48) en su trabajo de investigación señala que al hacer una comparación entre dos metodos de diagnostico para mastitis subclinica encontró que el método mas eficaz es CMT con 96,05% de diagnosticos correctos y un 3,95% de incorrectos coincidiendo con las interpretaciones de la presente investigación ,es así que (Radostits, 2016, p. 716) manifiesta que CMT en comparacion con Draminski es un equipo que ayuda a identificar mastitis clínica con precisión pero en el caso de las mastitis subclínicas la precisión es solo del 50% ,de esta manera se puede corroborar de que CMT es el método más eficaz .

### 3.2.1. Identificación de los cuartos infectados de acuerdo al periodo de lactancia %

Al hacer el análisis del gráfico 3-3 sobre la identificación de cuartos infectados de acuerdo al periodo de lactancia se determinó que; en el último tercio de lactancia hay un 41,38% de cuartos infectados seguido del segundo tercio con 37,93% y con un porcentaje menor en comparación con las anteriores, el primer tercio con 20,69%.



**Gráfico 3-3:** % de cuartos infectados de acuerdo a la etapa de lactancia del hato de la Estación Experimental Tunshi (ESPOCH)

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021.

Posiblemente eso se deba a que en el periodo seco que está dentro de la última fase de lactancia la glándula mamaria se encuentra más susceptible a contraer infecciones ya que durante este periodo se vacía completamente la ubre y se dejan de realizar algunas prácticas de ordeño como el despunte y el sellado pre-ordeño, otro de los factores que pudieron influir pudo haber sido la edad y el número de lactancias.

Tal como menciona (Escobar & Castillo, 2015, p.43) las tasas de infección intramamarias de patógenos ambientales son mucho mayores en el periodo seco que durante la lactación considerando mayor susceptibilidad en las dos semanas posteriores al secado y dos semanas antes del parto. Coincidiendo con (Ruegg, 2017, p. 68) donde indica que el comienzo y el final del periodo de vaca seca son momentos de alto riesgo para el desarrollo de mastitis subclínica.

Ratificando con esta investigación (Avila, 2016, p. 4) plantea que, la elevada incidencia de infección durante el periodo seco puede deberse a que el vaciado y eliminación de bacterias que colonizan el canal del pezón durante el ordeño se termina, el canal del pezón se dilata y se acorta debido a la interrupción del ordeño permitiendo la entrada fácil de bacterias hacia el interior de la ubre.

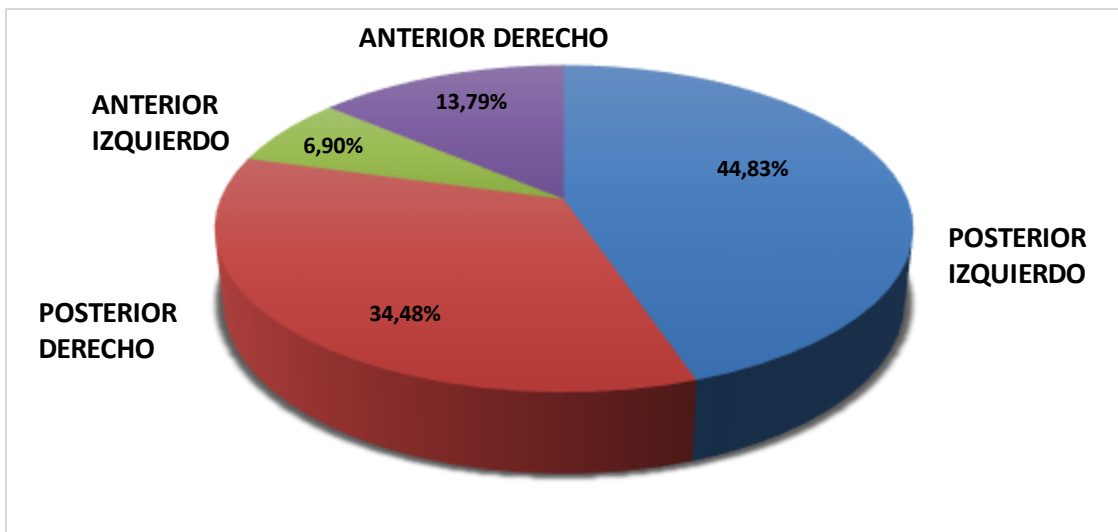
Investigaciones realizadas por (Novoa & Mata, 2015, p. 67) señalan que a medida que aumenta el número de lactancias disminuye la efectividad del canal del pezón como barrera a la entrada de agentes patógenos, de la misma manera la edad ya que animales más viejos tienen un pezón más dilatado por ende más susceptibles a infecciones.

(Mercado & Escobar, 2016, p. 70) al hacer su investigación sobre la determinación de la mastitis subclínica y su correlación con el periodo de lactancia identifico que efectivamente la mayor parte de cuartos infectados estuvieron en el tercer tercio de lactancia seguidamente del segundo tercio y por último el primero tercio, igualmente (Coronel, 2017, p. 49) en su investigación coinciden que en el tercer tercio de lactancia existe un mayor número de cuartos infectados

(Chasi, 2015, p. 66) Por el contrario encontró en su estudio realizado en Cayambe-Ecuador que los animales en la segunda etapa de lactancia presentaron mayor número de cuartos infectados esto se puede asociar a que la infección se puede presentar en cualquier periodo debido al mal manejo higiénico durante el ordeño y al no tratamiento de la ubre durante el periodo seco.

Por otra parte de acuerdo como se observa en el gráfico 4-3 donde se puede identificar el porcentaje de cuartos infectados de mastitis subclínica de acuerdo a la ubicación en la glándula, se determina que, los cuartos que presentaron mayor infección fueron: los posteriores, izquierdo con 44,83% y derecho con 34,48%, y con un porcentaje menor fueron los cuartos anteriores, derechos con 13,79% e izquierdos con 6,90%.





**Gráfico 4-3:** % de cuartos infectados de Mastitis Subclínica de acuerdo a la ubicación en la glándula mamaria del hato de la Estación Experimental Tunshi (ESPOCH)

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021.

Los cuartos posteriores al ser los más infectados seguramente se deba a la locomoción de los animales ya que al momento de trasladarse de un lugar a otro existe el golpe de los corvejones con las ubres, y a su vez por ser estos cuartos los que almacenan la mayor cantidad de leche a comparación de los anteriores.

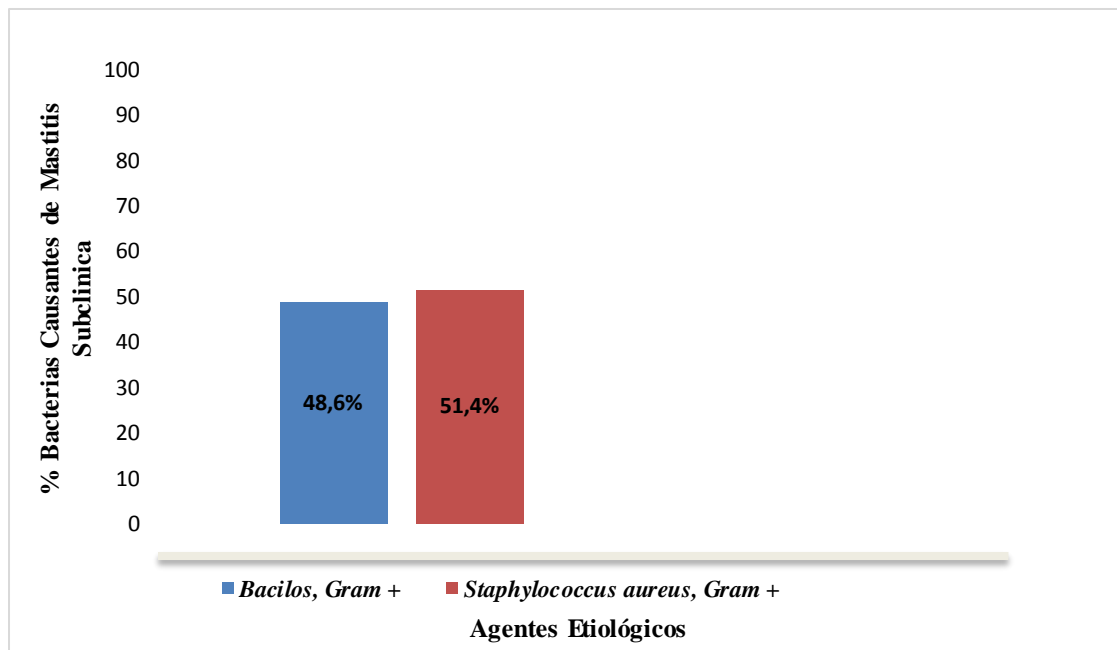
Pese a que (Homan, 2012, p. 63) afirma que la ubre de la vaca parece ser una unidad, está constituida por diferentes glándulas mamarias, o cuartos, que funcionan en forma independiente y cada uno expulsa leche a través de un pezón independientemente

Asimismo (Magariños, 2014, p. 93) manifiesta que los cuartos posteriores son más desarrollados y producen el 60% de leche con relación a los anteriores que secretan el 40% entonces se coincide con lo expuesto anteriormente ya que al ser más productores de leche están mayormente propensos a una infección por mastitis (Molina & Rivadeneira, 2017, p. 30) señalan que la causa de mastitis subclínica está influenciada por factores físicos como heridas ocasionadas por golpes, en este caso como se mencionó anteriormente es provocado por el golpe de los corvejones hacia las ubres al momento del traslado de los animales provocando infecciones e incrementando la posibilidad de entrada de bacterias patógenas a la glándula.

Finalmente (Padilla, 2007, p. 109) al evaluar dos métodos de diagnóstico de mastitis subclínica en la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH coincide con esta investigación al mencionar que los cuartos posteriores presentaron mayores índices de mastitis.

### 3.3. Identificación de bacterias Gram positivas y Gram negativas causantes de la mastitis subclínica %.

El análisis Bacteriológico para identificar las bacterias tanto Gram Positivas como Gram Negativas, causantes de la mastitis subclínica se realizó en el laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias, reportó que el 100% de las muestras obtenidas en las 14 vacas en producción son Gram Positivas como se puede observar en el grafico 5-3, de la misma manera al identificar el agente etiológico causante de la mastitis, se determinó el 51,4% son *Staphylococcus aureus* y el 48,6% corresponde a *Bacilos* sospechosamente.



