



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DPTO. DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
CÁTEDRA COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN
“Dr. José Rafael Luna”
UNIDAD CURRICULAR: TRABAJO DE GRADO II**



**PREVALENCIA DE *Staphylococcus* spp. MEDIANTE EL AISLAMIENTO E
IDENTIFICACIÓN EN BOVINOS CON MASTITIS CLÍNICA**

www.bdigital.ula.ve

Tesista:

Natalia Sosa

C.I: V-26.274.229

Tutora:

Prof. Maria E. Alviarez V.

Asesor Metodológico:

Prof. José Gregorio Hernández

Mérida, enero de 2024



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DPTO. DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
CÁTEDRA COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN
“Dr. José Rafael Luna”
UNIDAD CURRICULAR: TRABAJO DE GRADO II**



**PREVALENCIA DE *Staphylococcus* spp. MEDIANTE EL AISLAMIENTO E
IDENTIFICACIÓN EN BOVINOS CON MASTITIS CLÍNICA**

Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al título de Licenciada en Bioanálisis

www.bdigital.ula.ve

Tesista:

Natalia Sosa

C.I: V-26.274.229

Tutora:

Prof. Maria E. Alviarez V.

Asesor Metodológico:

Prof. José Gregorio Hernández

Mérida, enero de 2024

DEDICATORIA

Primeramente a Dios nuestro señor y a los Ángeles por ser quienes me han acompañado durante toda mi vida llenándome de salud, tolerancia, perseverancia y fortaleza para lograr cumplir con esta meta y con cada uno de mis sueños y hacer de estos los más inolvidables recuerdos.

A mi tesoro más grande, **Mi Hija Julieta Valentina**, quien llego a mi vida en este largo caminar, ahora todo es más bonito, pues me llenas de amor, de fuerza y de ganas de seguir adelante, eres mi mayor impulso de hacer realidad cada uno de mis sueños y metas.

A mis padres Rubi y Carlos, por ser mi pilar fundamental durante toda mi vida, por enseñarme a alcanzar mis metas y en este camino, por estar siempre siendo mi apoyo incondicional, este logro también es de ustedes.

A la memoria de mi abuela Isabel, mi gran amiga, mi compañera de travesuras, mi gran amor, mi inspiración para todo en la vida, te dedico este logro, hoy cumplo nuestra promesa y aunque no estás conmigo, mi corazón llevara por siempre tu sonrisa, **TE AMO ABUELITA**.

A la memoria de mi Tía Alexandra, gracias por ser otra madre, por enseñarme responsabilidad, disciplina y cultivar en mí corazón el propósito de lograr todos mis sueños por mis propios méritos.

A la memoria de mi querida amiga y comadre Abril Daniela, lo soñamos juntas y aunque hoy no estas para celebrarlo, este logro es de las dos, porque desde el cielo me acompañaste siempre.

A la memoria de mi ahijado Santiago José, mi angelito en el cielo, madrina te llevara siempre en su corazón, me enseñaste que nunca se es tan niña para amar a alguien que no pertenece a ti. .

A mi tía Yoleida por ser otra madre, por todo su apoyo incondicional en esta etapa y durante la vida por creer siempre que podía dar más de mí.

Porque desde donde me acompañaron, nunca me abandonaron, este logro es por ustedes también.

¡Con todo mi corazón, **Natalia Sosa!**

AGRADECIMIENTOS

A Dios Todo Poderoso, por darme la vida, la salud y la fuerza para culminar este gran sueño y a mis Ángeles que siempre cuidan mi caminar.

A la Ilustre Universidad de los Andes y a la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, por brindarme las herramientas necesarias para mi formación tanto personal como profesional, siendo mi mejor casa de estudios.

Muy especial a la MSC. María Evelyn Alviárez, quien fue la encargada de dirigir esta investigación y lograr un final exitoso, gracias a sus conocimientos y experiencias impartidas.

A todos los docentes que impartieron en mí su conocimiento con tanto amor y vocación y al personal administrativo y obrero de la Universidad de los Andes (ULA) quienes desde su labor diaria dejaron en mí su granito de arena.

A mi familia, por todo su amor incondicional, confianza y apoyo en cada uno de mis propósitos a lo largo de mi vida.

A mi prima, hermana y comadre Jessika I. por todo su apoyo y amor.

A esas personas maravillosas que me llenaron con su amistad sincera, risas y ocurrencias Magaly V., María P., Jorge T., Emely T., Yubisay C., Maryoly M., Mercedes J., Demian P., Héctor R., Dios les bendiga.

A mis compañeras de trabajo, por hacer de esos días llenos de limas, polvo y monómero, las mejores ocurrencias y momentos.

A mis lindas clientas por su confianza, lealtad y amistad durante tantos años. Gracias a ustedes también pude llegar hasta aquí, pues siempre creyeron en mi trabajo, lo que me permitió costear estos años universitarios.

¡Nunca creas que hay algo en este mundo, que no puedas merecer!

Lic. Natalia Sosa.

Índice de Contenidos

VEREDICTO.....	iii
DEDICATORIA.....	iv
AGRADECIMIENTOS.....	v
Índice de tablas.....	viii
Índice de figuras.....	ix
RESUMEN.....	x
INTRODUCCIÓN.....	11
CAPITULO I: EL PROBLEMA.....	14
Planteamiento del problema.....	14
Justificación de la investigación.....	17
Objetivos de la investigación.....	19
Alcances y limitaciones.....	19
CAPITULO II: MARCO TEÓRICO.....	20
Trabajos previos.....	20
Antecedentes históricos.....	24
Bases Teóricas.....	25
Definición operacional de términos.....	31
Operacionalización de la variables.....	36
CAPITULO III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	39
Tipo de investigación.....	39
Diseño de investigación.....	40
Población y muestra.....	41
Sistema de variable.....	42
Procedimiento de la investigación.....	46

Diseño de análisis.....	54
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....	55
Resultados.....	55
Discusión.....	61
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	64
Conclusiones.....	64
Recomendaciones.....	66
Bibliohemerografías.....	67
Anexos.....	71
Anexo 1. Hoja de Reporte de Resultados. Instrumento de Recolección de Datos.....	72

www.bdigital.ula.ve

Índice de tablas

Tabla 1. Interpretación de resultados de la Prueba de California para Mastitis	30
Tabla 2. Operacionalización del evento de estudio prevalencia de <i>Staphylococcus</i> spp.....	37
Tabla 3. Operacionalización del evento de estudio prevalencia de Mastitis Clínica.....	38
Tabla 4. Operacionalización de las variables.....	43
Tabla 5. Definición operativa de variables e indicadores.....	44
Tabla 6. Cultivos procesados provenientes de bovinos con mastitis clínica.....	55
Tabla 7. Microorganismos aislados desde el periodo enero 2020 – agosto 2023.....	56
Tabla 8. Frecuencia del género <i>Staphylococcus</i> aislados de muestras de leche provenientes de bovinos con mastitis clínica.....	57
Tabla 9. Antibiogramas obtenidos entre enero 2020 y agosto 2023.....	58

Índice de figuras

Esquema 1. Procedimiento empleado para la recolección de la muestra láctea	49
Figura 1. Muestra láctea con mastitis	50
Figura 2. Prueba positiva para california mastitis test.....	50
Esquema 2. Procedimiento microbiológico.....	51
Figura 3. Agar sangre.....	52
Figura 4. Agar manitol salado.....	52
Figura 5. Prueba de catalasa.....	52
Esquema 3. Procedimiento del Antibiograma.....	53

www.bdigital.ula.ve



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DPTO. DE BIOANÁLISIS CLÍNICO
CÁTEDRA COMPONENTE DE INVESTIGACIÓN
“Dr. José Rafael Luna”
UNIDAD CURRICULAR: TRABAJO DE GRADO II



Prevalencia de *Staphylococcus* spp. mediante el aislamiento e identificación en bovinos con mastitis clínica

Autora: Natalia Isabel Sosa Jáuregui

Tutora: María Evelyn Alviarez

Asesor: José Gregorio Hernández

Resumen

Analizar la prevalencia de *Staphylococcus* spp. Mediante el aislamiento e identificación en bovinos con Mastitis Clínica. El diseño de investigación es de tipo analítica, con un diseño retrospectivo, transeccional y univariable. Las muestras de leche son obtenidas mediante el ordeño mecánico o manual, en bovinos lactando y con el primer parto. Se realiza la prueba de California mastitis test, la cual será un criterio de inclusión para la realización de las pruebas microbiológicas pertinentes. Si el test arroja positividad por la gelificación del reactivo presente en éste, se realiza la tinción de Gram a las muestras, para la identificación de la morfología bacteriana y la valoración de polimorfonucleares presentes en la evaluación microscópica. De obtenerse en la coloración, cocos gram positivos, se ejecuta la siembra e inoculación de la muestra en medios de cultivo como agar sangre y agar manitol salado. Asimismo, se realiza la prueba clave de la catalasa, la cual si arroja positivo, se lleva a cabo la prueba de la coagulasa, la cual permite diferenciar las especies de *Staphylococcus*. Si arroja positiva identifica el género *Staphylococcus aureus*, y de dar negativa, permite evidenciar *Staphylococcus coagulasa* negativo. Esta investigación tiene un enfoque cuantitativo, ya que se analizan numéricamente los datos recolectados de la unidad de estudio, con el fin de medir la prevalencia de *Staphylococcus* spp. En bovinos con mastitis clínica.

Palabras claves: *Staphylococcus* spp., mastitis clínica, bovinos, California Mastitis Test, Agar manitol salado, aislamiento e identificación bacteriana.

Mérida, enero de 2024.

INTRODUCCIÓN

La investigación se enfocó en la mastitis bovina, la cual es una enfermedad productora de la principal causa de pérdidas, ya sean lácteas o mamíferas en fincas lecheras en el mundo, pues afecta las ubres de las hembras, las cuales entre mayor tamaño presentan, con una superior irrigación sanguínea cuentan produciendo una extensa susceptibilidad a una inflamación del tipo infecciosa a nivel de la glándula mamaria. Los principales motivos que mayor incidencia presentan son: descuido en la higiene en el área de ordeño manual o traumatismos en los cuartos mamarios al momento de realizar este. Así mismo hay lecherías las cuales ya cuentan con ordeño mecánico, pero estos deben encontrarse graduados y en óptimo estado para que su función sea la deseada y esperada, de lo contrario su causalidad en la infección será elevada.

En la actualidad se conoce a *Staphylococcus aureus* como el género con mayor patogenicidad, junto con *Streptococcus* spp., ambos considerados, como la causa principal de las infecciones en la mastitis bovina. De igual forma, el primero mencionado y el que es causa de estudio en esta investigación, da cabida a la producción de la enzima coagulasa, la cual tiene la capacidad de coagular la sangre del organismo que lo posee, es por esto que se le confiere ser un patógeno con alta virulencia (Brush y Pérez, 2017). Conociendo más el género en estudio, este refiere a familias de bacterias con forma esférica, las cuales pueden desarrollarse en presencia de oxígeno, conociéndose como aeróbicas, observadas en el examen directo como Gram positivas y que se producen en grupos microscópicos similares a racimos de uvas; descrito en 1884 por Rosenbach, en dos tipos de colonias pigmentadas (Todar, 2015). Por lo cual es la causa principal en las infecciones intramamarias en bovinos (Fernández, Trujillo, Peña, Cerquera y Granja, 2012).

La identificación de un microorganismo es ejecutada por un aislamiento bacteriano (Forbes, Sahm, Weissfeld, 2004). Este es realizado en una serie de pasos tales como: observaciones preliminares, que incluyen criterios de rechazo de muestras y examen microscópico; también existen métodos para realizar la transferencia y el cultivo de muestras clínicas. La interpretación del aislamiento se realiza por la observación de las características más notorias de las colonias y un examen por coloración de Gram (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn, 2017).

