

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE QUITO

CARRERA:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de: INGENIERA EN
BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES.**

TEMA:

**DETERMINACIÓN DEL AGENTE ETIOLÓGICO CAUSANTE DE
MASTITIS EN CABRAS (*Capra hircus*) EN LAS PROVINCIAS DE
PICHINCHA Y CARCHI.**

AUTORA:

MARIA VICTORIA SARZOSA BEDOYA

TUTORA:

NANCY FABIOLA BONIFAZ GARCIA

Quito, mayo del 2017

Cesión de derechos de autor

Yo María Victoria Sarzosa Bedoya con documento de identificación N° 171659760-2, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de grado/titulación intitulado, Determinación del agente etiológico causante de mastitis en cabras (*Capra hircus*) en las provincias de Pichincha y Carchi, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera en Biotecnología de los recursos naturales, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor me reservó los derechos morales de la obra antes citada.

En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.



María Victoria Sarzosa Bedoya

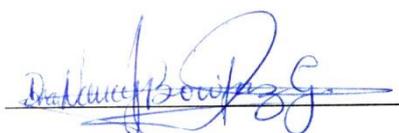
171659760-2

Quito, mayo 2017

Declaratoria de coautoría del docente tutor/a

Yo declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación, Determinación del agente etiológico causante de mastitis en cabras (*Capra hircus*) en las provincias de Pichincha y Carchi realizado por la estudiante María Victoria Sarzosa Bedoya, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana, para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, mayo 2017



Dra. Nancy Fabiola Bonifaz García

0602085110

Dedicatoria

Como punto primordial quiero dedicar mi trabajo de titulación a Dios, a la virgen María y el niño Jesús, que me han guiado en este duro camino de la manera correcta, que con su palabra me enseñaron a salir adelante y no dejarme caer.

A mis padres Carlos y Myriam que han sido mi pilar fundamental, apoyándome en cada objetivo de mi vida, gracias a ellos estoy en este punto de culminación de mi vida universitaria.

A mis hermanos Juan y David que han estado conmigo en todo momento y me enseñan que de las equivocaciones se aprende a ser mejores.

Al ser más maravilloso que llegó a mi vida, mi hija Danielle Victoria, que me enseñó a ser mejor persona, dar todo de mí y nunca rendirme, a ella quiero dedicar principalmente mi esfuerzo de estos 5 años, porque sin ella no estaría aquí, ella representa mi fortaleza diaria, te amo amor de mi vida.

Agradecimiento

A Dios y a mi familia que estuvieron incondicionalmente conmigo en este duro camino, principalmente a mi hija que es mi alegría más grande y gracias a ella sigo adelante.

A mi tutora, la Doctora Nancy Bonifaz, que me ayudo en todo momento y me guio para la culminación de mi proyecto de titulación.

A la Doctora María Inés Baquero y Doctor Carlos Gómez, docentes de la Universidad Central, por permitirme ampliar mis conocimientos sobre microbiología en sus instalaciones.

A todos los miembros que forman parte de la Universidad Politécnica Salesiana que me abrieron sus puertas estos 5 años y me formaron no solo académicamente, sino también espiritualmente.

Índice

Introducción	1
Capítulo 1	5
1.1. Descripción de las razas caprinas	5
1.1.1. Raza Saanen	5
1.1.2. Raza Alpina.....	5
1.1.3. Raza Criolla.....	6
1.2. Mastitis	6
1.2.1. Mastitis clínica	7
1.2.2. Mastitis subclínica.....	7
1.3. Agente etiológico	8
1.3.1. Mastitis por Estafilococos	8
1.3.2. Mastitis por <i>Streptococos</i>	11
1.3.3. Mastitis por coliformes	12
1.4. Patogenia	13
1.5. Diagnóstico.....	13
1.5.1. Métodos de detección.....	14
1.6. Antibiograma.....	18
1.6.1. Sensibilidad	19
1.6.2. Resistente	19
1.6.3. Multirresistencia a antibióticos	19

Capítulo 2.....	20
Materiales y métodos	20
2.1. Lugar y área de trabajo	20
2.2. Toma de muestra	21
2.3. Conteo de células somáticas.....	21
2.3.1. Fossomatic TM Minor	21
2.4. Conteo bacteriano.....	22
2.4.1. BactoScan FC.....	22
2.5. Cultivo de muestras de leche.....	22
2.6. Tinción Gram	23
2.7. Prueba de Catalasa.....	24
2.8. Prueba de Coagulasa	24
2.9. Prueba de VOGES PROSKAUER.....	24
2.10. Batería bioquímica.....	24
2.10.1 TSI.....	25
2.10.2. SIM.....	25
2.10.3. Citrato.....	25
2.10.4. Urea.....	25
2.11. Paso agar Manitol sal.....	25
2.12. Paso agar nutritivo	25
2.13. Antibiograma	26
Capítulo 3.....	28

Resultados y Discusión	28
3.1. Provincia de Pichincha	28
3.1.1. Conteo de células somáticas de la leche de cabra	28
3.1.2. Conteo bacteriano total en UFC de la leche de cabra	29
3.1.3. Determinación del agente etiológico causante de mastitis en cabras... 30	
3.1.4. Antibiogramas de <i>Staphylococcus coagulasa</i> negativos.....	32
3.2. Provincia de Carchi	33
3.2.1. Conteo de células somáticas de la leche de cabras	33
3.2.2. Conteo bacteriano total en UFC de la leche de cabra	34
3.2.3. Determinación del agente etiológico causante de mastitis en cabras... 36	
3.2.4. Antibiogramas de <i>Staphylococcus coagulasa</i> negativos y <i>Staphylococcus intermedius</i> causante de mastitis en cabras.....	37
Conclusiones	39
Recomendaciones.....	40
Referencias.....	41
Anexos	49

Índices de tablas

Tabla 1. Código y nombre comercial de los antibióticos.....	27
---	----

Índice de figuras

Figura 1. Conteo de células somáticas de acuerdo al rango y porcentaje.	28
Figura 2. Conteo bacteriano total UFC de acuerdo al rango y porcentaje.	29
Figura 3. Porcentaje de presencia o ausencia de microorganismos causantes de la mastitis en cabras de la provincia de Pichincha.	30
Figura 4. Porcentaje de resistencia por parte de los microorganismos hacia los antibióticos.	32
Figura 5. Conteo de células somáticas de acuerdo al rango y porcentaje.	33
Figura 6. Conteo bacteriano total UFC de acuerdo al rango y porcentaje.	34
Figura 7. Porcentaje de presencia o ausencia de microorganismos causantes de la mastitis en cabras de la provincia de Pichincha.	36
Figura 8. Representación en diagrama de pastel el porcentaje de resistencia por partes de los microorganismos hacia varios antibióticos.	37

Índice de anexos

Anexo 1. Cabras de la Finca la Pampilla	49
Anexo 2. Muestreo de leche de cabras de la Finca la Pampilla.	50
Anexo 3. Muestras de leche recolectadas.	51
Anexo 4. Informe de la calidad higiénica y sanitaria de la leche de cabra (CCS y UFC).....	52
Anexo 5. Detección de Staphylococcus coagulasa negativos en agar Manitol Sal. ..	54
Anexo 6. Antibiogramas de las muestras de Staphylococcus coagulasa negativos... 55	
Anexo 7. Antibiograma de la muestra código A005.....	56
Anexo 8. Antibiograma de la muestra código C36.....	57
Anexo 9. Antibiograma de la muestra código E36.	58
Anexo 10. Antibiograma de la muestra código D88.....	59
Anexo 11. Antibiograma de la muestra código A43.....	60
Anexo 12. Antibiograma de la muestra código C57.....	61
Anexo 13. Antibiograma de la muestra código D98.....	62
Anexo 14. Antibiograma de la muestra código A44.....	63
Anexo 15. Cabras de pequeñas y medianas Fincas productoras de leche (muestreo).....	64
Anexo 16. Informe de la calidad higiénica y sanitaria de la leche de cabra (CCS y UFC).....	65
Anexo 17. Detección de Staphylococcus coagulasa negativos y Staphylococcus intermedius en agar Manitol Sal.	68
Anexo 18. Antibiogramas de las muestras de Staphylococcus coagulasa negativos y Staphylococcus intermedius.....	69
Anexo 19. Antibiogramas de la muestra código 1.	70

Anexo 20. Antibiograma de la muestra código 2.....	71
Anexo 21. Antibiograma de la muestra código 4.....	72
Anexo 22. Antibiograma de la muestra código 5.....	73
Anexo 23. Antibiograma de la muestra código 7.....	74
Anexo 24. Antibiograma de la muestra código 10.....	75
Anexo 25. Antibiograma de la muestra código 15.....	76
Anexo 26. Antibiograma de la muestra código 16.....	77
Anexo 27. Antibiograma de la muestra código 17.....	78
Anexo 28. Antibiograma de la muestra código 19.....	79
Anexo 29. Antibiograma de la muestra código 20.....	80
Anexo 30. Antibiograma de la muestra código 21.....	81
Anexo 31. Antibiograma de la muestra código 25.....	82
Anexo 32. Antibiograma de la muestra código 27.....	83
Anexo 33. Rangos sobre resistencia o sensibilidad de cada antibiótico utilizado.	84

Resumen

El objetivo del proyecto de investigación fue determinar el agente etiológico causante de mastitis caprina y la resistencia bacteriana de los animales a diferentes antibióticos. La investigación se realizó en el aprisco de la empresa la Pampilla, localizada en la parroquia Yaruquí, provincia de Pichincha; y en fincas pequeñas y medianas productoras de leche de cabra en la parroquia de Mira, provincia del Carchi. Los resultados arrojados en el estudio fueron, el 45% de las muestras tomados en Pichincha y 24% en la provincia del Carchi presentaron valores > 700000 CCS/mL, fuera del rango normal según la norma NTE INEN 2624 de $7,0 \times 10^5$ CCS/cc. En cuanto a la calidad higiénica, en la provincia de Pichincha encontramos un 5% y en la provincia del Carchi un 4%, de casos con valores > 800000 UFC/cc, fuera de los rangos establecidos en la norma. Para los análisis microbiológicos, se evidencio bajos recuentos en todos los casos; en las muestras de la provincia de Pichincha el 27% fueron positivas a *Staphylococcuscoagulasa* negativos; mientras que en la provincia del Carchi el 3% fue *Staphylococcus intermedius* y el 44% *Staphylococcuscoagulasa* negativos. En el análisis de antibiograma para la detección de resistencia bacteriana de las cabras, se observó lo siguiente; en la provincia de Pichincha presentaron resistencia en un 27% para Bencilpenicilina, 13% Ampicilina, 3% Tetraciclinas; en la provincia del Carchi presentaron resistencia en un 29% para Ampicilina, 28% Bencilpenicilina, 2% Cefotaxima, 2% Cloranfenicol, 2% Trimetoprim/sulfametoxazol y un 2% Tetraciclinas.

Palabras clave: Células somáticas, agente etiológico, antibióticos.

Abstract

The aim of the research project was to determine the Etiologic Agent of caprine mastitis and bacterial resistance of animals to different antibiotics. The research was conducted in a goat-fold of the company la Pampilla, located in the parish Yaruqui, province of Pichincha; and on small and medium farms producing goat's milk in the parish of Mira, Carchi province. The results of the study were 45% of the samples taken in Pichincha and 24% in the province of Carchi presented values > 700000 CCS/mL, outside the normal range according to the NTE INEN 2624 of $7,0 \times 10^5$ CCS/cc. As for the hygienic quality, in the province of Pichincha we found 5% and in the province of Carchi 4%, of cases with values > 800000 CFU / cc, outside the ranges established by the norm. For microbiological analysis, presented low counts in cases; in the samples of the province of Pichincha, (27%) were positive to Coagulase-negative staphylococci; while in the province of Carchi (3%) it was *Staphylococcus intermedius* and (44%) Coagulase-negative staphylococci. In the analysis of susceptibility for the detection of bacterial resistance of goats, it was noted the following; in the province of Pichincha showed resistance by 27% for Benzylpenicillin, 13% Ampicillin, 3% Tetracycline; in the province of Carchi showed resistance by 29% to Ampicillin, 28% Benzylpenicillin, 2% Cefotaxime, 2% Chloramphenicol, 2% Trimethoprim/sulfamethoxazole and 2% Tetracycline.

Key words: Somatic cells, etiologic agent, antibiotics.

Introducción

La leche de cabra en los últimos años ha tenido un boom de producción y comercialización, esto se debe a que las utilidades y beneficios alimenticios son elevados, por lo tanto el consumo de este producto ha venido aumentando drásticamente tanto a nivel mundial. Para mostrar un panorama real es necesario abordar la producción de leche de cabra a nivel mundial, en Asia y África se encuentra más del 90% del rebaño y alrededor del 76% de la producción lechera mundial; mientras que en países del Mediterráneo: Francia, Grecia, España e Italia se encierra el 3% del rebaño y procesan más del 20% de la producción lechera global (Cruz, 2009).

En el Ecuador existen pequeños, medianos y grandes hatos ganaderos de explotación caprina que se especializan tanto en producción de leche como en generar subproductos de la misma. Para aclarar el tema de producción lechera de cabra nacional en el año 2015 se registró 27102 cabezas de ganado caprino un número relativamente bajo a otras especies y que ha ido decayendo a medida que pasa los años ya que en el 2002, se registró 154697 cabezas de ganado en el país (INEC, 2015); en cuanto a la producción de leche, según (AgronegocioEcuador, 2011) señala que una cabra da 2L diarios de leche, pero si esta es de raza más pura puede dar hasta 4,7 L al día. En nuestro país el mercado caprino ha ido creciendo, la provincia de Loja tiene el mayor porcentaje de crianza de cabras; también se han extendido en otras provincias como: Pichincha, Carchi, Tungurahua, Cotopaxi y Guayas, estas se dedican a la producción lechera y cárnica, la cual no llega al 1%; según el último censo del Instituto Nacional de Estadísticas y Censos del Ecuador (2014) (Orbe, 2016).

La leche de cabra está siendo apreciada en la actualidad por su contenido nutricional ya que contiene minerales como el potasio, magnesio, fósforo y calcio, además de pequeñas cantidades de zinc, selenio y hierro. En cuanto a vitaminas es rico en vitamina D y A, tiene pequeña cantidad de vitamina K, E, C, niacina y riboflavina, vitamina B12, ácido pantoténico y ácido fólico. La leche de cabra tiene mayor contenido de calcio que la de vaca, aproximadamente un 13% mayor; en cuanto a la lactosa posee menor cantidad que la leche de vaca por ende es menos alergénica (Bellver, 2012); aproximadamente del 1% al 13% menos que la de vaca y llega hasta el 41% menor que la humana, por lo que la leche de cabra presenta menos problemas de intolerancia (Richardson, 2004). Otro componente alergénico presente en la leche es la caseína, en la leche de cabra se evidencia menos cantidad del tipo α -s-1-caseína, parecida a la leche humana, este tipo de caseína es responsable de las alergias características de la leche de vaca, es por esta razón que la leche de cabra es apta para infantes (Maree, 1978).

La calidad de la leche se vería afectada debido a que la cabra puede contraer enfermedades o infecciones, una de las más importantes sería la mastitis caprina que es la inflamación de la glándula mamaria (ubre), inflamación que es más comúnmente debida a infecciones causadas por patógenos, pero también puede ser originada por heridas y menos usualmente por alergia y neoplasias. Esta enfermedad se caracteriza por cambios físicos, químicos, y bacteriológicos en la leche (Bedolla, y otros, 2012).

