



**UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS RECURSOS  
NATURALES Y DEL AMBIENTE  
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**TEMA:**

ANÁLISIS DE RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA  
EN BACTERIAS AISLADAS DE MASTITIS BOVINA EN LA  
COOPERATIVA AGROPECUARIA “LA COLINA”, PROVINCIA DE  
PICHINCHA (ECUADOR).

**Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Médico  
Veterinario Zootecnista otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a  
través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del  
Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.**

**AUTORES:**

EDISON JOAO MAZÓN VÉLEZ

DAGNNY JHOEL MAZÓN VÉLEZ

**DIRECTOR:**

DR. EDISON RIVELIÑO RAMÓN CURAY M.Sc.

GUARANDA – ECUADOR

**2022**

**CERTIFICADO DE APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL  
TRIBUNAL**

**TEMA:**

**ANÁLISIS DE RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA  
EN BACTERIAS AISLADAS DE MASTITIS BOVINA EN LA  
COOPERATIVA AGROPECUARIA "LA COLINA", PROVINCIA DE  
PICHINCHA (ECUADOR).**

**REVISADO Y APROBADO POR:**



.....  
**Dr. Edison Riveño Ramón Curay M.Sc.**  
**DIRECTOR DE TESIS**



.....  
**Dr. Isidro Favén Bayas Morejón. PhD**  
**ÁREA BIOMETRÍA**



.....  
**Dr. Franco Cordero Salazar M.Sc.**  
**ÁREA REDACCIÓN TÉCNICA**



**CERTIFICADO DE DECLARACIÓN**

Yo, Danny Jhoel Mazón Vélez con CI: 2300042534 y Edison Joao Mazón Vélez con CI: 1725066748, declaro que el trabajo y los resultados en esta investigación, no han sido presentados por ningún grado o calificación profesional; y las referencias bibliográficas que se incluyen son consultadas y citadas con su respectivo autor (es).

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicidad correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la ley de Propiedad Intelectual, su Reglamento y la Normativa Institucional vigente.

.....  
Dagnny Jhoel Mazón Vélez  
C.I.:2300042534  
**AUTOR**

.....  
Edison Joao Mazón Vélez  
C.I.: 1725066748  
**AUTOR**

.....  
**Dr. Edison Rivelino Ramón Curay M.Sc.**  
**DIRECTOR DE TESIS**

.....  
**Dr. Isidro Favian Bayas Morejón. PhD**  
**ÁREA BIOMETRÍA**

.....  
**Dr. Franco Cordero Salazar M.Sc.**  
**ÁREA REDACCIÓN TÉCNICA**



RR. DANNY JHOEL MAZON VELEZ  
C.C.2300042534

RR. EDISON JOAO MAZON VELEZ  
C.C.1725066748

Doc. Guido Favian Bayas Morejón  
NOTARIO PÚBLICO PRIMERO DEL CANTÓN GUARANDA



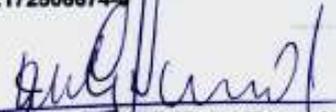
DI 2 copias.

**ESCRITURA PÚBLICA  
DECLARACION JURADA  
SEÑORES DAGNNY JHOEL MAZON VELEZ Y EDISON JOAO MAZON VELEZ**

En la ciudad de Guaranda, Capital de la Provincia de Bolívar, República del Ecuador, hoy día JUEVES, VEINTE DE OCTUBRE DE DOS MIL VEINTE Y DOS, ante mí, Doctor GUIDO FABIAN FIERRO BARRAGAN, NOTARIO PÚBLICO PRIMERO DEL CANTÓN GUARANDA, comparecen los señores **DAGNNY JHOEL MAZON VELEZ Y EDISON JOAO MAZON VELEZ**. Los comparecientes son de nacionalidad ecuatoriana, mayores de edad, de estado civil solteros, capaces de contraer obligaciones, domiciliados en la ciudad de Santo Domingo de Los Tsachillas, a quienes de conocerles doy fe en virtud de haberme exhibido sus cédulas de ciudadanía y papeletas de votación cuyas copias adjunto a esta escritura. Advertidas por mí el Notario de los efectos y resultados de esta escritura, así como examinadas en forma separada, de que comparecen al otorgamiento de la misma sin coacción, amenazas, temor reverencial, ni promesa o seducción, juramentados en debida forma, prevenidos de la gravedad del juramento, de las penas del perjurio y de la obligación que tienen de decir la verdad con claridad y exactitud, bajo juramento declaran lo siguiente: " Previo a la obtención del Título de Médico Veterinario Zootecnista. Que los criterios e ideas emitidas en el presente trabajo de investigación titulado **ANÁLISIS DE RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN BACTERIAS AISLADAS DE MASTITIS BOVINA EN LA COOPERATIVA AGROPECUARIA " LA COLINA", PROVINCIA DE PICHINCHA (ECUADOR)**, es de nuestra exclusiva responsabilidad en calidad de autores. Es todo cuanto podemos decir en honor a la verdad." (Hasta aquí la declaración juramentada rendida por los comparecientes, la misma que queda elevada a escritura pública con todo el valor legal). Para el otorgamiento de esta escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso; y leída que les fue a los comparecientes íntegramente por mí el Notario, se ratifican en todo su contenido y firman conmigo en unidad de acto. Incorporo esta escritura pública al protocolo de instrumentos públicos, a mi cargo. De todo lo cual doy fe.-

  
SR. DAGNNY JHOEL MAZON VELEZ  
C.C.230004253-4

  
SR. EDISON JOAO MAZON VELEZ  
C.C.172506674-8

  
Doctor Guido Fabian Fierro Barragan  
NOTARIO PÚBLICO PRIMERO DEL CANTÓN GUARANDA.

Documento: [Tesis Doctoral de Edson Cuervo](#) (21/04/2016)  
Presentado: 2012-09-11 18:08:08  
Previsualizado por: [microgrin@urkund.com](#)  
Recibido: [microgrin@urkund.com](#)  
Mensaje: [Ver mensaje de correo electrónico](#)

Una de estas 158 páginas, se componen de texto presente en 1 fuente.

Lista de Fuentes Report

Categoría	Etiqueta/nombre de archivo
	<a href="#">UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLIVAR - 230804234</a>
Fuentes alternativas	<a href="#">UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLIVAR - 230804234</a>
	<a href="#">UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLIVAR - 230804234</a>
	<a href="#">UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLIVAR - 230804234</a>
	<a href="#">UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLIVAR - 230804234</a>
	<a href="#">UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLIVAR - 230804234</a>

UNIVERSIDAD ESTADAL DE BOLIVAR FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS RECURSOS NATURALES Y DEL AMBIENTE CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TEMA

ANÁLISIS DE RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN BACTERIAS AISLADAS DE MANTITOS BOVINA EN LA COOPERATIVA AGROPECUARIA "LA COLUNA", PROVINCIA DE PICHINCHA (ECUADOR). Proyecto de Investigación

previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

AUTORES: EDISON JOAO MAZON VILEZ DUDAWY, JOEL MAZON VILEZ DIRECTOR DE EDISON VILEZ (BO) RAMON CUERVO M.S. GUARANDA - ECUADOR 2012 CERTIFICADO DE APROBACION DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL TEMA: ANALISIS DE RESISTENCIA Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA EN BACTERIAS AISLADAS DE MANTITOS BOVINA EN LA COOPERATIVA AGROPECUARIA "LA COLUNA", PROVINCIA DE PICHINCHA (ECUADOR). REVISADO Y APROBADO POR

Dr. Edson Bivelillo Ramon Cuervo M.S., DIRECTOR DE TESIS

Dr. Pablo Farías Bayas Noroega, PhD AREA BIODIVERSIDAD

Dr. Francis Cordero Salazar M.S., AREA EDUCACION TECNICA

CERTIFICADO DE DECLARACION No. Demy Jhavel Mazon Vilez con CI: 230804234 y Edson Joao Mazon Vilez con CI: 173266118. Declaro que el trabajo y sus resultados en esta investigación, no han sido presentados por ningún grado o calificación profesional, y las referencias bibliográficas que se incluyen son consultadas y citadas con su respectivo autor (s).