**Gráfico 5-3:** Identificación de bacterias Gram positivas y Gram negativas causantes de la mastitis subclínica %.

Realizado por: Quilapanta Guaman Anabell, 2020.

Al ser *Staphylococcus aureus* Gram + el agente etiológico que posiblemente sea en su mayoría causante de mastitis subclínica en el hato de la Estación Experimental Tunshi probablemente se deba a que es un género de bacteria que se presentan con mayor frecuencia en la mayoría de explotaciones siendo un agente contagioso muy importante que probablemente este se disemine principalmente en el momento del ordeño, las pezoneras del equipo de ordeño, las manos del ordeñador.

(Yarder, 2017, p. 24) En concreto señala que la mastitis producida por agentes contagiosos cuyo principal o único reservorio que alberga los patógenos es la glándula mamaria bovina, su medio de transmisión es durante el ordeño es decir de vaca a vaca

Es así que (Gamboa &González, 2014, p. 23) manifiestan que en su mayoría las bacterias que causan esta enfermedad son Gram positivas del género *Staphylococcus aureus* con un 75% más que otras bacterias, asimismo (Corbellini, 2017, p. 2) en su investigación mencionan que en promedio se estima que sólo el 1 % de los cuartos mamaros de un hato tienen infecciones por bacterias Gram –, al contrario con una tasa del 35-50 % por bacterias Gram + en un mismo periodo de tiempo .

Coincidiendo con esta investigación (Bedolla & Cedeño, 2016, p.7) ratifican que aunque varios patógenos pueden causar la mastitis, *Staphylococcus aureus* es el primer agente etiológico en la mayor parte del mundo que es el más prevaleciente dentro de la glándula mamaria ya que es muy difícil de erradicar y causa pérdidas económicas considerables en la industria de la leche.

En relación con lo expuesto anteriormente (Méndez, 2014, p. 61) al realizar su investigación señala que, las bacterias patógenas encontradas en la leche procedente de la hacienda Tunshi, registraron mayor cantidad de Bacterias Gram Positivas que Gram Negativas, prevaleciendo entre estas el géneros *Staphylococcus* y grupo Bacilos coincidiendo estos datos con nuestra investigación tomando en cuenta que es una investigación realizada en el mismo lugar es así que nos podemos dar cuenta que a medida que pasaron los años la presencia de estas bacterias siguen siendo frecuentes esto puede ser porque son bacterias que son difíciles de erradicar

### 3.4. Cultivo de bacterias, UFC.

En base a lo detallado en la tabla 4-3 de la UFC, de vacas positivas a mastitis del hato de la Estación Experimental Tunshi realizado en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias se determinó que, un 51,4% son  $\beta$  hemolíticas con una coloración amarilla, un 48,6% no hemolítica de color crema con un tamaño de colonia mayor que oscila entre 4 a 6mm y un tamaño menor que esta entre 1 a 2mm, 100% tinción Gram +, lo que da paso a poder identificar sospechosamente una infección por *Staphylococcus aureus* según su morfología y *Bacilos*.

**Tabla 9-3:** Cultivo de bacterias UFC, del hato la Estación Experimental Tunshi FCP

N°	N° VACA	MUESTRA N°	COLOR COLONIA	HEMOLISIS	DIAMETRO DE COLONIA	TINCION GRAM	IDENTIFICACIÓN
1	544	C1	AMARILLO	(+)	3-4mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	2-4mm	GRAM(+)	Bacilos
2	617	C1	AMARILLO	(+)	1-2mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	Pequeñas e incontables	GRAM(+)	Bacilos
		C2	AMARILLO	(+)	4-3mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	4mm	GRAM(+)	Bacilos
3	605	C2	AMARILLO	(+)	1-2mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1mm	GRAM(+)	Bacilos
		C1	AMARILLO	(+)	2-3mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1mm	GRAM(+)	Bacilos
4	616	C2	AMARILLO	(+)	1-2mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1mm	GRAM(+)	Bacilos
		C1	AMARILLO	(+)	1mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	Pequeñas e incontables	GRAM(+)	Bacilos
5	631	C4	AMARILLO	(+)	1mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1-2mm	GRAM(+)	Bacilos
		C1	AMARILLO	(+)	3mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	2mm	GRAM(+)	Bacilos
6	618	C2	AMARILLO	(+)	Pequeñas e incontables	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	Pequeñas e incontables	GRAM(+)	Staphylococcus
		C1	AMARILLO	(+)	1-2mm	GRAM(+)	Bacilos
			CREMA	(-)	2-3mm	GRAM(+)	Staphylococcus
7	591	C2	AMARILLO	(+)	2-3mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1-2mm	GRAM(+)	Staphylococcus
		C1	AMARILLO	(+)	3-4mm	GRAM(+)	Bacilos
			CREMA	(-)	1mm	GRAM(+)	Staphylococcus
8	634	C2	AMARILLO	(+)	1mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1-2mm	GRAM(+)	Bacilos
		C1	AMARILLO	(+)	6-4mm	GRAM(+)	Bacilos
			CREMA	(-)	3-4mm	GRAM(+)	Bacilos
9	565	C4	AMARILLO	(+)	Pequeñas e incontables	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	2-3mm	GRAM(+)	Bacilos
		C1	AMARILLO	(+)	Pequeñas e incontables	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1-2mm	GRAM(+)	Bacilos
10	572	C2	CREMA	(-)	1-2mm	GRAM(+)	Bacilos

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021.

Posiblemente la presencia de hemólisis  $\beta$  en su mayoría dentro del cultivo bacteriano se deba a que la mayor parte sospechosamente son bacterias del género *Staphylococcus aureus* las mismas que dentro de sus característica presentan hemolisis cuando se cultiva en agar sangre, entonces de acuerdo a lo manifestado (Estrella & Cervantes, 2017, p. 3) coinciden con esta investigación al decir que las bacterias del género *Staphylococcus aureus* se presentan del

color amarillo o dorado debido a la producción de carotenoides y que la mayoría de cepas producen hemólisis  $\beta$  o una hemólisis total alrededor de las colonias sea este cultivado en agar sangre .

(Poveda, 2013, p. 9) En su manual de Prácticas de Microbiología Clínica de Veterinaria manifiesta que al hacer una observación de microbiota concuerda con que al ser colonias amarillas son  $\beta$  hemolíticas que de acuerdo a su morfología estas podrían ser *Staphylococcus aureus*.

Es así que (Sevilla, 2016, p. 2) indica que la hemólisis beta se refiere a un halo de hemólisis completamente claro y la hemólisis gama se refiere a la ausencia de hemólisis, produciéndose esta hemólisis por los organismos hemolíticos que liberan enzimas llamadas hemolisina al medio lo que provocan la destrucción de los glóbulos rojos y por ende aparecerá halos completamente transparentes al contrario de los no hemolíticos que hay ausencia de halos porque no se dio destrucción de glóbulos rojos .

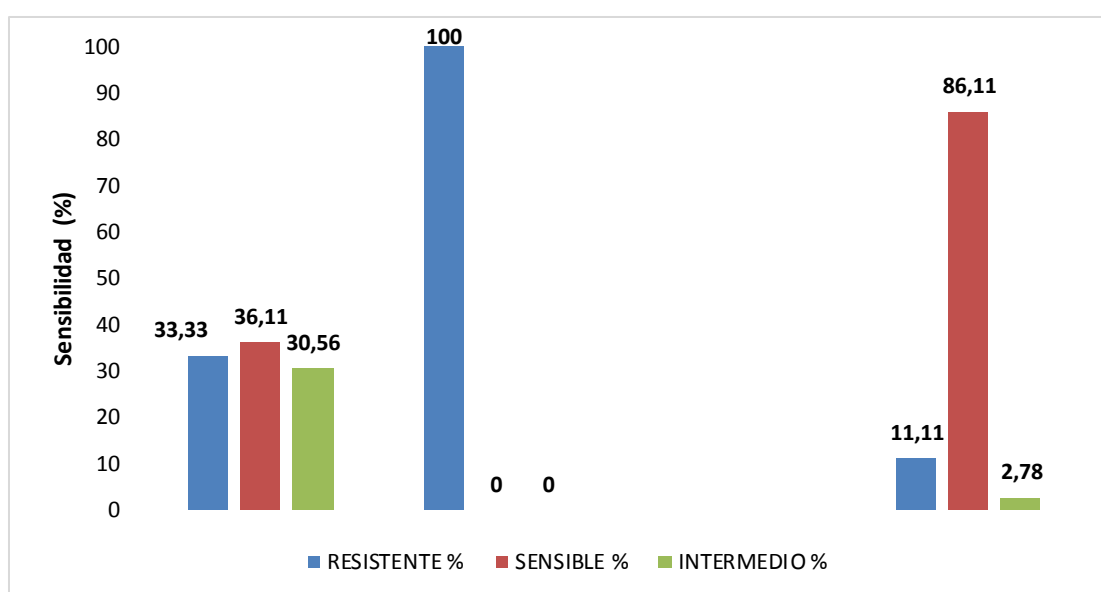
De acuerdo al tamaño de colonias existe una variabilidad tal como señala la revista ( Latinoam Patol Clin Med Lab, 2014, p. 9) Ya que en los medios de cultivo tradicionales la mayoría de las especies crecen después de incubarse durante 18-24 horas, formando colonias que están entre 0.5-1.5 mm de diámetro tal es el caso de esta investigación donde efectivamente el diámetro de las colonias fueron muy variadas teniendo diámetros sumamente pequeños hasta diámetros que alcanzaron los 6mm.

De esta manera (Neira & Merchan, 2019, p. 14) en su investigación realizada en mastitis concuerdan con nuestra investigación ya que el porcentaje de hemólisis-  $\beta$  es el 60% y no hubo hemólisis en un porcentaje mucho más bajo del 30 % al contrario del trabajo realizado por (Younis, 2017, p. 7) donde se encontró hemólisis alfa en el 90 % de los aislamientos y hemolisina beta en el 85,45 % y solo el 9,09 % de las cepas no fueron hemolíticas.

De esta manera se puede afirmar que la variación de este tipo de factores de virulencia podrían ayudar a desempeñar un importante papel en la patogénesis de la mastitis, lo cual indica que es necesario para el establecimiento de *Staphylococcus aureus*, en la glándula mamaria.