“La primera consecuencia de la mastitis es una disminución en la producción de leche así como cambios patológicos en la ubre” (Ruiz, Cervantes, & Ducoing, 2013). La mastitis puede ser clasificada según la gravedad de las lesiones o intensidad de la reacción inflamatoria que son clínica y subclínica. La mastitis clínica muestra signos

y se caracteriza por cambios en la glándula, como aumentar de tamaño y alteraciones en la leche, esta puede contener grumos, coágulos y cambios de color. En cambio en mastitis subclínica no se presentan signos visibles de enfermedad y la leche puede mostrarse aparentemente normal. Este tipo de mastitis sólo puede ser detectada midiendo el contenido celular de la leche (CCS) (Ruiz, Cervantes, & Ducoing, 2013). Las altas demandas de consumidores y procesadores por productos lácteos seguros y de calidad junto con la presión de los mercados internacionales por productos con documentación de acreditada calidad, son los factores más importantes a tomar en cuenta, estos direccionan los estándares del conteo de células somáticas, conteo bacteriano y demás pruebas adicionales, necesarios para certificar dichos productos (Smith, 2016).

El presente proyecto tiene como objetivo general, determinar el agente etiológico causante de mastitis en cabras (*Capra hircus*) en las provincias de Pichincha y Carchi; así como también los objetivos específicos, determinar la calidad sanitaria de la leche de cabra (*Capra hircus*) mediante conteo de células somáticas y conteo total bacteriano (CBT) e identificar el agente etiológico de muestras afectadas por mastitis caprina (*Capra hircus*) mediante sus algoritmos. Para así lograr ampliar la fuente de estudio en cuanto a agentes causales, pruebas y resistencia de antibióticos.

En cuanto a la metodología se planteó varios puntos a analizar: realizar el conteo de células somáticas en el equipo FOSSOMATIC, el conteo bacteriano total en UFC en el equipo BACTOSCAN, dichos procesos realizados en el Laboratorio de Calidad de leche de Cayambe; después se determinó el agente etiológico causante de mastitis y para finalizar la resistencia bacteriana de las cabras. Las variables a analizar fueron: CCS (conteo de células somáticas), CBT (conteo bacteriano total) en UFC, determinación del agente etiológico y resistencia antibiograma; se utilizó el método

de promedios o porcentajes para realizar el análisis estadísticos y complementar correctamente los resultados y discusión.

Capítulo 1

1.1.Descripción de las razas caprinas

La cabra es una animal mamífero artiodáctilo, rumiante, perteneciente a los bovinos, es de talla pequeña, ágil y amoldado para saltar o escalar grandes alturas. Su período de gestación dura 150 días o 5 meses, puede llegar a tener entre 1 a 3 crías por cada parto y el periodo de lactancia dura unos 10 meses, por lo que es el tiempo en que más provecho se le da a la cabra, debido a que la leche es muy apetecida por su valor nutricional y económico. Entre las mejores razas productoras de leche se tiene: Saanen, Toggenburg, Alpina, Murciana y Maltesa. La cabra también es explotada en otros ámbitos como son: para carne, por su pelo y piel; este representa un animal muy cotizado en el mercado, debido a que presenta varias utilidades ya mencionadas (Botanical, 2012).

1.1.1. Raza Saanen

Se dice que esta raza es la de mayor producción lechera, se las nombra “la Holstein de las cabras”. Tienen el pelaje blanco o crema y piel rosa, la altura promedio es de 75 a 90 cm. Posee ubre espaciosa y bien desarrollada, los pezones son simétricos, encaminados hacia abajo. En el trópico producen de 1-3 kg/día, en zonas templadas produce 1500 kg en 300 días y en el Caribe de 800 kg en 250 días (Álvarez, 2005).

1.1.2. Raza Alpina

Son animales grandes, la capa es de color castaño y extremidades negras; ostenta ubres corpulentas, bien insertas, con base amplia, piel flexible y delicada; tiene pezones largos y bien colocados. Produce de 1020 kg en 300 días y en el Caribe Produce 274 kg en 209 días; y producen de 4,5kg/día y 3,6% de grasa. Se adaptan mejor al clima montañoso, es decir, frío (Álvarez, 2005).

1.1.3. Raza Criolla

La cabra de raza criolla es el resultado de cientos de años de cruzamiento descontrolado y selección natural. Destaca su rusticidad y adaptabilidad a variados climas y lugares, presentan más resistencia al calor y a enfermedades. Su diversidad de tamaño, color, forma y productividad representan características de animales introducidos, se dice que tienen mayor influencia de razas Anglo Nubian y Saanen. En esta raza se destaca el mayor nivel productivo, debido a la detección de los mejores animales en rendimiento lechero; se los considera animales de doble propósito (lechero y carne) (Contreras, Meneses, & Rojas, 2001) .

1.2.Mastitis

Se define como una reacción inflamatoria de la glándula mamaria; dicha inflamación produce cambios en el tejido glandular y variaciones en la composición bioquímica de la leche. Se dice que cuanto mayor sea la gravedad de la inflamación, la composición de la secreción se asemejara a la del suero sanguíneo (López J. , 2014).

Según (Gasque, 2008), la mastitis reduce la producción del volumen de leche, alterando incluso su sabor y elevando la carga bacteriana normal. De acuerdo a su duración, se puede clasificar en aguda o crónica. En relación a sus manifestaciones clínicas, puede ser clínica o subclínica. Esta enfermedad provoca graves pérdidas económicas a la industria lechera.

La importancia de la mastitis es principalmente económica y de salud pública, por lo que se debe mantener la calidad sanitaria de la leche, controlando todos los parámetros necesarios y como punto fundamental las fuentes de contaminación (Ruiz R. , 2014).

1.2.1. Mastitis clínica

“La mastitis clínica se caracteriza por anormalidades visibles en la ubre y/o leche, cuya severidad varía mucho en el transcurso de la enfermedad. Puede presentarse en forma aguda y crónica” (Bedolla, Mejía, José, Valdivia, & Castañeda, 2006).

1.2.1.1. Mastitis clínica aguda

La leche con presencia de mastitis es de apariencia anormal, con presencia de grumos y flóculos, sangre, secreciones serosas, enrojecimiento, tumefacción, y dolor en la ubre, con o sin síntomas sistémicos (Bedolla, Mejía, José, Valdivia, & Castañeda, 2006).

1.2.1.2. Mastitis clínica crónica

“Se presenta una infección de la ubre de larga duración con leche de apariencia anormal y/o cambios al realizar la palpación del tejido de la ubre” (Bedolla, Mejía, José, Valdivia, & Castañeda, 2006).

1.2.2. Mastitis subclínica

La mastitis Subclínica, no se detecta ni es evidente a simple vista, sólo puede ser detectada por las medidas del contenido celular de la leche (células somáticas) (Ortega & Hernández, 2007).

“Suele persistir entre lactaciones y, sin embargo, pasa desapercibida para el ganadero ya que la única manifestación es el descenso de la producción láctea” (Bedolla, y otros, 2012).

1.3. Agente etiológico

De acuerdo a análisis microbiológicos y patológicos se ha encontrado varios agentes causantes de la mastitis caprina con diferentes mecanismos de penetración, poder patológico y carga microbiana, de ahí se halló agentes patógenos que son responsables del contagio y surgimiento de dicha infección, entre los agentes causales de mastitis se puede mencionar algunos géneros como son: estafilococos y estreptococos, estos se encargan de transmitir la infección de glándulas infectadas a glándulas sanas en el momento del ordeño debido a la falta de higiene y sanidad, lo que se traduce en la difícil erradicación de la mastitis caprina. (Bedolla, y otros, 2012).

1.3.1. Mastitis por Estafilococos

Son cocos Grampositivos (de 0,5 a 1,5 μ m de diámetro) que se presentan sueltos, en parejas o en pequeñas cadenas (de 3 a 4 células) y en grupos irregulares en forma de racimos. Son anaerobios facultativos, son catalasa positivos, no esporulados, inmóviles y no forman cápsula. Son las bacterias más prevalentes en las cabras y comúnmente aisladas en mastitis subclínicas. Los estafilococos se clasifican en dos grupos, según produzcan o no la enzima coagulasa: *estafilococos coagulasa* Positivos (SCP) como son: *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus aureus*; y *estafilococos coagulasa* Negativos (SCN). Consta una buena correlación entre la producción de coagulasa y la capacidad patógena, de tal forma que los SCP son patógenos y que los SCN no son patógenos (Bedolla, y otros, 2012).

1.3.1.1. Staphylococcus aureus

La mastitis causada por *S. aureus* representa una de las infecciones más importantes que afectan a la localidad como la cantidad de producción de leche. Es el patógeno más

significativo que causa infecciones intramamarias en el ganado lechero a nivel mundial. Vive dentro y fuera de la ubre, en la piel del pezón y puede causar tanto mastitis clínica como subclínica, es responsable del 30 al 40 de todas las infecciones (Ortega C. , 2010).

La mastitis causada por este germen es difícil de controlar con sólo recurrir al tratamiento; el control exitoso se logra mediante medidas preventivas (Gasque, 2008). “La prevalencia de infecciones intramamarias causadas por *S. aureus* en cabras va de 5,6 a 17% y entre 5 y 11% de los casos clínicos de mastitis en ovinos” (Bedolla, y otros, 2012).

Según (Wolter, Castañeda, Kloppert, & Zschoeck, 2002), el ser humano puede infectarse mediante el consumo de leche de cabra que contiene *S. aureus*, la cual ocasiona una intoxicación alimenticia debido a enterótoxinas (estables al calor).

1.3.1.2. Staphylococcus intermedius

Es una especie coagulasa positiva aislada en caninos, también se ha encontrado en una amplia gama de especies animales, incluyendo gatos, cabras, monos, aves de vida libre, tejones, mapaches, osos y también en leche. *S. intermedius* causa principalmente infecciones en mamíferos no humanos; también ha sido descrito como un patógeno oportunista en pacientes inmuno comprometidos, y se han descrito algunos casos de bacteriemia. Este puede segregar toxinas superantígenas y ha sido implicado en un brote de intoxicación alimentaria (Bes, y otros, 2002).

1.3.1.3. Staphylococcus coagulasa negativa (SCN)

Estas bacterias son de elevado interés científico, debido a que al día de hoy son los microorganismos más aislados en animales de ordeño y en la actualidad se consideran patógenos emergentes en infecciones de mastitis (Pyörälä & Taponen, 2009). A menudo estos microorganismos se encuentran en la piel sana del pezón y en las manos del ordeñador o personal encargado de los animales. También son denominados microorganismos oportunistas, ya que habitan en zonas donde les es sencillo colonizar el canal del pezón y penetrar hasta los tejidos secretores (Fernández, Trujillo, Peña, Cerquera, & Granja, 2012).

Hay más de 50 especies de *Staphylococcus coagulasa* negativa y quizás sea un error observar su comportamiento como grupo y no como especies individualmente (Pyörälä & Taponen, 2009). Las especies más comunes aisladas de mastitis bovina son *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hyicus* y *Staphylococcus simulans*. Especies como *S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. simulans* y *S. warneri*; pertenecen a la flora bacteriana normal de la piel del pezón, mientras otras como *S. xylosum* y *S. sciuri* parecen provenir del ambiente (Navarro, 2011).

Las infecciones por *Staphylococcus coagulasa* negativa suelen ser leves o de tipo subclínico, se ha demostrado que pueden causar procesos más graves y persistentes, lo que provoca un aumento en el recuento de células somáticas y una disminución en la calidad y producción de la leche debido al daño causado en el tejido mamario (Pyörälä & Taponen, 2009).

1.3.2. Mastitis por *Streptococos*

Bacterias esféricas u ovoides que crecen en pares o cadenas de longitud variable. La mayoría son anaerobios facultativos y otras especies anaerobios obligados. Son Gram positivos, no formadores de esporos, catalasa negativos e inmóviles, tienen complejos y variables requerimientos nutricionales (Rodríguez, 2006).

Esta especie es responsable del 5-10% de las mastitis caprinas y en su mayor grado termina siendo mastitis clínicas (Bedolla, y otros, 2012).

1.3.2.1. Streptococcus agalactiae

Agente clásico asociado con la mastitis caprina y es altamente contagiosa. Es el único representante del grupo B (B-Streptococcus) (Bedolla, y otros, 2012). Es un agente que da cuadros de mastitis subclínica o moderada, como resultado. La infección subclínica va acompañada de un conteo de células somáticas elevado pero sin anomalías en las características organolépticas de la leche, esta se disemina desde los animales infectados a sanos durante el ordeño a través de la máquina de ordeño, las manos del ordeñador, y los materiales que se utilizaron para manipular al ganado (Ruegg, 2011).

1.3.2.2. Streptococcus dysgalactiae

Este microorganismo es un patógeno causante de mastitis caprina que tiene la particularidad de comportarse como patógeno contagioso y ambiental. Es una especie hemolítica, muy común en la mastitis clínica y subclínica que provoca inflamación aguda de la glándula mamaria. Así como el responsable también de la mayoría de las mastitis que se presentan ya sea al comienzo o al final del período seco (Bedolla, y otros, 2012).

1.3.3. Mastitis por coliformes

Las bacterias coliformes son habitantes normales del suelo e intestino de los animales, pueden causar mastitis si las partículas contaminadas del medio ambiente entran en contacto con la ubre. No se adhieren a los conductos y al alvéolo de la ubre, estas se multiplican rápidamente en la leche y producen toxinas que son absorbidas dentro del torrente circulatorio; como resultado las infecciones conducen a mastitis clínicas agudas (Shim, Shanks, & Morin, 2010).

1.3.3.1. Escherichia coli

Bacteria patógena que produce una toxina cuando muere, esto causa un movimiento rápido de células somáticas hacia la leche. Una mayor incidencia de mastitis coliforme severa al principio de la lactancia puede ser la baja tasa con que los neutrófilos ingresan a la ubre, debido a que la glándula mamaria está inmunológicamente comprometida por el estrés propio del parto. Las respuestas sistémicas de la mastitis coliforme aguda se deben a la absorción de endotoxinas por la sangre. La leche cambia de aspecto, se pone aguachenta y amarillenta, contiene flóculos y grumos, y la producción disminuye notablemente (Bedolla, y otros, 2012).

1.3.3.2. Klebsiella spp.

La mastitis puede presentarse de forma aguda y crónica. En la aguda, la temperatura se eleva de 40 a 41°C, hay debilidad general, depresión e inflamación intensa. La secreción de leche es reducida a pequeñas cantidades de un líquido seroso con grumos de pus; también puede ocurrir infección concomitante de las vías respiratorias. La cabra entra en período seco, debido al fuerte tratamiento. En la forma crónica, hay aparición gradual de fibrosis moderada y presencia de coágulos (Bedolla, y otros, 2012).

1.4.Patogenia

La infección de la glándula mamaria a través del conducto glandular ocurre en tres etapas: invasión, infección e inflamación (Espinoza & Mier, 2013).

La invasión: los microorganismos pasan del exterior de la ubre a la leche que se encuentra en el conducto glandular.

La Infección: los gérmenes se multiplican rápidamente e invaden el tejido mamario, estableciéndose una población bacteriana en el canal del pezón o conducto glandular para diseminarse en el tejido mamario.

La inflamación: aumenta el conteo de leucocitos en la leche ordeñada, además de observarse anomalías en la ubre como: hinchazón, temperatura e incluso puede llegar a gangrena, evidenciándose mastitis clínica (Espinoza & Mier, 2013).

1.5.Diagnóstico

El diagnóstico de la mastitis clínica se basa en la observación de las alteraciones de la glándula mamaria y secreción láctea, pero en el caso de la mastitis subclínica resulta más complicado. Diferentes autores aconsejan realizar el recuento de células somáticas y/o el aislamiento de bacterias patógenas de la leche. El recuento de células somáticas permite determinar el estado sanitario y evaluar las medidas de control aplicadas en una explotación con antecedentes de mastitis. Por su parte, el aislamiento de los agentes responsables es también un requisito necesario para poder aplicar medidas de control eficaces (Isidro , Tolentino, Rodríguez, Díaz, & Pastor, 2011).

1.5.1. Métodos de detección

1.5.1.1. Conteo de células somáticas

Las Células somáticas están constituidas por una asociación de leucocitos y células epiteliales. Los leucocitos se presentan en la leche en respuesta a la inflamación que aparece debido a una enfermedad o lesión. Las células epiteliales se desprenden del revestimiento del tejido de la ubre (Espinoza & Mier, 2013).