La Universidad Estatal de Bolívar puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido en la Ley de Promoción del Imprentario en Ecuador.

## **DEDICATORIA**

En primera instancia, a Dios y a mi Virgencita en manera de agradecimiento por las bendiciones recibidas, además de llevarme por el camino correcto con fuerza de voluntad para nunca rendirme en esta etapa de mi vida.

A mi hermano Dagnny por ser un pilar fundamental en mi vida, aunque no siempre ha entendido mis culpas y fracasos, siempre ha estado como mi mejor aliado.

A mi padre Edison y a mi madre, mi eterna Amalita, por ser quienes me llenaron de amor, me otorgaron una buena crianza, tuvieron la más grande paciencia, me ofrecieron la mejor educación y me brindaron un gran apoyo incondicional... “Este es su logro, no el mío”

Al menor de mis hermanos John por creer en mi y ser optimista en la vida.

A mi abuelo Alberto V. que, aunque ya no esta, fue el molde y motivación para ser un hombre de bien y tener el incansable amor por los animales tan arraigado.

A mis abuelos Mariana, Ricardo y Piedad que, con sus bendiciones, sus consejos y con cualquier granito de arena contribuyeron para poder alcanzar una meta más. A mis tías, tíos y demás familiares que creyeron en mi capacidad.

Edison Joao Mazón Vélez

## DEDICATORIA

Primeramente, este trabajo lo dedico a Dios, quien me ha dado la sabiduría y la fortaleza para seguir adelante y nunca rendirme.

También dedico este trabajo a mis padres; Edison Mazón Arteaga y Amalia Jeannette Vélez Mendoza, por su amor, cariño y apoyo incondicional en esta etapa de mi vida.

A mi abuelita Erlinda Piedad Arteaga y abuelito Alberto Vélez, les dedico este trabajo por ser parte fundamental de enseñanzas como el amor por los animales y la valentía de seguir adelante.

Finalmente dedico este trabajo a un ser muy querido que no ha podido estar en mi vida, que me cambio la forma de ver la vida y me inspira a seguir superándome cada vez mas.

Dagnny Jhoel Mazón Veléz.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por darnos salud, fortaleza y sabiduría para poder culminar una meta más planteada a lo largo de nuestra vida.

Quiero expresar mis agradecimientos más sinceros a la Universidad Estatal de Bolívar, por haberme abierto sus puertas y brindado la oportunidad de culminar con éxito los estudios en la bellísima carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Quiero agradecer por todo el apoyo, confianza, y amor brindado día a día durante este proceso de formación humana y profesional a mis padres Edison Mazón Arteaga y Amalia Jeannette Vélez Mendoza, siendo los mejores padres y los principales promotores para que mis sueños se cumplan.

Nuestros más sinceros agradecimientos todos mis docentes que hicieron posible la culminación de mi carrera, en especial a los miembros del tribunal de este trabajo de titulación:

al Dr. Edison Ramón Rivelino Curay, por ser una guía y dirección del presente trabajo investigativo.

Al Dr. Isidro Favián Bayas Morejón por su desinteresada y noble contribución en la presente investigación

Al Dr. Franco Cordero Salazar, por sus consejos y aportación en el presente trabajo investigativo.

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>Contenido</b>	<b>Pag.</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. PROBLEMA</b> .....	<b>3</b>
<b>III. MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>5</b>
3.1. Mastitis. ....	5
3.1.1. Generalidades.....	5
3.1.2. Clasificación de mastitis. ....	6
3.1.3. Etiología.....	7
3.1.4. Tratamiento de la mastitis.....	8
3.1.5. Principales agentes causales de mastitis. ....	9
3.2. Pruebas bioquímicas de identificación. ....	15
3.3. Terapéutica antibiótica frente a la mastitis bovina. ....	16
3.4. Antibióticos betalactámicos.....	19
3.5. Antibióticos de la familia de las tetraciclinas. ....	23
3.5.1. Oxitetraciclina.....	23
3.6. Antibióticos de la Familia Aminoglucósidos. ....	25
3.7. Cultivo y Antibiograma. ....	27
3.7.1. Generalidades.....	27
3.7.2. Antibiograma. ....	27
3.7.3. Punto Crítico de Resistencia Microbiológica (Punto de corte).....	30
<b>IV. MARCO METODOLÓGICO</b> .....	<b>31</b>
4.1. Ubicación de la investigación. ....	31

4.1.1. Lugar de investigación.....	31
4.1.2. Situación geográfica. ....	32
4.1.3. Zona de vida.....	32
4.2. Material experimental .....	32
4.2.1. Material de oficina .....	32
4.2.2. Material de campo.....	33
4.2.3. Equipos de laboratorio.....	33
4.2.4. Material de laboratorio .....	34
4.3.1. Factores en estudio .....	36
4.3.3. Tratamientos .....	37
4.3.4. Tipo de Diseño. ....	38
4.3.5. Métodos de evaluación. ....	39
4.3.6. Procedimiento. ....	41
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN. ....</b>	<b>53</b>
5.1. Determinación de mastitis mediante la prueba de (CMT). ....	53
5.2. Conteo de bacterias totales (CBT) como métodos diagnósticos.....	54
5.3. Determinación de la prevalencia de mastitis de las fincas. ....	55
5.4. Aislamiento e identificación de los patógenos causantes de mastitis. ....	58
5.5. Patógenos por el tiempo de lactancia. ....	60
5.6. Análisis de la actividad antimicrobiana de los fármacos en estudios frente a los géneros bacterianos aislados. ....	62
5.6.1. Análisis de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina.....	62

5.6.2. Efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislado de mastitis bovina.	68
5.6.3. Efecto de la actividad antimicrobiana de los Aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .	79
5.6.4. Efecto de la actividad antimicrobiana oxitetraciclina frente a <i>Escherichia coli</i> aisladas de mastitis.	89
5.6.5. Efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos en estudio sobre bacterias del género <i>Escherichia coli</i> .	94
5.6.6. Efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a <i>Escherichia coli</i> .	105
5.6.6.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de los Aminoglucósidos frente <i>Escherichia coli</i> .	106
5.6.7. Efecto de la actividad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a <i>Klebsiella</i> spp.	117
5.6.7.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Klebsiella</i> spp. aisladas de mastitis bovina.	118
5.6.8. Efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a <i>Klebsiella</i> spp.	122
5.6.8.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a <i>Klebsiella</i> spp. aisladas de mastitis bovina.	123
5.6.9. Efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a <i>Klebsiella</i> spp.	132

5.6.10. Efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina sobre <i>Staphylococcus</i> spp., coagulasa negativo.....	142
5.6.10.3. Actividad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus</i> spp., CN aislados de mastitis bovina. ....	145
5.6.11. Efecto de la actividad antimicrobiana de betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) sobre <i>Staphylococcus</i> spp., coagulasa negativo. ....	147
5.6.12. Efecto de la actividad antimicrobiana aminoglucósidos de la sobre bacterias del género <i>Staphylococcus</i> spp., coagulasa negativo (CN).....	158
5.6.13. Efecto de la actividad antimicrobiana de los 7 antibióticos en estudio de la sobre bacterias del género <i>Citrobacter</i> spp. ....	168
5.6.14. Efecto de la actividad antimicrobiana de lo Oxitetraciclina frente a <i>Bacillus</i> spp aisladaos de mastitis bovina .....	175
5.6.15. Efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos frente a bacterias del género <i>Bacillus</i> spp., aisladas de mastitis bovina.....	180
5.6.15.3. Actividad antimicrobiana de los betalactámicos en estudio frente a la bacteria del género <i>Bacillus</i> spp., aislados de leche positiva a mastitis. ....	184
5.6.16. Efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a <i>Bacillus</i> spp.....	187
<b>VI. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS.....</b>	<b>196</b>
<b>VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>299</b>
7.1. CONCLUSIONES. ....	198
7.2. RECOMENDACIONES. ....	200
<b>BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>201</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