El método a utilizar para la ejecución de esta investigación será el aislamiento e identificación bacteriana ya descritos en el párrafo anterior. Asimismo, la california mastitis test será una prueba utilizada como criterio de inclusión para las muestras a analizar. La presente investigación es de tipo analítica, con un diseño retrospectivo, transeccional y univariable

El objetivo general de esta investigación será analizar la prevalencia de *Staphylococcus* sp. mediante el aislamiento e identificación en bovinos con mastitis clínica en el laboratorio de investigaciones en bacteriología “Roberto Gabaldón” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (ULA) y en el Laboratorio de Estudios Veterinarios VATCA C.A de la ciudad de Ejido-Estado Mérida desde enero de 2020 hasta agosto de 2023.

Este proyecto de investigación está sistematizado en cinco (5) capítulos, el primero titulado: el problema; subtítulo, planteamiento del problema, justificación de la investigación, objetivos de la investigación, alcances y limitaciones de la investigación. El segundo capítulo se titula: marco teórico; subtítulo, trabajos previos, antecedentes históricos, antecedentes teóricos, definición de términos, operacionalización de las variables, sistema de hipótesis. El tercer capítulo titulado: marco metodológico; subtítulo, tipo de investigación, diseño de la investigación, población y muestra, sistema de variable, instrumento de recolección de datos, procedimiento o metodología de la investigación y diseño de análisis. El cuarto capítulo titulado: resultados

y discusiones y el quinto y último capítulo titulado: conclusiones y recomendaciones.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

La mastitis es una respuesta inflamatoria de la glándula mamaria, resultante como consecuencia de una infección microbiana. De acuerdo al grado de inflamación, lesiones locales e implicaciones sistémicas en la vaca, puede ser clasificada en mastitis clínica y subclínica; siendo esta una anormalidad en la glándula mamaria o la leche, que puede ser de fácil observación (Fernández, Trujillo, Peña, Cerquera y Granja, 2012). En casos agudos, la inflamación en el conducto y el revestimiento de la mucosa, logra, el bloqueo de los conductos mamarios, la coagulación de la leche, y dolor. En los casos crónicos, se genera la presencia de fibrosis extensa, disminución de la producción de leche o su cese completo (Blood, 2002). Respecto a la etiología de la mastitis, tenemos a la especie *Staphylococcus aureus*, como la causa principal en las infecciones intramamarias en bovinos (Fernández, Trujillo, Peña, Cerquera y Granja, 2012). Actualmente, el género más patógeno es *S. aureus*, causante de la mayoría de las infecciones.

Por su parte, la identificación de un microorganismo perteneciente al género *Staphylococcus* u otro, es ejecutada por un aislamiento bacteriano. (Forbes, Sahm, Weissfeld, 2004), el cual consiste en una serie de fases tales como: toma de muestra, transporte y recepción de la misma. Además, mediante las observaciones preliminares, incluyendo criterios de rechazo de muestras y examen microscópico, abarca tinciones directas, técnicas microscópicas y uso de colorantes. A su vez, existen métodos para realizar la transferencia y el cultivo de las muestras clínicas. La interpretación del aislamiento se realiza por la observación de las características más notorias de las colonias y un

examen por coloración de Gram (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn, 2017).

Sobre la identificación preliminar, esto se basa en las características metabólicas y procedimientos bioquímicos directos realizados para la obtención de la misma. Entre los métodos se ejecutan las pruebas claves para cada microorganismo, y una vez ejecutado el proceso de identificación y selección de pruebas diferenciales, permiten la orientación hacia el grupo bacteriano para finalmente, brindar un informe de resultados que indica el patógeno encontrado (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn, 2017).

Las aproximaciones teóricas que sustentarán esta investigación están relacionadas con la teoría microbiana de la enfermedad, etiopatogenia de la mastitis y los métodos de aislamiento bacteriano. La primera, busca proponer cómo los microorganismos son la más amplia causa de enfermedades. Díaz para el año 2015 explicó que este germen o patógeno puede ser un virus, hongo, bacteria entre otros, ocasionando enfermedades del tipo infecciosas.

La etiopatogenia de la mastitis es una enfermedad del tipo infecto contagiosa a nivel de la glándula mamaria. Existen diferentes tipos de bacterias que la ocasionan, siendo *Staphylococcus*, unas de las causantes, formando parte del 90% de los casos clínicos y subclínicos (Coberllini, 2002). Los métodos de aislamiento bacteriano consisten en la separación de una población heterogénea, para conseguir el microorganismo que se requiere en estado puro (Ramírez, García, Longa, Sánchez, Nieves, Velasco, Araque y Mosqueda, 2010).

La descripción del problema de estudio incentivó a los autores de esta investigación a considerar la situación actual relacionada con las evidencias que informaron su evolución en los últimos 5 años. Con base en la prevalencia de la mastitis, para la zona donde se ejecutó dicho estudio es moderada, con respecto al número de cuartos mamarios afectados. Por su parte, es alta cuando se refiere al número de animales asumidos como

positivos para la enfermedad, lo que permite conocer que muchos poseen pocos cuartos mamarios afectados. Respecto al microorganismo que más afecta es *S. aureus*, asociado a la mastitis subclínica de tipo contagiosa por las malas prácticas de ordeño. Por ello, Mendoza, Vera y Peña en el año 2017 se recomendó la implementación de las medidas adecuadas para la prevención, así como la capacitación del personal a cargo de los animales.

Es por esto que la prevalencia de la mastitis, ya sea en cualquiera de sus dos clasificaciones conocidas y mencionadas anteriormente, es en el ganado lechero, donde presentan una alta incidencia, siendo esta la razón por la cual el patógeno que más se evidencia en muestras es *S. aureus*, siendo el que más se transmite entre las vacas de ordeño. Tomando en cuenta factores muy importantes tales como el tipo de piso y el sistema de drenaje. Respecto a los resultados obtenidos en el estudio, se ha sugerido realizar mayor énfasis en las medidas higiénicas que se toman en las áreas de ordeño y en los rebaños (Hardenberg, 2016).

Por su parte, en los análisis realizados en la evaluación clínica y la calidad de la leche la mayor afectación fue la mastitis clínica en su clasificación leve. En relación, los microorganismos que son altamente contagiosos y los ambientales son, de igual manera, los responsables de la enfermedad (Pompa y Ramírez, 2016).

Después de describir la situación actual del problema los autores de la presente investigación en desarrollo, formula el siguiente enunciado Holopráxico: ¿Cuál es la correspondencia entre la prevalencia de *Staphylococcus* spp. según el aislamiento e identificación en bovinos con mastitis clínica, en el Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología “Roberto Gabaldón” del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (ULA) y en Laboratorio de Estudios Veterinarios VATCA C.A de la ciudad de Ejido- Estado Mérida, desde enero de 2020 hasta agosto de 2023?

Justificación de la investigación

La justificación debe responder a los por qué o razones de la investigación. Específicamente, estas razones pueden ser categorizadas como necesidades, curiosidades y preocupaciones, motivaciones, intereses, valores, potencialidades, oportunidades, tendencias, contradicciones (Hurtado, 2012).

Los autores de esta investigación detectaron necesidades tales como la identificación bacteriana, que se debe realizar en un orden adecuado y siguiendo la metodología establecida. Con su característica primordial, las pruebas claves quienes permiten realizar un informe indicativo de la bacteria causante de la patología en estudio (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn, 2017).

Los métodos de aislamiento bacteriano hacen necesario la separación de las poblaciones polimicrobianas a un estado de pureza, para lograr la identificación del microorganismo (Ramírez, García, Longa, Sánchez, Nieves, Velasco, Araque, Mosqueda, 2010).

Algunos autores describen que la incidencia de la mastitis es considerada como moderada en el caso de la especie *Staphylococcus*, siendo valorados solo los animales en estudio. Esto en su mayoría, es debido a la mala ejecución en el ordeño (Mendoza, Vera y Peña, 2017). Estas razones descritas justifican la elección del género bacteriano para nuestra investigación.

Por su parte, otros investigadores muestran la prevalencia de la mastitis, como alta y siguen asociando como patógeno al género *Staphylococcus* y nuevamente el factor principal es el tipo de ordeño (Hardenberg, 2016). Además, los microorganismos de tipo ambiental y patógenas son el gran factor causal (Pompa y Ramírez, 2016)

Los autores decidieron focalizar su interés sobre el evento de estudio prevalencia de *Staphylococcus* ssp. En el aislamiento e identificación en bovinos con mastitis clínica desde el punto de vista analítico por varias razones. La primera se relaciona con la prevalencia de la mastitis que requiere el análisis de todas las muestras de bovinos, con el aislamiento e identificación. En segundo lugar, los criterios de análisis para la mastitis son el aislamiento e identificación bacteriana como perspectiva primordial. Como tercera relación, se encuentra la correlación entre la prevalencia de *Staphylococcus* y la mastitis en bovinos que solo se puede realizar desde el punto de vista analítico, puesto que alguna bacteria será siempre el agente causal de la mastitis, con un inicio incierto.

Al considerar los motivos anteriores, los autores también encontraron razones con categoría de potencialidad y oportunidad. Por esto, el *Staphylococcus* ureus conocido como principal causa de las infecciones intramamarias, origina la posibilidad de orientación para conocer el patógeno (Brush y Pérez, 2017).

Además, con un aislamiento adecuado se permite aclarar las características primordiales para el análisis, tal como, la coloración de Gram, técnicas microscópicas y observación de la morfología colonial (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn, 2017). De acuerdo a la mastitis, es oportuno clasificarla en clínica y subclínica, según el grado de inflamación y la sintomatología presentada por la vaca (Fernández, Trujillo, Peña, Cerquera y Granja, 2012).

Objetivos de la investigación

Objetivo general

Analizar la prevalencia de *Staphylococcus* spp., mediante el aislamiento e identificación en bovinos con Mastitis Clínica en el laboratorio de investigaciones en bacteriología “Roberto Gabaldón” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes y en Laboratorio de Estudios Veterinarios VATCA C.A de la ciudad de Ejido-estado Mérida, desde enero de 2020 hasta agosto de 2023.

Objetivos específicos

- Realizar cultivos microbiológicos, a partir de muestras de leche de bovinos con mastitis clínica.
- Identificar mediante cultivo microbiológicos cepas de *Staphylococcus* spp. a partir de muestra de leche de bovinos con mastitis clínica.
- Determinar la susceptibilidad antimicrobiana de las cepas de *Staphylococcus* spp. provenientes de bovinos con mastitis clínica.

Alcances y Limitaciones

Alcances

Conocer la prevalencia de *Staphylococcus* spp. como agente etiológico de mastitis clínica en la zona de la tendida en el estado Táchira.

Limitaciones

Fallas eléctricas presentadas en el transcurso de esta investigación, fallas en la red de internet, los altos costos de las impresiones y copias.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

Sánchez, M., Gutiérrez, N. y Posada, I., (2018) llevaron a cabo un trabajo publicado en la Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, intitulado *Prevalencia de mastitis bovina en el Cañón de Anaime, región lechera de Colombia, incluyendo etiología y resistencia antimicrobiana*. El objetivo fue determinar la prevalencia de mastitis bovina y la resistencia antimicrobiana de los patógenos involucrados en una región lechera de Colombia. Es una investigación descriptiva, con un diseño de investigación experimental. Se conoció que los principales factores que inciden y determinan la calidad y la producción de la leche son, en primer lugar, el genético que específicamente indica la raza y la especie del ganado.

Asimismo, el manejo de la forma en la cual son ordeñados y alimentados los bovinos, por su parte y no menos importante, es la fase y el número de lactación en la cual se encuentra el vacuno, pero la parte más tomada en cuenta para la investigación en curso es, la prevalencia con la cual se presenta la enfermedad.

La mastitis se considera como un problema global con respecto a los ingresos de los agricultores y a quienes trabajan el sector láctico, siendo la del tipo subclínica la que genera mayor cantidad de pérdidas, dado que solo produce inflamación a nivel de la glándula mamaria, sin generar cambios visibles, reduciendo la producción de la leche y afecta a una gran cantidad de animales. Es por esto que aparecen diversos problemas en el bienestar del vacuno, en cuanto a la calidad de la leche y la reproducción del mismo, afectando de manera negativa en los costos elevados que se deben

sustentar en tratamientos, así como en los sacrificios que se deben realizar a los animales; todo esto dado por bacterias conocidas como patógenos mayores por su alta virulencia y elevado daño a la glándula mamaria, entre las que destaca *Staphylococcus*, es por ello que se debe tener presente, que de no extremar con estas medidas, se estaría jugando con la salud de los consumidores de la leche y derivados de esta.