### 3.5. Antibiograma del cultivo, %.

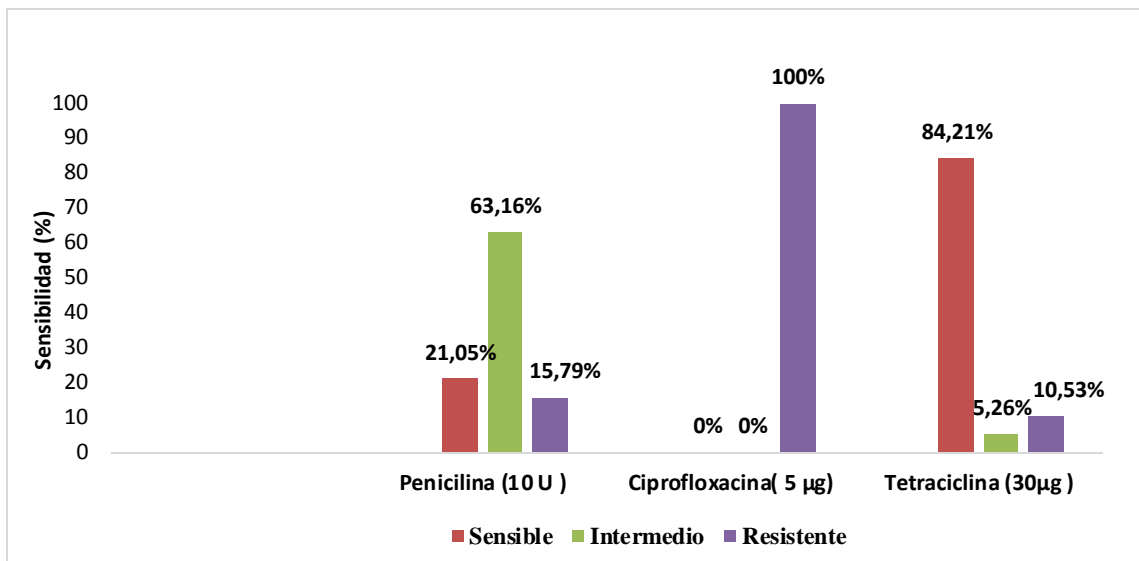
Como se observa en el gráfico 6-3 del análisis de sensibilidad para bacterias Gram+ aisladas en el presente estudio mediante el método de Kirby - Bauer del hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH, de una manera general se determinó que el 100% de las muestras presentaron resistencia a Ciprofloxacina a comparación del 33,33% con Penicilina y apenas el 11,11% con Tetraciclina, así mismo la sensibilidad fue de 86,11% con Tetraciclina, 36,11% con Penicilina y un valor del 0% con Ciprofloxacina por ultimo con un valor intermedio de 30,56% ,2,78% y 0% para Penicilina ,Tetraciclina y Ciprofloxacina respectivamente.



**Gráfico 6-3:** Análisis de Sensibilidad (%) para Bacterias Gram+ mediante el método de Kirby Bauer, del hato de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH.

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021.

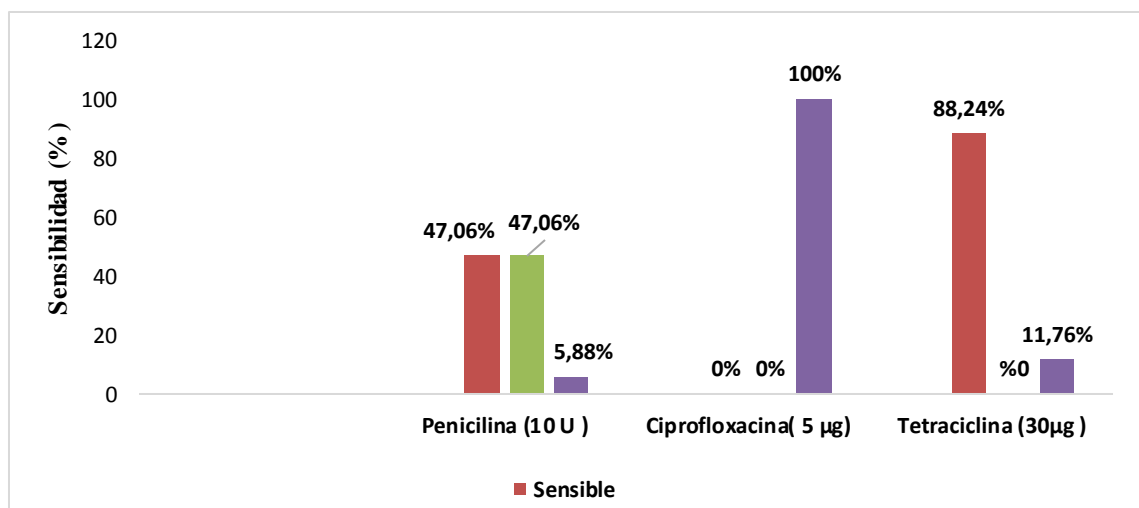
Sin embargo al separar por bacterias los resultados fueron tal como se señala en el gráficos 7-3 para *Staphylococcus aureus* aislado en esta investigación se determinó que, el 15,79% de las muestras presentan resistencia a penicilina ,100% en ciprofloxacina y 10,53% en Tetraciclina, de igual manera se determinó que hay una sensibilidad en el hato de 21,05% con penicilina, 0% con ciprofloxacina y 84,21% con tetraciclina, además un valor intermedio de 63,16% ,0%, 5,26 % con penicilina, ciprofloxacina y tetraciclina respectivamente.



**Gráfico 7-3:** Análisis de sensibilidad % para *Staphylococcus aureus* mediante el método de Kirby –Bauer, del hato de la Estación experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH

Realizado por: Quilapanta Guaman Anabell, 2021.

De la misma manera al observar el gráfico 8-3 del análisis de sensibilidad para *Bacilos* del hato de la Estación Experimental Tunshi se determinó que, el 5,88% de las muestras presentan resistencia a Penicilina, 100% en Ciprofloxacina y 11,76% en Tetraciclina, igualmente se determinó que hay una sensibilidad en el hato de 47,06% con penicilina, 0% con ciprofloxacina y 88,24% con tetraciclina, además un valor intermedio de 47,06%, 0%, 0% de penicilina, ciprofloxacina y tetraciclina respectivamente.



**Gráfico 8-3:** Análisis de sensibilidad % para *Bacilos* mediante el método de Kirby – Bauer, del hato de la Estación experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH

Realizado por: Quilapanta Guaman Anabell, 2021.

Es así que tal como se detalla en los gráficos la mayor sensibilidad encontramos con tetraciclina seguidamente de penicilina esto posiblemente se deba a que son medicamentos que se han suministrado de una manera adecuada o a su vez no se suministra con frecuencia dentro de la explotación .

Coincidiendo con nuestra investigación (Casellas, 2016, p. 9) menciona que, para que no exista una resistencia antibiótica cuando se suministre el medicamento este debe ser aplicado como esta en el instructivo sin interrumpir el tratamiento, en cuanto a resistencia antibiótica podemos observar que dentro del hato existe una alta resistencia a ciprofloxacina, al contrario hay investigaciones como la de (Valero, 2014, p. 41) donde mencionan que el mayor porcentaje de resistencia se presentó frente a penicilina con un 12,4% seguido por 4,9% a ciprofloxacina esto se puede deber a que el uso de antibióticos en cada explotación ganadera depende del criterio de los técnicos responsables.

A pesar de que (Lämmler & Castañeda 2011, p.1) manifiesta que la penicilina ha sido el tratamiento de elección para la mastitis bovina desde hace muchos años las investigaciones realizadas a nivel mundial reportan esta resistencia como la más común, ya que en su mayoría la presencia de *Staphylococcus aureus* posiblemente es causante de mastitis, (Pellegrino, 2017, p. 14) señala que este tipo de microorganismos perduran su infección por más tiempo que el resto y por ende ha tomado mayor resistencia a nivel mundial pudiéndonos dar cuenta que posiblemente esto se deba a que dentro de la Estación Experimental Tunshi el tratamiento para mastitis no siempre es Penicilinas sino en su lugar se busca alternativas.

La resistencia a ciprofloxacina dentro del hato puede estar vinculado a distintos factores a pesar de que es un antibiótico que no se ha usado como factor terapéutico en los últimos años en la estación , probablemente una de las causas pueden ser por la contaminación del agua con restos de antibióticos que provienen de otras explotaciones que atraviesa el proyecto de riego Chambo-Guano según (Porter et al.,2015, p.1986) menciona que la excreción renal es la vía principal de eliminación en las Quinolonas la misma que puede ser en concentraciones elevadas durante las primeras 24 horas de administración



Pudiéndonos dar cuenta con esta afirmación que al ser un antibiótico excretado por la orina los restos de antibióticos serían llevados hacia el agua causando contaminación (Martínez, 2018, p. 12) señala que no solo la presencia de altas concentraciones de antibióticos causa resistencia sino también la presencia de estos durante largos periodos de tiempo en concentraciones bajas.

### **3.6. Costo del cultivo y antibiograma.**

Resulta conveniente realizar un análisis de laboratorio porque de esta manera se ayudara a determinar que agente antimicrobiano será capaz de inhibir el crecimiento de bacterias u hongos causantes de la infección y los resultados de estas pruebas ayudaran a establecer el tratamiento más efectivo frente a la infección como manifiesta (Morales, 2014 pág. 31)

Según (Noriega, 2019 pág. 12) el momento oportuno de realizar un antibiograma debe ser cuando una muestra biológica relacionada con un proceso infeccioso se aislé perfectamente un microorganismo responsable de dicho proceso. De esta manera en base a los resultados el técnico encargado tendrá la facilidad de crear protocolos terapéuticos eficaces para la incidencia de enfermedades presentes en la explotación tomando en cuenta que un antibiograma se lo puede realizar por lo menos una vez al año dependiendo de la respuesta a los tratamientos terapéuticos que se esté utilizando

La importancia de los rubros para realizar un análisis de laboratorio es de igual prioridad que cualquier otro dentro de la explotación es así que realizar un análisis de laboratorio resulta beneficiosos para la explotación ya que gracias a ello se evitara el uso de tratamientos inadecuados e indiscriminados de fármacos disminuyendo así la resistencia a antibióticos.

Al realizar un análisis de costos de laboratorio del valor unitario por muestra tal como se observa en la tabla 10-3 se llegó a determinar que es de \$2,34 USD que resulta ser un valor beneficioso y conveniente para la explotación ayudando así a poner en marcha las buenas practicas ganaderas .