Nº de tabla	PAG.
<b>Tabla 1</b> Lugar de la investigación.....	31
<b>Tabla 2</b> Situación geográfica del lugar de la investigación.....	32
<b>Tabla 3</b> Descripción de factores .....	37
<b>Tabla 4</b> Subdivisión de los tratamientos planteados en la investigación. ....	37
<b>Tabla 5</b> Características numéricas del diseño.....	38
<b>Tabla 6</b> Análisis de varianza (ADEVA).....	38
<b>Tabla 7</b> Perfiles bioquímicos de identificación de bacterias Gram negativas aisladas de mastitis bovina. ....	40
<b>Tabla 8</b> Perfiles bioquímicos de identificación para bacterias Gram positivas aisladas de mastitis bovina. ....	40
<b>Tabla 9</b> Casuística de la mastitis en los predios .....	53
<b>Tabla 10</b> Resultados del CBT de la leche.....	54
<b>Tabla 11</b> Frecuencia y porcentajes de la prevalencia de mastitis. ....	55
<b>Tabla 12.</b> Números de muestras por cuartos mamarios .....	57
<b>Tabla 13.</b> Frecuencia y porcentaje de bacterias aisladas. ....	58
<b>Tabla 14.</b> Frecuencia de los microorganismos por el tiempo de lactancia.....	60
<b>Tabla 15.</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis. ....	62
<b>Tabla 16.</b> Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	63
<b>Tabla 17.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	64

<b>Tabla 18</b> Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	65
<b>Tabla 19</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	66
<b>Tabla 20</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina.....	68
<b>Tabla 21.</b> Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	69
<b>Tabla 22</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de Penicilina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	71
<b>Tabla 23</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de Cefalexina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	71
<b>Tabla 24</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de Cloxacilina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	72
<b>Tabla 25</b> Actividad antimicrobiana de los antibióticos betalactámicos frente a la bacteria <i>Staphylococcus aureus</i> aislada de mastitis.....	73
<b>Tabla 26</b> Frecuencia y porcentaje de actividad antimicrobiana de la Penicilina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aisladas de mastitis bovina. ....	74
<b>Tabla 27</b> Frecuencia y porcentaje de actividad antimicrobiana de la Cefalexina frente <i>Staphylococcus aureus</i> . ....	76
<b>Tabla 28</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana del <i>Staphylococcus aureus</i> frente a la Cloxacilina. ....	77

<b>Tabla 29</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los antibióticos aminoglucósidos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina.....	79
<b>Tabla 30</b> Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	80
<b>Tabla 31.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de Gentamicina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	82
<b>Tabla 32.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de Neomicina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> . .....	82
<b>Tabla 33.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de Estreptomicina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> .....	83
<b>Tabla 34.</b> Actividad antimicrobiana de los antibióticos aminoglucósidos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislado de mastitis.....	84
<b>Tabla 35.</b> Tabla de frecuencia y porcentaje de actividad antimicrobiana de la Gentamicina frente a la bacteria del generó <i>S. aureus</i> .....	86
<b>Tabla 36</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Neomicina frente a la bacteria del genero <i>S. aureus</i> .....	87
<b>Tabla 37.</b> Tabla de frecuencia y porcentaje de actividad antimicrobiana de la Estreptomicina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> . .....	88
<b>Tabla 38.</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de Oxitetraciclina frente a <i>Escherichia coli</i> aisladas de mastitis bovina. ....	89
<b>Tabla 39.</b> Prueba de comparación de medias (Tukey), del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Escherichia coli</i> . .....	90
<b>Tabla 40.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de la zona de inhibición de Oxitetraciclina frente a <i>Escherichia coli</i> .....	91

<b>Tabla 41.</b> Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Escherichia coli</i> aislada de mastitis bovina.....	92
<b>Tabla 42</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Escherichia coli</i> .....	93
<b>Tabla 43</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los Betalactámicos frente a <i>Escherichia coli</i> . ....	95
<b>Tabla 44</b> Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los betalactámicos frente a <i>Escherichia coli</i> .....	96
<b>Tabla 45.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de la Penicilina frente a <i>Escherichia coli</i> . ....	98
<b>Tabla 46.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de la Cefalexina frente a <i>Escherichia coli</i> . ....	98
<b>Tabla 47.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de la Cloxacilina <i>Escherichia coli</i> .....	99
<b>Tabla 48</b> Actividad antimicrobiana de los antibióticos aminoglucósidos frente a <i>Escherichia coli</i> aisladas de mastitis bovina. ....	100
<b>Tabla 49.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de la Penicilina frente <i>Escherichia coli</i> . ....	102
<b>Tabla 50.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Cefalexina frente a <i>Escherichia coli</i> .....	103
<b>Tabla 51.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Cloxacilina frente a <i>Escherichia coli</i> .....	104
<b>Tabla 52.</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los aminoglucósidos sobre bacterias del género <i>Escherichia coli</i> . ....	106
<b>Tabla 53.</b> Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a genero <i>Escherichia coli</i> . ....	107

<b>Tabla 54.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de la Gentamicina frente a <i>Escherichia coli</i> . .....	109
<b>Tabla 55.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de la Neomicina frente a <i>Escherichia coli</i> . .....	109
<b>Tabla 56.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de la Estreptomicina frente a <i>Escherichia coli</i> . .....	110
<b>Tabla 57.</b> Actividad antimicrobiana de los antibióticos animoglucósidos frente a <i>Escherichia coli</i> aislada de mastitis bovina. ....	111
<b>Tabla 58.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina) frente a <i>Escherichia coli</i> . .....	113
<b>Tabla 59</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Neomicina frente a <i>Escherichia coli</i> . .....	114
<b>Tabla 60.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Estreptomicina frente a <i>Escharichia coli</i> . .....	115
<b>Tabla 61.</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de la oxitetraciclina frente <i>Klebsiella</i> spp. ....	117
<b>Tabla 62.</b> Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Klebsiella</i> spp. ....	118
<b>Tabla 63.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de oxitetraciclina frente a <i>Klebsiella</i> spp. ....	119
<b>Tabla 64.</b> Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a la <i>Klebsiella</i> spp., aislada de mastitis bovina. ....	120
<b>Tabla 65.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Klebsiella</i> spp. ....	121

<b>Tabla 66</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	122
<b>Tabla 67</b> Prueba de comparación de medias Tukey 5%, del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	124
<b>Tabla 68.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de la Gentamicina frente a <i>Klebsiella</i> spp. ....	126
<b>Tabla 69.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de la Neomicina frente a <i>Klebsiella</i> spp. ....	126
<b>Tabla 70.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de la Estreptomicina frente a <i>Klebsiella</i> spp. ....	126
<b>Tabla 71.</b> Actividad antimicrobiana de los antibióticos aminoglucósidos frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	127
<b>Tabla 72.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de gentamicina frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	129
<b>Tabla 73.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Neomicina frente a <i>Klebsiella</i> spp. ....	130
<b>Tabla 74.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de estreptomicina frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	131
<b>Tabla 75.</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de los betalactámicos frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	133
<b>Tabla 76.</b> Prueba de comparación de medias del efecto de la actividad antimicrobiana de los betalactámicos frente a <i>Klebsiella</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	134

<b>Tabla 77.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de la zona de inhibición de la Penicilina frente a <i>Klebsiella</i> spp.....	136
<b>Tabla 78.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de Cefalexina frente a <i>Klebsiella</i> spp. ....	136
<b>Tabla 79</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de Cloxacilina frente a <i>Klebsiella</i> spp. ....	136
<b>Tabla 80</b> Actividad antimicrobiana de los antibióticos betalactámicos frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	137
<b>Tabla 81.</b> Tabla de frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Penicilina frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	139
<b>Tabla 82.</b> frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Cefalexina frente a <i>Klebsiella</i> spp. ....	140
<b>Tabla 83.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Cloxacilina frente a <i>Klebsiella</i> spp. ....	141
<b>Tabla 84.</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad del antibiótico oxitetraciclina sobre <i>Staphylococcus</i> spp., aisladas de mastitis .....	142
<b>Tabla 85.</b> Prueba de comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus</i> spp. aislados mastitis bovina.....	143
<b>Tabla 86.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus</i> spp.. ....	144
<b>Tabla 87.</b> Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus</i> spp. CN aislados de mastitis. ....	145
<b>Tabla 88.</b> frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus</i> spp.CN aislados de mastitis bovina. ....	146