La principal herramienta de utilización para esta enfermedad es la terapia antimicrobiana, ejecutada en la vigilancia de la mastitis en las dos etapas de la vaca, tanto en lactancia, como en su época seca. Por su parte, hay cepas que presentan resistencia ya sea completa o parcial a los distintos antimicrobianos, debido a ser utilizados inadecuadamente. En la actualidad, existen bacterias que ya poseen resistencia, las cuales se pueden encontrar en ciertos alimentos de origen animal, pudiendo transmitirse a humanos, mediante la cadena alimentaria, como ejemplo tenemos a *S. aureus* resistente a metilicina, y como consecuencia de todo esto, tenemos la presencia de residuos de antibióticos en la leche la cual pueden ser altamente nociva.

Mendoza, Vera y Peña (2017) realizaron un trabajo publicado en la Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, intitulado *Prevalencia de mastitis subclínica, microorganismos asociados y factores de riesgo identificados en hatos de la provincia de Pamplona, norte de Santander*. El objetivo fue determinar la prevalencia de mastitis, los microorganismos asociados y los factores de riesgo relacionados en explotaciones lecheras. Se clasifica como una investigación descriptiva, con un diseño de investigación experimental. Para este estudio se utilizó la prueba de California Mastitis Test (CMT), realizándole a 1.208 cuartos mamarias provenientes de 302 animales ubicados en 108 fincas. En los cuartos positivos (de trazas a 3+), realizando aislamiento microbiológico de las muestras de leche obtenidas. Se determinó una prevalencia individual de

54,6% en animales positivos para el CMT. Un 67,6% de las fincas presento al menos un animal positivo, mientras que un 21,6% de los cuartos mamarios presentaron reactividad al CMT. De las muestras que se realizó aislamiento y caracterización microbiológica, 74,4% se aisló *Staphylococcus aureus*, 12,3% *Streptococcus agalactiae* 13,3% y coliformes. En total 17 características permitieron la presencia de mastitis, y por otra parte se evidencio la ausencia de las buenas prácticas en el ordeño. El hecho de encontrar microorganismos que propagan la mastitis del tipo contagiosa, hace notorio la falta de capacitación y asesoría en las prácticas de ordeño (Mendoza, VeraPeña, 2017).

Handenberg (2016) publicó en la Universidad Agrícola de Suecia un artículo titulado *Mastitis clínica y subclínica en lácteos bovinos y búfalos en Bihar, India, prevalencia, principales patógenos y factores de riesgo*. El objetivo de este artículo fue estimar la prevalencia de mastitis en bovinos y búfalos, así como identificar patógenos comunes de ubres e identificar posibles factores de riesgo que puedan controlarse para reducir la enfermedad en bovinos. Siendo una investigación descriptiva, con un diseño de investigación experimental, este estudio se realizó en hogares rurales, periurbanos y urbanos en Bihar, donde se incluyeron un total de 285 vacas y 28 búfalos. Se recopiló información de manera general sobre los rebaños y los factores en el manejo de estos. También se tomó en cuenta los detalles que presentaba cada animal de forma individual. La determinación de la prevalencia de mastitis clínica y subclínica se determinó mediante examen clínico de la ubre y por la prueba de California Mastitis Test (CMT), algunas de las pruebas fueron analizadas con una prueba rápida (MastiTest), la cual permite evaluar la sensibilidad y la resistencia a los antimicrobianos.

Se obtuvo como resultado en bovinos una prevalencia de mastitis clínica y subclínica del 35,4% y del 11,6% respectivamente. En búfalos la prevalencia de mastitis clínica no fue encontrada y la de mastitis subclínica fue del

28,6%. De 145 cuartos de bovinos, el género *Staphylococcus aureus* fue la bacteria predominante 28,3% consecutivo por otras especies de dicho genero 21,3% así como especies de *Streptococcus* un 17,9%. Tres terceras partes de las muestras de leche de búfalo fueron negativas para crecimiento bacteriano y una parte se encontraba contaminada. Los resultados arrojaron que la prevalencia de mastitis en ganado lechero y búfalo es alta y el conocimiento para tomar medidas preventivas es necesario para controlar la enfermedad (Hardenberg, 2016). Dicha investigación comprueba la prevalencia de la mastitis clínica y subclínica, siendo de vital importancia en nuestro trabajo, de los resultados del mismo surge la propuesta de la investigación a elaborar.

Pompa y Ramírez en 2016 realizaron una publicación en la revista electrónica de veterinaria intitulado *La prevalencia de mastitis clínica en vacas mestizas Holstein y Cebú*. El objetivo de este artículo fue determinar la prevalencia de mastitis clínica y conocer los microorganismos implicados en su patología. Se cataloga como una investigación analítica, con un diseño de investigación experimental. Para el estudio se analizaron clínicamente 1040 vacas mestizas Holstein y Cebú las cuales se ordeñaron manualmente y correspondieron a 12 vaquerías. Fue tomada en cuenta la posición de la mama de los cuartos afectados, fueron registrados en la clasificación leve, moderada, severa o crónica, así como la calidad de la leche por pruebas de contraste. No se consideró la edad, período ni número de lactancias de los animales. Como resultados la prevalencia de mastitis clínica fue de 4,56% contando con microorganismos aislados, divididos en dos grupos, ambientales y contagiosos respectivamente; *Streptococcusagalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium sp.* y Enterobacterias, *Streptococcusdys galactiae* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Como conclusión en la prevalencia de mastitis clínica esta es mayoritariamente leve y tanto los microorganismos contagiosos como los ambientales son en igual proporción responsables de la enfermedad (Pompa y Ramírez, 2016).

Este trabajo es de gran importancia ya que demuestra como la prevalencia de la mastitis es generada tanto por microorganismos ambientales como contagiosos, fundamentando la investigación en desarrollo.

Antecedentes históricos

Antecedentes Históricos o Epistemológicos de la mastitis

La mastitis es un complejo inflamatorio de la glándula mamaria, primaria o secundaria, aguda o crónica, con alteración anatómica y funcional, la cual resulta de la interacción entre agentes infecciosas y prácticas administrativas deficientes. Generalmente, esta enfermedad es asociada a una infección bacteriana.

Los primeros reportes sobre la etiología de la enfermedad fueron realizados por Nocard y Mollerau. Estos investigadores no dieron nombre específico a los agentes aislados y en 1840, Guilleveau dio el nombre de *Streptococcus Mastitis Sporadicae* a los microorganismos aislados en los casos esporádicos de mastitis y *Streptococcus mastitis contagiasae* a los encontrados en los casos de Mastitis enzooticas (Mateus, 1983).

En 1884, Rosembach aisló y clasificó sistemáticamente otros gérmenes presentes en las infecciones de la ubre que los llamó *Micrococcus*, posteriormente clasificados como *Staphylococcus* basándose para ello en la capacidad de producir pigmentos.

En los años comprendidos entre 1890 a 1945 la bacteriología de la mastitis estuvo encaminada a descubrir métodos de laboratorio específicos

para clasificar los *Streptococcus* y *Staphylococcus*. El descubrimiento de los antibióticos bajó las pérdidas causadas por mastitis reduciendo la incidencia de cuartos ciegos. No obstante, el uso inadecuado de ellos han contribuido a ocultar temporalmente los síntomas clínicos de la enfermedad, favoreciendo así el incremento de resistencia de los gérmenes (Mateus, 1983).

Antecedentes Históricos o Epistemológicos del genero Staphylococcus

Los cocos fueron asociados por primera vez con enfermedades humanas al ser observados en ciertos materiales purulentos lo cuales provenían de abscesos humanos. Pero fue hasta 1880 cuando el cirujano escocés Sir Alexander Ogston confirmó que los cocos que se agrupaban en forma de racimo eran la causa de algunos abscesos presentes en humanos. Luego, para 1882 nombró a estos cocos como *Staphylococcus*, derivándose su nombre del griego *staphile*, que su significado es racimo de uvas y *kokkus*, frutilla. Propuso este término para lograr diferenciar el género de los estreptococos, que forman cadenas. Posteriormente a este hecho, Louis Pasteur concluyó afín a lo descrito por Ogston en París (Sejia, 2008).

Fue en 1884 cuando ya se relacionó la presencia de este género bacteriano en infecciones de heridas y osteomielitis. Desde entonces, es tema de actualidad en el mundo de la microbiología sanitaria, ya que se asocia con un gran número de cuadros infeccioso y toxígeno. (Fueyo, 2005).

Bases Teóricas

Teoría microbiana de la enfermedad

A mediados del siglo XIX investigadores como Louis Pasteur establecieron el desarrollo de ciertas enfermedades y la presencia de microorganismos en el enfermo. Sin embargo, la asociación de los microorganismos con la enfermedad no aseguraba que estos fueran su

causa. Roberth Kotch fue el responsable de poner a prueba experimentalmente la denominada teoría microbiana de la enfermedad, por lo que también centró sus primeros trabajos en el estudio de una enfermedad del ganado, el carbunco que también afecta a las personas (Díaz, 2015).

Kotch observó al microscopio preparaciones de sangre de los enfermos y comprobó que siempre había una bacteria llamada *Bacillus anthracis*. Tomó una pequeña cantidad de sangre de un ratón enfermo de carbunco y se la inyectó a un ratón sano que también se enfermó de *Bacillus anthracis* y murió, hizo lo mismo 20 veces y pasaba lo mismo. Así comprobó que incluso después de muchas transferencias de cultivo, la bacteria seguía causando la misma enfermedad cuando se inoculaba a un animal. Con ello no solo confirmó el papel de los microorganismos en las infecciones, sino también la idea de que cada enfermedad está producida por un microorganismo determinado y cada uno de estos genera una enfermedad diferente. (Díaz, 2015).

Prescott, Harley y Klein (1999) señalan lo siguiente sobre los postulados de Kotch:

1. El microorganismo causal debe estar presente en cada caso de enfermedad, pero ausente en los organismos sanos.
2. Hay que aislar y desarrollar en cultivo puro al microorganismo sospechoso.
3. Al inocular el microorganismo aislado en un huésped sano, se debe desarrollar la misma enfermedad.
4. El mismo microorganismo debe aislarse de nuevo a partir del huésped enfermo.

Aproximación teórica sobre la etiopatogenia de la mastitis

La mastitis bovina se trata de una enfermedad a nivel de la glándula mamaria del tipo infecciosa contagiosa, producto de la respuesta invasiva a

nivel del canal de pezón por distintos grupos bacterianos, micoplasmas, hongos, levaduras e incluso ciertos virus. Sin embargo, los principales géneros bacterianos son *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Corynebacterim*; incluyendo algunas bacterias Gram positivas. A todos estos se le atribuyen más del 90% de los casos ya sean clínicos, como subclínicos (Coberllini, 2002).

Esta ha sido conocida como una enfermedad generada por distintos factores, ya que depende de cómo el animal pueda rechazarla, así mismo del número, tipo y patogenicidad que posean las bacterias responsables. De la misma manera, un factor influyente es el medio ambiente y el manejo del sistema de ordeño. La mastitis puede ser subclínica o clínica, presentando variaciones macroscópicas en la leche, síntomas palpables en la ubre, e incluso alteraciones a nivel sistémico del animal (Coberllini, 2002).

Otra característica de la mastitis que la califica como enfermedad del tipo infecto contagiosa, es la diversidad que posee, ya que los cuartos mamarios pueden ser clasificados como infectados o no infectados. De igual forma, la frecuencia de mastitis clínica tendrá diversos factores, siendo los principales, el género de la bacteria, los factores de virulencia y el estado inmunológico del animal (Coberllini, 2002).