**Tabla 10-3:** Análisis de costos del cultivo y Antibiograma por Muestra.

<b>Producto</b>	<b>Unidad</b>	<b>Cantidad</b>	<b>Precio Unitario</b>	<b>Total</b>
<b>Reactivos</b>				
Agar Mueller Hinton	g	0,76	0,11	0,11
Agar Columbia	g	0,63	0,44	0,44
Agua Destilada	ml	35	0,03	0,03
Quit de Tinción	ml	1	0,05	0,14
<b>Insumos</b>				
Cajas Petri	U	3	0,25	0,75
Porta Objetos	U	1	0,05	0,05
Cubre Objetos	U	1	0,05	0,05
Hisopos	U	3	0,02	0,02
Discos Antibiótico	U	3	0,25	0,75
<b>TOTAL POR MUESTRA</b>	\$			<b>2,34</b>

**Realizado por:** Quilapanta Guaman Anabell, 2021.

## CONCLUSIONES

- Al evaluar la incidencia de mastitis subclínica dentro del hato de la Estación Experimental Tunshi el mejor método de diagnóstico resultó ser California Mastitis Test (CMT) ya que fue el más sensible a comparación de Milk Checker y Draminski tomando en cuenta que CMT es un método cualitativo por ende sus interpretaciones serán valorados según la experiencia del productor .
- Al efectuar el cultivo bacteriológico se identificó dos tipos de agentes etiológicos causantes de mastitis subclínica siendo estos *Bacilos Gram +* y sospechosamente en su mayoría *Staphylococcus aureus* no hemolíticas y  $\beta$  hemolíticas respectivamente.
- Después de haber realizado un antibiograma se determinó que existe sensibilidad a Tetraciclina seguida de Penicilina siendo estas opciones para tratamientos antibióticos dentro de la Estación a excepción de la Ciprofloxacina que presentó resistencia, debiendo evitar realizar tratamiento farmacológico con este producto.

## RECOMENDACIONES

- Implementar un mejor sistema de captación y filtración de agua de bebida para los animales y realizar un control de agua mediante un antibiograma para verificar la presencia o no de antibióticos producto de residuos de otras explotaciones.
- Reforzar las prácticas de manejo dentro del sistema de ordeño para así evitar la transmisión de microorganismos causantes de mastitis subclínica de una vaca a otra.
- Se recomienda utilizar los equipos de diagnóstico de acuerdo a las necesidades de cada explotación tomando en cuenta el precio de adquisición y tamaño del hato.
- Realizar pruebas de laboratorio que ayuden a identificar de manera más específica el agente causal de la mastitis para así buscar un tratamiento preciso con antibióticos que inhiban el tipo de bacteria encontrada.
- Se recomienda realizar un antibiograma por lo menos una vez al año para de esta manera poder realizar tratamientos adecuados evitando crear resistencia a cierto tipo de antibióticos, tomando en cuenta que también reduciríamos gastos innecesarios

## **BIBLIOGRAFÍA**

**ACUÑA, Lorena ; & RIVADENEIRA , Patricia.** Aislamiento, identificación y antibiograma de patógenos presentes en leche con mastitis en ganaderías bovinas de la provincia de Pichincha. *Departamento de Ciencias de la Vida Carrera de Ciencias Agropecuarias.* Pichincha. 2008, pp.71-72.

**AGUILAR, Amanda.** *Prevalencia de mastitis subclínica.* 1ª ed. Estado de Jalisco-Mexico .2014 ,p.4.

**AGUILAR, F ; & ALVAREZ, A.** *Principales agentes infecciosos de la Mastitis Bovina.* Mastitis Bovina. Machala- Ecuador : UTMACH, 2018.p.

**ÁLVAREZ, Carlos.** *Mastitis Bovina.* Machala - Ecuador .2018, ISBN. 978-9942-24-131-3,p.19.

**ANUPCO.** Medicina Veterinaria.[En línea], 2018. [Consulta:21 noviembre 2020]. Disponible en <http://www.nuttropic.com/productos/medicina-veterinaria-anupco.html>.

**ARICHAVALA, Nicolas. ; & ARGUDO, Daniel .** *El empleo de la ozonoterapia en ganadería de leche como alternativa de tratamiento para la mastitis clínica.* Universidad de Cuenca. . Ecuador - Cuenca : 2012.p.70.

**AVILA, Saul. .** *Mastitis, Diagnostico, Tratamiento y Control.* Producción de Ganado Lechero. México : 2016.p.4.

**BARRERA, Juan .** "Agentes etiológicos de mastitis bovina en municipios con importante producción lechera del departamento de boyacá". *Revista Investigación en Salud Universidad de Boyacá*, vol.23, (2016),( Colombia- Boyacá) p.2.

**BARRERO, Laura.** *Microbiología clínica.* España :Sintesis, 2016. ISBN,978-84-9077-318-5.p.43

**BARRIENTOS, Dina.** *Evaluación de las buenas prácticas de ordeño en pequeños productores de leche proveedores a la planta lechera "La Victoria" .* Huayao – Chupaca : 2017, pp.26-28

**BEDOLLA, Camilo .** *Métodos de detección de la mastitis bovina.* Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia - Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. México : 2004,pp.3-8.

**BERNAL, Róman.** Evaluación del efecto de la ozonoterapia en perros con problemas de dermatitis bacteriana en la ciudad Cuenca Provincia del Azuay (Trabajo de Titulación) (Licenciatura). Universidad Politécnica Salesiana ,Cuenca - Ecuador . 2014.pp.28-33.

**BERNAL, Maye ; & GUZMAN, Miguel.** "El Antibiograma de Discos" *Normalizacion de la Tecnica de Kirby Bauer*, Vol. 4, 2007. p.113.

**BLOWEY , R; & EDMONSON, P.** *Control de la mastitis en granjas de vacuno de leche.* Zaragoza. : Alba, 1995, p.208.

**BOLAÑOS, F.** *Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico .* Colombia-Bogotá : Redvet, 2012, p.11.

**BOSCAN , J ; & VALERIS, R.** *Diagnóstico y Prevención de Enfermedades en la Ganadería Doble Propósito.* Mastitis Bovina, 2010.p.207.

**BRITANIA.** Columbia Agar Base. [En línea] 2019. [Citado el: 8 de Noviembre de 2020.] Disponible en [www.britanialab.com](http://www.britanialab.com).

**CAMACHO, Cesar .** *Texto de Enfermedades Bacterianas II.* Riobamba - Ecuador : 2017, pp.15-16.

**CASELLAS, J.** "Resistencia a los antibacterianos en América Latina - consecuencias para la infectología". *Rev Panam Salud Publica.* Panamá : 2016.p. 9.

**CERVANTES, Patricio ;et al.** *Actas Iberoamericanas en Conservación Animal.* Aislamiento de patógenos causantes de Mastitis Subclínica en vacas del Trópico húmedo de Veracruz.. México : Anagrama., 2017.pp.2-3.

**CHASI, I. ; & RODRIGUEZ , G.** Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de California Mastitis Test con identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la comunidad de Muyurco Cayambe. (Trabajo de Titulación) (Medico Veterinario).Universidade Central del Ecuador, Quito - Ecuador . 2015.p.66

**CORBELLINI, Carlos.** *La mastitis bovina y su impacto sobre la calidad de la leche . (INTA).* España , 2017.pp.2-3.

**CORONEL, G ; & ESPINOZA, B.** Prevalencia de mastitis subclínica en ganado bovino lechero de la zona.(Trabajo de Titulación)( Médico Veterinario Zootecnista).Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca- Ecuador , 2017.p.49.

**CORREA, Javier.** Código de buenas practicas de producción de leche de Colombia. [En línea] 2017. [Citado el: 8 de Noviembre de 2020.] Disponible en [hjcc\\_unal@hotmail.com](mailto:hjcc_unal@hotmail.com)

**DE LA CRUZ , Gonzalo.** Presencia de Echerichis Coli en Cria de Alpacas ( Vicugna Pacos ) en la Zona de Lachocc.(Trabajo de Titulación) (Ingeniería de Zootecnia). Universidad Nacional de Huancavelica, Huancavelica. - Perú, 2012.p.34

**DURAN , Juan ; & DUARTE, Sergio.** Diseño y Aplicacion de un Programa de Buenas Prácticas de Ordeño para Mejorar la Calidad Higiénica de la Leche en Hatos de la Sabana Bogota.(Trabajo de Titulación) (Ingeniero Zootecnista.). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá , 2019.p.37.

**ECHEVERRIA, H; & RESTREPO, G.** Determinacion de la prevalencia de mastitis mediante la prueba California Mastitis Test e Identificacion y Antibiograma del agente. (Trabajo de Titulación) (Ingeniería Zootécnica.) Universidad Estatal de Milagro. El Chaco - Napo , 2014.p.58.

**FEDEGAN.** Buenas Prácticas Ganaderas. *Federación Colombiana de ganaderos.* [En línea] 2015. [Citado el: 10 de Enero del 2021.] Disponible en <http://www.fedegan.org.co/programas/buenas-prácticas-ganaderas.p.17>

**FERNÁNDEZ, Celia; et al.** *Guia de Laboratorio de Microbiología.* Pontificia Universidad Católica del Ecuador. Guayquil - Ecuador ;, 2014.p.

**FIERRO, Andres.** *Ozonoterapia en Medicina Veterinaria.* Vademécum Veterinario, 10ma Edición , Grupo Edifarm., 2006.p.1

**GARCIA, K ; & GONZALES, J.** *Latinoam Patol Clin Med Lab,* EEUU ,2014.pp. 28-40

**GONZALES, P.** *Buenas Prácticas de Ordeño.* Perú : Cáritas del Perú ,2015, ISBN 2015-15595,p.17.

**GONZÁLEZ DE LA CRUZ.** Correlación de los métodos california mastitis test (CMT), conductividad eléctrica (CE) y conteo de células somáticas (CCS). (Trabajo de Titulación)

( Tesis para obtención de Título de Ingeniero Agropecuario.) Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. Ecuador - Quito , 2012.p.19



**GUÍZAR, J; & CEDEÑO, B** . "Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California". *REDVET. Revista electrónica de Veterinaria*. [En línea] 2016. [Citado el: 12 de Enero del 2021] Disponible en <https://www.redalyc.org/pdf/636/63617098002.pdf>. 1695-7504.

**HENRIQUEZ , O; & PELÁEZ, J**. Uso de Ozonoterapia para el tratamiento de Mastitis Subclínica en Bovinos. *Universidad Católica de Santiago de Guayaquil Ecuador*. . Guayaquil - Ecuador : T-UCSG-POS-MSPA-3., 2012.