Uno de los indicadores más importantes para comprobar el estado sanitario de la glándula mamaria de un rebaño lechero es el conteo de células somáticas. A medida que aumenta el conteo de células somáticas, mayor es el grado de inflamación de la glándula y por ende menor calidad de la leche (Castro, Rojas , & Rodríguez, 2006).

El conteo de células somáticas en leche, aumenta a medida que progresa la etapa de lactancia; se encuentra altos CCS las dos primeras semanas en lactancia y menores CCS en el segundo mes de lactancia, pero aumenta al final de la lactancia (Zeng, Escobar , & Popham , 1997). Sin embargo, la persistencia en la curva de lactancia en cabras es menor que en vacas y podría contribuir a elevar el CCS en estados avanzados de lactancia (Paape, Capuco, Lefcourt, Burvenich, & Miller, 1992).

Una forma rápida de medir la salud de la ubre es el conteo de células somáticas en leche. Según (Haenlein, 1996), la secreción de leche en cabras es apocrina, mientras que en vacas es merocrina, en la primera se da una pérdida mínima del citoplasma y en la segunda no hay pérdida de la célula; lo que nos da una ligera explicación del alto conteo de células somáticas CCS.

Para conocer que una cabra sufre de mastitis el primer indicativo es el conteo de células somáticas, por dicha razón se han tomado parámetros de análisis, según el (INEN, 2012) el límite máximo de aceptación es $7,0 \times 10^5$ CCS/cc, si excede este

parámetro la leche no es apta para consumo por la presencia de la infección en glándula mamaria.

1.5.1.1.1. FOSSOMATIC

Se utiliza para analizar CCS (conteo de células somáticas) presentes en la leche de cabra. “Este equipo está basado en la tecnología de citometría de flujo que cuenta células somáticas cumpliendo con los estándares de ISO/IDF y FDA/NCIMS” (SCANCO, 2014). Los protocolos están ya estandarizados y arrojarán los datos y números que se necesitan, para realizar los análisis posteriores.

1.5.1.2. Conteo bacteriano total

1.5.1.2.1. BACTOSCAN

Análisis de bacterias en IBC y UFC. Utiliza la tecnología de citometría de flujo, permite analizar de forma rápida y precisa las bacterias presentes en la leche. Es una técnica que permite realizar un recuento de células y partículas y caracterizarlas. El principio subyacente en la citometría de flujo es muy sencillo, se tiñe una suspensión de células y se hace pasar por un tubo capilar iluminado frente al objetivo de un microscopio. Cada una de las células es registrada por un contador electrónico que va unido al microscopio (FOSS, 2016).

1.5.1.3. Cultivos de muestras de leche

Es un procedimiento en el que se lleva a un microorganismo a un medio artificial con condiciones adecuadas para su crecimiento y así, conocer su comportamiento e identificarlo; debe reunir condiciones de temperatura, humedad, presión osmótica y pH (Espinoza & Mier, 2013).

1.5.1.4. Medios de cultivos

Un medio de cultivo es un sustrato o una solución de nutrientes que permite el desarrollo de microorganismos. En las condiciones de laboratorio se realiza un cultivo, en dichos medios los microorganismos van a crecer y multiplicarse para dar colonias con diferentes técnicas de siembra (López & Torres, 2006).

Los microorganismos son los seres más abundantes de la tierra, pueden vivir en condiciones extremas de pH, temperatura y tensión de oxígeno, colonizando una amplia diversidad de nichos ecológicos. Entre los requerimientos más importantes para su desarrollo están el carbono, el oxígeno, nitrógeno, dióxido de carbono e hidrógeno. Muchas bacterias sin embargo necesitan del aporte extra de factores de crecimiento y entre otros componentes (López & Torres, 2006).

1.5.1.4.1. Agar nutritivo

Es un medio de cultivo usado para todo tipo de bacteria. Este es útil debido a su textura sólida inclusive a altas temperaturas. Además, el crecimiento bacteriano en este agar lo hace en la superficie, por lo que se distinguen mejor las colonias pequeñas (Casado, Torrico, & Medina, 2012).

Medio de cultivo utilizado para propósitos generales, para el aislamiento y conteo de microorganismos con escasos requerimientos nutricionales. Este se utiliza en procedimientos para el análisis de alimentos, aguas y otros materiales de importancia sanitaria (Britania, 2015).

1.5.1.4.2. Agar Sangre

Según (Manualzilla, 2017), este agar es una combinación de un agar base o nutritivo con fuente proteica (digeridos trópicos, digeridos proteicos de soja), se le agrega 5 % de sangre ovina o humana y posee hidratos de carbono naturales y cloruro sódico.

Este agar aporta muchos factores de enriquecimiento. Se usa para ver la capacidad hemolítica de los microorganismos patógenos lo que representa un factor de virulencia.

1.5.1.4.3. Agar Chocolate

Es un medio enriquecido usado en laboratorios para el cultivo de patógenos, este puede ser suplementado con antibióticos para la selección de algunos microorganismos. Este agar es muy útil para aislar colonias de especies de *Staphylococcus* y *Streptococcus*. Este medio usa la misma base que el agar sangre, pero para su toque final se eleva la temperatura, para lizar las células y adquiere un color pardo-chocolate (Gunn, 1994).

1.5.1.4.4. Agar MacConkey

Medio de cultivo utilizado para lograr el aislamiento de bacilos preferente Gram negativos, estos pueden ser de fácil desarrollo, aerobios y anaerobios facultativos, se los pueden obtener a partir de muestras clínicas, aguas y alimentos. Todas las especies de la familia Enterobacteriaceae se desarrollan en dicho medio (Britania, 2015).

1.5.1.4.5. Agar Cetrimide

Medio utilizado para el aislamiento selectivo de *Pseudomonas aeruginosa* y de otras especies del género; estimula la formación de pigmentos, la peptona de gelatina aporta los nutrientes para el desarrollo microbiano. El cloruro de magnesio y el sulfato de potasio promueven la formación de piocianina, pioverdina, piomelanina y fluoresceína de *P.aeruginosa*. La cetrimida es un detergente catiónico que actúa como agente inhibidor, libera el nitrógeno y el fósforo de las células de casi toda la

flora acompañante, aunque inhibe también algunas especies de *Pseudomonas* (Britania, 2015).

1.5.1.4.6. Agar Mueller Hinton

Es un medio utilizado para realizar las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana en microorganismos aeróbicos, se recomienda este agar para llevar a cabo las pruebas de susceptibilidad a antibióticos, utilizando un solo disco impregnado con una alta concentración de un antimicrobiano (Casado, Torrico , & Medina, 2012).

Es un medio de cultivo nutritivo no selectivo que promueve el desarrollo microbiano. Por su composición, ha sido recomendado para ser utilizado en forma rutinaria en la realización del antibiograma en medio sólido, debido a que presenta buena reproducibilidad lote a lote en las pruebas de sensibilidad, su contenido en inhibidores de sulfonamidas, trimetoprima y tetraciclina es bajo, la mayoría de los patógenos microbianos crece satisfactoriamente y una gran cantidad de datos adicionales que han sido evaluados y avalados usando este medio de cultivo (Britania, 2015).

1.6. Antibiograma

Es un método in vitro que determina la susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio específicas y estandarizadas, para proveer recomendaciones sobre la terapia que puede ser más apropiada en una infección específica (Espinoza & Mier, 2013). La reacción de los microorganismos a los antibióticos se divide en 3 tipos de mecanismos:

1.6.1. Sensibilidad

Cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el éxito terapéutico (Cantón, 2010).

1.6.2. Resistente

Cuando un aislado bacteriano es inhibido in vitro por una concentración de un antimicrobiano que se asocia a una alta probabilidad con el fracaso terapéutico (Cantón, 2010).

1.6.3. Multirresistencia a antibióticos

Epidemiológicamente se definen a los microorganismos que son resistentes a una o más clases de antibióticos. La definición exacta debe incluir algunas condiciones: que exista resistencia a más de una familia o grupo de antimicrobianos de uso habitual, que esa resistencia tenga relevancia (dificultad de tratamiento) y epidemiológica (posibilidad de brotes epidémicos, transmisión del mecanismo de resistencia) (López, Barcenilla, Amaya, & Garnacho, 2010).

Capítulo 2.

Materiales y métodos

2.1.Lugar y área de trabajo

La presente investigación se realizó en 2 hatos lecheros de cabras; el primero fue en la Hacienda la Pampilla, en el barrio Chaupiestancia, parroquia de Yaruquí del cantón Quito provincia de Pichincha (Nexdu, 2017). La Parroquia está ubicada al nororiente de la ciudad de Quito en la falda occidental de la Cordillera Central a 2.527 m.s.n.m. (GADY, 2017), Latitud $-00^{\circ}16'70''$ sur, longitud $-78^{\circ}31'88''$ oeste (Distanciasentre, 2013); las condiciones climáticas de la zona es de frío templado y cálido (entre $12^{\circ} - 28^{\circ}\text{C}$), la precipitación varía 117 mm entre el mes más seco y el mes más húmedo.

El segundo hato de investigación se realizó en varias unidades productivas de pequeñas y medianas fincas lecheras de la parroquia Mira del cantón Mira, provincia de Carchi. La Parroquia está ubicado al suroeste de la Provincia del Carchi a 2450 m.s.n.m., Latitud $0^{\circ}29'00''$ norte, longitud $78^{\circ}04'00''$ occidente, posee un agradable clima que promedia los 18°C y tiene una pluviosidad anual de 636 mm lo que da lugar a una variada producción agrícola (ISIS, 2013).

Posteriormente las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Calidad de leche de Cayambe de la Universidad Politécnica Salesiana, para después analizar la especie en el Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de la Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Central del Ecuador.

2.2.Toma de muestra

De los dos hatos de estudio se tomaron 30 muestras de leche de las cabras que presentaban el índice de CCS superior a 700000 células/mL Las muestras se tomaron directas de la ubre de la cabra por ordeño manual, las ubres fueron limpiadas con alcohol al 70% y posterior secado con papel toalla. Para la manipulación se utilizó guantes para evitar errores en el análisis, se despunto las ubres desechando las primeras gotas, después se tomó de 30 a 40 mL de leche en frascos Falcon, estos se llevaron al Laboratorio de Calidad de leche en Cayambe; también se tomó de 40 a 50 mL de leche en frascos de orina esterilizados, estos fueron llevados al Laboratorio de Bacteriología de la Universidad Central.

2.3.Conteo de células somáticas

2.3.1. FossomaticTM Minor

Principio de medición, citometría de flujo. Se coloca una muestra de leche de 5ml de leche a 40° C. En el Fossomatic se tiñen las células somáticas con un colorante fluorescente (Bromuro de etidio) para obtener una reacción solo con el ADN de las células. Es por eso que las partículas sucias y los glóbulos de los lípidos no se suman al número de las células somáticas. La muestra pasa frente a una luz especial y un detector registra cada célula somática. Entre cada muestra el aparato limpia su sistema de flujo para evitar el efecto del arrastre de una muestra a otra. Todas estas funciones son automáticas (Bedolla, Castañeda, & Wolter, 2007).

Las funciones principales del operario son las de preparar los reactivos cada mañana, colocar los porta muestras en la cinta transportadora del aparato y esperar en segundos los resultados del número de células somáticas. Asegurar que siga existiendo una buena relación entre los resultados del aparato y los resultados del

método tradicional, analizando unas muestras con ambos métodos (Bedolla, Castañeda, & Wolter, 2007).

Es el parámetro que mide la calidad sanitaria de las muestras de leche. Este se utiliza para detectar la presencia de mastitis o infecciones de las glándulas mamarias, en unidades de células somáticas/mL. En el Laboratorio de Cayambe se utiliza la metodología ISO13366-2/IDF148-2/2006 Enumeración de células somáticas en leche/LCL-PE-02 (Laboratorio de Calidad de leche de Cayambe, 2017)

2.4. Conteo bacteriano

2.4.1. BactoScan FC

Utiliza la tecnología de citometría de flujo. Incubando la leche con una enzima 50 y empleando un tratamiento mecánico que hace que se descompongan todos los componentes de la leche, excepto las bacterias. Los grupos de bacterias a su vez se dividen en bacterias individuales. Después durante el periodo de incubación, las bacterias se tiñen con Bromuro de etidio para el ADN. En el punto de medición, la muestra se expone a un haz de luz láser, haciendo que las bacterias teñidas emitan una luz roja, un pulso de luz por cada una de las bacterias. Entonces se utiliza una jeringa muy precisa para pasar toda la muestra a través de una célula de flujo. La electrónica cuenta los pulsos y los muestra en un diagrama de análisis de altura de pulsos en el monitor del ordenador (FOSS, 2016).

Establece estándares de higiene que se debe tener durante el ordeño o manipulación de la leche en la cadena productiva, se expresa en unidades de CBT/mL o UFC/mL. El Laboratorio de Cayambe utiliza la metodología establecida en el ISO 16297- IDF 161/2013 Protocolo de evaluación de métodos alternativos para el conteo bacteriano LCL-PE-03 (Laboratorio de Calidad de leche de Cayambe, 2017).

2.5. Cultivo de muestras de leche

Las 30 muestras se sembraron en cuatro tipos de medios de cultivo agar sangre (se ve hemólisis y crecimiento de cocos Gram positivos), agar chocolate (crecimiento de cocos Gram positivos), agar MacConkey (crecimiento de bacilos Gram negativos) y agar cetrimide (crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*). Se utilizó el método de estriado en caja Petri, realizando el inóculo primario con ayuda de un hisopo estéril, posterior con el asa estéril se arrastra una parte de inóculo primario y se realiza el segundo, tercer y cuarto estriado, con la finalidad de que en las últimas estriaciones se dejaran un número muy bajo de células, para que se formen colonias puras y poder determinar el agente causal de mastitis.

Las muestras que se sembraron en agar Sangre y Chocolate, se colocaron en una caja de anaerobiosis y se llevaron a la incubadora de 37°C por 24 horas.

Las muestras que se sembraron en agar MacConkey, se colocaron en la incubadora de 37°C por 24 horas.

Las muestras que se sembraron en agar Cetrimide, se colocaron en la incubadora de 42°C por 48 horas.

2.6.Tinción Gram

De las colonias que crecieron en los diferentes agares, con ayuda de un palillo estéril se toma una pequeña cantidad de colonia y se frota en un porta objetos, se lleva al mechero para fijar la muestra; posterior se debe añadir los reactivos correctos, para determinar bacterias Gram positivas o negativas. Primero se añade una pequeña cantidad de cristal violeta por un minuto, se enjuaga con abundante agua; segundo se añade yodo por un minuto, se enjuaga con agua; tercero se añade alcohol cetona solo por 10 segundos y se enjuaga con agua y por último se añade safranina por 30

segundos, se enjuaga. Posteriormente se seca bien el portaobjetos con la muestra y se lleva al microscopio, se debe observar con el lente de 100x.

2.7.Prueba de Catalasa

La prueba de catalasa solo se realiza cuando se tiene cocos Gram positivos, exactamente para determinar estafilococos (catalasa positiva) o estreptococos (catalasa negativa). En un portaobjetos se coloca una gota de Peróxido de hidrógeno, después con ayuda de un palillo se toma una pequeña cantidad de colonia y se coloca en la gota de Peróxido de hidrógeno, si burbujea es catalasa + y si no es catalasa -.

2.8.Prueba de Coagulasa

Esta prueba se realiza siempre y cuando la prueba de catalasa haya sido positiva, con el asa estéril se toma una pequeña cantidad de colonia y se inserta en un tubo eppendorf con plasma de conejo se lleva a la incubadora de 37°C por 24 horas; si se coagula el plasma es coagulasa positiva, si no es coagulasa negativa.

2.9.Prueba de VOGES PROSKAUER

Cabe recalcar que esta prueba solo se realiza cuando la prueba de coagulasa es positiva, con el asa se toma una pequeña cantidad de colonia y se coloca en un tubo con caldo MR-VP, posterior se lleva a la incubadora de 37°C por 24 horas, luego se coloca 600uL de alfa-naftol y 200uL de KOH al 10%, se mezcla y cerca del mechero el tubo se deja abierto ya que necesita del aire ambiental para dar el resultado, se coloca la tapa y se espera de 10 a 15 min. Si se torna de color rojo es VP positivo (*Staphylococcus aureus*) y si no cambia de color es VP negativo.