Aproximación teórica sobre los métodos de aislamiento bacteriano

El aislamiento bacteriano consiste en una serie de métodos, los cuales van desde lo básico como la toma de muestra, y se da una vez que existe presunción de una enfermedad infecciosa. De esta manera, se deben tener en cuenta las siguientes consideraciones las cuales son fundamentales. La primera, que la muestra debe provenir del sitio real de la infección, ser tomada con el cuidado de que no exista contaminación de tejidos, órganos y secreciones adyacentes. Por segunda consideración, debe ser tomada en el momento óptimo, con el fin de que se presente la oportunidad de recuperar

microorganismos. En tercer lugar, la cantidad debe ser la suficiente para ejecutar las distintas técnicas de cultivo. Como cuarto lugar, para asegurar que se recolecten microorganismos, se debe hacer uso de los instrumentos necesarios. En quinto lugar, se deben obtener los cultivos antes de que administre antibióticos. Por último, el recipiente debe encontrarse debidamente rotulado, de forma legible (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn, 2011).

Por otra parte, el paso a seguir es el transporte adecuado de muestras. El cual consiste en mantener la muestra lo más cercana a su estado original, con el mínimo riesgo y deterioro. Esto se logra en un envase herméticamente cerrado. Otro de los criterios a considerar es la recepción de muestras y observaciones preliminares. En estos aspectos encontramos los criterios para el rechazo de la toma de muestra. Por otra parte, se encuentra el examen microscópico. Dentro de este se encuentran las técnicas de microscopía, tinciones directas y uso de colorantes, como la coloración de Gram y alcohol-acido, entre otras (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn, 2011).

Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn (2011), señalan lo siguiente sobre el procesamiento de los cultivos:

1. Seleccionar el medio de cultivo primario adecuado para el tipo de muestra en particular.
2. Determinar la temperatura y la atmosfera de incubación, para recuperar todos los microorganismos potencialmente significativos.
3. Determinar cuál de los aislamientos recuperados en el medio primario requiere una caracterización posterior.
4. Determinar si se requieren pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos, una vez que se ha identificado al organismo.

También la interpretación de los cultivos, es evaluada entre las 24 a 48 horas de incubación en cultivos primarios. Es a partir de las observaciones iniciales, características más notorias de las colonias, examen por coloración de Gram y la identificación preliminar basada en las características metabólicas, que incluye pruebas de susceptibilidad. Estos pasos previos permiten que se pueda brindar un informe de resultados que cuenta como política apropiada ser entregados a tiempo (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn, 2011).

California Mastitis Test (CMT)

La prueba de California Mastitis (CMT) nombrada así por sus siglas en inglés, se utiliza desde hace décadas y aún en la actualidad sigue siendo la más empleada en el campo para lograr el diagnóstico de la mastitis en ganado lechero. Esta se basa en una prueba sencilla, la cual no brinda un resultado cuantitativo, por el contrario es indicativa de si el recuento celular se encuentra elevado o bajo (Belloda, Castañeda y Wolter, 2007). Los resultados que esta proporciona se interpretan en cinco clases; van desde el resultado negativo, donde la leche y el reactivo siguen en estado acuoso, hasta el recuento celular más elevado, en la cual la mezcla producida por la leche y el reactivo se solidifica. Esta determinación se da por la reacción a la gelificación (Fernández, Trujillo, Peña, Cerquera y Granja, 2012).

Tabla 1. Interpretación de resultados de la Prueba de California para Mastitis

Score	Significado	Descripción de la Reacción	Interpretación (Rcs/MI)
N	Negativo	La mezcla permanece en estado líquido y homogéneo.	0-200.000
T	Trazas	Hay algo de engrosamiento. La reacción es reversible y la viscosidad observada por primera vez tiende a desaparecer.	150.000-500.000
1	Ligeramente Positivo	La mezcla espesa, pero no hay formación de gel en el medio de la paleta y la viscosidad observada tiende a persistir. La mezcla cae poco a poco.	400.000-1.500.000
2	Positivo	Gel se formara en el centro de la paleta durante el movimiento giratorio. El gel se acumula en la parte interior de paleta cuando el movimiento giratorio se interrumpe. Cuando se vierte la mezcla la masa gelatinosa cae y puede dejar un poco de líquido en el pocillo.	800.000-5.000.000
3	Muy Positivo	Gel se formara en el centro de la paleta y se pega en el fondo del pocillo, pero no a un lado. Cuando se vierte la mezcla, se cae sin dejar líquido detrás.	>5.000.000

Fuente: Sosa y Hernández, 2019.

Pruebas de identificación bacteriana

La mayoría de las pruebas utilizadas para evaluar la actividad metabólica o bioquímica de las bacterias por medio de las cuales se puede efectuar la identificación final de las especies, se realiza subcultivando el aislamiento primario a una serie de medios diferenciales de prueba, los resultados de los cuales pueden ser interpretados tras uno o más días de incubación adicional. Las observaciones e interpretaciones iniciales de las placas de cultivo deben ser aplicadas a determinar si se debe continuar con la identificación del microorganismo o microorganismos recuperados (Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn, 2011).

Agar Manitol Salado

Este medio de cultivo cuenta una alta concentración de sales que inhibe el desarrollo de otros microorganismos excepto *Enterococos* y recupera selectivamente *Estafilococos*, que puede ser detectado por la presencia de fermentadores al manitol, con poca frecuencia puede producir ácido a partir de manitol. En consecuencia, los microorganismos manitol-positivos con lo que respecta a la producción de coagulasa Koneman, Allen, Janda, Schreckenberger y Winn, 2017).

Definición Operacional de Términos

Bacterias Grampositivas

Los cocos gram positivos son un grupo heterogéneo de bacterias, los cuales poseen como característica en común su forma esférica, además de ello, se tiñen de morado al colorear al Gram. Este género en su pared celular cuenta con peptidoglucano, el cual representa la mitad de su peso, característica

que comparten todas. Está compuesto por capas de cadenas de glucanos alternantes de N-acetilmurámico y N-acetilglucosamina. Otro destacado componente de la pared celular en estas bacterias son los ácidos teicoicos, los cuales representan de un 30% a un 50% de su peso seco. Estos son polímeros fosfatados de forma específica de cada especie, estos se unen a restos de ácido N-acetilmurámico (Murray, Rosenthal, y Pfaller, 2009).

Género Staphylococcus

El nombre de este género *Staphylococcus* hace referencia a que estos cocos desarrollan un patrón similar a un racimo de uvas. A pesar de ello, los que se encuentran en muestras clínicas se observan como células aisladas, en pares e incluso en cadenas cortas. En su gran mayoría este género bacteriano son anaerobios facultativos, lo que hace referencia a que pueden crecer de forma aerobia y anaerobiamente. Además, son inmóviles y eso les atribuye la capacidad de crecer en altas concentraciones de sal. Estas bacterias las encontramos en las mucosas y piel del ser humano y animales (Murray, Rosenthal, y Pfaller, 2009).

Medios de cultivo

Los medios de cultivo son un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento así como otros componentes. Estos se encargan de atribuirle las condiciones bioquímicas y biofísicas apropiadas para lograr el aislamiento, desarrollo y mantenimiento de los microorganismos. Existen diferentes tipos de medios de cultivo, estos se clasifican según el estado físico, la composición y la utilidad. Según el estado físico, los encontramos líquidos o caldos, sólidos y semisólidos. De acuerdo a su composición, en medios sintéticos o definidos y complejos. Por último, según la utilidad se clasifican en medios de transporte, selectivos, diferenciales, selectivo-diferencial,

enriquecidos, de enriquecimiento y de conservación (Ramírez, García, Longa, Sánchez, Nieves, Velasco, Araque y Mosqueda, 2010).

Taxonomía

La taxonomía es un área de las ciencias biológicas que abarca tres distintas disciplinas. Aun así, estas se encuentran muy relacionadas entre sí, las cuales son: la clasificación, la nomenclatura y la identificación. Esta área de la ciencia proporciona uniformidad para clasificar, denominar e identificar a los organismos vivos; esto se da cuando se aplica a todos los seres vivos. Es la uniformidad que esta presenta, lo que permite que los biólogos puedan utilizar un nombre común en el mundo para cada organismo. Es esto lo que elimina la confusión entre los expertos. La importancia de esta, no solo se origina en la filogenia, sino también en las distintas disciplinas de la biología e incluso la microbiología (Forbes, Sahm, Weissfeld, 2004).

Clasificación bacteriana

La clasificación es realizada mediante la organización en distintos grupos o taxones de ciertos microorganismos que comparten características similares tanto morfológicas, fisiológicas y genéticas. Este sistema es jerárquico y se realiza con el siguiente método: especie, género, familia, orden, clase, división y reino. A su vez, entre esta organización encontramos la especie, la cual es el grupo taxonómico más básico, fundamentado en cepas bacterianas con similitudes genéticas y fisiológicas; lo que le confiere diferencias con otro grupo bacteriano, y en oportunidades encontramos subespecies. De igual manera engloba el género, quien es el taxón más alto y comprende distintas especies, de igual forma con similitudes entre ellas. (Forbes, Sahm, Weissfeld, 2004).

Nomenclatura

La nomenclatura permite darle la denominación a los microorganismos de acuerdo a las reglas y normas previamente establecidas. Esto genera nombres aceptados a nivel mundial, lo que posibilita que los microorganismos sean conocidos. El sistema de nomenclatura binomial genera a cada microorganismo un nombre científico que consiste en el género y la especie. El género siempre se escribe en mayúscula la primera letra y la especie en minúscula. Ambos componentes se usan simultáneamente y en letra impresa, escritos en letra itálica; mientras que en letra escrita, serán subrayados (Forbes, Sahm, Weissfeld, 2004).

Identificación microbiana

La identificación microbiana es un proceso mediante el cual se describen las características importantes de un microorganismo. Una vez esas características han sido determinadas, se comparan con perfiles de otros microorganismos ya caracterizados para así clasificarlo en el taxón correspondiente, dándole el nombre apropiado al género y especie. Además, para ejecutar la identificación hay métodos y criterios que permiten hallar la identidad del microorganismo. De forma general esas características que permiten la identificación se pueden dividir en genotípicas y fenotípicas (Forbes, Sahm, Weissfeld, 2004).

Prueba de la catalasa

Es una prueba sencilla utilizada para lograr la subdivisión de cocos grampositivos en distintos géneros. Esta se fundamenta en la enzima catalasa que degrada el peróxido de hidrogeno, convirtiéndolo en agua y oxígeno gaseoso. Cuando una colonia bacteriana es productora de catalasa,

esta emite burbujas, a medida que forma el oxígeno gaseoso (Murray, Rosenthal, y Pfaller, 2009).

Prueba de Kirby-Bauer

Esta es también conocida como prueba de difusión del disco, la cual fue estandarizada por Kirby y Bauer en 1966, de allí se origina el nombre de la prueba, es utilizada con mayor frecuencia para la evaluación de la sensibilidad que puedan presentar las bacterias a un antibiótico determinado, lo que también se conoce como antibiograma, siendo sus resultados cualitativos o semi-cuantitativos, pero son de gran importancia puesto que permite iniciar o modificar una antibióticoterapia, además es caracterizado por ser un método sin mayor complejidad, lo que permite que sea realizado en los laboratorios de rutina (Ramírez, García, Longa, Sánchez, Nieves, Velasco, Araque y Mosqueda, 2010)

www.bdigital.ula.ve

Antibióticos

Son sustancias químicas, conocidas como antimicrobianos, antibióticos o quimioterapéuticos, las cuales pueden ser producidas por distintas especies de microorganismos vivos, tales como hongos o bacterias; así mismo estas pueden ser obtenidas en laboratorios. Su principal función es la inhibición o destrucción del crecimiento de otros microorganismos, por ello su mecanismo de acción y su espectro antimicrobiano son distintos para cada patógeno. De la misma manera, sus propiedades tales como física, química o farmacológica difieren en cada uno, según sea el antimicrobiano. Estos además, cuentan con actividad microbicida o microbiostática, siendo bajamente tóxicos para el organismo que los consume, siendo así suministrados sin riesgo alguno, alcanzando las concentraciones adecuadas para actuar a nivel del tejido requerido. El primero en descubrirse fue la

penicilina en 1929 por Fleming, siendo un antibiótico natural, el cual para su momento no pudo ser purificado, hasta 1940 por Chain y Florey (Patiño, 2003).