**HOGAN, J; et al.** . *Laboratory Handbook on bovine mastitis*. National Mastitis Council. . Estados Unidos ,1999.p.41.

**HOMAN, Junith ; & WATTHIAUS, Mauricy**. *Guía técnica lechera Lactancia y Ordeño*. Instituto Babcoch para la Investigación y Desarrollo Internacional para la Industria Lechera . Wisconsin - USA , 2012.p.63.

**INSAVET**. *Detector de Mastitis Subclínica* . Montevideo, Uruguay. : Ricaldoni, 2016. ISBN 1692 - 201, p.4.

**JARAMILLO, Juan**. Implementación de buenas prácticas ganaderas en el hato lechero hacienda palo blanco en el municipio de Ebéjico. (Tesis de Pregrado) ( Médico Veterinario) . Antioquia. : Corporación Universitaria Lasallista., 2016, p.18.

**JIMÉNEZ ; & TIMÓN** . *Mastitis causada por Streptococcus uberis*. Frisona ,Española N°156. España- Barcelona , 2016.p.87.

**JUÁREZ, B ; & MOSCOSO, J**. *Buenas practicas de ordeño- Buenas prácticas en el manejo de la leche (FAO)*. Guatemala , 2011.p.7

**LEIVA, S**. Implementación de las buenas prácticas ganaderas en la institución educativa rural departamental Agua Bonita del municipio de Silvania, departamento de Cundinamarca .(Tesis de pregrado) ( Ingeniería Zootecnica ) Universidad Estatal de Colombia , Colombia, 2016.p.21.

**LITTER, M.** *Compendio de Farmacología; Sulfonamidas y otros quimioterápicos*; 4ta Edición. Buenos Aires - Argentina; : El Ateneo, 2001.p.292.

**LOPEZ, H.** *Enfoque biotecnológico.sn. Mastitis Bovina.* Cali - Colombia :Acantilado , 2011.p.228.

**MADIGAN , M ; et al.** *Biology of Microorganisms.* 10th Edition. U.S.A : Prentice Hall, 2003.p.5.

**MAGARIÑOS, H.** *Producción Higiénica de la Leche Cruda.* Una Guía para la Pequeña y Mediana Empresa. Chile :Alianza , 2014.p.93.

**MARTINEZ, B.** *Grupo de Investigación en Contaminación Biológica Agua.* Papel del agua en la resistencia de antibioticos: *IMDEA*, 2018.p.12

**MARTÍNEZ, C.** Mastitis y sus causas predisponentes. [En línea] 2014. [Citado el: Noviembre de 3 de 2020.] Disponible en <http://merlassino.blogspot.com/2014/11/martinez-celeste-soledad-mastitis-y-sus.html>.

**MEDINA, C; & MONTALVO, D.** El uso de la prueba de conductividad eléctrica y su relación con la prueba de California para Mastitis. . *Congreso Nacional de control de Mastitis.* Aguas Calientes, México. 2003.p.29.

**MÉNDEZ, J.** Proceso de implementación de buenas prácticas ganaderas en la en la hacienda La Esperanza del municipio de Rionegro departamento de Santander. ( *Tesis de Pregrado* ) ( *Ingeniería Zootécnica*) *Universidad Cooperativa de Colombia.* Colombia - Bucaramanga , 2015.p.

**MENDOZA, P.** Evaluación de Dos Dosis de Ozono en el Tratamiento de Mastitis Bovina.(Trabajo de Titulación) ( Médico Veterinario Zootecnista), *Universidad Central del Ecuador Facultad de Medicina Veterinaria.* Ecuador - Quito , 2015.pp. 32-26

**MENDOZA, J; et al.** "Prevalencia de mastitis subclínica, microorganismos asociados y factores de riesgo identificados en hatos de la provincia de Pamplona, norte de Santander" *Rev Med Vet Zoot.* , Vol. 64, (2017) ,España p.2.

**MORALES, W ; & RUIZ, D.** Efectividad del Nosodes Homeopático DH10 para el control de mastitis subclínica bovina. (tesis pregrado) ( Médico Veterinario Zootecnista).*Universidad Nacional Agraria,* . Managua- Nicaragua , 2017.p.15.

**MURILLO, Y.** *The routine of milking in the prevalence of subclinical mastitis in dairy.* MASKANA , Producción Animal -.UC Facultad de Ciencias Agropecuarias . 2017.p.41

**NIETO, I.** *Farmacocinética y depleción de residuos de tilosina en truchas (Oncorhynchus Mykiss)* . Universidad Complutense de Madrid. Madrid- España : 2016.p.29.

**OGATA, A ; & NAGAHATA, H.** Intramammary application of ozone therapy to acute clinical mastitis in dairy cow. *Journal of Veterinary Medical Science.* 2000. p.13.

**OROZCO, J.** Implementación de buenas prácticas ganaderas a los productores de leche del municipio de Cerinza Boyacá. *Universidad Cooperativa de Colombia.* . Colombia : , 2015.p.11.

**ORTIZ, Tatiana; et al .** *Manual de Buenas Prácticas de Ordeño.* Medellín - Colombia : Biogénesis, 2014. ISBN 978 958 8848 887.p. 21.

**PADILLA, J.** Evaluación de dos métodos de diagnóstico y tres tratamientos de la mastitis subclínica en bovinos de la Estación Experimental Tunshi de la FCP-ESPOCH ( Trabajo de Titulación) ( Ingeniero Zootecnista ) . Riobamba- Ecuador , 2007.pp.75-109.

**PCE Ibérica S.L.** . Medidor de mastitis Milk Checker. [En línea] 2019. [Citado el: 24 de Febrero del 2021.] Disponible en <https://www.pce-iberica.es/medidor-detalles-tecnicos/instrumento-higiene/medidor-mastitis-milk-checker.htm>.

**PEDRIQUE, M.** *Determinación De La Sensibilidad De Las Bacterias A Los Antibioticos – Antibiograma.* Microbiología General . 2002.p.16.

**PELLEGRINO, M** . "Mastitis Bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de Staphylococcus aureus aisladas de leche". *Revista Eletronica de Veterinaria.* EEUU , 2017.p.14.

**PEREYRA, E ; et al.** "Aspectos de la respuesta inmune innata en las infecciones intramamarias causadas por Staphylococcus aureus en bovinos." *Revista Argentina de Microbiología.*, Argentina , 2014.p.45.

**PÉREZ, F.** *Farmacología veterinaria.* : Universidad de Concepción. Facultad de Ciencias Veterinarias. Departamento de Ciencias Clínicas, Chile, 2010. ISBN 9568029508. p.275.

**PHILPOT, W; & NICKERSON, S.** *Vencendo a Luta Contra a Mastite.* . Brasil , 2002.

**POVEDA, Juan** . *Manual de Microbiologia Clinica.* Quito -Ecuador , 2013.p.9.

**PRADO, M** . *Mastitis Bovina.* Venezuela : SERVET, 2019. ISBN 978-84-16315-34-5.p.10.

**PYÖRÄLÄ, S.** El Tratamiento de la Mastitis Durante la Lactancia. *Universidad de Helsinki, Facultad de Medicina Veterinaria, Departamento de Medicina de la Producción Animal, Pohjoinen..* Saarentaus, Finland ISBN 800 FI-04920 , 2016.p.1.

**RADOSTITS, P.** *Medicina Veterinaria.- Mastitis Bovina.* Madrid - España : Mcgraw-hill. 9ª Edición, 2016, p.716

**REYES, A; & ARGÜELLO, J** . Estudio comparativo entre los métodos diagnósticos para mastitis subclínicas, California Test y DRAMINSKI 4Q en vacas Jersey (Trabajo de Titulación) ( Medico Veterinario Zootecnista ) Universidad Central de Nicaragua, Diriamba-Carazo. Nicaragua , 2015.p.15.

**RIVERA, A** . Determinación de la Prevalencia de Mastitis Subclínica en ganado Reyna, Rancho Los Peiranos Nandaime, Granada.( Tesis de Pregrado ) ( Ingeniero Zootecnista ) . *Universidad Nacional Agraria*. Managua, Nicaragua., 2014.p.9.

**ROMERO, Rocío**. *Mastitis bacteriana en ganado bovino: etiología y técnicas de diagnóstico* . Departamento de Medicina y Zootecnia de Rumiantes,. Mexico , 2016.pp.1-2.

**RUEGG, P** . *Secreción de Leche y Estándares de Calidad*. Universidad de Madison Wisconsin. USA , 2017.p.68.

**RUIZ ,A ; et al.** " Prevalencia de Mastitis Bovina Subclínica y Microorganismos Asociados. Comparación entre Ordeño Manual y Mecánico, en Pernambuco " Brasil. *Revista de Salud Animal*, Vol. 33, 2011, Brasil,p.9.

**SEVILLA, Juan**. *Bacteriología Clínica*. España , 2016.p.2.

**SUAREZ, I** . Evaluación de Dos Tratamientos Alternativos para la Mastitis Subclínica en Vacas Utilizando Ozono. (Tesis de Grado) (Ingeniera Zootecnista). Riobamba - Ecuador , 2013.p.32.

**SUMANO, H ; & GUTIERREZ, L**. Bases farmacológicas del tratamiento de la mastitis. Conferencia Internacional sobre ganado lechero. [En línea] 2014. [Citado el: Noviembre de 3 de 2020.] Disponible en [http://www.cigal.biz/boletin/abril\\_14.html](http://www.cigal.biz/boletin/abril_14.html).

**TAFUR & NIETO** . *Las Buenas Prácticas Ganaderas en la Producción de Leche*. Bogotá D.C, 2011.p.32

**URIBE, G; et al .** Buenas Prácticas Ganaderas. Proyecto Ganadería Colombiana Sostenible. GEF, BANCO MUNDIAL, FEDEGÁN, CIPAV, FONDO ACCIÓN, TNC. Bogotá, Colombia : 2011. pp.82-83.

**VAL, D .** Presentación de la coloración Gram. 2005.

**VALDIVIESO, J; & BALLESTEROS, H.** Estudio de la problemática epidemiológica de la mastitis bovina en el cantón Cayambe.( Trabajo de Titulación) (Tesis de Licenciatura Universidad Central del Ecuador. 2018.p.54.

**VALERO, J; & OLIVARES,K.** *Susceptibilidad a los agentes antimicrobianos en cepas de staphylococcus aureus aisladas en leche de bovinos con mastitis subclínica y leche de tanque.* Venezuela , 2014. Vol. 20. ISBN 0798-2259. p.41.