2.10. Batería bioquímica

Esta prueba se realiza cuando se tiene bacilos Gram negativos, se trabaja con cuatro medios en tubos: TSI, SIM, Citrato y Urea.

- 2.10.1 TSI (medio sólido en pico de flauta): con el asa en punta se toma una cantidad de colonia, se inserta en el medio y luego se hace un estriado en el tubo, se lleva a la incubadora de 37°C por 24 horas. Se observa producción de gas y si aprovecha los azúcares del medio.
- 2.10.2. SIM (medio semisólido): con el asa en punta se toma una cantidad de colonia, se inserta en el medio, se lleva a la incubadora de 37°C por 24 horas. Se observa la movilidad, indol (positivo rojo o negativo color del medio) y producción de ácido sulfhídrico.
- 2.10.3. Citrato (medio sólido en pico de flauta): con el asa en punta se toma una cantidad de colonia y se realiza un estriado en el tubo, se lleva a la incubadora de 37°C por 24 horas. Citrato positivo se torna de color azul, si es negativo se queda del color del medio que es verde.
- 2.10.4. Urea (medio líquido): con el asa se toma una cantidad de colonia y se coloca en el medio líquido se mezcla bien y se lleva a la incubadora de 37°C por 24 horas. Urea positiva cambia de color a rosado y negativa no cambia de color.

2.11. Paso agar Manitol sal

Las muestras que dieron como resultado estafilococos, se pasó a agar manitol sal, se incuban a 37°C por 24 horas y allí se observó si son halo tolerante y si aprovecharon el manitol como sustrato.

2.12. Paso agar nutritivo

Las colonias encontradas y ya anteriormente analizadas se pasaron a agar nutritivo en pico de flauta, se llevaron a la incubadora de 37°C por 24 horas, donde las bacterias se van a encontrar en fase exponencial necesario para realizar antibiogramas.

2.13. Antibiograma

Se trabajó con los tubos con agar nutritivo en pico de flauta con muestra, en fase exponencial. Con ayuda de un hisopo se tomó una pequeña cantidad de colonia y se introdujo en un tubo con NaCl líquido, se mezcló bien hasta observar un ligero cambio en la turbidez y el color; se debe medir la densidad de cada tubo con colonia y se puede dar a conocer dos formas: 1) llevar el tubo a un densitómetro y medir la densidad exacta, 2) comparar el tubo de NaCl y muestra, con un tubo de McFarland 0,5 de densidad. La densidad necesaria para trabajar en el antibiograma es de entre 0,5-0,9; fuera de estos rangos no serán los resultados correctos. Los nuevos tubos con NaCl y muestra de colonia fueron los nuevos inóculos con los que se trabajó.

En cajas Petri grandes con agar Mueller Hinton se llevó a cabo los antibiogramas, primero se introdujo un hisopo en el tubo de NaCl y colonia, se tomó una cantidad significativa de la mezcla y se realizó varias veces estriaciones en la caja Petri, posteriormente se colocó los 12 antibióticos bien distribuidos para que se pueden observar bien los halos de inhibición.

Tabla 1.

Código y nombre comercial de los antibióticos.

Código	Nombre del antibiótico
AM10	Ampicilina
CF30	Cefalotina
P10	Penicilina
C30	Cloranfenicol
AMC30	Amoxicilina + Ácido clavulánico
SXT25	Trimetoprim/sulfametoxazol
TE30	Tetraciclina
CIP5	Ciprofloxacina
ENR5	Enrofloxacina
CTX30	Cefotaxima
S300	Estreptomicina
GM10	Gentamicina

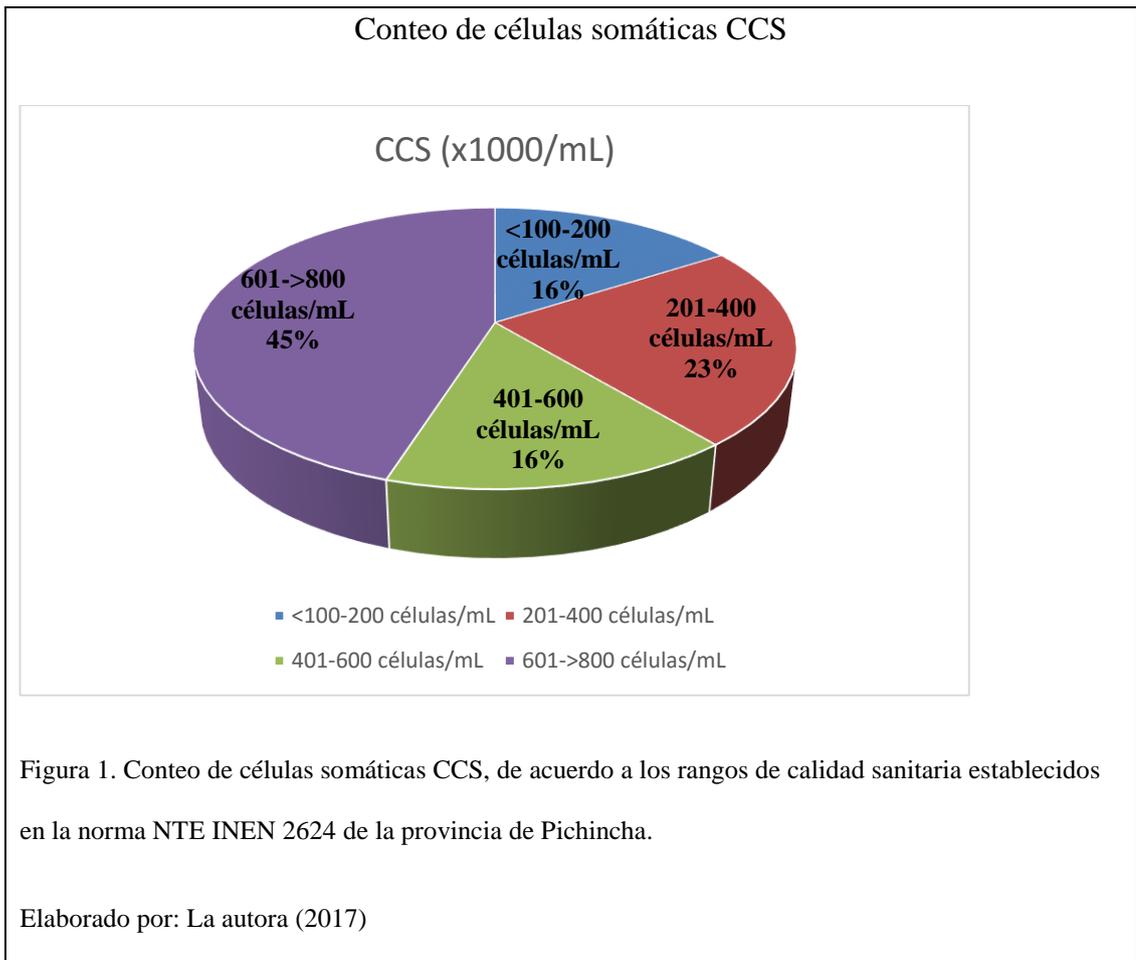
Elaborado por: La autora (2017)

Capítulo 3.

Resultados y Discusión

3.1. Provincia de Pichincha

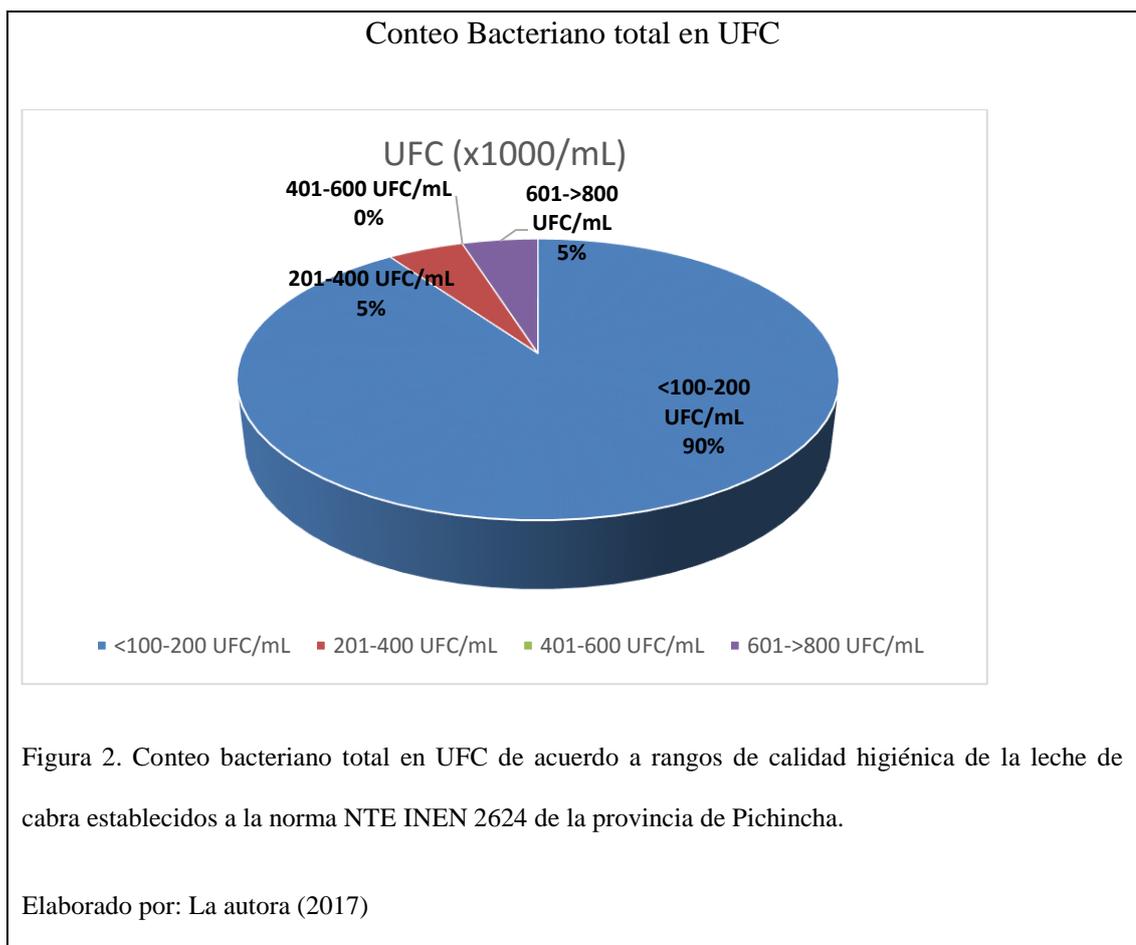
3.1.1. Conteo de células somáticas de la leche de cabra



De 82 cabras seleccionadas, 13 se encuentran en el rango de <100-200, lo que representa un 16% y se localizan en el rango de cabra sanas, según la norma INEN para leche cruda de cabra el recuento de límite máximo es $7,0 \times 10^5$ CCS/cc (INEN, 2012); en el rango de 201-400, se tuvo un 23%; mientras tanto en el rango de 401-600, se tuvo un 16%; y para finalizar en el rango de 601->800, se obtuvo un 45% lo

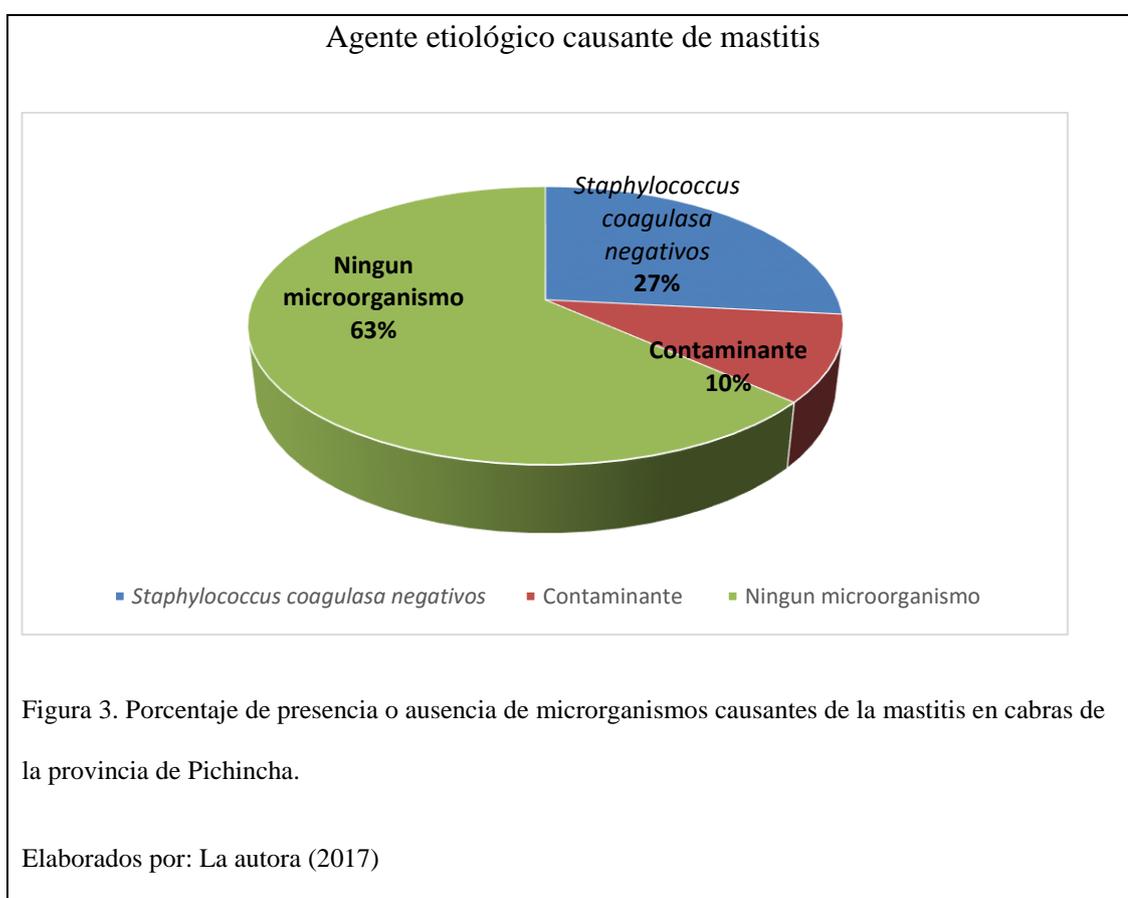
que figura que en este rango se encontró cabras enfermas con mastitis subclínica o clínica, estos datos coinciden con lo reportado por Cremoux y otros (1994) que probaron líneas de corte de infecciones intramamarias de conteo de CCS afirmando que el umbral de las no infectadas estaría por debajo de las 550000 y 1000000 células somáticas. Mientras que Suarez y otros(2014) reportaron que el umbral o línea de corte de medios infectados se encontraron entre los rangos de 790000 y 1000000 de CCS, ya que el número de casos correctamente clasificados es mayor en cuanto a especificidad y sensibilidad.