Operacionalización de las Variables

Para operacionalizar el sistema de variables o el evento de estudio con el respectivo criterio de análisis, es necesario la definición conceptual y la operacional de las mismas (Hurtado, 2010).

En tal sentido, se realizó la operacionalización de las variables con la finalidad de identificar los elementos y datos empíricos que expresan su presencia. En esta investigación se estudió la prevalencia de *Staphylococcus* spp. Los indicadores derivarán de las bases teóricas. El proceso de la operacionalización de las variables garantizó que los objetivos propuestos sean alcanzados.

www.bdigital.ula.ve

Tabla 2. Operacionalización del evento de estudio prevalencia de *Staphylococcus sp.*

1.Evento	2.Definición Conceptual ¿Qué es?	3.Definición operacional ¿Cómo se mide?
<i>Staphylococcus sp.</i>	Bacterias esféricas, aeróbicas, Gram positivas, que se producen en grupos microscópicos similares a racimos de uvas. Descrito, en 1884 por Rosenbach, en dos tipos de colonias pigmentadas (Todar, 2015).	Cultivo bacteriano
Dimensiones	Indicador	
Presencia de bacterias	Positivo, presencia de <i>Staphylococcus sp.</i> Negativo, ausencia de <i>Staphylococcus sp.</i>	

Fuente: Sosa y Hernández, 2019.

Tabla 3. Operacionalización del evento de estudio prevalencia de Mastitis Clínica.

1.Evento	2.Definición Conceptual ¿Qué es?	3.Definición operacional ¿Cómo se mide?
Mastitis Clínica	La mastitis bovina se trata de una enfermedad a nivel de la glándula mamaria del tipo infecciosa contagiosa. Producto a la respuesta invasiva a nivel del canal de pezón por distintos grupos bacterianos (Coberllini, 2002).	Cultivo bacteriano
Dimensiones	Indicador	
• Aguda • Crónica	• Positivo, presencia de Inflamación • Negativo, ausencia de Inflamación • Positivo, presencia de Fibrosis Extensa • Negativo, ausencia de Fibrosis Extensa	

Fuente: Sosa y Hernández, 2019.

CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS

Tipo de Investigación

La investigación en general responde a ciertos objetivos. De acuerdo a cada uno de estos objetivos, es posible derivar un tipo particular de investigación. En relación a lo anterior, la investigación holística ha organizado y clasificado los objetivos, así como sus correspondientes tipos de investigación. Específicamente pueden ser: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, confirmativa y evaluativa. Una investigación confirmatoria requiere de una explicación previa a una serie de respuestas o hipótesis, los cuales se desean confirmar (Hurtado, 2010).

www.bdigital.ula.ve

En tal sentido, esta investigación es analítica ya que se analiza la relación de correspondencia entre la de la prevalencia de *Staphylococcus* spp., y el aislamiento e identificación de bovinos con mastitis clínica.

Diseño de la Investigación

El diseño de investigación hace explícitos los aspectos operativos de la misma. Si el tipo de investigación se define con base al objetivo, el diseño de investigación se define con base al procedimiento, el cual se debe determinar a través de las estrategias que se implementan para recolectar la información en una fuente determinada, en un tiempo específico y en una cantidad o amplitud asociada a lo que se quiere saber. Hay un grupo de diseños que son específicos de las investigaciones de nivel integrativo, en especial de las confirmatorias y evaluativas, las cuales responden a dos criterios que no aplican a los demás tipos de investigación, estos criterios son: el grado de intervención del investigador y la rigurosidad del control de variables extrañas (Hurtado, 2010).

En concordancia con lo antes expuesto, la presente investigación es de tipo analítica, con un diseño retrospectivo, transeccional y univariable. En el cual el investigador hace un control estricto de variables extrañas para descartar que los cambios hayan sido originados por otros factores distintos a las variables de estudio (Hurtado, 2010). Por tal motivo, las muestras recolectadas en la población de La Tendida del estado Táchira fueron procesadas en Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología “Roberto Gabaldón” del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (ULA) y en el Laboratorio de Estudios Veterinarios VATCA.

Población y muestra

Unidad de Investigación

La población es el conjunto de elementos que se quiere conocer o investigar algunas de sus características. La muestra es un subconjunto representativo de un universo o población. (Arias, 2006). La unidad de investigación estuvo representada por las muestras de leche de bovinos con mastitis. La finca queda ubicada en la población de la Tendida, y solo se enviaron para realizar cultivo para aquellas muestras de leche que arrojaron resultado positivo para California Mastitis Test. Las muestras fueron procesadas en el Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología “Roberto Gabaldón” del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de los Andes y por ser época de Pandemia por el virus SARS Cov 2 se analizaron conjuntamente en el laboratorio de Investigaciones Veterinarias VATCA C.A. Los criterios de inclusión son: Bovinos que ya tengan el primer parto, Bovinos que no están recibiendo antibióticos al momento de la toma de muestra, Bovinos que aplicándole el Test de California Mastitis (TCM) arroje un resultado positivo.

Selección del Tamaño de la Muestra

Las muestras fueron no probabilísticas por conveniencia, debido a la falta de insumos para el desarrollo experimental. En tal sentido se incluirán 67 bovinos, a las cuales se recolectarán a cada uno cuatro (1) muestras de leche a cada uno. El tipo de muestra utilizada fue de este tipo, respecto a que la elección de los elementos no depende de la probabilidad, sino de causas relacionadas con las características de la investigación o de quien hace la muestra. Aquí el procedimiento no es mecánico ni con base en fórmulas de probabilidad, sino que depende del proceso de toma de decisiones de un investigador o de un grupo de investigadores y desde

luego, las muestras seleccionadas obedecen a otros criterios de investigación (Hernández, Fernández y Baptista, 2006).

Sistema de Variable

Existen diferentes tipos de variables como son: la variable dependiente, variable independiente y variable interviniente. Teniendo de esta forma que la variable dependiente es la que se modifica por acción de la variable independiente, constituye los efectos o consecuencias que se miden. En relación a la variable independiente es la causa que genera y explica los cambios en la variable dependiente y en cuanto a la variable interviniente es la que se interpone entre la variable independiente y la variable dependiente pudiendo influir en la modificación de esta última. (Arias, 2006). Las variables que guardan relación con el objetivo de la investigación son la prevalencia de *Staphylococcus* spp, y las categorías son: presencia de *Staphylococcus* spp. o ausencia de *Staphylococcus* spp. No está sistematizada como dependiente e independiente porque no es confirmatoria.

Tabla 4. Operacionalización de las variables

<i>Variables</i>	<i>Dimensiones</i>	<i>Indicadores</i>
<i>Prevalencia</i>	Prevalencia mastitis clínica	Positivo Negativo
<i>Agentes causales</i>	Bacterias	Cultivo bacteriológico
<i>Cultivo microbiológico</i>	Antibiograma	Mayor a 25.000 UFC/ml
<i>Factores de riesgo</i>	Factores de manejo	Desinfectantes Desinfección Limpieza Selladores de pezón Higiene personal Evaluaciones rutinarias Secado de la vaca Equipo de ordeño

Tabla 5. Definición operativa de variables e indicadores.

VARIABLE	INDICADORES
Patógeno causante de mastitis bovina. Prevalencia de <i>Staphylococcus</i> spp. mediante el aislamiento e identificación en bovinos	• Gram (positivo- negativo) • Carga bacteriana (colonias ufc/mL) • Sensibilidad • Sensibilidad Intermedia • Resistencia

Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

Se entenderá por técnica de investigación, el procedimiento o forma particular de obtener datos o información. (Arias, 2012). Estas son catalogadas con gran importancia ya que deben ser individuales y concretas para cada investigación según sea el área en estudio, llevando a lograr la obtención de la información.

Conjuntamente, con la técnica se debe contar con un instrumento de recolección de datos, el cual es cualquier recurso, dispositivo o formato (en papel o digital), que se utiliza para así lograr obtener, poder registrar o bien sea almacenar información. (Arias, 2012). Basado en la literatura, en la presente investigación, nos basamos principalmente en los objetivos que nos dieron el enfoque y en las preguntas de investigación correspondiente

TÉCNICAS

- Se recolectaron las muestras de leche, por técnica de ordeño manual o mecánico.
- Se realizó el Test de “*T.C.M*” (California Mastitis Test).
- Se diferenciaron grupos bacterianos por la técnica de Gram.
- Para ejecutar el aislamiento bacteriano se realizó la técnica de cultivo.
- Para evidenciar si existía resistencia a los antibióticos se aplicó la técnica de Kirby Bauer, la cual se basa en la utilización de una concentración de antibiótico conocida y medir el tamaño del halo de inhibición formado.

INSTRUMENTOS

- El Test de “*T.C.M*” (California Mastitis Test).
- Las muestras fueron recolectadas, mediante ordeño manual y

mecánico.

- Data de las muestras de leche, facilitada al Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología “Roberto Gabaldón” del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes (ULA) y al Laboratorio de Estudios Veterinarios VATCA C.A de la ciudad de Ejido-Estado Mérida por las fincas, en los anexos se encuentra un modelo de hoja de reporte.

Procedimientos de la Investigación de Recolección de Muestras

Es importante que el investigador describa con detalle, paso por paso, el procedimiento que llevará a cabo durante la investigación, esta descripción permite, no sólo verificar que el procedimiento utilizado cumplió con los requerimientos metodológicos del proceso de investigación, sino además hará posible que otros investigadores puedan apoyarse en la información para investigaciones similares en otros contextos. (Hurtado, 2010).

El procedimiento que se realizó en esta investigación comprende la recolección de las muestras a partir de los datos suministrados por la finca. La recolección de la leche, se ejecutó mediante ordeño mecánico o manual en las primeras horas de la mañana de 4:00 a.m. a 6:00 a.m., a bovinos con un primer parto y lactando. Las muestras fueron recolectadas en la población de La Tendida, Estado Táchira, procesadas en el Laboratorio de Investigaciones en Bacteriología “Roberto Gabaldón” del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes y en Laboratorio de Estudios Veterinarios VATCA C.A de la ciudad de Ejido-Estado Mérida.

A estas se les aplicó el Test de Mastitis California. Las muestras que arrojaron resultados positivos o reactivos observándose mediante la gelificación del reactivo presente en el test. Esta metodología permitió que el

encargado de la finca o médico veterinario tratante, enviara las muestras positivas al Laboratorio, donde se le realizaron las pruebas pertinentes. Las cuales comenzaron con una tinción de Gram en la leche, con la valoración de polimorfonucleares y la morfología bacteriana. Según lo encontrado en el Gram, sea cocos o bacilos, se procedió a seguir la marcha analítica.

Según lo evidenciado mediante la tinción de Gram realizada, arrojando cocos Gram positivos, se inoculó la muestra de leche en agar sangre, como medio enriquecido que permitió el crecimiento de bacterias nutricionalmente exigentes como medio primario. De la misma manera, se realizó en agar manitol salado, el cual sirvió como medio selectivo diferencial para el aislamiento de cocos Grampositivos, ambos medios de cultivo se incubaron durante 24 horas a 37°C.

Posteriormente se realizó la prueba de la catalasa, la cual si arrojaba positividad era indicativo del género *Staphylococcus*. Como prueba diferencial entre especies se le practicó la prueba de la coagulasa; si esta indicaba un resultado positivo, se trata de la especie *Staphylococcus aureus*; si por su parte es un resultado negativo hablábamos de *Staphylococcus* coagulasa negativo y a su vez pasadas las 24 horas de inoculación, se tomaron colonias del agar sangre para ser purificadas, inoculándolas en agar BHI, durante 24 horas más a la misma temperatura. Por consiguiente, la marca de los agares utilizados en los procedimientos antes referido son medios de cultivo de la casa comercial BBL.