<b>Tabla 89.</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los betalactámicos sobre <i>Staphylococcus</i> spp. ....	148
<b>Tabla 90.</b> Prueba de comparación de medias (Tukey), del efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a la bacteria del genero <i>Staphylococcus</i> spp., aislados de mastitis.....	149
<b>Tabla 91.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de Penicilina frente <i>Staphylococcus</i> spp. CN .....	151
<b>Tabla 92.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de Cefalexina y Cloxacilina frente <i>Staphylococcus</i> spp. CN.....	152
<b>Tabla 93.</b> Actividad antimicrobiana de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a <i>Staphylococcus</i> spp.CN. ....	153
<b>Tabla 94.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Penicilina frente a <i>Staphylococcus</i> spp. CN aislados de mastitis bovina.....	155
<b>Tabla 95.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Cefalexina frente a <i>Staphylococcus</i> spp. CN aislados de mastitis bovina. ....	156
<b>Tabla 96.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Cloxacilina frente a <i>Staphylococcus</i> spp. CN aislados de mastitis bovina. ....	157
<b>Tabla 97.</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los antibióticos de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) sobre <i>Staphylococcus</i> spp. CN .....	159
<b>Tabla 98.</b> Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a <i>Staphylococcus</i> spp. CN aislados de mastitis.....	160
<b>Tabla 99.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina frente a <i>Staphylococcus</i> spp.CN. ....	162

<b>Tabla 100</b> Tabla de actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina, Estreptomicina) frente a <i>Staphylococcus</i> spp. CN aislados de mastitis bovina. ....	163
<b>Tabla 101.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Gentamicina frente a <i>Staphylococcus</i> spp., aislados de mastitis bovina.....	164
<b>Tabla 102.</b> frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Neomicina frente a <i>Staphylococcus</i> spp. aislados de mastitis.....	165
<b>Tabla 103.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Estreptomicina frente a <i>Staphylococcus</i> spp. aislados de mastitis bovina. ....	167
<b>Tabla 104.</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los 7 antibiótico en estudio sobre <i>Citrobacter</i> spp.....	168
<b>Tabla 105.</b> Prueba de comparación de medias (Tukey), del efecto de la actividad antimicrobiana de los 7 antibióticos en estudio frente a <i>Citrobacter</i> spp. aislados de leche positiva a mastitis. ....	169
<b>Tabla 106.</b> Puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de los 7 antibióticos propuestos frente a <i>Citrobacter</i> spp. aislados de mastitis.....	171
<b>Tabla 107</b> Actividad antimicrobiana de los 7 antibióticos en estudio frente a <i>Citrobacter</i> spp. aislados de mastitis. ....	172
<b>Tabla 108</b> Actividad antimicrobiana de los 7 antibióticos en estudio frente a <i>Citrobacter</i> spp. aislados de mastitis .....	173
<b>Tabla 109.</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina sobre <i>Bacillus</i> spp.....	175
<b>Tabla 110.</b> Comparación de medias (Tukey al 5 %), de la oxitetraciclina frente a <i>Bacillus</i> spp. aislados de mastitis bovina. ....	176
<b>Tabla 111.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de la zona de inhibición de oxitetraciclina frente a <i>Bacillus</i> spp.....	177

<b>Tabla 112.</b> Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Bacillus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	178
<b>Tabla 113.</b> Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Bacillus</i> spp., aislados de mastitis bovina.....	179
<b>Tabla 114</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos frente a <i>Bacillus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	181
<b>Tabla 115.</b> Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los betalactámicos frente a <i>Bacillus</i> spp.....	182
<b>Tabla 116.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de los Betalactámicos frente a <i>Bacillus</i> spp.....	183
<b>Tabla 117</b> Actividad antimicrobiana de los betalactámicos frente a <i>Bacillus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	185
<b>Tabla 118.</b> Tabla de Frecuencia y porcentaje de la susceptibilidad de los Betalactámicos frente a bacterias <i>Bacillus</i> spp. aislados de mastitis bovina. ....	186
<b>Tabla 119.</b> Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los aminoglucósidos en estudio frente a <i>Bacillus</i> spp. ....	188
<b>Tabla 120.</b> Prueba de Tukey, del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a <i>Bacillus</i> spp. aislados de mastitis bovina. ....	189
<b>Tabla 121.</b> Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición de los aminoglucósidos frente a <i>Bacillus</i> spp. ....	191
<b>Tabla 122</b> Análisis de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a <i>Bacillus</i> spp. ....	192
<b>Tabla 123</b> Tabla de porcentaje de la susceptibilidad de los Aminoglucosidos frente a <i>Bacillus</i> spp. aislados de mastitis bovina. ....	194
<b>Tabla 124</b> Frecuencias de la susceptibilidad de los aislados.....	196
<b>Tabla 125.</b> Prueba de chi-cuadrado para comprobación de hipótesis. ....	197

## ÍNDICE DE FIGURAS

N° de Figura	PAG.
<b>Figura 1</b> Producción de Betalactamasa por parte de las bacterias. ....	22
<b>Figura 2</b> Inhibición de la síntesis proteínica bacteriana de las tetraciclinas .....	23
<b>Figura 3</b> Porcentaje total de casos positivos y negativos mediante el CMT (California Mastitis Test). ....	56
<b>Figura 4</b> Prevalencia del asentamiento de la mastitis y ubicación de los cuartos de la glándula mamaria.....	58
<b>Figura 5</b> Porcentajes de los patógenos aislados durante la investigación. ....	59
<b>Figura 6</b> Frecuencias de los aislados causantes de mastitis según el tiempo de lactancia.....	61
<b>Figura 7</b> Efecto de la actividad de la oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina. ....	64
<b>Figura 8</b> Barras de frecuencias de la susceptibilidad de la oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina.....	66
<b>Figura 9</b> Porcentajes de susceptibilidad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina. ....	67
<b>Figura 10</b> Efecto de la actividad de los betalactámicos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina.....	70
<b>Figura 11</b> Actividad antimicrobiana de los Betalactámicos frente a <i>Staphylococcus aureus</i> asiladas de mastitis bovina.....	74
<b>Figura 12</b> Porcentajes de la susceptibilidad antimicrobiana de la penicilina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina. ....	75
<b>Figura 13</b> Porcentajes de la susceptibilidad de Cefalexina frente a <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina.....	76

<b>Figura 14</b> Porcentajes de la susceptibilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina frente a la Cloxacilina. ....	78
<b>Figura 15</b> Efecto de la actividad de los Aminoglucósidos frente al <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina. ....	81
<b>Figura 16</b> Efecto de la susceptibilidad del <i>Staphylococcus aureus</i> frente a los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina). ....	85
<b>Figura 17</b> Porcentajes de susceptibilidad del <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina frente a la Gentamicina. ....	86
<b>Figura 18</b> Porcentajes de la susceptibilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina frente a la Neomicina. ....	87
<b>Figura 19</b> Porcentajes de la susceptibilidad de <i>Staphylococcus aureus</i> aislados de mastitis bovina frente a la Estreptomicina. ....	88
<b>Figura 20</b> Efecto de la actividad de la oxitetraciclina frente a <i>Escherichia coli</i> aislados de mastitis bovina. ....	91
<b>Figura 21</b> Efecto de la susceptibilidad de <i>Escherichia coli</i> frente a oxitetraciclina. ....	93
<b>Figura 22</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la oxitetraciclina frente a <i>Escherichia coli</i> aisladas de mastitis bovina. ....	94
<b>Figura 23</b> Efecto de la actividad de los betalactámicos frente <i>Escherichia coli</i> aisladas de mastitis bovina. ....	97
<b>Figura 24</b> Efecto de la susceptibilidad de los betalactámicos frente a <i>Escherichia coli</i> aisladas de mastitis bovina. ....	101
<b>Figura 25</b> Porcentajes de la susceptibilidad a la Penicilina frente a <i>Escherichia coli</i> aislados de mastitis bovina. ....	102
<b>Figura 26</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la cefalexina frente <i>Escherichia coli</i> aislados de mastitis bovina. ....	104