3.1.2. Conteo bacteriano total en UFC de la leche de cabra



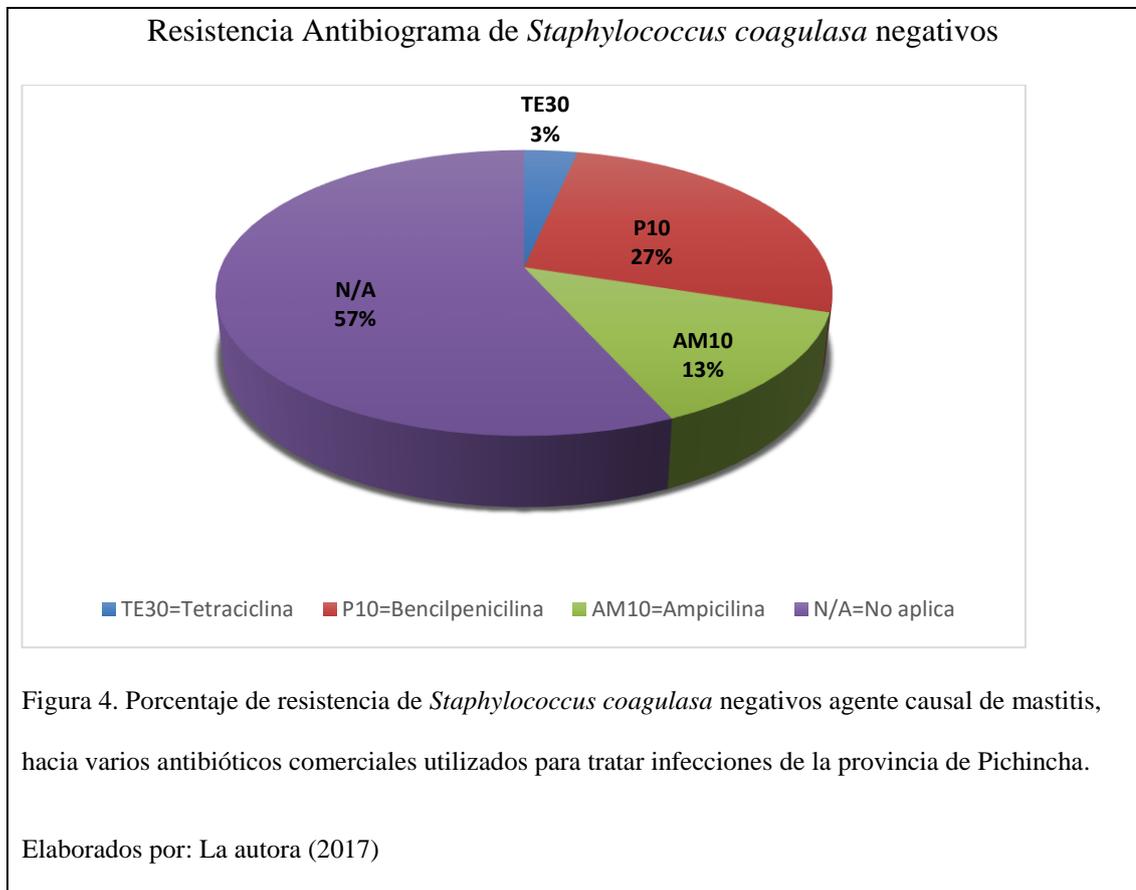
De 82 cabras seleccionadas y clasificadas según el rango de contaminación se encontraron que; entre los rangos de <100-200 UFC, 74 muestras (90%) están dentro de la norma NTN INEN 2624 para leche de cabra, estos datos indican que la mayoría de las muestras no presentan contaminación higiénica; en el siguiente rango de 201-400 UFC, se encontró 4 muestras(5%), en el rango de 401-600 UFC no se encontraron casos, en el rango de > de 800 UFC solo se encontraron 4 casos (5%). Según el método NTE INEN 1529-5 el recuento máximo de microorganismos es de $1,5 \times 10^6$ UFC/cc(INEN, 2012) estos últimos casos sobrepasaban el límite máximo que especifica la norma, es por ello que se decidió tomar en cuenta estos casos positivos para trabajar posteriormente en la determinación del agente etiológico en medios de cultivos.

3.1.3. Determinación del agente etiológico causante de mastitis en cabras



De las 82 muestras que se realizó el CCS, se tomó 30 muestras que se encontraban en el rango de mayor a $>700 \times 1000$ CCS/mL, ya que según la norma INEN 2624 del 2012 este es el límite máximo de células en la leche de cabra; se tuvo como resultado que 3 muestras que representan el (10%) fueron contaminantes en el medio de cultivo o por mala manipulación de las muestras; de 8 muestras (27%) fueron positivas a *Staphylococcus coagulasa* negativos (agente etiológico causante de mastitis). Según (Dore, y otros, 2016) en su investigación analizaron que en cultivos bacteriológicos de muestras de cabras y ovejas de 1795 rebaños entre el 2013-2014, los *estafilococos coagulasa* negativos fueron las bacterias más frecuente aisladas en pequeños rumiantes lecheros, seguidas de *Staphylococcus aureus* y otras especies bacterianas; por último se tiene que en 19 muestras (63%) no se determinó la presencia de ningún agente causal de mastitis.

3.1.4. Antibiogramas de *Staphylococcus coagulasa* negativos

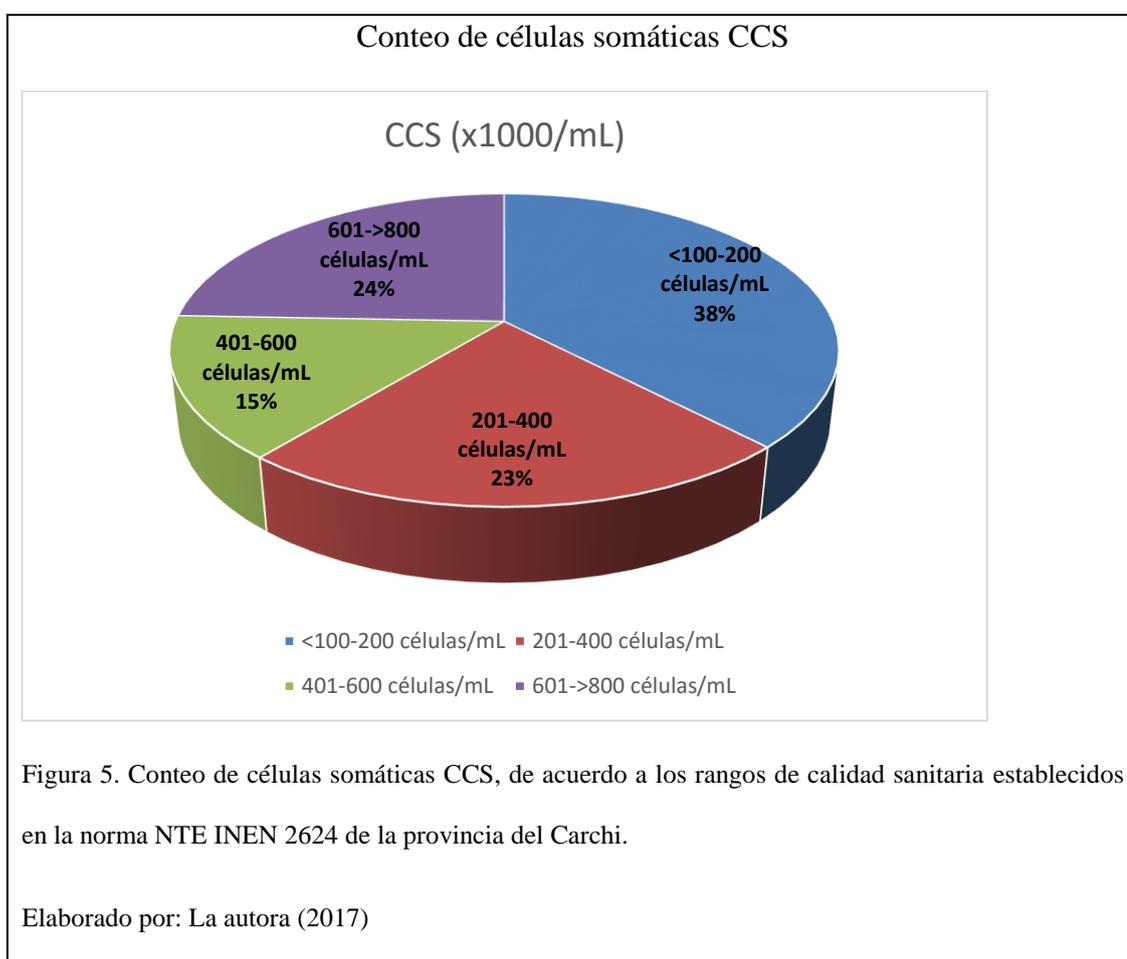


En cuanto a la prueba para determinar resistencia bacteriana en los animales, se utilizó la prueba de antibiograma, en el mismo se observó, que de las 30 muestras de leche de cabra analizadas, el 3% son resistentes a Tetraciclina, esta investigación se asemeja a un estudio similar realizado en Polonia donde se demostró que las pruebas de difusión en disco de 10 especies de *estafilococos coagulasa* negativos eran resistentes a Tetraciclina y Eritromicina (Lenart, Wolny, Stec, & Kasprowic, 2016); el 13% de los animales son resistentes a Ampicilina; el 27% son resistentes a Bencilpenicilinas, coincidiendo con el estudio de Bansal y otros (2015) en la India donde se determinó la susceptibilidad antibiótica de cepas de *Staphylococcus*

coagulasa negativos, que tienen resistencia a Amoxicilina 77,6%, Penicilina 75,9%, Ampicilina 74,1%; y por último el 57% de las muestras no se detectó la presencia del agente causal. Las bacterias que se analizaron en cuanto a antibiogramas, resultaron resistente a más de un antibiótico, por lo que se puede afirmar que ya se cuenta con bacterias multiresistentes.

3.2. Provincia de Carchi

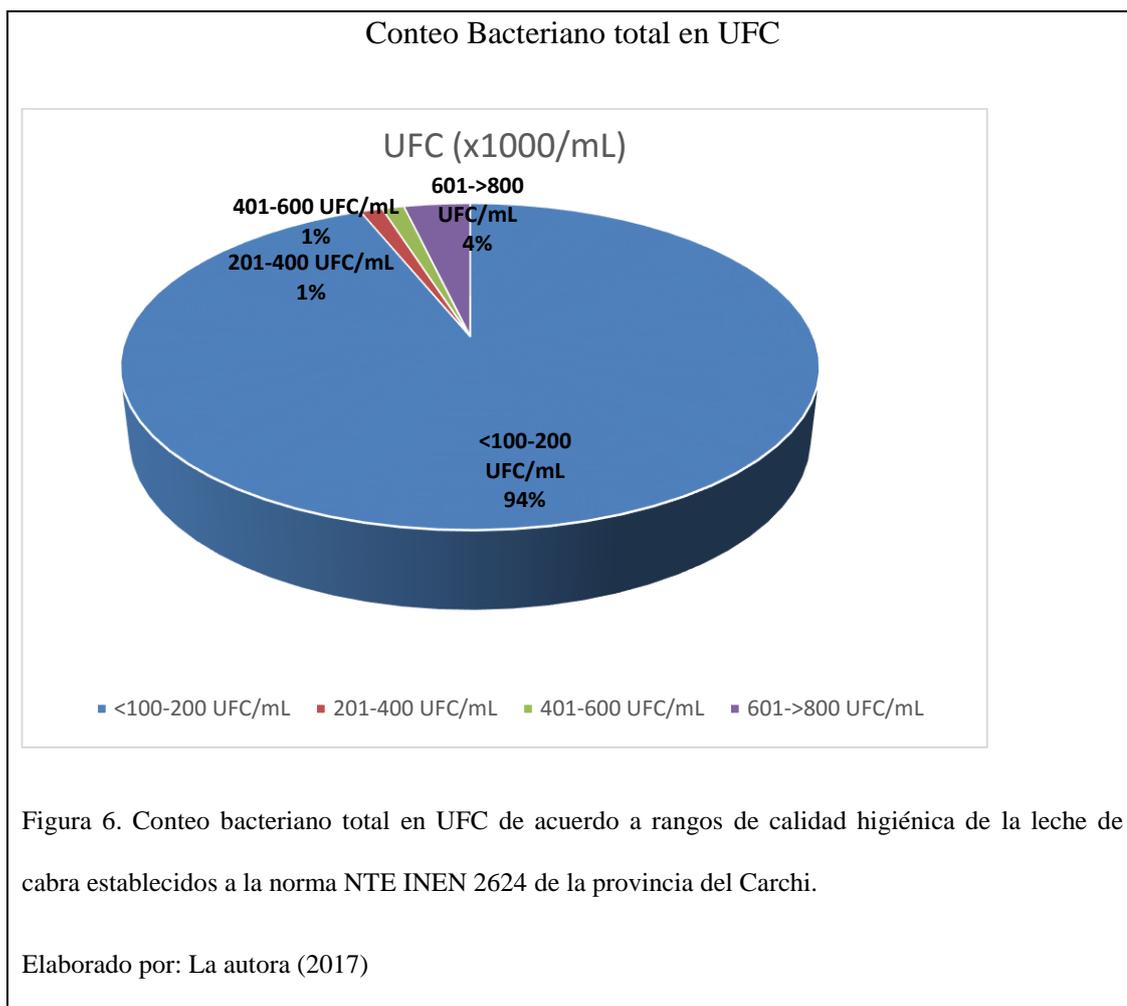
3.2.1. Conteo de células somáticas de la leche de cabras



De 82 cabras seleccionadas, 31 (38%) se encontraron en el rango de <100-200; 19 (23%) se encontraron en el rango de 201-400 ; 12 (15%) se encontraron en el rango

de <401-600; se puede aludir a los rangos ya mencionados que las cabras no evidencian mastitis clínica ni subclínica; por ultimo 20 (45%) se encontraron en el rango de 601->800, que coincide con los valores presentados en la Food and Drug Administration de los Estados Unidos, que aluden que el límite legal de CCS en caprinos es de 1000000 CCS/mL (Paape, y otros, 2007), pasados estos límites se puede afirmar que los animales presentan infecciones de tipo clínica o subclínica, es por eso que se tomó 30 cabras dentro de este rango para análisis posteriores en laboratorio y determinar el agente causal.

3.2.2. Conteo bacteriano total en UFC de la leche de cabra



De 82 cabras seleccionadas en el rango de <100-200 UFC se encontró que de 77 muestras el (94%) están dentro de la norma NTE INEN 2624 para leche de cabra; se encontró 1 muestra (1%) en el rango de 201-400 UFC; 1 muestra (1%) en el rango de 401-600 UFC y 3 muestras (4%) en el rango de >800. Según el método NTE INEN 1529-5 el recuento máximo de microorganismos es de $1,5 \times 10^6$ UFC/cc (INEN, 2012), en el último rango se encontró que las muestras sobrepasaban este límite, es por ello que se decidió tomar en cuenta estas para trabajar posteriormente en la determinación del agente etiológico en medios de cultivos. Según la Unión Europea (UE) para la calidad higiénica y bacteriológica de la leche de cabra según la regulación 92/46 y 94/71 que el límite permisible para el recuento de aerobios mesófilos es $\leq 1,5 \times 10^6$ UFC/mL (Pirisi , Lauret , & Dubeuf , 2007). Según Aimar y otros (2011) de 28 muestras analizadas en la temporada productiva el 67,86% mostraron recuentos dentro de los parámetros aceptables, mientras que el 32,14% presentaron recuentos superiores a lo aceptados por la UE.