**VELASQUEZ, G. 2019.** *Tratamiento de mastitis subclínica en vacas holstein utilizando agua ozonizada y antibioticos.* Puno - Perú , 2019.p.63

**VÉLEZ, M. 2016.** Producción de ganado Lechero en el Tropico. *Escuela Agrícola Panamericana.* Egucigalpa, Honduras. , 2016.p.63

**WOLTER, W ; et al.** *La Mastitis Bovina Instituto Estatal de Investigaciones de Hesse.* Guadalajara -Mexico. : I.E.I. Hesse, Marburgerstrasse , 2004. ISBN D-35396 .p.16

**YARDER, L. 2016.** *Terapia de Control de la mastitis en bovinos.* Ambato - Ecuador , 2016. p.3.

**YOUNIS, A; & SHABANA, B.** *Phenotypic and molecular characterization hemolysins of Staphylococcus aureus isolated from mastitic cow's milk in Egypt* : Alfaguara, 2017.p.7.

## ANEXOS

### Anexo A. Recolección de datos de campo

			DRAMINSKI				MILSHEIKER				CMT				
			CUARTOS MAMARIOS												
VACA	MUESTRAS		C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	
ANEXO 1	503	MAÑANA	R1	300	330	350	340	7,1	7	5,6	5,4	TRAZAS	TRAZAS	N	N
		TARDE	R2	310	360	340	340	6,4	6,4	5,9	5,6	TRAZAS	TRAZAS	N	N
		MAÑANA	R3	310	340	340	320	7,3	6,7	6,1	6,4	X	X	N	N
		TARDE	R4	270	280	300	280	3	6,4	6,1	6,1	X	X	N	N
ANEXO 2	544	MAÑANA	R1	370	370	350	360	6,4	6,1	5,6	5,6	X	N	N	N
		TARDE	R2	370	380	370	390	6,4	6,1	5,6	5,6	X	N	N	N
		MAÑANA	R3	340	340	360	350	6,7	6,2	5,9	5,9	X	N	N	N
		TARDE	R4	350	360	360	380	6,4	6	5,6	5,3	X	N	N	N
ANEXO 3	617	MAÑANA	R1	390	380	440	400	6,2	6	5,7	5,6	TRAZAS	TRAZAS	N	N
		TARDE	R2	370	350	410	370	6,3	6,1	5,8	5,4	TRAZAS	TRAZAS	N	N
		MAÑANA	R3	350	380	370	380	6,1	5,8	5,4	5,6	X	TRAZAS	N	N
		TARDE	R4	370	380	340	360	6,2	6	5,6	5,6	X	TRAZAS	N	N
ANEXO 4	587	MAÑANA	R1	370	380	390	380	6,4	6,4	5,9	5,4	TRAZAS	TRAZAS	N	N
		TARDE	R2	370	370	370	390	5,9	5,6	5,6	5,3	TRAZAS	TRAZAS	N	N
		MAÑANA	R3	340	320	360	360	6,1	5,9	6,1	5,5	X	X	N	N
		TARDE	R4	320	330	350	350	6,9	5,6	6,1	5,3	X	X	N	N
ANEXO 5	605	MAÑANA	R1	350	330	340	330	7,3	7	3,1	6,1	X	X	N	N
		TARDE	R2	370	360	360	350	6,9	6,6	5,6	5,6	X	X	N	N
		MAÑANA	R3	330	310	330	320	7,3	7	5,9	5,9	X	X	N	N
		TARDE	R4	290	310	290	290	6,7	6,4	5,9	5,9	X	X	N	N
ANEXO 6	616	MAÑANA	R1	260	370	360	370	6,7	6,4	6,1	6,7	TRAZAS	TRAZAS	N	X
		TARDE	R2	360	350	360	360	6,6	6,3	5,9	6,4	TRAZAS	TRAZAS	N	X
		MAÑANA	R3	250	340	350	350	6,7	6,4	5,9	6,6	TRAZAS	TRAZAS	N	X
		TARDE	R4	360	360	360	360	6,5	6,2	5,9	6,5	TRAZAS	TRAZAS	N	X
ANEXO 7	631	MAÑANA	R1	370	350	360	320	6,7	5,8	5,9	7	X	N	N	XX
		TARDE	R2	340	340	340	320	6,2	5,9	5,6	6,3	X	N	N	XX
		MAÑANA	R3	340	360	350	310	6,4	6,1	5,6	7,3	X	N	N	XX
		TARDE	R4	330	340	310	350	6,7	6,1	5,9	6,3	X	N	N	XX
ANEXO 8	618	MAÑANA	R1	330	320	330	330	7	7	5,4	6,1	XX	XX	N	N
		TARDE	R2	350	360	360	270	6,7	6,9	5,6	5,6	XX	XX	N	N
		MAÑANA	R3	330	320	340	330	7,3	6,7	6,1	6,1	XX	XX	N	N
		TARDE	R4	320	330	320	330	6,7	6,5	6,1	6,1	XX	XX	N	N

**Continuación del ANEXO A:**

ANEXO 9	630	MAÑANA	R1	350	340	350	340	6,1	6,1	5,6	5,9	N	N	N	N
		TARDE	R2	320	320	330	330	6,1	5,9	5,9	6,1	N	N	N	N
		MAÑANA	R3	340	340	340	350	6,1	6,1	6,1	6,1	N	N	N	N
		TARDE	R4	340	340	330	330	5,9	5,9	5,9	5,9	N	N	N	N
ANEXO 10	591	MAÑANA	R1	310	320	320	330	6,7	6,4	6,1	6,1	TRAZAS	X	N	N
		TARDE	R2	330	310	320	320	6,5	6,9	5,6	5,6	TRAZAS	X	N	N
		MAÑANA	R3	320	330	320	330	7,3	6,7	6,1	6,1	TRAZAS	X	N	N
		TARDE	R4	300	310	320	330	6,7	6,5	6,1	6,1	TRAZAS	X	N	N
ANEXO 11	634	MAÑANA	R1	380	350	380	370	6	6,7	5,3	5,6	TRAZAS	TRAZAS	N	N
		TARDE	R2	330	290	320	330	6,1	7	5,9	6,1	TRAZAS	TRAZAS	N	N
		MAÑANA	R3	340	290	350	350	6,1	6,4	5,9	5,9	TRAZAS	TRAZAS	N	N
		TARDE	R4	350	320	360	350	5,9	6,9	5,9	5,9	TRAZAS	TRAZAS	N	N
ANEXO 12	600	MAÑANA	R1	250	330	340	370	7,5	6,4	5,9	5,6	XX	XX	N	N
		TARDE	R2	260	320	340	360	7,5	6,4	5,9	5,3	XX	XX	N	N
		MAÑANA	R3	240	320	320	350	7,3	6,7	6,1	6,1	XX	XX	N	N
		TARDE	R4	270	320	340	360	6,7	6,5	6,1	6,1	XX	XX	N	N
ANEXO 13	565	MAÑANA	R1	340	360	350	350	6,7	6,1	5,9	5,9	X	N	N	TRAZAS
		TARDE	R2	370	360	350	340	5,9	5,6	5,6	5,6	X	N	N	TRAZAS
		MAÑANA	R3	340	380	370	350	7,3	6,2	6,1	6,1	X	N	N	TRAZAS
		TARDE	R4	300	350	350	360	6,7	5,9	6,1	6,1	X	N	N	TRAZAS
ANEXO 14	572	MAÑANA	R1	310	360	330	330	7,3	6,4	6,4	6,4	TRAZAS	X	N	N
		TARDE	R2	320	330	320	330	7,2	6,7	6,4	6,4	TRAZAS	X	N	N
		MAÑANA	R3	370	330	350	340	7,3	6,3	5,9	5,9	TRAZAS	X	N	N
		TARDE	R4	350	320	380	340	6,7	6,6	6,1	6,1	TRAZAS	X	N	N
ANEXO 15	594	MAÑANA	R1	400	410	280	390	5,6	5,6	5,6	5,3	N	N	TRAZAS	N
		TARDE	R2	320	350	350	360	5	4,7	5,3	5,3	N	N	TRAZAS	N
		MAÑANA	R3	380	380	360	380	5,9	5,3	5,6	5,3	N	N	TRAZAS	N
		TARDE	R4	420	410	410	400	5,3	5,3	5,6	5,9	N	N	TRAZAS	N
ANEXO 16	619	MAÑANA	R1	340	340	330	340	6,1	6,1	5,9	5,9	N	N	N	N
		TARDE	R2	360	350	350	360	5,6	5,9	5,6	5,9	N	N	N	N
		MAÑANA	R3	360	370	370	360	6,1	5,6	5,9	5,6	N	N	N	N
		TARDE	R4	330	340	340	330	6,2	6,1	6,1	5,9	N	N	N	N

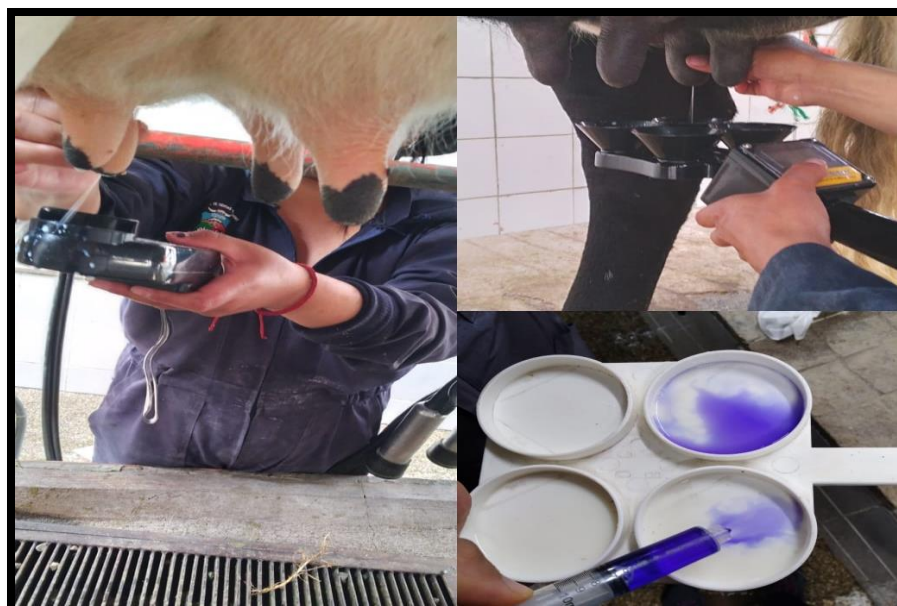
Realizado por: Quilapanta Guaman Anabell, 2021.