<b>Figura 27</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Cloxacilina frente a <i>Escherichia coli</i> aislados de mastitis bovina. ....	105
<b>Figura 28</b> Efecto de la actividad de los aminoglucósidos frente a <i>Escherichia coli</i> aislados de mastitis bovina. ....	108
<b>Figura 29</b> Efecto de la susceptibilidad de los aminoglucósidos frente a <i>Escherichia coli</i> aisladas de mastitis bovina. ....	112
<b>Figura 30</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Gentamicina frente a <i>Escherichia coli</i> aislados de mastitis bovina. ....	113
<b>Figura 31</b> Porcentajes de la actividad antimicrobiana de la Neomicina frente a <i>Escherichia coli</i> . aisladas de mastitis bovina. ....	115
<b>Figura 32</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Estreptomicina frente a <i>Escherichia coli</i> aislados de mastitis bovina. ....	116
<b>Figura 33</b> Efecto de la actividad de la Oxitetraciclina frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	119
<b>Figura 34</b> Efecto de la susceptibilidad de la Oxitetraciclina frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	121
<b>Figura 35</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Oxitetraciclina frente a <i>Klebsiella</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	122
<b>Figura 36</b> Efecto de la actividad de los aminoglucósidos frente a <i>Klebsiella</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	125
<b>Figura 37</b> Efecto de la susceptibilidad de <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina frente a los aminoglucósidos. ....	128
<b>Figura 38</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Gentamicina frente a <i>Klebsiella</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	129
<b>Figura 39</b> Porcentajes de la susceptibilidad a la Neomicina frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	130

<b>Figura 40</b> Porcentajes de la susceptibilidad a la estreptomomicina frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	132
<b>Figura 41</b> Efecto de la actividad de los Betalactámicos frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	135
<b>Figura 42</b> Efecto de la susceptibilidad de los Betalactámicos frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	138
<b>Figura 43</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Penicilina frente <i>Klebsiella</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	139
<b>Figura 44</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Cefalexina frente a <i>Klebsiella</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	140
<b>Figura 45</b> Porcentajes de la susceptibilidad a la Cloxacilina por parte de <i>Klebsiella</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	141
<b>Figura 46.</b> Efecto de la oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	144
<b>Figura 47</b> Susceptibilidad de la oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus</i> spp., CN aisladas de mastitis bovina. ....	146
<b>Figura 48</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Oxitetraciclina frente a <i>Staphylococcus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	147
<b>Figura 49</b> Efecto de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina), frente a <i>Staphylococcus</i> spp., aisladas de mastitis. ....	151
<b>Figura 50</b> Susceptibilidad a los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) por parte del <i>Staphylococcus</i> spp., CN aisladas de mastitis bovina. ....	154
<b>Figura 51</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Penicilina frente a <i>Staphylococcus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	155

<b>Figura 52</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Cefalexina frente a <i>Staphylococcus</i> spp., CN aislados de mastitis bovina. ....	157
<b>Figura 53</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Cloxacilina frente a <i>Staphylococcus</i> spp., CN aislados de mastitis bovina. ....	158
<b>Figura 54</b> Efecto de los aminoglucósidos frente a <i>Staphylococcus</i> spp., CN aislados de mastitis bovina. ....	161
<b>Figura 55</b> Susceptibilidad de los aminoglucósidos frente a <i>Staphylococcus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	164
<b>Figura 56</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la gentamicina frente a <i>Staphylococcus</i> spp., aislados de leche positiva a mastitis bovina. ....	165
<b>Figura 57</b> Porcentajes de la susceptibilidad de la Neomicina frente a <i>Staphylococcus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	166
<b>Figura 58</b> Porcentajes de la susceptibilidad antimicrobiana de la estreptomina frente a <i>Staphylococcus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	167
<b>Figura 59</b> Efecto de los 7 antibióticos frente a <i>Citrobacter</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	170
<b>Figura 60</b> Susceptibilidad de los tratamientos frente a <i>Citrobacter</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	174
<b>Figura 61</b> Efecto de la oxitetraciclina sobre <i>Bacillus</i> spp., aisladas de mastitis bovina. ....	177
<b>Figura 62</b> Susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Bacillus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	179
<b>Figura 63</b> Porcentajes de la susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a <i>Bacillus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	180
<b>Figura 64</b> Efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a <i>Bacillus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ...	183

<b>Figura 65</b> Susceptibilidad de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a <i>Bacillus</i> spp. aislados de leche positiva a mastitis bovina.	186
<b>Figura 66</b> Porcentajes de la susceptibilidad antimicrobiana de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina, Cloxacilina) frente a <i>Bacillus</i> spp., aislados de mastitis bovina.....	187
<b>Figura 67</b> Efecto de los tratamientos de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomina) frente a <i>Bacillus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	190
<b>Figura 68</b> Susceptibilidad de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomina) frente a <i>Bacillus</i> spp., aislados de mastitis bovina. ....	193
<b>Figura 69</b> Porcentajes de la susceptibilidad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomina) frente a <i>Bacillus</i> spp., aislados de mastitis bovina.....	194

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>N° de Anexo</b>	<b>PAG.</b>
Anexo 1 lugar del experimento.....	219
Anexo 2 Base de datos. ....	220
Anexo 3 Resultados del análisis del CBT. ....	226
Anexo 4 Fotografías del proceso de la investigación. ....	227

## RESUMEN

La mastitis bovina es una patología que genera un gran impacto económico negativo en el sector lechero debido a pérdidas en la calidad y cantidad de leche producida. Con fines clínicos y diagnósticos en la presente investigación se analizó la resistencia y susceptibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de mastitis bovina en la cooperativa agropecuaria “La Colina”, ubicada en la provincia de Pichincha, Ecuador. Metodológicamente por medio de la prueba CMT se obtuvo 50 vacas positivas a mastitis de un total de 136 vacas testeadas en 7 predios de los afiliados a dicha cooperativa, además como medida de control de calidad se realizó el conteo de bacterias totales (CBT), en donde se obtuvieron valores de 2.8 millones de UFC/ml como valores máximos en los tanques de enfriamiento de 8°C, evidenciándose una tasa de prevalencia de dicha patología de 36.76 % en total, encontrándose en mayor medida en los cuartos posteriores, del procesamiento y análisis de 51 muestras se aislaron 51 cepas bacterianas en total, de las cuales; el 29.42 % corresponde a *S. aureus*, seguido por *Klebsiella* spp. con el 17.64 %, así mismo *Bacillus* spp., se aisló en un 17.64 %, la presencia de *E. coli* y *Staphylococcus* spp. se observaron en un 15.68 % respectivamente, finalmente, *Citrobacter* spp. se aisló en un 3.94 %, al someter dichos aislados a la actividad antimicrobiana se pudo observar un efecto altamente significativo ( $p < 0.05$ ) por parte de los 7 antibióticos frente a los aislados, en lo referente a la CMI se evidenció que la mayoría de los aislados se manifestaron como resistentes en su totalidad a las concentraciones de 1µg, 5µg y 10µg de cada fármaco en cuestión, sin embargo, al observar lo ocurrido con 30µg frente a los aislados se evidenció la existencia de sensibilidad en determinados aislados bacterianos.

**Palabras Claves:** Mastitis, CBT, Aislamiento bacteriano, Antibióticos, CMI.

## SUMMARY.

Bovine mastitis is a pathology that generates a great negative economic impact in the dairy sector due to losses in the quality and quantity of milk produced. For clinical and diagnostic purposes, in the present investigation analyzed the antimicrobial resistance and susceptibility of bacteria isolated from bovine mastitis in the cooperative "La Colina", located in the province of Pichincha, Ecuador. Methodologically, by means of the CMT test, 50 mastitis-positive cows were obtained from a total of 136 cows tested in 7 farms affiliated to this cooperative. In addition, as a quality control measure, the total bacterial count (CBT) was performed, where values it was obtained of 2. 8 million CFU/ml as maximum values in the 8°C cooling tanks, was evidenced a total prevalence rate of 36.76 % of this pathology, being observed to a greater extent in the rear quarters, from the processing and analysis of 51 samples, 51 bacterial strains were isolated in total, of which 29.42 % corresponds to *S. aureus*, followed by *Klebsiella* spp. with 17.64 %, as well as *Bacillus* spp. in 17.64 %, the presence of *E. coli* and *Staphylococcus* spp. were observed in 15.68 % respectively, finally, *Citrobacter* spp. was isolated in 3.94 %, when these isolates were submitted to antimicrobial activity a highly significant effect could be observed ( $p < 0.05$ ) by the 7 antibiotics against the isolates, with regard to the MIC it was evidenced that most of the isolates manifested as resistant in their totality at the concentrations of 1µg, 5µg and 10µg of each drug in question, however, when analyzing the concentration of 30µg against the isolates, the existence of sensitivity in certain bacterial isolates was evidenced.