3.2.3. Determinación del agente etiológico causante de mastitis en cabras

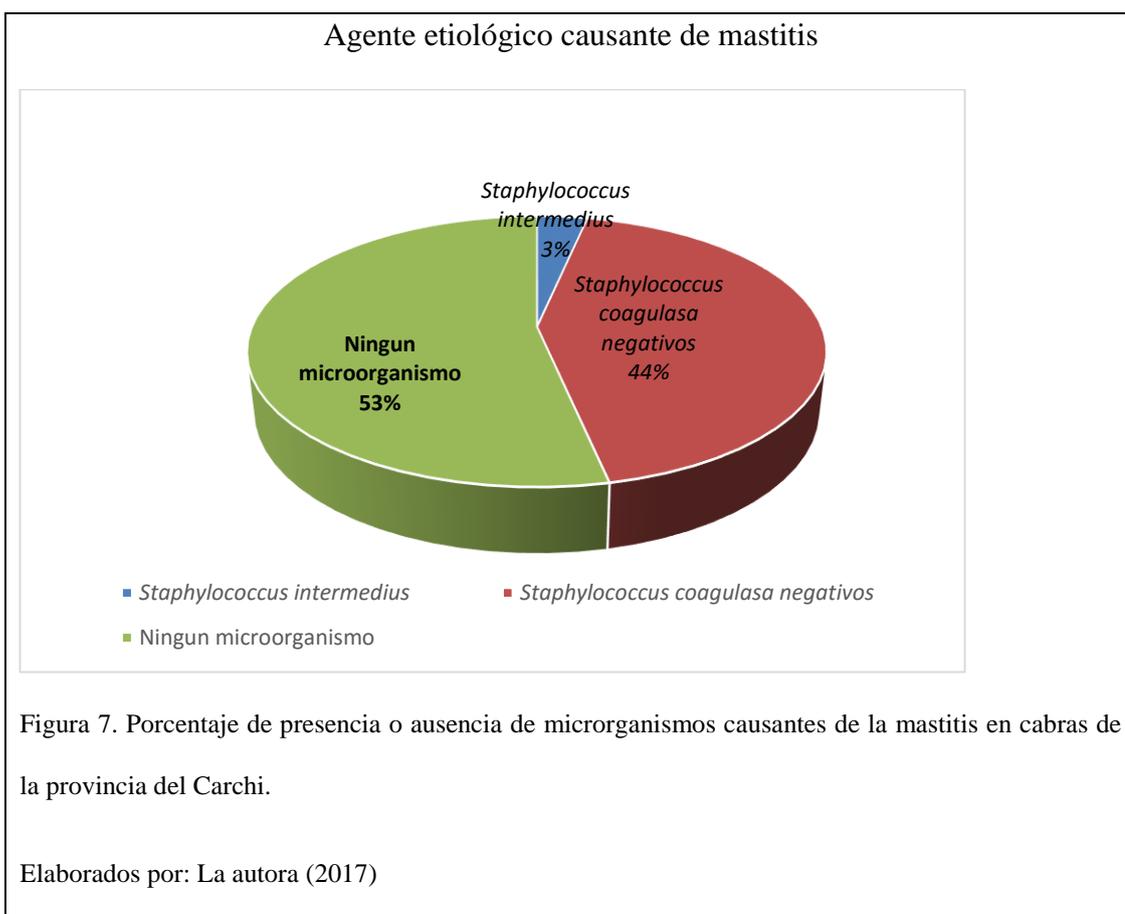
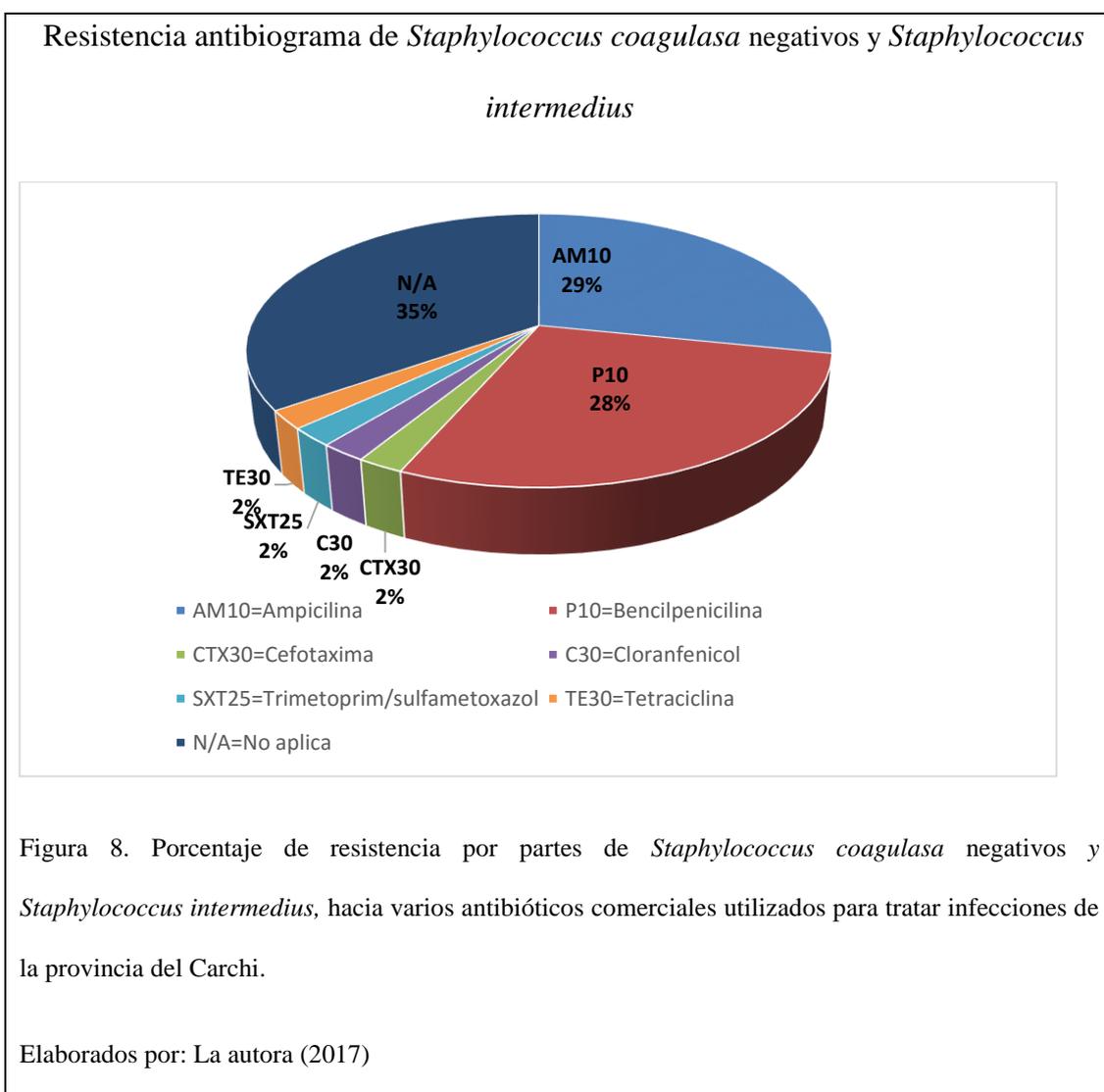


Figura 7. Porcentaje de presencia o ausencia de microorganismos causantes de la mastitis en cabras de la provincia del Carchi.

De las 82 muestras tomadas que se realizó el CCS, se tomó 30 muestras que se encontraban en el rango de mayor a $>700 \times 1000$ CCS/mL; se tuvo como resultado que 1 muestra (3%) fue *Staphylococcus intermedius* (agente etiológico causante de mastitis), en un estudio sobre mastitis caprina en Brasil se encontró que en 122 muestras hubo crecimiento bacteriano y las especies de estafilococos predominantes fueron: *S. epidermidis* (24,55%), *S. lugdunensis* (15,40%) y *S. intermedius* (13,64%), la ocurrencia de estas especies fue superior a todas las que se analizaron en dicho estudio (Salaberry, y otros, 2016). También se encontró que en 13 muestras (44%) eran *Staphylococcus coagulasa* negativos, siendo el agente causal más común en este tipo de infecciones, dichos resultados coincide con lo dicho por Salaberry y otros

(2016) que del total de muestras recogidas para análisis, 110 (90,2%) fueron identificados como *Staphylococcus* spp.; donde se obtuvo 90 (73,8%) como estafilococos coagulasa negativos y 20 (16,4%) estafilococos coagulasa positivos, existiendo la abundancia del primero en mencionar. Por ultimo en 16 muestras (53%) no se determinó la presencia de ningún agente causante de mastitis.

3.2.4. Antibiogramas de *Staphylococcus coagulasa* negativos y *Staphylococcus intermedius* causante de mastitis en cabras



En los resultados de antibiogramas del Carchi se presenció, que de las 30 muestras analizadas el 29% son resistentes a Ampicilina, el 28% son resistentes a Bencilpenicilinas; el 2% son resistentes a Cefotaxima; 2% resistente a Cloranfenicol, el 2% a Trimetoprim/sulfametoxazol; 2% a Tetraciclina; y por último el 35% no aplica debido a que son de las muestras que no se encontró agente causal; según Salaberry y otros (2016) en una investigación realizada en Brasil, en cabras se encontró que de 103 muestras 3 (2,7%) son resistentes a Trimetoprim/sulfametoxazol, de 84 muestras, 8 (7,3%) son resistentes a Cloranfenicol, en otro estudio de antibiogramas se registró resistencia a Penicilina (36,1%), Tetraciclina (9,8%) y a otros 13 antibióticos (Aarestrup, Wegener, Rosdahl, & Jensen, 1995). Cabe mencionar que los microorganismos están multiresistentes a varios antibióticos a la vez, como en los casos que se encontraron donde los animales están resistentes a Bencilpenicilinas, estreptomina y tetraciclina.

Conclusiones

Según la norma NTE INEN 2624 (2012) en el Ecuador, el límite máximo de CCS es de $7,0 \times 10^5$ CCS/cc para leche cruda de cabra, en este estudio se pudo determinar que el 45% de las muestras tomados en Pichincha y 24% en la provincia del Carchi presentaron valores > 700000 CCS/mL que no estuvieron dentro del rango normal.

En cuanto a la calidad higiénica de la leche de cabra en la provincia de Pichincha encontramos un 5% de casos con > 800000 UFC/cc, valor que se encuentra fuera de la norma para leche cruda de cabra NTE INEN 2624 (2012). En cuanto a la provincia del Carchi se encontró un 4% de casos fuera de los rangos establecidos en la norma.

Los análisis microbiológicos, evidenciaron bajos recuentos en la mayoría de los casos; en muestras de leche de cabra tomadas en la provincia de Pichincha, el 27% fueron positivas a *Staphylococcus coagulasa* negativos; mientras que en la provincia del Carchi el 3% fue *Staphylococcus intermedius* y 44% *Staphylococcus coagulasa* negativos.

El análisis de antibiograma para la detección de resistencia bacteriana de los animales analizados arrojó los siguientes resultados; en la provincia de Pichincha las cabras presentaron resistencia en un 27% para Bencilpenicilina, 13% para Ampicilina, 3% para Tetraciclinas. En la provincia del Carchi los animales presentaron resistencia en un 29% para Ampicilina, 28% Bencilpenicilina, 2% Cefotaxima, 2% Cloranfenicol, 2% Trimetoprim/sulfametoxazol y un 2% para Tetraciclinas.

Recomendaciones

Fomentar las buenas prácticas de ordeño para evitar las infecciones de la glándula mamaria de esta especie y así impedir un conteo alto en CCS, además de extremar las medidas higiénicas en producción primaria, manejo del ordeño, enfriamiento y transporte para mantener un conteo bajo de UFC y cumplir con los parámetros establecidos por la norma para leche cruda de cabra en el Ecuador.

Evitar la utilización empírica de los antibióticos ya que como se evidencia en el estudio un porcentaje alto de los animales presentan multiresistencia a varios antibióticos como a las familias de Betalactámicos, Cefalosporinas, Aminoglucósidos, Tetraciclinas y Sulfamidas, además se debería considerar la contratación y asesoramiento de un médico veterinario para el diagnóstico y tratamiento de los animales para controlar adecuadamente las enfermedades infecciosas en esta especie.

Referencias

- Aarestrup, F., Wegener, H., Rosdahl, V., & Jensen, N. (1995). Staphylococcal and other bacterial species associated with intramammary infections in Danish dairy herds. *Acta veterinaria Scandinavica*, 36, 475-487.
- Agronegociosecuador. (14 de Febrero de 2011). La Pampilla produce y comercializa productos de leche de cabra. *Revista Líderes*.
- Aimar , B., Nieto , I., Bonafede , M., Picotti, J., & Molina, S. (2011). Caracterización fisicoquímica y microbiológica de la leche de cabra perteneciente a la Cienca de San Pedro Gutenberg, provincia de Córdoba. *INTI Lácteos*.
- Álvarez, J. (2005). Manual del Caprinocultor. (392). Cuba: Asociación Cubana de producción animal .
- Bansal, B., Gupta, D., Shafi, T., & Sharma, S. (2015). Comparative antibiogram of coagulase-negative Staphylococci (CNS) associated with subclinical and clinical mastitis in dairy cows. *Veterinary World*, 8, 421–426.
- Bedolla, C., Bdolla, E., Castañeda, H., Wolter, W., Castañeda, M., & Kloppert, B. (2012). *Mastitis Caprina* . Michoacán: Giessen. Recuperado el 10 de 04 de 2016, de http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2012/9014/pdf/BedollaCedenoMastitis_Caprina2012.pdf
- Bedolla, C., Castañeda, V., & Wolter, W. (2007). Métodos de detección de la mastitis bovina. *Revista electrónica de Veterinaria*, 1-10.

- Bedolla, C., Mejía, R., José, P., Valdivia, O., & Castañeda, H. (2006). Prevalencia de la mastitis clínica en el ganado lechero de Tejaro, Municipio de Tarímbaro Michoacán. *Avances en la Investigación Científica en el CUCBA*, 726-730.
- Bellver, E. (03 de 03 de 2012). *Viviendo sano*. Recuperado el 11 de 04 de 2016, de Leche de cabra, valor nutricional: <http://viviendosanos.com/leche-cabra-valor-nutricional/>
- Bes, M., Saidi, L., Becharnia, F., Meugnier, H., Vandenesch, F., Etienne, J., & Freney, J. (2002). Population Diversity of *Staphylococcus intermedius* Isolates from Various Host Species: Typing by 16S-23S Intergenic Ribosomal DNA Spacer Polymorphism Analysis. *Journal of Clinical Microbiology*.
- Botanical. (2012). *Botanical.online*. Recuperado el 13 de 04 de 2016, de La cabra domestica: <http://www.botanical-online.com/animales/cabra.htm>
- Britania . (Noviembre de 2015). Nutritivo Agar. Buenos Aires, Argentina : Laboratorios Britania .
- Britania. (Noviembre de 2015). Cetrimida Agar. Buenos Aires, Argentina: Laboratorios Britania.
- Britania. (noviembre de 2015). Mac Conkey Agar. Buenos Aires , Argentina: Laboratorios Britania.
- Britania. (Noviembre de 2015). Mueller Hinton Agar. Buenos Aires, Argentina : Laboratorios Britania .
- Cantón, R. (2010). Lectura interpretada del antibiograma: una necesidad clínica. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 375-385.

- Casado, M., Torrico , G., & Medina, M. (2012). *Medios de cultivo en un laboratorio de microbiología*. Wordpress.
- Castro, F., Rojas , P., & Rodríguez, L. (2006). Nuevas aproximaciones Biotecnológicas para combatir la mastitis. *Agro-Ciencia*, 49-58.
- Contreras, C., Meneses, R., & Rojas, A. (2001). Razas Caprinas: para zonas áridas y semiáridas de Chile. *Especial ovinos y caprinos*(41), 41-43.
- Cremoux, R., Poutrel, B., Pillet, R., Penin, G., Ducellier, M., & Heuchel, V. (25-27 de Septiembre de 1994). Utilisation des numerations cellulaires pour le diagnostic des infections mammaires d'origine bacterienne chez la chevre. (Use of somatic cell counts for diagnosing mammary infections of bacterial origin in goats). Italia.
- Cruz, F. (8 de Febrero de 2009). La producción de leche de cabra en el mundo. *Torreón*, págs. 5-11.
- Distanciasentre. (2013). *distanciasentre.com*. Recuperado el 04 de Febrero de 2017, de <http://www.distanciasentre.com/uy/yaruqui-latitud-longitud-yaruqui-latitud-yaruqui-longitud/LatitudLongitudHistoria/302157.aspx>
- Dore, S., Liciardi, M., Amatiste, S., Bergagna, S., Bolzoni, G., Caligiuri, V., . . . Cannas, E. (2016). Survey on small ruminant bacterial mastitis in Italy, 2013-2014. *ELSEVIER*, 91-93.
- Espinoza, M., & Mier, J. (Febrero de 2013). Determinación de la prevalencia de mastitis mediante la prueba California mastitis test e identificar y antibiograma del agente causal en ganaderías lecheras del canton el Chacón, provincia Napo. Quito: Universidad Central del Ecuador.