Una vez pasado el tiempo correspondiente, como siguiente paso se realizó el antibiograma, este bajo la técnica de Kirby-Bauer. Se basó en la calidad del inóculo realizado de la siguiente manera: se tomó una o dos colonias de la placa del microorganismo purificado, con el asa esterilizada mediante la ayuda del mechero para colocarlas en un tubo con solución fisiológica estéril y así poder ajustar al patrón de turbidez 0,5 McFarland. Seguidamente, se sumergió un hisopo estéril en el inóculo realizado para así impregnarse de este y ser inoculado en una placa con agar MuellerHinton, en tres o cuatro

direcciones diferentes, hasta lograr recorrer toda la placa en ángulos de 90°. Una vez seca la placa, se procedió a colocar los discos de antibióticos, tales como: Amikacina, Clindamicina, Eritromicina, Ciprofloxacina, Oxacilina, Penicilina, Tetraciclina, Trimetropin-Sulfametoxazol, todos estos antes mencionados de la casa comercial (OXOID), estos con la ayuda de una pinza estéril, tomando en cuenta que por placa solo se colocaron seis discos equidistantes. Las placas fueron almacenadas durante toda la noche durante 18 horas a 36°, y al día siguiente se procedió a hacerse la lectura de los diámetros de los halos de inhibición con la ayuda de una regla, correlacionando los datos que se obtuvieron con los puntos de corte en las tablas estandarizadas para la bacteria en estudio, este caso *Staphylococcus* sp.

Para finalmente la interpretación de los resultados obtenidos.

www.bdigital.ula.ve

Esquema 1: Procedimiento empleado para la recolección de la muestra láctea

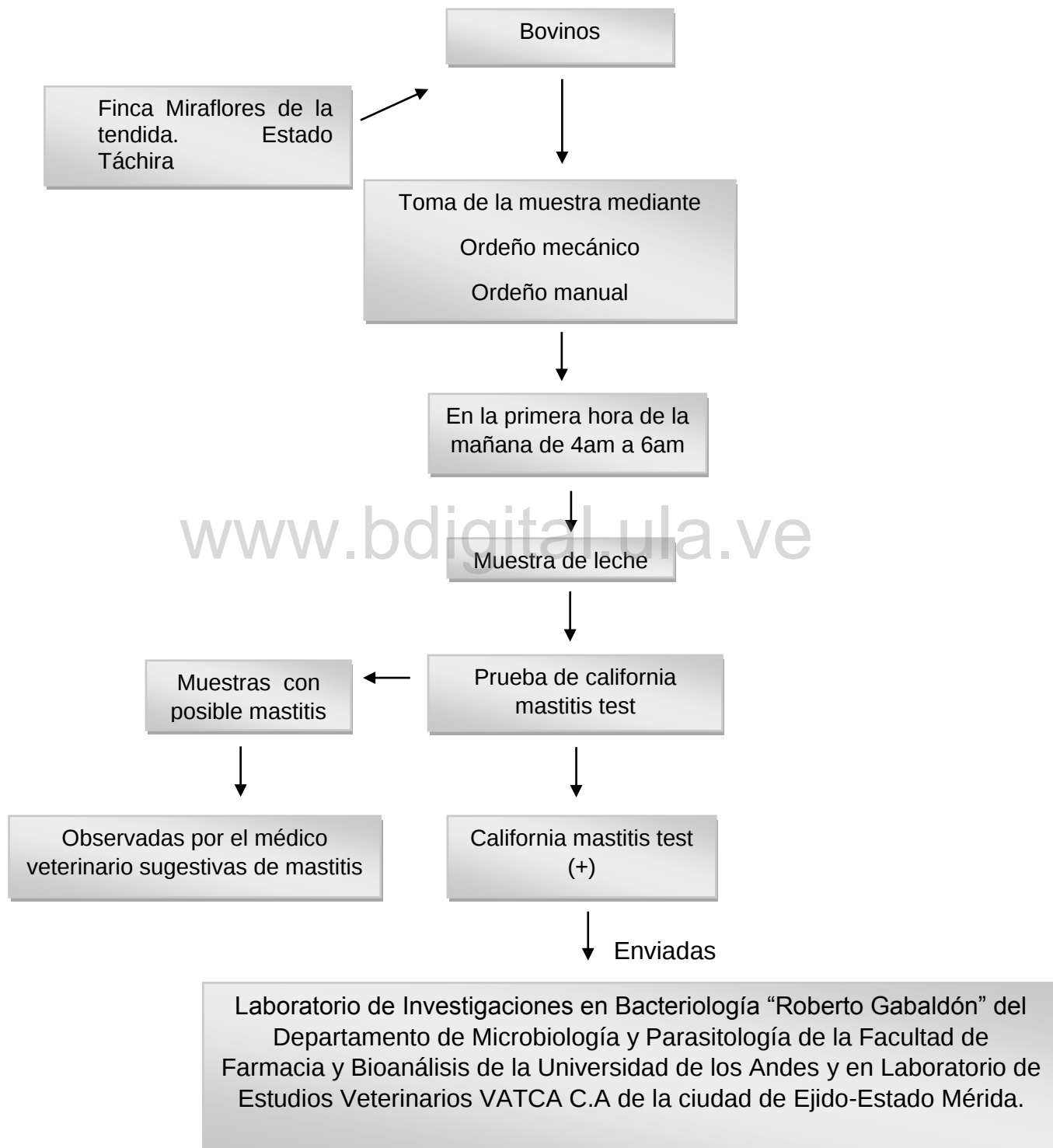


Figura 1: Muestra lactea con mastitis.



(Cedeño, 2007).

Figura 2: Prueba positiva para california mastitis test



(Perulactea, 2011).

Esquema 2: Procedimiento Microbiológico

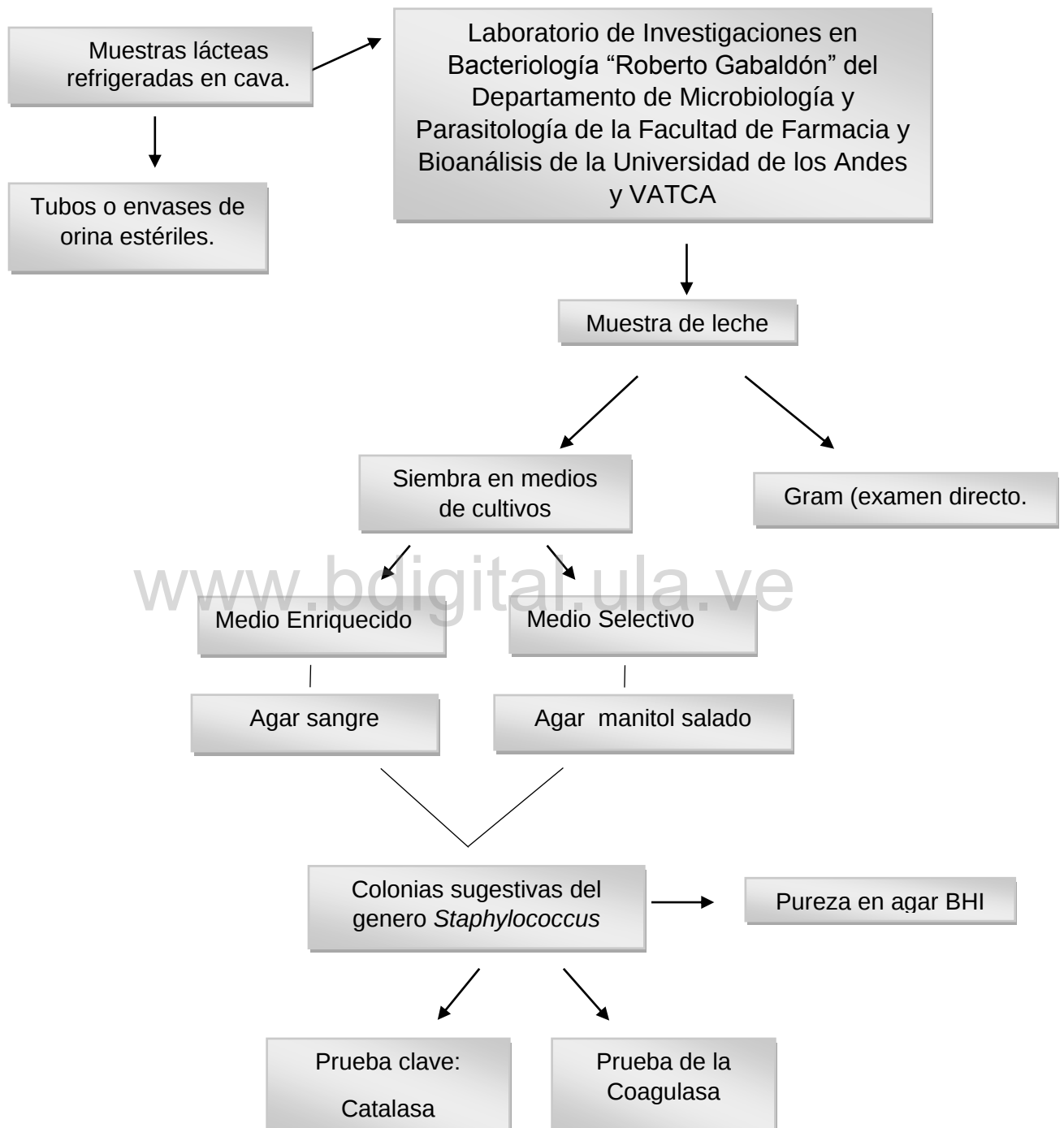


Figura 3: Agar Sangre.



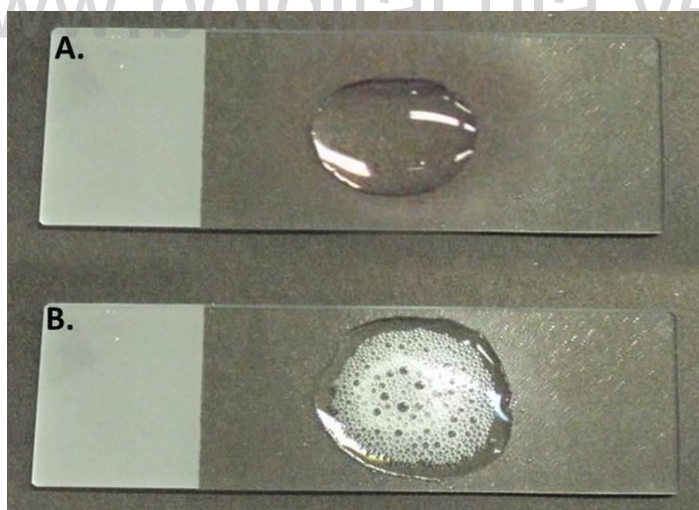
(Castellanos, 2017).