**Keywords:** Mastitis, CBT, Bacterial isolation, Antibiotics. MIC.

## CAPITULO I

### I. INTRODUCCIÓN

La ganadería es una de las principales actividades de un gran número de familias campesinas y la mastitis bovina es una enfermedad endémica común y costosa que padece el ganado lechero (Velásquez *et al.*, 2020), es definida como la inflamación del tejido de la glándula mamaria que es inducida por muchos factores, como infección microbiana causado por bacterias, hongos, virus, etc., factores ambientales como déficits de manejo sanitario, temperatura y humedad, alimentación, etc., factores humanos por causas de daño mecánico, estrés del ordeño, inadecuada alimentación, etc., y por factores propios de la vaca como edad, paridad, alimentación, producción de leche, la cual se caracteriza por alteraciones patológicas leves o graves con cambios en el tejido de la ubre, aumento del recuento de células somáticas, disminución de la calidad y producción de leche (Hu *et al.*, 2021).

La mastitis bovina es uno de los principales problemas sanitarios que tienen los pequeños y medianos productores que se dedican a la producción de leche, esto se debe a las condiciones y el medio en el que se desarrolla la labor en la gran por parte del desconocimiento en el manejo para esta actividad, es una patología de origen multifactorial y es provocada por un sin número de microorganismos que cambian su dinámica ecológica por las constantes mutaciones que sufren los agentes etiológicos que hace difícil su tratamiento y erradicación, además de la poca resistencia que presentan los animales por el uso errado de antibióticos (Zhang *et al.*, 2020) .

El estudio de las mastitis es muy importante porque se trata de una enfermedad que afecta a la salud y bienestar de las vacas, además la leche que es afectada con el cambio en su composición físico-química, la eficacia de los antibióticos es muy importante para el bienestar de las vacas lecheras y la economía del rebaño, sin embargo la resistencia adquirida a los antibióticos en las bacterias es una amenaza creciente y la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), recomienda la vigilancia de la susceptibilidad antimicrobiana de las bacterias causante de mastitis (Duse *et al.*, 2021).

En la presente investigación trata de: Analizar la resistencia y susceptibilidad antimicrobiana en bacterias aisladas de mastitis bovina en la cooperativa agropecuaria “La Colina”, provincia de Pichincha (Ecuador). Dentro del presente trabajo se planteó los objetivos:

- Estimar la presencia de mastitis en leche mediante la utilización de CMT en campo y el conteo de bacterias totales (CBT) del tanque de almacenamiento de la leche en estudio como métodos diagnósticos.
- Establecer la tasa prevalencia de mastitis en las fincas de los socios afiliados a la cooperativa.
- Aislar patógenos nocivos a partir de leche de vacas positivas para mastitis bovina.
- Determinar la actividad antimicrobiana de los fármacos en estudio, contra patógenos aislados de muestras positivas para mastitis bovina.
- Analizar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los fármacos en estudio.

## CAPITULO II

### II. PROBLEMA

La producción de leche en el Ecuador está dividida en tres regiones, el territorio de la Sierra aporta el 75.9%, seguida de la Costa con el 16.6% y el Oriente representa el 7.6%. En relación con el promedio de litros de leche producidos por vaca, la región que más se destaca es la Sierra con 6.7 litros/vaca/día, seguida de la región Oriental con 4.7 litros/vaca/día y, por último, la región Costa con 3.6 litros/vaca/día, por otro lado, el 98.7 % de la demanda nacional es cubierta con la producción local con un consumo per cápita de 100 litros al año (INEC, 2017).

Uno de los problemas en la producción de leche es la mastitis, debido a su alto grado de complejidad para lograr un control eficaz y una prevención oportuna, la consecuencia de esta enfermedad es que la calidad de la leche es baja por ende también sus derivados, ya que se encuentran restos de los antibióticos que se usan para el tratamiento de la mastitis, siendo un aspecto que repercute negativamente en la inocuidad de la leche y la salud pública para el consumidor, por ende en los últimos tiempos se trata de mejorar el manejo en los tratamientos de las mastitis con productos sin residuos en leche, ni alteraciones en el animal que generen resistencia a los antibióticos usados (Cobirka *et al.*, 2020).

La complejidad para el tratamiento y diagnóstico de esta patología hace que los costos de producción sean altos, lo que representa grandes pérdidas económicas directas para el productor como: desechar la leche con presencia de mastitis, el tratamiento de la enfermedad, que puede llevar a causar resistencia farmacológica si no es diagnosticada correctamente, eliminación de la leche con antibióticos, debido a su contenido de trazas que podrían ser perjudiciales para el consumo humano, baja producción hasta la recuperación de las vacas enfermas, cosas debido a la asistencia técnica, entre otras causas que afecta negativamente a la producción láctea (Romero *et al.*, 2018).

La realidad de la producción lechera, se ve seriamente afectada por la incidencia de mastitis no diagnosticada, los pequeños y medianos productores poseen

ganado mestizo, con graves falencias en el manejo del proceso sanitario, el desconocimiento y falta de preocupación del productor en cuanto a esta enfermedad; el uso indiscriminado de fármacos para su tratamiento y como consecuencia resistencia bacteriana, son el resultado de la baja calidad de los productos que no cumplen con las leyes que demanda la industria láctea en el mundo (Adriaens *et al.*, 2021).

Si bien existen categorizaciones basadas en las particularidades patológicas de la inflamación que poseerían cierta correlación con determinadas etiologías, las manifestaciones clínicas producidas por los diferentes organismos infectantes (ya sea presencia de aglutinaciones, decoloración de la leche, hinchazón del cuarto) no son fácilmente diferenciables y el agente causal solo puede ser reconocido en forma confiable por medio de análisis bacteriológico (Sudipa *et al.*, 2021).

Ante dichos problemas se requieren determinar de manera concreta y específica los patógenos productores de dicha patología con la finalidad de dar un tratamiento específico para dicho microorganismo y así evitar producir una resistencia farmacológica por parte de las bacterias y determinar las dosis correctas de los fármacos comúnmente utilizados en el tratamiento de la mastitis para evitar sobre dosificaciones (Mazón & Mazón, 2022).

## CAPITULO III

### III. MARCO TEÓRICO.

#### 3.1. Mastitis.

##### 3.1.1. Generalidades.

La mastitis es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria y es comúnmente una consecuencia de una infección microbiana causada por patógenos que penetran a la glándula a través del canal del pezón. Se caracteriza por diferentes cambios ya sea físicos o químicos de la glándula mamaria, son consideradas a nivel mundial como el problema sanitario que mayores pérdidas causa a la lechería además de perjudicar la calidad y bienestar animal (Suarez *et al.*, 2019).

Es considerada una enfermedad altamente prevaleciente en el ganado lechero, y es una de las más importantes que afecta mundialmente la industria lechera, pues ocasiona pérdidas económicas muy fuertes a todos los productores de leche en el mundo debido a la disminución de la calidad y cantidad de leche producida y un aumento en los costos de tratamiento y servicios veterinarios, y pérdida de animales, teniendo una tasa de infección de 20 a 65 % sobre los rebaños de todo el mundo (Winston, 2018).

La mastitis es una de las enfermedades de mayor impacto económico para la actividad lechera. Siendo la mastitis subclínica, la cual pasa fácilmente desapercibida para el productor, la causante de la mayor parte de las pérdidas, alrededor del 70% de las pérdidas atribuibles a mastitis están dadas por la disminución en la producción de leche, el resto se debe a descarte de leche por anomalías notorias o residuos de antibióticos, gastos en medicamentos y honorarios veterinarios, trabajo extra, pérdida de valor genético por eliminación en los costos de reemplazo (Wang *et al.*, 2021).