- Fernández, O., Trujillo, J., Peña, J., Cerquera, J., & Granja, Y. (2012). Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. *REDVET*, 1-11.
- FOSS. (2016). Laboratorios Interprofesionales. Recuperado el 24 de 04 de 2016, de BactoScan™ FC+: <http://foss.es/industry-solution/products/bactoscan-fc/>
- GADY. (2017). *GAD Parroquial Rural de Yaruquí*. Recuperado el 04 de febrero de 2017, de <http://www.yaruqui.gob.ec/web/index.php/contenido/item/ubicacion>
- Gasque, R. (2008). *Mastitis Bovina*. México: UNAM.
- Gunn, B. (1994). Chocolate Agar, a Differential Medium for Gram-Positive Cocci. *Journal of Clinical Microbiology*, 822-823.
- Haenlein, G. (1996). *Goat Management*. Obtenido de <http://ag.udel.edu/extension/information/goatmgt/gm-list.htm>
- INEC. (2015). Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua ESPAC 2002-2015. Quito, Ecuador: ESPAC.
- INEN. (2012). Leche cruda de cabra. Requisitos. *Norma Técnica Ecuatoriana de leche cruda de cabra. Requisitos., Primera Edición*. Quito, Ecuador.
- Isidro, L., Tolentino, C., Rodríguez, J., Díaz, E., & Pastor, F. (2011). Identificación de *Staphylococcus* spp. en muestras de leche de cabra en hatos lecheros de la Comarca Lagunera. *Researchgate*, 31-38.
- ISIS. (2013). *Mira*. Recuperado el 05 de Febrero de 2017, de <http://mira.ec/geografia/>
- Laboratorio de Calidad de leche de Cayambe. (2017). Metodología del BactoScan FC. Cayambe, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana.

- Laboratorio de Calidad de leche de Cayambe. (2017). Metodología del Fossomatic™ Minor. Cayambe, Ecuador: Universidad Politécnica Salesiana.
- Lenart, A., Wolny, K., Stec, J., & Kasprovic, A. (2016). Phenotypic and Molecular Antibiotic Resistance Determination of Airborne Coagulase Negative Staphylococcus spp. Strains from Healthcare Facilities in Southern Poland. *Microbial Drug Resistance*, 22.
- López, J. (28 de Mayo de 2014). *Ciencia Veterinaria*. Recuperado el 23 de Octubre de 2015, de <http://cienciaveterinaria.com/mamitis-definicion-etilogia-y-epidemiologia/>
- López, L., & Torres, C. (2006). *Medios de Cultivo*. Corrientes: Universidad Nacional del Nordeste.
- López, M., Barcenilla, F., Amaya, R., & Garnacho, J. (2010). Multirresistencia antibiótica en unidades de críticos. *Medicina Intensiva*, 41-53.
- Manualzilla. (2017). *La Anunciata Ikerketa*. Recuperado el 30 de Enero de 2017, de <http://manualzilla.com/doc/6192670/1.-agar-sangre.---la-anunciata-ikerketa>
- Maree, H. (1978). Goat milk an its use as hypo-allergenic infant food. *Dairy Goat Journal*, 43, 363-365.
- Navarro, C. (2011). Mastitis bovina causada por ECN, Artículos Rumiantes Archivo. Zaragoza: Grupo Asís Biomedica.
- Nexdu. (2017). *Nexdu*. Recuperado el 04 de Febrero de 2017, de La Pampilla: <https://www.nexdu.com/ec/La-Pampilla-Quito>

- Orbe, T. (05 de Agosto de 2016). *SciDev.Net*. Recuperado el 23 de Marzo de 2017, de Detectan tres especies de brucella en cabras ecuatorianas: <http://www.scidev.net/america-latina/agropecuaria/noticias/detectan-tres-especies-de-brucella-en-cabras-ecuatorianas.html>
- Ortega, C. (2010). Etiología de la mastitis caprina. Michoacana: Universidad de Michoacana de San Nicolás de Hidalgo Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Ortega, J., & Hernández, J. (2007). Niveles de células soáticas y prevalencia de mastitis en hatos caprinos del Municipio de Mapimi, Durango, México. *Chapingo*, 235-238.
- Paape, M., Capuco, A., Lefcourt, A., Burvenich, C., & Miller, R. (1992). Physiological response of dairy cows to milking. (P. S. Publishers, Ed.) *Prospects*(65), 93-105.
- Paape, M., Wiggans, G., Bannerman, D., Thomas, D., Sanders, A., Contreras, A., . . . Miller, R. (2007). Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. *Small Ruminant Research*, 68, 114-125.
- Pirisi , A., Lauret , A., & Dubeuf , J. (2007). Basic and incentive payments for goat and sheep milk in relation to quality. *Small Rumiante Reserch*, 68, 167-178.
- Pyörälä, S., & Taponen, S. (16 de Febrero de 2009). Coagulase-negative staphylococci-Emerging mastitis pathogens. *ELSEVIER*.
- Richardson, C. (2004). Let's Learn About Dairy Goats and Goat's Milk. (424). Oklahoma: Oklahoma Cooperative Extension Service.

- Rodríguez, A. (2006). *Temas de bacteriología y virología médica* (Segunda Edición ed.). Uruguay: FEFMUR.
- Ruegg, P. (2011). *Milk Quality Factsheet*. Recuperado el 23 de Octubre de 2015, de http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/streptococcus-agalactiae_spanish.pdf
- Ruiz, R. (13 de 02 de 2014). *Técnicas alternativas para el diagnóstico de mastitis*. México: BMeditores.
- Ruiz, R., Cervantes, R., & Ducoing, Á. (2013). Desarrollo de una PCR múltiple para la identificación de *Staphylococcus* spp. *Scielo*, 45.
- Ruiz, R., Cervantes, R., & Ducoing, Á. (2013). Principales géneros bacterianos aislados de leche de cabra en dos granjas del municipio de Tequisquiapan, Querétaro, México. *Scielo*, 67-69.
- Salaberry, S., Saidenberg, A., Zuniga, E., Gonsales , F., Melville, P., & Benites, N. (2016). Microbiological analysis and sensitivity profile of *Staphylococcus* spp. in subclinical mastitis of dairy goats. *Scielo*, 68(2).
- SCANCO. (2014). *SCANCO en Latinoamérica*. Recuperado el 04 de Diciembre de 2016, de Fossomatic: <http://www.scancotec.com/sistema-fossomatic/>
- Shim, E., Shanks, R., & Morin, D. (17 de Noviembre de 2010). *Enfermedades animales*. Recuperado el 14 de Noviembre de 2016, de Ebfernedades bacterianas: <http://enfermedades1987.blogspot.com/2010/11/enfermedades-bacterianas.html>
- Smith, K. (2016). *Estandares para células somáticas en la leche: fisiologicos y regulatorios* . Estados Unidos: Aprocal.

- Suarez, V., Martinez, G., Gianre , V., Calvino, L., Rachoski, A., Chavez, M., . . .
Bertoni, E. (2014). Relaciones entre el recuento de células somáticas, test de mastitis California, conductividad eléctrica y el diagnóstico de mastitis subclínicas en cabras lecheras. *40*(2).
- Wolter, W., Castañeda, V., Kloppert, B., & Zschoeck, M. (2002). *Mastitis bovina*.Guadalajara: I.E.I. Hesse.
- Zeng, S., Escobar , E., & Popham , T. (1997). Daily variations in somatic cell count, composition, and production of Alpine goat milk. (S. Ruminant, Ed.) *ELSEVIER*, *26*, 253-260.

Anexos

PROVINCIA DE PICHINCHA

Anexo 1. Cabras de la Finca la Pampilla



Elaborado por: La autora (2017).

Anexo 2. Muestreo de leche de cabras de la Finca la Pampilla.



Elaborado por: La autora (2017).

Anexo 3. Muestras de leche recolectadas.



Elaborado por: La autora (2017).

Anexo 4. Informe de la calidad higiénica y sanitaria de la leche de cabra (CCS y UFC).

Número	Código examinado	CBT (x1000/mL)	UFC (x1000/mL)
1	F21	10	2
2	F34	29	8
3	F25	81	21
4	F26	26	7
5	C81	26	7
6	C57	11	2
7	F12	54	14
8	E36	104	28
9	D32	18	5
10	D88	110	30
11	E70	111	30
12	E71	501	137
13	E90	7	2
14	E64	118	32
15	D77	45	12
16	C73	8	2
17	E66	28	8
18	A67	144	39
19	D34	23	6
20	D81	29	8
21	C15	9	2
22	A75	10	2
23	C82	6	2
24	C88	13	3
25	A66	45	12
26	D97	8	2
27	A003	30	8
28	D64	22	6
29	C81	291	79
30	D94	59	16
31	C66	29	8
32	C85	72	19
33	C36	145	39
34	D45	212	58
35	C70	41	11
36	RACH	869	238
37	A54	38	18
38	D68	23	6
39	C23	5174	1418

40	Z053	21	5
41	D29	546	149
42	D58	9	2
43	E43	58	16
44	C72	15	4
45	D65	17	4
46	D10	374	102
47	D61	6	1
48	C80	8	2
49	Z027	36	10
50	E18	94	25
51	C62	14	3
52	A023	53	14
53	D16	97	26
54	D98	7	2
55	C74	17	4
56	A65	61	16
57	A63	246	67
58	A43	268	73
59	B22	63	17
60	Z071	203	55
61	D82	8	2
62	D62	1036	284
63	Z012	383	106
64	B30	54	15
65	C90	76	21
66	C96	4	1
67	B37	30	8
68	C63	17	4
69	A005	272	74
70	A44	8	2
71	A091	6	2
72	D06	16	4
73	D92	10	2
74	A027PREÑADA	42809	11735
75	C42	4	1
76	Z042	57666	15807
77	C93	13	3
78	A032PREÑADA	1099	301
79	A72	36458	9994
80	B21	949	260
81	Z059MASTITIS	108	30
82	C67	26	7

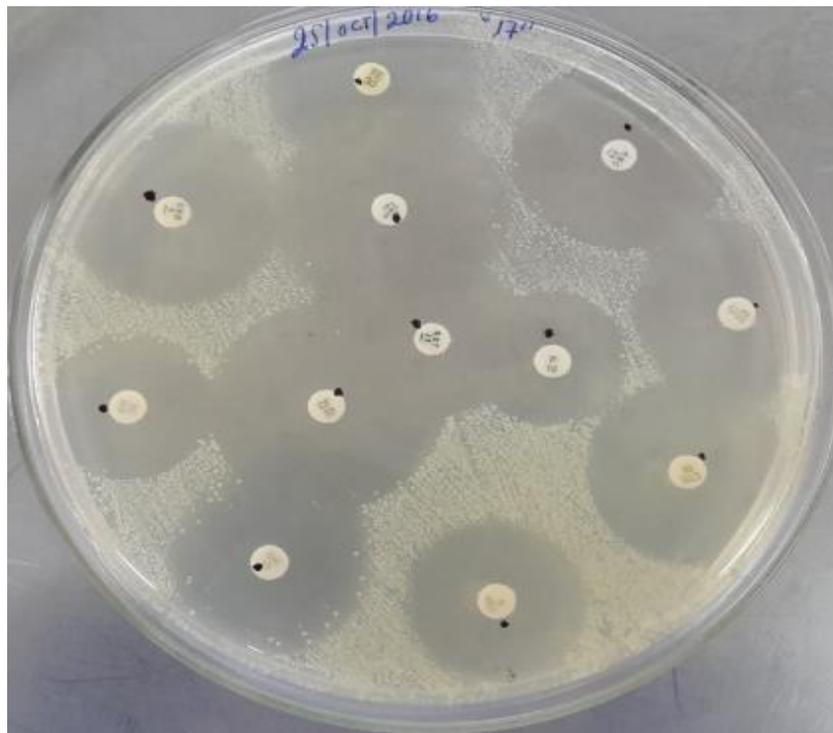
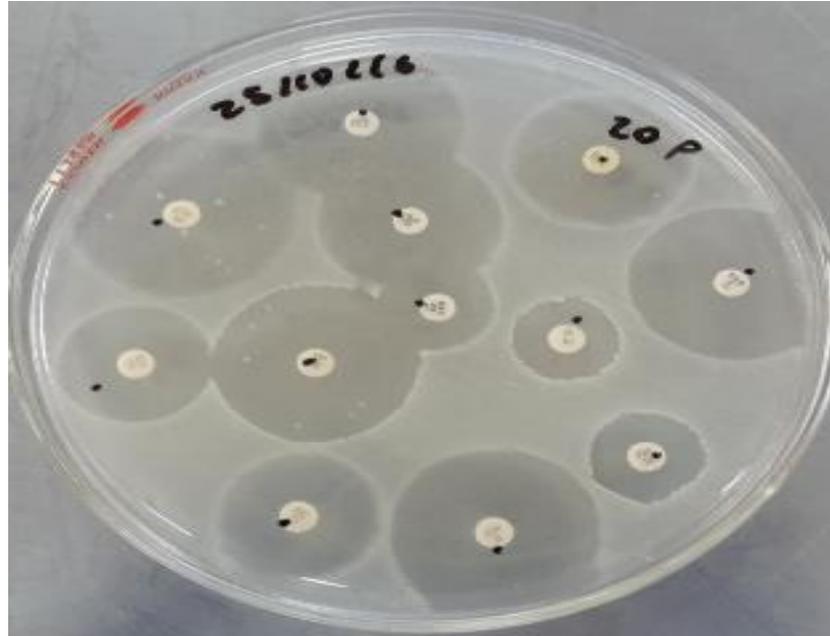
Fuente: Laboratorio de Calidad de Leche de la Universidad Politécnica Salesiana (2017).

Anexo 5. Detección de *Staphylococcus coagulasa* negativos en agar Manitol Sal.



Elaborado por: La autora (2017).

Anexo 6. Antibiogramas de las muestras de *Staphylococcus coagulasa* negativos.



Elaborado por: La autora (2017).

Anexo 7. Antibiograma de la muestra código A005.

Muestra	Halo (mm)	Resultados
A005		
AM10	30	Sensible
CF30	27	Sensible
P10	22	Resistente
C30	35	Sensible
AMC30	30	Sensible
SXT25	36	Sensible
TE30	0	Resistente
CIP5	35	Sensible
ENR5	34	Sensible
CTX30	37	Sensible
S300	28	-----
GM10	24	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 8. Antibiograma de la muestra código C36.

Muestra	Halo (mm)	Resultados
C36		
AM10	29	Sensible
CF30	38	Sensible
P10	27	Resistente
C30	31	Sensible
AMC30	36	Sensible
SXT25	33	Sensible
TE30	37	Sensible
CIP5	37	Sensible
ENR5	38	Sensible
CTX30	40	Sensible
S300	31	-----
GM10	29	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 9. Antibiograma de la muestra código E36.

Muestra	Halo (mm)	Resultados
E36		
AM10	26	Resistente
CF30	24	Sensible
P10	23	Resistente
C30	21	Sensible
AMC30	35	Sensible
SXT25	37	Sensible
TE30	34	Sensible
CIP5	28	Sensible
ENR5	27	Sensible
CTX30	23	Sensible
S300	0	-----
GM10	30	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 10. Antibiograma de la muestra código D88.

Muestra	Halo (mm)	Resultados
D88		
AM10	27	Resistente
CF30	38	Sensible
P10	26	Resistente
C30	31	Sensible
AMC30	37	Sensible
SXT25	38	Sensible
TE30	15	Resistente
CIP5	21	Sensible
ENR5	35	Sensible
CTX30	37	Sensible
S300	32	-----
GM10	32	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 11. Antibiograma de la muestra código A43.

Muestra	Halo (mm)	Resultados
A43		
AM10	27	Resistente
CF30	25	Sensible
P10	22	Resistente
C30	20	Sensible
AMC30	37	Sensible
SXT25	35	Sensible
TE30	27	Sensible
CIP5	28	Sensible
ENR5	28	Sensible
CTX30	35	Sensible
S300	24	-----
GM10	23	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 12. Antibiograma de la muestra código C57.