Figura 4: Agar Manitol Salado



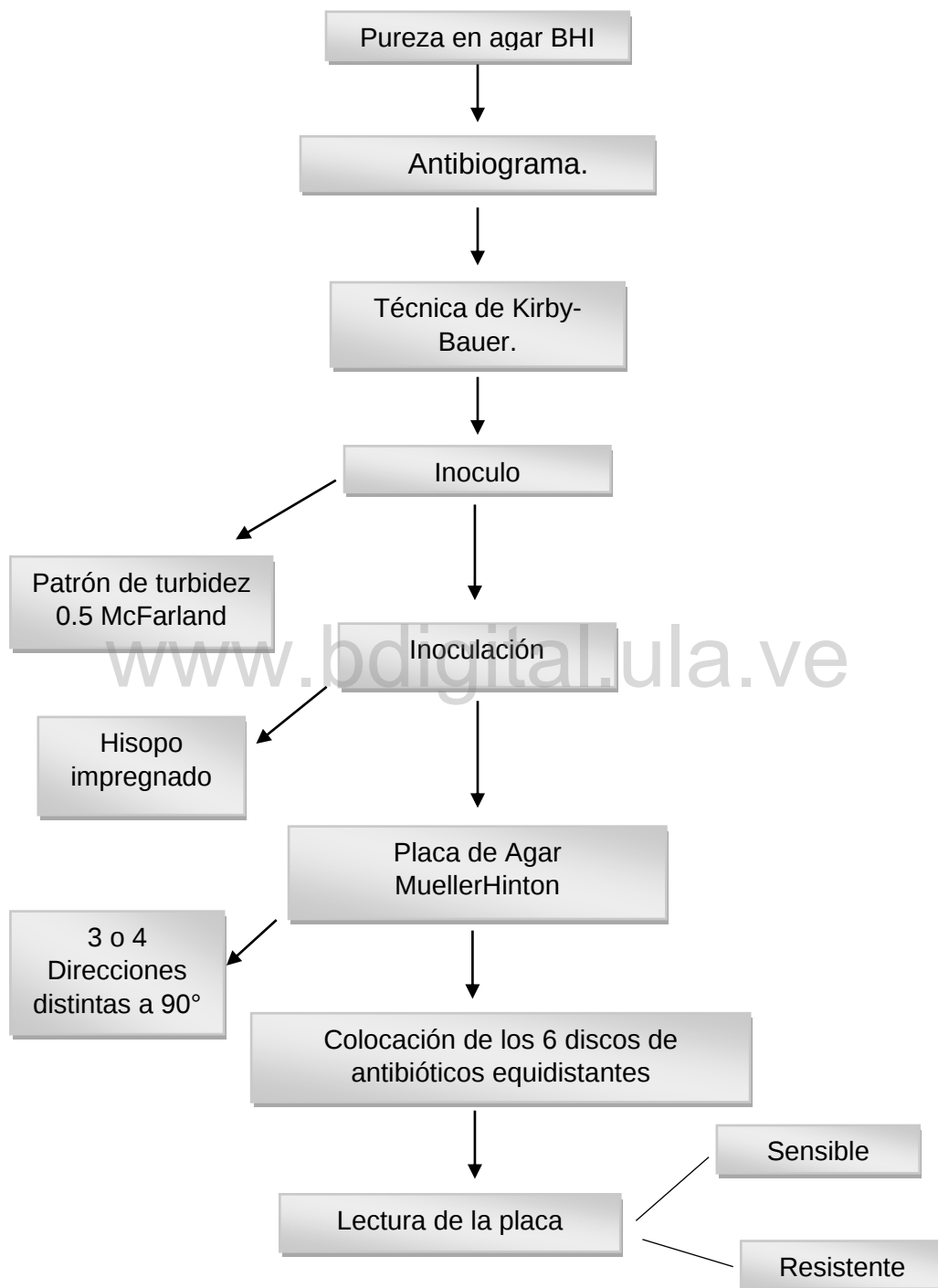
(Núñez, 2017).

Figura 5 : Prueba de Catalasa.



(Koneman y cols,2017).

Esquema 3: Procedimiento del Antibiógrama



Diseño de Análisis

Los datos recolectados fueron analizados a través del enfoque cuantitativo. Tal como lo han referido Palella y Martins en el año 2011, el dato se midió numéricamente con el fin de ser analizado a través de operaciones matemáticas. Las características que se midieron tendrán como punto de partida su naturaleza cualitativa o cuantitativa. En tal sentido, las variables cualitativas tendrán una escala de medida nominal y ordinal. Mientras que las variables cuantitativas tendrán una escala de medida de intervalo y de razón. El universo de esta investigación estará representado por la prevalencia de *Staphylococcus*spp. en bovinos con mastitis clínica. A su vez, la población de estudio fue el conjunto de valores sobre la prevalencia de *Staphylococcus* spp., que causan mastitis clínica. La muestra fue representativa con el fin de realizar un análisis inferencial.

www.bdigital.ula.ve

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS

El capítulo a continuación describe los resultados y discusión de los datos obtenidos en la Prevalencia de *Staphylococcus* spp. Mediante el Aislamiento e Identificación en bovinos con Mastitis Clínica.

En el laboratorio de Investigaciones en Bacteriología Roberto Gabaldón del Departamento de Microbiología y Parasitología y en el Laboratorio de Estudios Veterinarios VATCA C.A se procesaron 67 muestras de leche provenientes de bovinos con diagnóstico de mastitis clínica durante el periodo comprendido enero 2020 y agosto 2023, de los cuales el 53,73% resultaron cultivos positivos y el 46,26% no presentaron crecimiento bacteriano hasta las 72 horas de incubación (tabla 6).

Tabla N 6. Cultivos procesados provenientes de Bovinos con Mastitis Clínica

Resultados	Número	Porcentaje %
Positivos	36	53,73
Negativo	31	46,26
Total	67	100

Fuente: Sosa y Alviárez, 2023.

En la tabla N 7 se puede observar que, del total de 36 cultivos positivos analizados, el 27,70% (10/36) corresponden a cepas pertenecientes al género *Staphylococcus* aisladas en cultivo puro, además se presentó el crecimiento de 3 cepas que corresponden al 8,33%, del mismo género, en un cultivo mixto junto con *E. coli*.

Tabla N 7. Microorganismos aislados desde el periodo enero 2020-agosto 2023

Microorganismo	Número	Porcentaje %
Género <i>Staphylococcus</i>	10	27,70
<i>Streptococcus</i> sp.	12	33,33
<i>Bacillus</i> sp.	3	8,33
<i>Corynebacterium</i> sp.	1	2,7
<i>Lactobacillus</i> sp.	1	2,7
<i>Lactobacillus</i> sp. + <i>E. coli</i>	1	2,7
Género <i>Staphylococcus</i> + <i>E. coli</i>	3	8,33
<i>Streptococcus</i> sp. + <i>E. coli</i>	1	2,7
<i>E. coli</i>	2	5,5
<i>Proteus</i> sp.	1	2,7
<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	1	2,7
Total	36	100

Fuente: Sosa y Alviárez, 2023.

En cuanto a la especies pertenecientes al género *Staphylococcus*, del total de 13 cepas aisladas, 9 fueron identificadas como *Staphylococcus aureus* (69,23 %) y 4 eran *Staphylococcus* sp. (30,76%), de este grupo, las cepas 904 y 843, fueron reportadas como parte de la microbiota habitual de la región de la ubre de los bovinos, por presentar menos de 25.000 ufc/mL al realizar el contaje colonial, y la muestra presentaba una cuenta disminuida de leucocitos polimorfonucleares. (Tabla 8)

Tabla N 8 Frecuencia del Género *Staphylococcus* aislados de muestras de leche provenientes de bovinos con mastitis clínica

Año	Código	Identificación
2020	904	<i>Staphylococcus</i> sp.*
2020	31453	<i>Staphylococcus aureus</i>

2020	843	<i>Staphylococcus</i> sp.*
2020	Tanque	<i>Staphylococcus aureus</i>
2022	51399	<i>Staphylococcus</i> sp.
2022	3969	<i>Staphylococcus aureus</i>
2022	M7	<i>Staphylococcus</i> sp.
2023	14209C	<i>Staphylococcus aureus</i>
2023	Tanque	<i>Staphylococcus aureus</i>
2023	1602	<i>Staphylococcus aureus</i>
2023	5112	<i>Staphylococcus aureus</i>
2023	Tanque	<i>Staphylococcus aureus</i>
2023	407	<i>Staphylococcus aureus</i>

Fuente: Sosa y Alviárez 2023.

En la tabla 9 se muestran los resultados de las pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos de las cepas pertenecientes al género *Staphylococcus* de esta investigación, se les realizó antibiograma de acuerdo a la normativa del CLSI desde el año 2020. 9 cepas de *Staphylococcus aureus* exhibieron 100% resistencia al trimetropimsulfametoxazol, 7 que constituyen el 77,7% resultaron resistentes a la penicilina y una resistente a la tetraciclina (11,11%). La sensibilidad a el resto de los antibióticos ensayados en esta especie, resultaron sensibles (Oxacilina, Eritromicina, Clindamicina, Linezolid, Amikacina y Ciprofloxacina).

En cuando a las cepas de *Staphylococcus* spp, solo se les realizo antibiograma a 2 de 4 cepas asiladas debido a que 2 se consideraron crecimiento de microbiota habitual. El 100% de estas cepas resultaron resistentes al trimetropimsulfametoxazol (2/2) y el 50% (1/2), fueron resistente a penicilina y eritromicina. Todas las cepas de esta especie presentaron sensibilidad al resto de antibióticos usados (Oxacilina, Clindamicina, Linezolid, Amikacina y Ciprofloxacina).

Tabla N 9 Antibiogramas obtenidos entre enero 2020 y agosto 2023.

fecha	muestra	Microorganismo aislado	Antibiograma	
			Sensible	Resistente
Enero 2020	31453	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ampicilina-Sulbactam Ceftazidima Eritromicina Clindamicina	Tetraciclina Trimetropim-Sulfametoxazol Penicilina

			Ciprofloxacina Amikacina	
Marzo 2020	TANQUE	<i>Staphylococcus aueus</i>	Tetraciclina Levofloxacina Eritromicina Clindamicina	Trimetropim- Sulfametoxazol Penicilina
Marzo 2022	51399	<i>Staphylococcus sp.</i>	Amikacina Clindamicina Eritromicina Ciprofloxacina Oxacilina Penicilina Tetraciclina	Trimetropimsulfame toxasol
Marzo 2022	3969	<i>Staphylococcus aureus</i>	Amikacina Clindamicina Eritromicina Ciprofloxacina Oxacilina Penicilina Tetraciclina	Trimetropimsulfame toxasol
Junio 2022	M7	<i>Staphylococcus sp.</i>	Amikacina Clindamicina Ciprofloxacina Linezolid Oxacilina Tetraciclina	Eritromicina Penicilina Trimetropimsulfame toxasol
Enero 2023	14209 C	<i>Staphylococcus aureus</i>	Amikacina Clindamicina Ciprofloxacina Eritromicina Linezolid Oxacilina Tetraciclina	Penicilina Trimetropimsulfame toxasol
Enero 2023	Tanque	<i>Staphylococcus aureus</i>	Amikacina Clindamicina Ciprofloxacina Eritromicina Linezolid Oxacilina Tetraciclina	Penicilina Trimetropimsulfame toxasol

Julio 2023	1602	<i>Staphylococcus aureus</i>	Clindamicina Ciprofloxacina Eritromicina Gentamicina Linezolid Oxacilina Tetraciclina Trimetropimsulf ametoxazol	Penicilina
Julio 2023	5112	<i>Staphylococcus aureus</i>	Clindamicina Ciprofloxacina Eritromicina Gentamicina Linezolid Oxacilina Tetraciclina Trimetropimsulf ametoxazol	Penicilina
Julio 2023	Tanque	<i>Staphylococcus aureus</i>	Clindamicina Ciprofloxacina Eritromicina Gentamicina Linezolid Oxacilina Tetraciclina	Penicilina Trimetropimsulfame toxazol
Agosto 2023	407	<i>Staphylococcus aureus</i>	Clindamicina Ciprofloxacina Doxicilina Eritromicina Linezolid Oxacilina Penicilina	Trimetropimsulfame toxazol

Fuente: Sosa y Alviárez 2023.

Discusión

En el presente estudio, se evaluaron los cultivos positivos para los casos de mastitis clínica, procedentes de una Finca Lechera en el estado Táchira, estos cultivos microbiológicos resultaron con desarrollo bacteriano en un 53,7%, conjuntamente con resultados positivos en el Test de Mastitis California. Cuenca y col. en el año 2021, en su trabajo de investigación titulado “Detección de Mastitis Subclínica Bovina y factores asociados, en fincas lecheras de la Provincia del Cañar – Biblián, Ecuador”, encontraron en 360 vacas con test de california positivo para mastitis subclínica un crecimiento solo de un 9,1% de frecuencia de microorganismo presente en los cultivos microbiológicos, porcentaje inferior a lo encontrado en el presente trabajo de investigación.

Por su parte, en el año 2017 el trabajo publicado en la revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia por Mendoza, Vera y Peña, demostró la alta prevalencia de mastitis clínica en ganado vacuno, donde el principal patógeno implicado fue *Staphylococcus aureus* con un 74,40%. Mientras que, en esta investigación el género *Staphylococcus* en general arrojó un 27,70%; lo que mostró que la incidencia del patógeno no es elevada, pero hay que tomar en cuenta que la población empleada en este estudio es mucho menor si lo comparamos con los mencionados autores.

Asimismo, la publicación de referencia evidencia que la importancia clínica del California Mastitis Test (CMT) es de gran valor para el diagnóstico de la enfermedad, ya que con la gelificación se conlleva a la pronta actuación, tanto por parte del ganadero como por parte del veterinario tratante. Es así como hace poner en duda las buenas prácticas de ordeño, sea manual o mecánico, la capacitación del personal que ordeña, y la higiene de quienes se encarguen del aseo del ambiente en el cual es realizado.