## Anexo B. Equipos para diagnóstico de mastitis



## Anexo C. Toma de datos con Draminski - Milk Checker y CMT



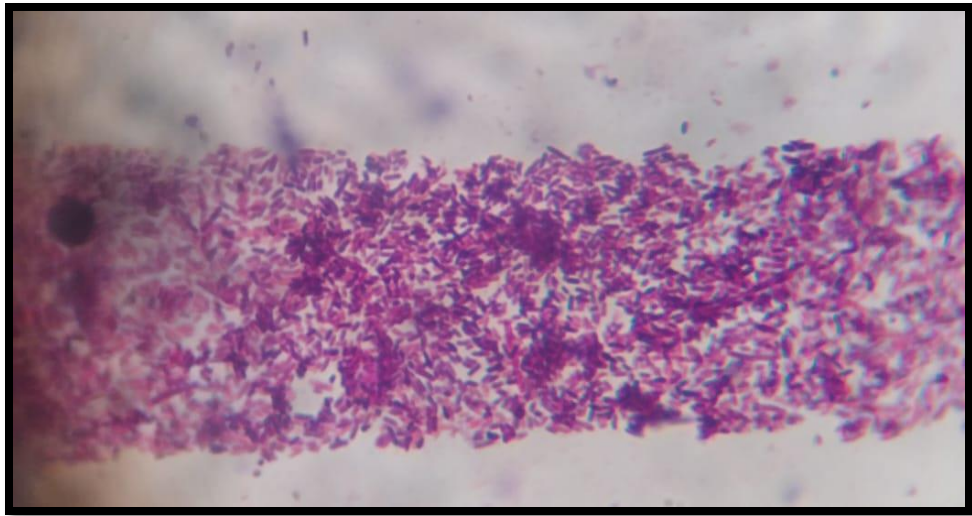
#### Anexo D. Toma de muestras



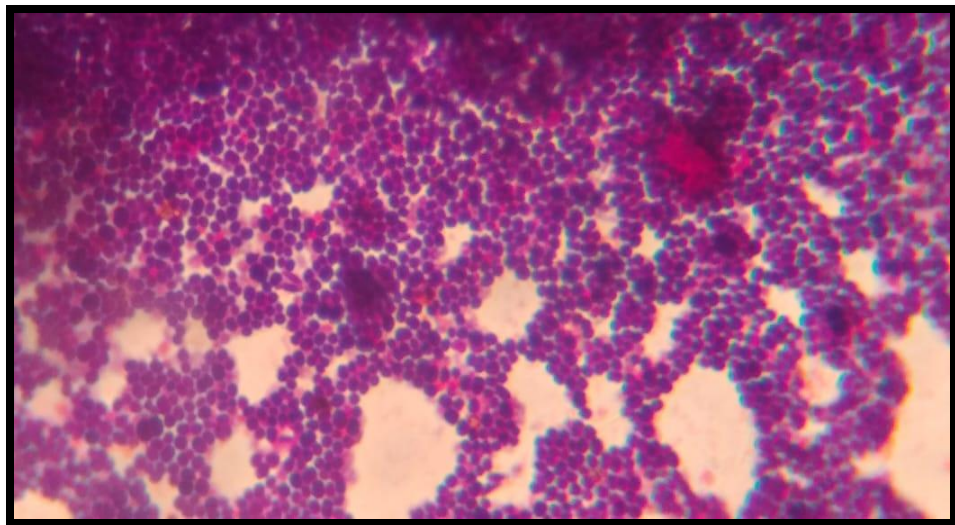
#### Anexo E. Preparación del Agar Columbia



**Anexo F. *Bacilos* Gram + presentes en el cultivo**

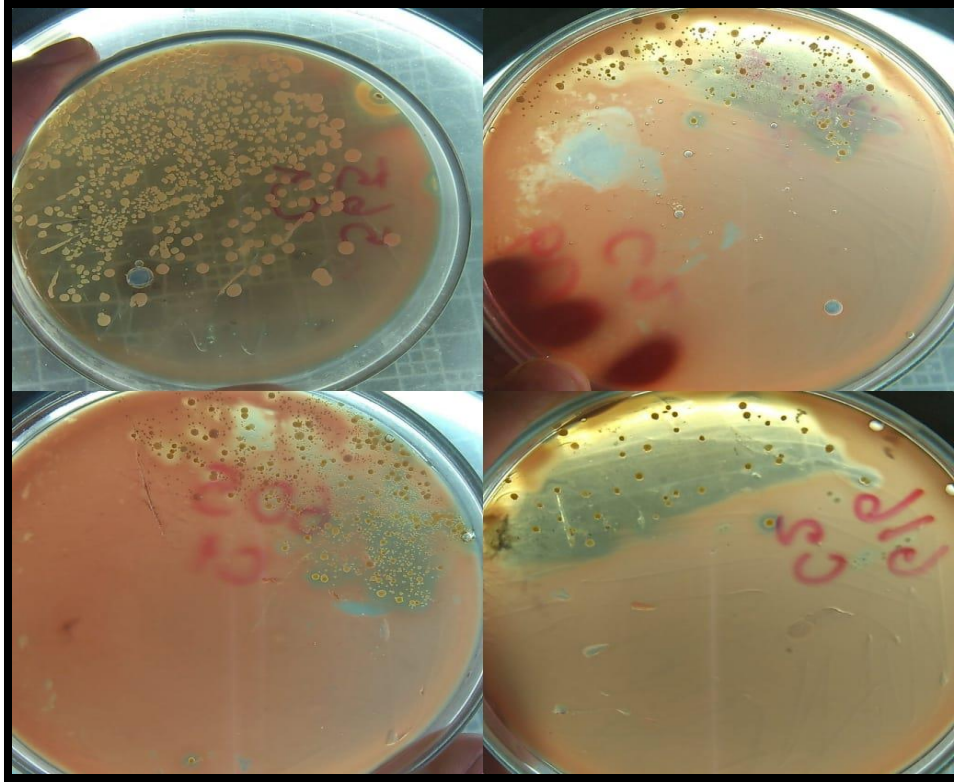


**Anexo G. *Staphylococcus aureus* Gram + presentes en el cultivo**

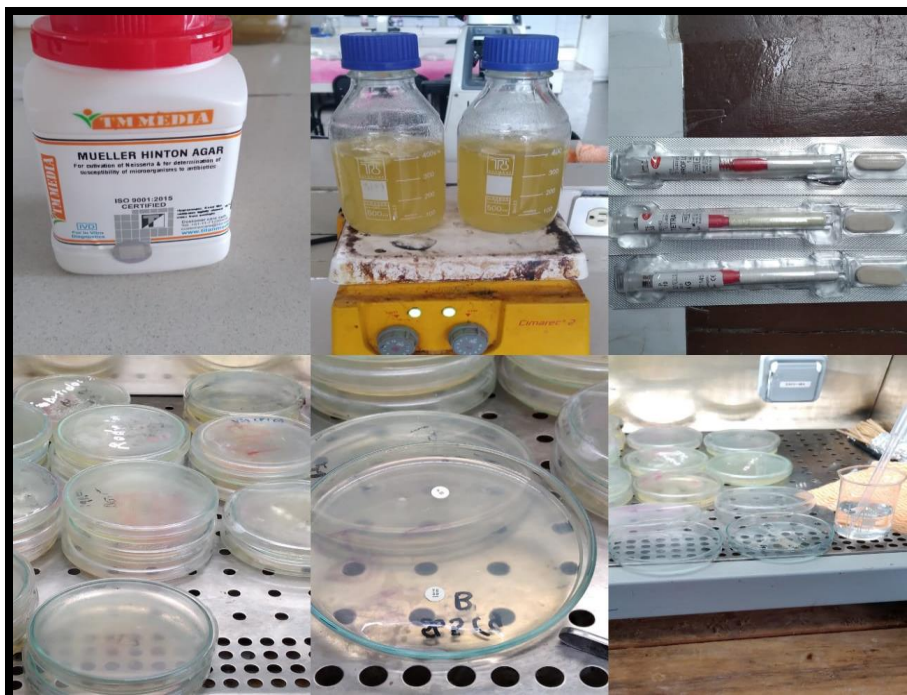




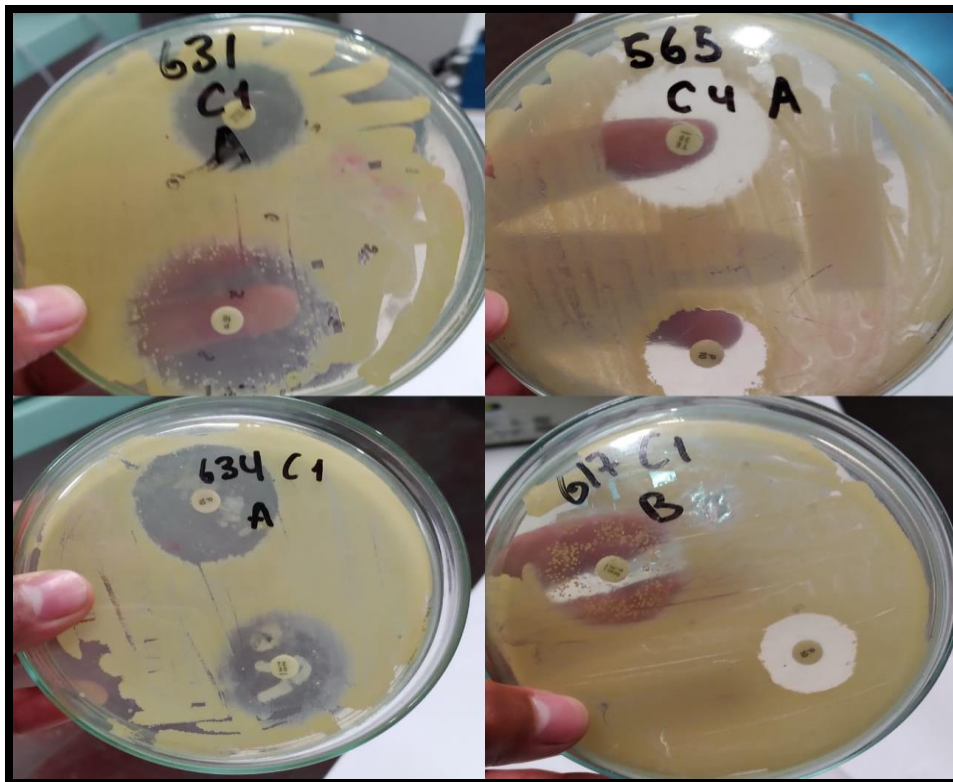
## Anexo H. Crecimiento Bacteriano



## Anexo I. Preparación del Antibiograma



Anexo J. Antibiograma



## Anexo K. Certificado de Laboratorio de Microbiología Y Biotecnología Animal



**ESPOCH**  
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

### CERTIFICADO

#### A QUIEN CORRESPONDA

Tengo a bien Certificar que el Srta. Anabell Estefania Quilapanta Guamán con C.I 0604765040, realizó en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología las pruebas microbiológicas, correspondiente al Tema, **"DIAGNÓSTICO DE MASTITIS SUBCLÍNICA MEDIANTE TRES MÉTODOS PARA EL CONTROL Y TRATAMIENTO EN VACAS HOLSTEIN"**, trabajo realizado en la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, mismo que fue desarrollado desde el 16 de Diciembre del 2020 hasta el 11 de Enero del 2021.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad, autorizando al interesado hacer uso del presente en lo que bien tuviere.