A todo esto, se debe sumar el efecto en el precio de la leche de los actuales esquemas de pago utilizados en el país, que se hacen cada vez más exigentes en cuanto a los niveles de recuento de células somáticas (RCS) y componentes lácteos. Con respecto a las alteraciones en la composición de la leche provenientes de cuartos con mastitis, se ha encontrado disminución en el

contenido de lactosa, caseína, grasa láctea, sólidos no grasos, sólidos totales, calcio, fósforo y potasio, con un incremento en la concentración de inmunoglobulinas, cloruro de sodio, carbonato de sodio, minerales trazas, ácidos grasos libres y enzimas como plasmina, lactasa y lipasa, además de un aumento en el pH de la leche, tornándola un poco ácida (Agrocalidad, 2020).

### **3.1.2. Clasificación de mastitis.**

La mastitis bovina puede clasificarse de acuerdo con el grado de la inflamación y a las lesiones locales e implicaciones sistémicas en la vaca. En términos generales; se clasifica en “Mastitis Subclínica” y “Mastitis Clínica” (Dufour *et al.*, 2019).

#### **3.1.2.1. Mastitis clínica.**

La mastitis clínica es definida como una anormalidad en la glándula mamaria de la vaca o la leche, que puede ser fácilmente observada.

Se caracteriza por la tumefacción, dolor y signos inflamatorios en la ubre, la leche puede presentar una apariencia anormal y, en algunos casos, hay aumento de la temperatura corporal, letargo, anorexia e incluso la muerte. Además, las bacterias están presentes en la leche, lo que reduce el rendimiento y la calidad considerablemente. En los casos en que la inflamación de la ubre es acompañada de signos clínicos es diagnosticada entonces como mastitis clínica (Svetlana *et al.*, 2018).

La mastitis clínica puede presentarse de forma aguda y se caracteriza por su aparición súbita. En la forma crónica, se presenta una infección de larga duración, con leche de apariencia anormal y/o cambios al realizar la palpación del tejido de la ubre, el alto recuento de células somáticas (RCS) indica la probabilidad de estar frente a una inflamación intramamaria, con o sin presencia de infecciones bacterianas y mermas productivas (Dalanezi *et al.*, 2020).

#### **3.1.2.2. Mastitis Subclínica.**

La mastitis subclínica se caracteriza por la presencia de un microorganismo en combinación con un conteo elevado de células somáticas en leche, esta puede desarrollar fácilmente una inflamación y no tener tratamiento, el análisis

específico de poblaciones bacterianas que contribuyen al diagnóstico (Kumari *et al.*, 2020).

Este tipo de mastitis no presenta cambios visibles en la leche o ubre. Apenas se percibe una reducción en el rendimiento de la leche, siendo alterada su composición por la presencia de componentes inflamatorios y bacterias. Esta presentación de la enfermedad es la más persistente en el ganado lechero; Ocorre frecuentemente, y puede conducir a grandes pérdidas económicas no solo por la reducción de la producción, también por los elevados conteos de células somáticas presentes en los tanques de leche (Shokouhi, 2021).

En la práctica, los casos de mastitis subclínica con frecuencia no son detectados rápidamente, o pueden incluso no ser reconocidas por el ordeñador. Para identificar estos casos de mastitis se hace necesario las técnicas de laboratorio como la medición del conteo de células somáticas y el cultivo bacteriológico (Wang *et al.*, 2021).

### **3.1.3. Etiología.**

Se han identificado aproximadamente 140 especies causantes de mastitis, que se dividen en patógenos contagiosos y ambientales; dentro de los primeros, los principales son *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma*; siendo su principal vía de entrada es el canal del pezón, la primera fuente de estos microorganismos es la ubre de vaca afectadas, las características más importantes de granjas con problemas de mastitis son: alta prevalencia de infección intramamaria durante la lactación, Recuento alto de células somáticas en leche (Koba *et al.*, 2018).

Los géneros más frecuentes de patógenos ambientales, cuyo reservorio es el ambiente donde permanecen los animales y no las glándulas mamarias infectadas, son *Streptococcus dysgalactiae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella sp*, ambientales y en menor medida los coliformes, las características de mastitis ambientales incluyen: baja prevalencia durante la lactación, bajo recuento de células somáticas en leche en tanque, infección de corta duración, alta prevalencia durante el secado (Dalanezi *et al.*, 2020).

Contrariamente los patógenos contagiosos, tienen su hábitat en la glándula mamaria bovina y se transmiten de ubre a ubre principalmente durante el ordeño de las vacas, estos microorganismos se han adaptado a las condiciones adversas (Wang *et al.*, 2021).

#### **3.1.4. Tratamiento de la mastitis.**

Para la mayoría de los ganaderos, el objetivo práctico del tratamiento es producir rápidamente una reducción en los síntomas clínicos, eventualmente reducir el recuento de células somáticas (RCS), prevenir la recurrencia de nuevos casos clínicos y mantener el rendimiento esperado de leche. La interpretación de los resultados del tratamiento puede ser confusa porque la mayoría de los casos de mastitis causadas por los patógenos se presentan con signos clínicos leves o moderados (Peralta *et al.*, 2020).

La búsqueda de una relación armónica de las poblaciones bacterianas de distintos nichos microecológico con su huésped, está abriendo el camino para ver cómo se puede conseguir un estado de salud y bienestar sin perjudicar la producción y la calidad de vida del animal, lo cual se considera que son consecuencias de una disbiosis poblacional (Shokouhi, 2021).

Cuando las vacas presentan casos leves de la mastitis, los signos clínicos normalmente desaparecen en 4 - 6 días, independiente del tratamiento. Sin embargo, la desaparición de los síntomas clínicos no siempre indica que la infección ha sido tratada con éxito. Mientras que la leche puede aparecer visualmente normal, muchos de estos casos pueden simplemente haber pasado a un estado subclínico y mantener el RCS elevado, si bien la terapia con antibióticos es eficaz y tiene un impacto crónico, favoreciendo a la aparición de cepas bacterianas resistentes (Contero *et al.*, 2019).

Las tasas de curación bacteriológica se utilizan generalmente en los estudios de investigación como el principal indicador de la eficacia del tratamiento, pero pocos ganaderos o veterinarios evalúan la desaparición de los agentes patógenos de las glándulas afectadas, el suelo es probablemente uno de los ambientes de mayor complejidad microbiológica (Cerioli *et al.*, 2021).

La capacidad de lograr una curación bacteriológica depende del patógeno, la gravedad de caso, la variación en la respuesta inmune en las vacas, la eficacia del protocolo de tratamiento y la prontitud de iniciar el tratamiento (Hoque *et al.*, 2018).

### **3.1.5. Principales agentes causales de mastitis.**

En la glándula mamaria bovina se han identificado hasta 140 especies, subespecies y serovariedades microbianas. Las técnicas microbiológicas han permitido la determinación precisa de la identidad de muchos microorganismos patógenos de la mastitis. Clásicamente estos microorganismos causantes de infección intramamaria o mastitis han sido divididos en patógenos contagiosos y ambientales, en base a su asociación epidemiológica con la enfermedad y a su proclividad de causar la infección oportunista, persistente o transeúnte, respectivamente. Dependiendo, asimismo, de su repertorio primario y el ambiente contra el cuarto de la glándula mamaria infectada por microorganismos oportunistas (Calderón & Rogríguez, 2018).

Los patógenos contagiosos de primera importancia incluyen al *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium spp.*, y *Mycoplasma spp.* Estos organismos se transmiten de vaca a vaca, donde el reservorio primario que alberga los patógenos es el animal infectado o el cuarto de la ubre, y la exposición de los cuartos mamarios no infectados se restringe al proceso de la ordeña (Gussmann *et al.*, 2019).

Los patógenos contagiosos de la mastitis como el *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* que son infecciosos a nivel individual y a nivel de población, han sido reportados bajo control en los hatos lecheros a través del uso de prácticas de manejo que utilizan la desinfección de los pezones después de la ordeña, terapia de la vaca seca, desecho, mantenimiento del equipo de ordeño, y terapia antibiótica de las infecciones intramamarias (Ferreira *et al.*, 2018).