Handenberg, en el año 2016 publicó una investigación la cual su diseño de investigación fue experimental, por lo que trabajaron con animales de

diferentes Fincas o unidades agropecuarias. Asimismo, evaluar las maneras de manejo del animal de cada finca u hogar, y tuvo como objeto de estudio identificar cuáles eran los patógenos con mayor incidencia como agentes causales de la mastitis y, cuáles eran los factores de riesgo que se podían prevenir a futuro para que la prevalencia disminuya con el tiempo. Entre los patógenos relevantes aislados se encontraban cepas de *Staphylococcus aureus* con un 28,3%, seguido de cepas de *Staphylococcus coagulasa* negativo con un 21,3% de frecuencia y por último con 17,3% de aislamientos de cepas pertenecientes al género *Streptococcus*. En la presente investigación la especie *Staphylococcus aureus* presentó mayor frecuencia de aislamiento como representante de su género, pero a diferencia del estudio anterior el género *Streptococcus* obtuvo mayor frecuencia de aislamiento superando el 30%.

En cuanto a la susceptibilidad a los antimicrobianos, observados en las cepas pertenecientes al género *Staphylococcus*, existen trabajos relacionados con la resistencia a los antimicrobianos de mayor uso en la Veterinaria. Pellegrino, Frola, Odierno y Bognia, en el 2013 realizaron una investigación en hatos de Suramérica, encontrando en ganaderías de Argentina, en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas, resistencia a Eritromicina, Estreptomina, Oxacilina y Gentamicina, relacionándose con la multirresistencia. En el presente estudio la sensibilidad a estos grupos de antibióticos en las cepas de *S. aureus* encontradas fue del 100%, a diferencia del estudio en Argentina. Los mencionados autores al revisar la susceptibilidad en Chile, en líneas generales encontraron solo resistencia en la gran mayoría de las fincas a Penicilina G, también en cepas de *Staphylococcus aureus*. En esta investigación, la resistencia a la Penicilina se evidenció en el 77,7% de las cepas de *Staphylococcus aureus* y el 50% en cepas de *Staphylococcus* sp.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

Luego del análisis de los resultados recolectados durante el proceso de investigación y recopilación de la información, tanto bibliográfica como de la muestra de objeto de estudio, se llegó a la conclusión de que los mismos permiten dar respuestas a las interrogantes y a los objetivos planteados en el problema estudiado en cuanto al análisis de los perfiles de resistencia de cepas de *Staphylococcus* sp., provenientes de vacas con mastitis bovina en la finca Miraflores, ubicada en La Tendida, estado Táchira, y en el Laboratorio de Estudios Veterinarios VATCA C.A., de la ciudad de Ejido-estado Mérida, desde enero de 2020 hasta agosto de 2023.

El estudio en general se realizó con un total de 67 muestras lácteas de bovinos, en las cuales 36 de ellas (53,73%) resultaron cultivos positivos. En contraparte, las 31 muestras lácteas restantes (46,26%) arrojaron cultivos negativos.

La sensibilidad de *Staphylococcus* sp., frente a la penicilina fue de 11,94%, representando a ocho muestras, en un total de 67. Tomando en cuenta que de este total, 13 resultaron positivas a *Staphylococcus* sp. y *Staphylococcus aureus*. Dos de las muestras fueron excluidas debido a que en su cultivo reflejaron menos de 25.000 UFC/ml, concluyendo que son microbiota habitual.

El género *Streptococcus*, se aisló con mayor frecuencia en los casos de mastitis clínica, representando el 33,33% de la microbiota encontrada en el ganado bovino de la finca Miraflores, ubicada en La Tendida, estado Táchira, con un total de 12 muestras.

Por consiguiente, *Staphylococcus* sp. fue el segundo microorganismo en frecuencia, representando el 27,70% con un total de 10 muestras como patógeno único. Tres muestras en estudio arrojaron cultivo mixto de *Staphylococcus* + *Escherichia coli* para un total de 8,33%.

En menor proporción, se encontraron en las muestras lácteas las siguientes bacterias con los porcentajes: *Bacillus* sp. 8,33%; *E. coli* 5,5%; y *Corynebacterium* sp.; *Lactobacillus* sp.; *Lactobacillus* sp. + *E. coli* (cultivo mixto); *Streptococcus* sp. + *E. coli* (cultivo mixto); *Proteus* sp.; *Pseudomonas aeruginosa*, con un total de 2,7% para cada una.

www.bdigital.ula.ve

RECOMENDACIONES

Las conclusiones del presente estudio permitieron formular las siguientes recomendaciones:

- Recomendar de la finca Miraflores de la zona de la Tendida en el estado Táchira. El tratamiento de mastitis con medicamentos que tengan como principio Oxacilina, Eritromicina, Clindamicina, Linezolid, Amikacina y Ciprofloxacina, ya que los microorganismos presentaron sensibilidad a estos antibióticos.
- No utilizar fármacos que tengan en su composición como principio activo a la penicilina, causante de la resistencia antibiótica frente al microorganismo aislado.
- Tomar las medidas de seguridad, higiene y desinfección al momento del ordeño manual y en el ordeño mecánico, tener presente el estado y calibración del equipo con el que se realiza.
- Contar con personal capacitado para el ordeño, que tengan el cuidado con los cuartos mamarios
- Realizar periódicamente la prueba de California mastitis test, como medida de prevención.
- De existir muestras con test de mastitis positivo, enviar al laboratorio para conocer su agente causal y controlar con el tratamiento adecuado, que indique el resultado de antibiograma, para así evitar sacrificios de animales y cuidar la salud de los consumidores de productos lácteos derivados de animales contaminados.
- Llevar un orden en el registro de las bovinas que presenten mastitis, para evitar la diseminación de la infección.

BIBLIOHEMEROGRAFIA

Arias, F. (2006). *El proyecto de investigación. Introducción a la metodología científica*. Editorial Episteme, 5ta Edición. Caracas – Venezuela.

Arias, F. (2012). *El proyecto de investigación. Introducción a la metodología científica*. Editorial Episteme, 6ta Edición. Caracas – Venezuela.

Blood, D. (Ed.). *Manual de medicina veterinaria*. (9º ed., pp 290-297). Mastitis. Madrid: McGraw Hill.

Belloda, C., Castañeda, V. y Wolter, W. (2007, septiembre). *Métodos de detección de la mastitis bovina*. Revista electrónica veterinaria REDVET, 8 (9). <https://bit.ly/3Ik8xKJ>

Brush, L. y Pérez, M. (septiembre, 2017). *Infecciones por estafilococos*. <https://msdmnls.co/3xcs4X7>

Corbellini, L. (2002). *La mastitis bovina y su impacto sobre la calidad de la leche*. (Pergamino). Argentina: Instituto de Tecnología Agropecuaria, Proyecto Lechero, E.E.A INTA.

Cuenca, M., García, D., Reinozo, L., Gonzalez, J. y Torrachi, J. (2021). Detección de Mastitis Subclínica Bovina y factores asociados, en fincas lecheras de la Provincia del Cañar – Biblián, Ecuador. Revista Científica FCV-LUZ, 31 (3).

Díaz, A. (agosto, 2015). *Teoría microbiana de la enfermedad*.
<https://bit.ly/3YAkJfA>

Fernández F., Trujillo J., Peña J., Cerquera J. y Granja Y. (2012). *Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico*. Revista electrónica veterinaria REDVET, 13 (11).
<https://bit.ly/2QWpUVy>

Forbes, B.A., Sahm, D.F., y Weissfeld, A.S. (2004). *Diagnóstico Microbiológico*. Argentina: Editorial Médica Panamericana.

Fueyo, J.M. (2005). *Frecuencia y tipos de toxinas súper antígenos en Staphylococcus aureus de diferentes orígenes: relaciones con tipos genéticos* [Tesis doctoral, Universidad de Oviedo, España].

Hardenberg F. (2016). *Clinical and subclinical mastitis in dairy cattle and buffaloes in Bihar, India*. Facultad de Medicina Veterinaria y Ciencias Animal.
<https://bit.ly/3E0yZGz>

Hernández, R; Fernández, C; Baptista, P. (2010). *Metodología de la Investigación*. (4ª Ed.) McGraw Hill. México.

Hurtado, J. (2010). *Guía para la comprensión holísticas de la ciencia*. Tercera Edición, Fundación Sypal. Caracas.

Hurtado J. (2012). *El proyecto de investigación*. Caracas. Ediciones Quirón.

Investigaciones Pecuarias INPEC LTDA. (2005). Masti-Test. Engormix.
Consultado el 13 de diciembre de 2023 en: <https://acortar.link/PtVNaz>.

Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P. y Winn, W. (2017). *Diagnóstico Microbiológico*. Buenos Aires. Editorial Panamericana.

Koneman, E., Allen, S., Janda, W., Schreckenberger, P. y Winn, W. (2017). *El papel del laboratorio de microbiología en el diagnóstico de enfermedades infecciosas: indicaciones para su práctica y manejo*. Diagnóstico Microbiológico. (7ª ed., pp. 74-105). Buenos Aires. Editorial Panamericana.

Mateus G. (1983) *Mastitis en bovinos*. Turrialba, Costa Rica.
<https://bit.ly/40Pxwwp>

Mendoza J., Vera Y. y Peña L. (2017). *Prevalencia de mastitis clínica, microorganismos asociados y factores de riesgo identificados en hatos de la provincia de pamplona, norte de Santander*. Rev Med Vet Zoot, 64 (2), 11-24.

Murray, P.R., Rosenthal, K.S. y Pfaller, M.A. (2009). *Microbiología Médica*. España: Editorial Elsevier.

Palella, S. y Martins, F. (2011). *Metodología de la investigación cuantitativa*. Caracas – Venezuela. Editorial. FEDUPEL.

Patiño, D. (2003). *¿Por qué las bacterias se hacen resistentes a la acción de los antibióticos?*. Umbral Científico, (3). Universidad Manuela Beltrán Bogotá, Colombia.

Pellegrino, M., Frola, I., Odierno, L. y Bognia C. (2013). *Mastitis Bovina resistencia a antibióticos de cepas de Staphylococcus aureus aisladas en leche*. REDVET, 12 (7).

Pompa, G. y Ramírez, W. (2016). *La prevalencia de mastitis clínica en vacas mestizas Holstein x Cebú*. Revista electrónica veterinaria REDVET, 17 (3), 1-7.

Prescott, L., Harley, J. y Klein, D. (1999). *Microbiología*. España: McGrawHill.

Ramírez, A., García, E., Longa, A., Sánchez, K., Nieves, M., Velasco, J., Araque, M. y Mosqueda N. (2010). *Manual práctico de bacteriología general*. Mérida – Venezuela. Colección Textos Universitarios.

Sahm, D. y Weissfeld, A. (Eds.) Bailey & Scott. (s. f.) *Análisis global de los métodos convencionales para la identificación bacteriana*. Forbes, Diagnóstico Microbiológico. (11^a ed., 154-174). Buenos Aires. Editorial Panamericana.

Sánchez, M., Gutiérrez, N., & Posada, I. (2018). *Prevalencia de mastitis bovina en el Cañón de Anaime, región lechera de Colombia, incluyendo etiología y resistencia antimicrobiana*. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 29(1), 226-239.

Sejia, V. (2008). *Etiopatogenia microbiológica*. España: Médica Panamericana.

Todar, K. (agosto, 2015). *Estafilococo*.
<https://bit.ly/3RRV13T>

ANEXOS

www.bdigital.ula.ve

ANEXO 1. Hoja de Reporte de Resultados. Instrumento de Recolección de Datos



MUESTRAS: Leche

FINCA:

FECHA:

RESULTADOS CULTIVO MICROBIOLÓGICO

N de muestra	Examen directo Gram	Cultivo Aeróbico	Antibiograma
Tanque			

Residencias Puesta del Sol, Edif. 2, PBA, Campo Claro, Mérida, Edo. Mérida, Venezuela
Email: vetadvantechca@gmail.com. Teléfono: 00584144544429.