Riobamba, 12 de Abril del 2021

Atentamente

JOSÉ VICENTE TRUJILLO VILLACÍS

Ing. Vicente Trujillo

DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS



CRISTIAN FERREROS VIMOS ANARICA

Ing. Cristian Vimos

TÉCNICO DEL LABORATORIO DE BIOTEGNOLOGIA Y MICROBIOLOGIA

# Anexo L. Resultados de Laboratorio de Microbiología y Biotecnología Animal.

JOSÉ VICENTE TRUJILLO VILLACÍS

Reservados todos los derechos. No se permite la explotación económica ni la transformación de esta obra. Queda permitida la impresión en su totalidad.



CRISTIAN FERNANDO VIMOS ABRACA

## LABORATORIO

### Cultivo de Bacterias

N°	VACA	MUESTRA N°	COLOR COLONIA	HEMOLISIS	DIAMETRO DE COLONIA	TINCION GRAM	IDENTIFICACIÓN
1	544	C1	AMARILLO	(+)	3-4mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	2-4mm	GRAM(+)	Bacilos
			AMARILLO	(+)	1-2mm	GRAM(+)	Staphylococcus
2	617	C2	CREMA	(-)	Pequeñas e incontables	GRAM(+)	Bacilos
			AMARILLO	(+)	4-3mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	4mm	GRAM(+)	Bacilos
3	605	C2	AMARILLO	(+)	1-2mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1-2mm	GRAM(+)	Bacilos
			AMARILLO	(+)	2-3mm	GRAM(+)	Staphylococcus
4	616	C4	CREMA	(-)	1mm	GRAM(+)	Bacilos
			AMARILLO	(+)	2-3mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1mm	GRAM(+)	Bacilos
5	631	C1	AMARILLO	(+)	1-2mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1mm	GRAM(+)	Bacilos
			AMARILLO	(+)	1mm	GRAM(+)	Staphylococcus
6	618	C2	CREMA	(-)	Pequeñas e incontables	GRAM(+)	Bacilos
			AMARILLO	(+)	1mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1-2mm	GRAM(+)	Bacilos
7	591	C2	AMARILLO	(+)	2-3mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			AMARILLO	(+)	2-3mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			AMARILLO	(+)	1-2mm	GRAM(+)	Staphylococcus
8	634	C1	CREMA	(-)	3-4mm	GRAM(+)	Bacilos
			AMARILLO	(+)	1mm	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1-2mm	GRAM(+)	Bacilos
9	565	C4	CREMA	(-)	6-4mm	GRAM(+)	Bacilos
			CREMA	(-)	3-4mm	GRAM(+)	Bacilos
			AMARILLO	(+)	Pequeñas e incontables	GRAM(+)	Staphylococcus
10	572	C2	CREMA	(-)	2-3mm	GRAM(+)	Bacilos
			AMARILLO	(+)	Pequeñas e incontables	GRAM(+)	Staphylococcus
			CREMA	(-)	1-2mm	GRAM(+)	Bacilos

## LABORATORIO

### ANTIBIOGRAMA

N°	VACA	MUESTRA N°	COLOR COLONIA	DIAMETRO DEL HALO			INTERPRETACIÓN
				PENICILINA(10 U)	CIPROFLOXACINA(5 µg)	TETRACICLINA (30µg)	
1	544	C1	AMARILLO	15mm	6mm	6mm	Pe = R Cpr = R Tetr = R
			CREMA	16mm	6mm	9mm	Pe = I Cpr = R Tetr = R
			AMARILLO	22mm	6mm	31mm	Pe = I Cpr = R Tetr = S
2	617	C2	CREMA	20mm	6mm	28mm	Pe = I Cpr = R Tetr = S
			AMARILLO	18mm	6mm	25mm	Pe = R Cpr = R Tetr = S
			CREMA	26mm	6mm	21mm	Pe = S Cpr = R Tetr = S
3	605	C2	AMARILLO	13mm	6mm	20mm	Pe = R Cpr = R Tetr = S
			CREMA	17mm	6mm	26mm	Pe = I Cpr = R Tetr = S
			AMARILLO	19mm	6mm	31mm	Pe = R Cpr = R Tetr = S
4	616	C4	CREMA	20mm	6mm	26mm	Pe = I Cpr = R Tetr = S
			AMARILLO	11mm	6mm	17mm	Pe = R Cpr = R Tetr = I
			CREMA	15mm	6mm	27mm	Pe = I Cpr = R Tetr = S
5	631	C1	AMARILLO	20mm	6mm	25mm	Pe = R Cpr = R Tetr = S
			CREMA	20mm	6mm	23mm	Pe = I Cpr = R Tetr = S
			AMARILLO	13mm	6mm	26mm	Pe = R Cpr = R Tetr = S
6	618	C2	CREMA	11mm	6mm	29mm	Pe = R Cpr = R Tetr = S
			AMARILLO	25mm	6mm	36mm	Pe = I Cpr = R Tetr = S
			CREMA	14mm	6mm	24mm	Pe = I Cpr = R Tetr = S
7	591	C2	AMARILLO	27mm	6mm	28mm	Pe = I Cpr = R Tetr = S
			CREMA	30mm	6mm	22mm	Pe = S Cpr = R Tetr = S
			AMARILLO	23mm	6mm	39mm	Pe = R Cpr = R Tetr = S
8	634	C2	AMARILLO	36mm	6mm	31mm	Pe = S Cpr = R Tetr = S
			CREMA	25mm	6mm	27mm	Pe = S Cpr = R Tetr = S
			AMARILLO	30mm	6mm	40mm	Pe = S Cpr = R Tetr = S
9	565	C4	AMARILLO	30mm	6mm	40mm	Pe = S Cpr = R Tetr = S
			CREMA	30mm	6mm	29mm	Pe = S Cpr = R Tetr = S
			AMARILLO	33mm	6mm	28mm	Pe = S Cpr = R Tetr = S
10	572	C2	AMARILLO	18mm	6mm	27mm	Pe = R Cpr = R Tetr = S
			CREMA	26mm	6mm	11mm	Pe = S Cpr = R Tetr = R
			CREMA	37mm	6mm	25mm	Pe = S Cpr = R Tetr = S
10	572	C1	AMARILLO	20mm	6mm	23mm	Pe = R Cpr = R Tetr = S
			CREMA	25mm	6mm	26mm	Pe = S Cpr = R Tetr = S
			AMARILLO	24mm	6mm	14mm	Pe = R Cpr = R Tetr = R
10	572	C2	CREMA	13mm	6mm	21mm	Pe = I Cpr = R Tetr = S
			AMARILLO	27mm	6mm	26mm	Pe = R Cpr = R Tetr = S
			CREMA	32mm	6mm	29mm	Pe = S Cpr = R Tetr = S

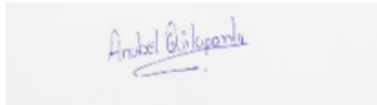
Continuación del ANEXO L

REFERENCIAS		ANTIBIÓTICOS	
R=resistente	S= Sensible	I= Intermedio	Pe = Penicilina Cipr= Ciprofloxacina Tetr = Tetraciclina

REFERENCIAS  
INTERPRETACIÓN DEL MÉTODO DE KIRBY BAUER

Agente Antimicrobiano	Contenido del Disco	Diámetro de la zona de Inhibición		
		Resistente < 0 =	Intermedio	Sensible > 0 =
Penicilina G / otras bacterias	10 U	11	12 - 21	22
Tetraciclina	30 µg	14	15 - 18	19
Ciprofloxacina	5 µg	15	16 - 20	21
Penicilina G / Sthaphylococcus	10 U	20	21 - 28	29

	PENICILINA	CIPROFLOXACINA	TETRACICLINA
RESISTENTE %	36,11	100	11,11
SENSIBLE %	33,33	0	86,11
INTERMEDIO %	30,56	0	2,78
	100	100	100



Anabel Estefanía Quilapanta G.  
AUTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

A  
Vt





**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**DIRECCIÓN DE BIBLIOTECAS Y RECURSOS DEL APRENDIZAJE  
UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL**

**REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA**

**Fecha de entrega:** 01 / 12 / 2021

<b>INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)</b>
<b>Nombres – Apellidos:</b> <i>Anabell Estefanía Quilapanta Guaman</i>
<b>INFORMACIÓN INSTITUCIONAL</b>
<b>Facultad:</b> <i>Ciencias Pecuarias</i>
<b>Carrera:</b> <i>Ingeniería Zootécnica</i>
<b>Título a optar:</b> <i>Ingeniera Zootecnista</i>
<b>f. Analista de Biblioteca responsable:</b> <i>Lic. Luis Caminos Vargas Mgs.</i>

**LUIS  
ALBERTO  
CAMINOS  
VARGAS**

Firmado digitalmente por  
LUIS ALBERTO CAMINOS  
VARGAS  
Nombre de  
reconocimiento (DN):  
c=EC, I=RIOBAMBA,  
serialNumber=0602766974  
, cn=LUIS ALBERTO  
CAMINOS VARGAS  
Fecha: 2021.12.01 09:03:00  
-05'00'



1526-DBRA-UTP-2021