Muestra	Halo (mm)	Resultados
C57		
AM10	19	Resistente
CF30	26	Sensible
P10	18	Resistente
C30	26	Sensible
AMC30	36	Sensible
SXT25	20	Sensible
TE30	32	Sensible
CIP5	35	Sensible
ENR5	36	Sensible
CTX30	38	Sensible
S300	33	-----
GM10	26	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 13. Antibiograma de la muestra código D98.

Muestra	Halo (mm)	Resultados
D98		
AM10	29	Sensible
CF30	25	Sensible
P10	20	Resistente
C30	30	Sensible
AMC30	30	Sensible
SXT25	32	Sensible
TE30	26	Sensible
CIP5	31	Sensible
ENR5	34	Sensible
CTX30	30	Sensible
S300	21	-----
GM10	20	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 14. Antibiograma de la muestra código A44.

Muestra	Halo (mm)	Resultados
A44		
AM10	30	Sensible
CF30	28	Sensible
P10	24	Resistente
C30	31	Sensible
AMC30	28	Sensible
SXT25	33	Sensible
TE30	27	Sensible
CIP5	31	Sensible
ENR5	31	Sensible
CTX30	36	Sensible
S300	27	-----
GM10	22	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

PROVINCIA DEL CARCHI

Anexo 15. Cabras de pequeñas y medianas Fincas productoras de leche (muestreo).



Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 16. Informe de la calidad higiénica y sanitaria de la leche de cabra (CCS y UFC).

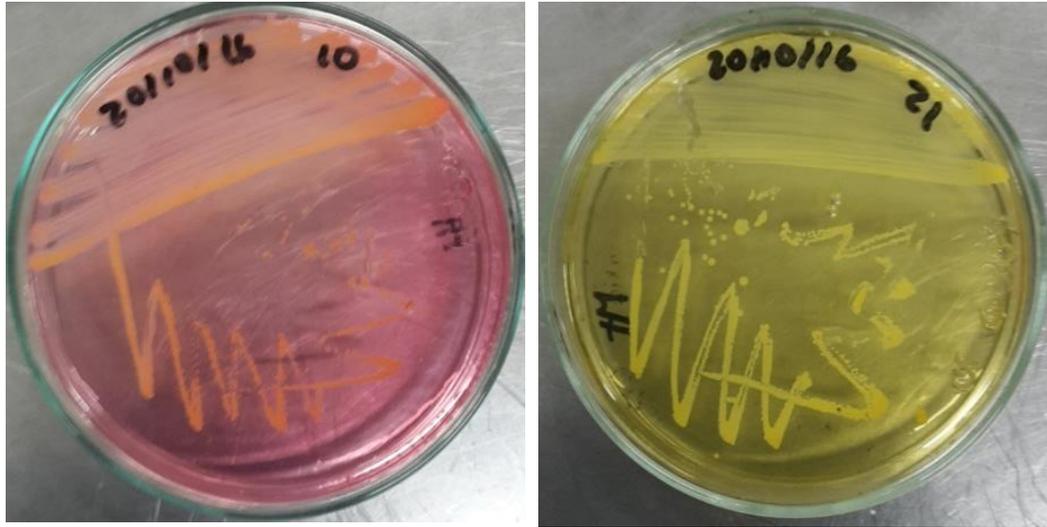
Número	Código examinado	CCS (x1000/mL)	UFC (x1000/mL)
1	1	299	9
2	2	330	9
3	3	371	15
4	4	3632	8
5	5	2112	5
6	6	443	12
7	7	307	1
8	8	450	2
9	9	2244	17
10	10	2522	8
11	11	73	1
12	12	189	2
13	13	823	1
14	14	176	1
15	15	616	2
16	16	552	3
17	17	651	2
18	18	258	2
19	19	186	1
20	20	105	2
21	21	670	3
22	22	372	2
23	23	148	1
24	24	166	2
25	25	945	1
26	26	54	1
27	27	427	1
28	28	53	1
29	29	188	1
30	30	604	3
31	31	269	10
32	32	572	3
33	33	219	7
34	34	449	1
35	35	147	1
36	36	128	1

37	37	89	1
38	38	88	1
39	39	143	2
40	40	454	2
41	41	497	1
42	42	87	2
43	43	522	3
44	44	1198	49
45	45	50	1
46	46	160	5
47	47	248	2
48	48	221	4
49	49	225	3
50	Chispa	470	66
51	Jadiela	112	2
52	P1	350	48
53	Orejona	292	24
54	Cleo	165	6561
55	Sarita	354	58
56	Donosa	232	1
57	Pecas1	278	677
58	58	253	19
59	Gemela2	246	11
60	Flor	2116	32
61	Vanidosa	869	3
62	Cochuda	119	1
63	Pastusa	72	23
64	Julieta3	114	67
65	Amarilla-Rosario	48	61
66	Amarilla-Rosa	424	6
67	Bonita	115	1
68	Blanca	1553	155
69	Amarilla1	2000	150
70	CleoG	832	495
71	Gemela1	1211	8
72	Fortuna	4408	45
73	Paloma	134	8
74	M13	708	3
75	LaGrande	701	1
76	Julieta1	80	14
77	Churosa	106	1

78	CafeC	240	25
79	Paloma1	90	101
80	Torta	115	92
81	Clero3	118	3662
82	CafeA	559	396

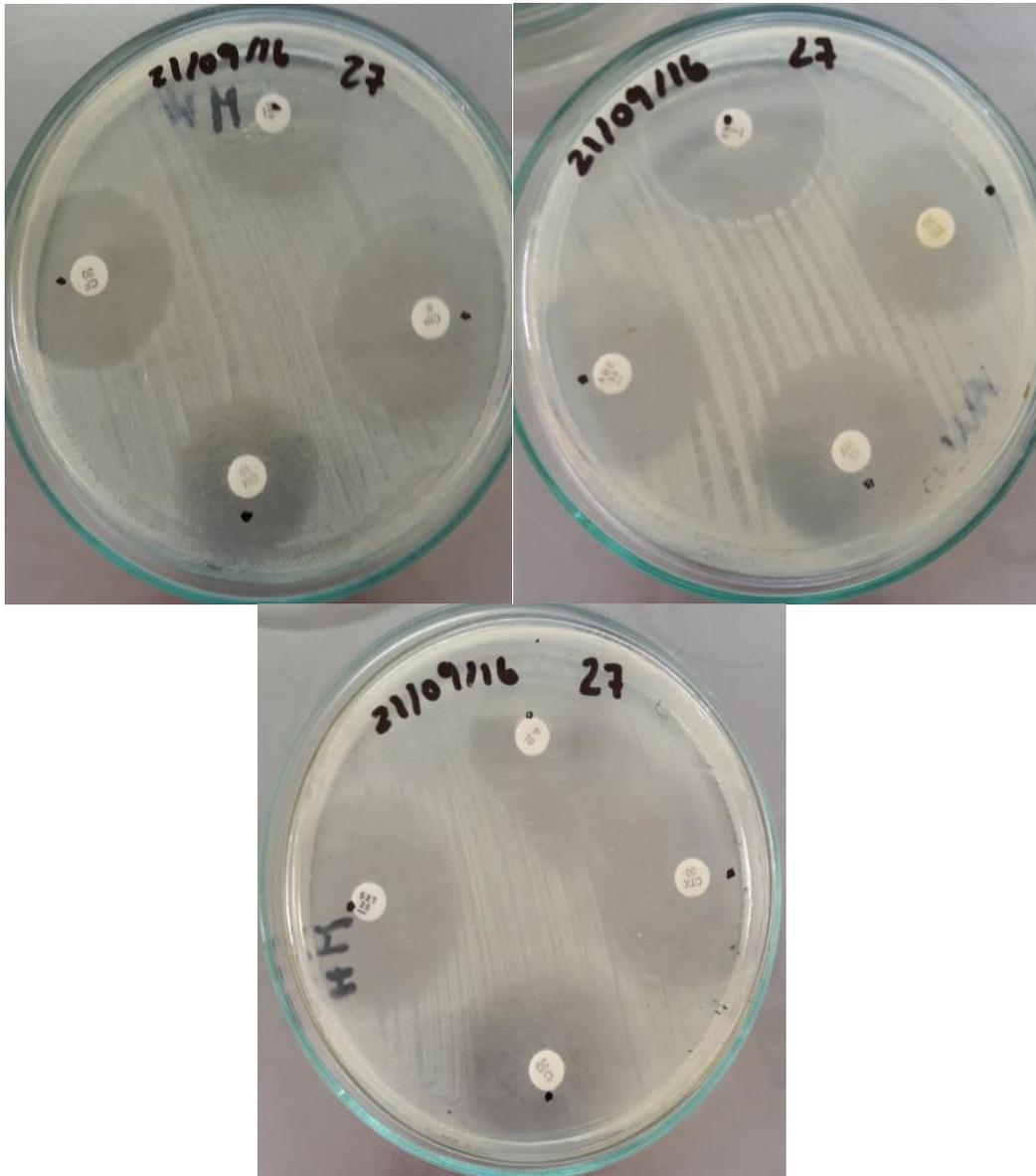
Fuente: Laboratorio de Calidad de Leche de la Universidad Politécnica Salesiana (2017).

Anexo 17. Detección de *Staphylococcus coagulasa* negativos y *Staphylococcus intermedius* en agar Manitol Sal.



Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 18. Antibiogramas de las muestras de *Staphylococcus coagulasa* negativos y *Staphylococcus intermedius*.



Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 19. Antibiogramas de la muestra código 1.

Muestra 1	Halo (mm)	Resultados
AM10	24	Resistente
CF30	37	Sensible
P10	22	Resistente
C30	33	Sensible
AMC30	32	Sensible
SXT25	34	Sensible
TE30	32	Sensible
CIP5	34	Sensible
ENR5	35	Sensible
CTX30	38	Sensible
S300	29	-----
GM10	25	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 20. Antibiograma de la muestra código 2.

Muestra 2	Halo (mm)	Resultados
AM10	25	Resistente
CF30	35	Sensible
P10	23	Resistente
C30	25	Sensible
AMC30	30	Sensible
SXT25	32	Sensible
TE30	32	Sensible
CIP5	32	Sensible
ENR5	34	Sensible
CTX30	22	Resistente
S300	26	-----
GM10	24	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 21. Antibiograma de la muestra código 4.

Muestra 4	Halo (mm)	Resultados
AM10	26	Resistente
CF30	40	Sensible
P10	22	Resistente
C30	36	Sensible
AMC30	40	Sensible
SXT25	36	Sensible
TE30	38	Sensible
CIP5	39	Sensible
ENR5	35	Sensible
CTX30	40	Sensible
S300	30	-----
GM10	27	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 22. Antibiograma de la muestra código 5.

Muestra 5	Halo (mm)	Resultados
AM10	22	Resistente
CF30	32	Sensible
P10	22	Resistente
C30	28	Sensible
AMC30	29	Sensible
SXT25	31	Sensible
TE30	31	Sensible
CIP5	29	Sensible
ENR5	31	Sensible
CTX30	32	Sensible
S300	24	-----
GM10	22	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 23. Antibiograma de la muestra código 7.

Muestra 7	Halo (mm)	Resultados
AM10	24	Resistente
CF30	33	Sensible
P10	24	Resistente
C30	31	Sensible
AMC30	31	Sensible
SXT25	35	Sensible
TE30	33	Sensible
CIP5	32	Sensible
ENR5	36	Sensible
CTX30	34	Sensible
S300	29	-----
GM10	26	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 24. Antibiograma de la muestra código 10.

Muestra 10	Halo (mm)	Resultados
AM10	39	Sensible
CF30	35	Sensible
P10	36	Sensible
C30	37	Sensible
AMC30	40	Sensible
SXT25	29	Sensible
TE30	36	Sensible
CIP5	39	Sensible
ENR5	36	Sensible
CTX30	26	Sensible
S300	40	-----
GM10	36	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 25. Antibiograma de la muestra código 15.

Muestra 15	Halo (mm)	Resultados
AM10	23	Resistente
CF30	39	Sensible
P10	22	Resistente
C30	27	Sensible
AMC30	35	Sensible
SXT25	31	Sensible
TE30	34	Sensible
CIP5	32	Sensible
ENR5	34	Sensible
CTX30	39	Sensible
S300	30	-----
GM10	24	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 26. Antibiograma de la muestra código 16.

Muestra 16	Halo (mm)	Resultados
AM10	28	Resistente
CF30	24	Sensible
P10	15	Resistente
C30	16	Resistente
AMC30	33	Sensible
SXT25	0	Resistente
TE30	11	Resistente
CIP5	33	Sensible
ENR5	34	Sensible
CTX30	36	Sensible
S300	25	-----
GM10	27	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 27. Antibiograma de la muestra código 17.

Muestra 17	Halo (mm)	Resultados
AM10	27	Resistente
CF30	40	Sensible
P10	26	Resistente
C30	35	Sensible
AMC30	38	Sensible
SXT25	30	Sensible
TE30	37	Sensible
CIP5	29	Sensible
ENR5	35	Sensible
CTX30	31	Sensible
S300	40	-----
GM10	32	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 28. Antibiograma de la muestra código 19.

Muestra 19	Halo (mm)	Resultados
AM10	26	Resistente
CF30	38	Sensible
P10	24	Resistente
C30	34	Sensible
AMC30	35	Sensible
SXT25	36	Sensible
TE30	33	Sensible
CIP5	34	Sensible
ENR5	35	Sensible
CTX30	39	Sensible
S300	26	-----
GM10	30	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 29. Antibiograma de la muestra código 20.

Muestra 20	Halo (mm)	Resultados
AM10	22	Resistente
CF30	36	Sensible
P10	23	Resistente
C30	29	Sensible
AMC30	33	Sensible
SXT25	21	Sensible
TE30	35	Sensible
CIP5	39	Sensible
ENR5	39	Sensible
CTX30	39	Sensible
S300	30	-----
GM10	28	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 30. Antibiograma de la muestra código 21.

Muestra 21	Halo (mm)	Resultados
AM10	21	Resistente
CF30	32	Sensible
P10	20	Resistente
C30	26	Sensible
AMC30	28	Sensible
SXT25	31	Sensible
TE30	29	Sensible
CIP5	28	Sensible
ENR5	31	Sensible
CTX30	31	Sensible
S300	27	-----
GM10	19	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 31. Antibiograma de la muestra código 25.

Muestra 25	Halo (mm)	Resultados
AM10	24	Resistente
CF30	38	Sensible
P10	23	Resistente
C30	28	Sensible
AMC30	33	Sensible
SXT25	23	Sensible
TE30	34	Sensible
CIP5	35	Sensible
ENR5	34	Sensible
CTX30	34	Sensible
S300	31	-----
GM10	25	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 32. Antibiograma de la muestra código 27.

Muestra 27	Halo (mm)	Resultados
AM10	25	Resistente
CF30	34	Sensible
P10	22	Resistente
C30	27	Sensible
AMC30	31	Sensible
SXT25	30	Sensible
TE30	30	Sensible
CIP5	29	Sensible
ENR5	31	Sensible
CTX30	35	Sensible
S300	29	-----
GM10	22	Sensible

Elaborado por: La autora (2017)

Anexo 33. Rangos sobre resistencia o sensibilidad de cada antibiótico utilizado.

Antibiótico	Código	Resistencia	Sensibilidad
Ampicilina	AM10	≤28	≥29
Cefalotina	CF30	≤14	≥18
Penicilina	P10	≤28	≥29
Cloranfenicol	C30	≤12	≥18
Amoxicilina+Ácido clavulánico	AMC30	≤19	≥20
Trimetoprim/sulfametoxazol	SXT25	≤10	≥16
Tetraciclina	TE30	≤14	≥19
Ciprofloxacina	CIP5	≤15	≥21
Enrofloxacina	ENR5	≤14	≥23
Cefotaxima	CTX30	≤14	≥23
Estreptomicina	S300	-	-
Gentamicina	GM10	≤12	≥15

Fuente. BBL Sensi-Disc Antimicrobial Susceptible Test Discs (2011).