Los patógenos ambientales a diferencia de los contagiosos son transmitidos entre las ordeñas por el ambiente que sirve como la fuente primaria de estos organismos. Los patógenos principales en este grupo son los bacilos entéricos

Gramnegativos (*Escherichia coli*, *Klebsiella spp* y *Enterococcus spp.*), y Gram positivos; *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*. La mastitis ocasionada por patógenos ambientales es el principal problema que afecta a muchos hatos lecheros bien manejados (Hazelton *et al.*, 2020).

La mastitis por organismos contagiosos (especialmente *Streptococcus agalactiae*) ha disminuido por mejoramiento en el manejo, las pérdidas económicas debido a la enfermedad pueden continuar porque los organismos causales no pueden ser erradicados del medio ambiente de las vacas lecheras ya que pertenecen al microbiota normal del ambiente y se encuentran en cada establo. Estos patógenos poseen en general un potencial muy pobre para causar enfermedad, sin embargo, pueden penetrar en el conducto galactóforo hacia la ubre y provocar infecciones muy persistentes que requieren una terapia muy difícil (Cassoli, 2017).

#### **3.1.5.1. *Staphylococcus aureus.***

*Staphylococcus aureus* es una bacteria patógena de distribución mundial que ocasiona pérdidas económicas, ya que una vez establecida en la glándula mamaria es difícil de erradicar; la infección ocurre por su adherencia a las superficies y la colonización del tejido infectado, ocasionando la muerte celular; *Staphylococcus aureus* presenta una película (componentes de la superficie microbiana que reconocen las moléculas adheridas de la matriz) que es lo que provoca la muerte celular por apoptosis, además presenta un biopelícula que lo protege de los leucocitos y quimioterapéuticos volviendo la infección más crónica y produce septicémica (Cventiné *et al.*, 2021)

Este es un patógeno contagioso cuyo principal reservorio es la glándula mamaria infectada, pudiendo encontrarse también en lesiones de los pezones y otras partes del cuerpo, como en vagina; sin embargo, no es capaz de colonizar la piel sana. Otros reservorios de menor importancia los constituyen el hombre, las moscas, alojamientos, equipos y otros animales no bovinos como mascotas o animales silvestres que se encuentre (Hazelton *et al.*, 2020).

Las infecciones tienden a ser subclínica y crónicas, con episodios periódicos de mastitis clínica, pudiendo causar también mastitis gangrenosa. Este patógeno

se asocia a una disminución considerable en la producción de leche y un gran aumento de su contenido celular, con una disminución de la calidad y producción de leche, es uno de los microorganismos en provocar mastitis crónicas, que no responden muy bien a la terapia antibiótica, presentando resistencia a los antimicrobianos (Patel *et al.*, 2018).

Este microorganismo vive dentro o fuera de la ubre, y su carácter contagioso hace que se propague en la ganadería (si no se toman las medidas apropiadas de control), lo convierten en un agente importante en el recuento elevado de células somáticas, siendo este su gran impacto negativo en la producción y calidad de la leche (Cassoli, 2017).

Los signos varían según el tipo de mastitis causada. En caso de la mastitis subclínica son muy inespecíficos, como flóculos en la leche solo observable con la copa de fondo oscuro o reacciones positivas en la prueba de California. Con el tiempo este tipo de mastitis se convierte en crónica, detectándose mediante palpación debido a la fibrosis causada (Grispoldi *et al.*, 2019).

#### **3.1.5.2. *Streptococcus agalactiae.***

Esta bacteria es el agente clásico asociado con la mastitis bovina y es altamente contagioso, que frecuentemente son aislados de la glándula mamaria bovina y de tanques de leche cruda, siendo este el medio más óptimo para su desarrollo. Es un patógeno intramamario obligado (no necesita oxígeno, pero si una nutrición adecuada), donde puede sobrevivir por largos periodos de tiempo y raramente es encontrado fuera de la glándula mamaria (Bonifaz & Conlago, 2016).

Las cepas del *S. agalactiae* es considerado una de las mayores causas de infecciones intramamarias bovinas. Es un patógeno contagioso de la glándula mamaria, donde puede sobrevivir por largos períodos de tiempo, sin embargo, puede sobrevivir por breves períodos de tiempo en las manos del operario, la máquina de ordeño y la piel de los pezones, lo que lleva a que se propague (contagioso) de vaca a vaca durante el ordeño (Tsegaye *et al.*, 2019).

*Streptococcus agalactiae* invade la cisterna y el sistema ductal de la glándula, en la que produce irritación, que causa inflamación sin signos evidentes, la

acumulación de residuos bacterianos intensifica la respuesta inflamatoria, ocasionando destrucción del tejido, disminuyendo la producción láctea y en algunas ocasiones causa agalactia en las subsiguientes lactaciones, llegando a causar cuadros crónica (Tomazi *et al.*, 2018).

Esta bacteria es conocida mundialmente como el principal patógeno contagioso que ocasiona la mastitis subclínica bovina y puede ser tratado económicamente utilizando terapia masiva durante la lactación. Para un patógeno intramamario obligado como este agente, la ubre es reconocida como la única fuente razonable del organismo donde se puede encontrar, y consecuentemente en la leche. Sin embargo, los aislamientos son tomados comúnmente en los tanques de depósito y el ganado que no es identificado actúa como reservorio de la infección intramamaria (Miranda *et al.*, 2018)

### **3.1.5.3. *Mycoplasma spp.***

Es un patógeno contagioso, cuyo principal reservorio es la glándula mamaria infectada, tractos respiratorio y urogenital. Generalmente se transmite durante la ordeña, pudiendo además entrar a la ubre a través de una terapia intramamarias aplicada en forma inadecuada (Mora *et al.*, 2015).

La infección se caracteriza por aparición súbita, diseminación rápida en el rebaño, disminución marcada en la producción de leche y resultados negativos a los exámenes bacteriológicos de rutina. No hay tratamiento efectivo para la mastitis causada por *Mycoplasmas*, por lo que las vacas infectadas deben ser aisladas y generalmente eliminadas y que pueden causar mastitis en vacas lecheras. La mastitis causada por *Mycoplasma spp* es caracterizada por una baja repentina en la calidad y producción de la leche. Esta puede tener una apariencia de agua de coco, o tener aspecto seroso amarillento con presencia de hojuelas de maíz flotando (Parker *et al.*, 2018).

El *Mycoplasma bovis* es el principal agente causal de la agalactia contagiosa. Este síndrome es caracterizado por la agalactia, la mastitis, la artritis y a veces la Queratoconjuntivitis. Causa severas pérdidas económicas, particularmente en los hatos de ganado lechero, debido a que el *Mycoplasma bovis* es persistente y muy contagioso, que hace casi imposible la producción regular de queso por

la fuerte caída en la producción de leche, puede presentar los animales artritis y neumonías, de tal modo la identificación del *Mycoplasma spp.* en leche se da a través del cultivo microbiológico, considerado el estándar de oro para la detección de este (Tomazi *et al.*, 2018).

#### **3.1.5.4. *Corynebacterium spp.***

Contiene 136 especies hasta la fecha, es un patógeno contagioso Gram positivo, no acidorresistentes, cuyos reservorios principales son el conducto del pezón y la glándula mamaria infectada, pudiendo ser un reservorio potencial el tracto reproductivo de las vacas con otras afecciones productivas (Kittl *et al.*, 2022).

De esta forma, la transmisión ocurre fundamentalmente durante la ordeña. Además, se considera un patógeno menor, por causar infecciones mamarias ocasionales, generando un pequeño aumento del recuento celular y una ligera disminución de la producción de leche, lo que rara vez se traduce en mastitis clínica. La terapia de secado suele ser muy efectiva en la eliminación de infecciones Intramamarias causadas por *C. bovis*, mientras que el uso de un dipping postordeña adecuado, es una medida de gran valor para el control de este patógeno (Castillo *et al.*, 2017).

La prevalencia de éste patógeno en un rebaño puede exceder al 50 % de los cuartos infectados. El *Corynebacterium bovis*, frecuentemente se aísla de la leche de glándulas mamarias de vacas infectadas de mastitis y es asociado con la reducción en la producción de leche. Está relacionado con formas muy apacibles de inflamación mamaria. La única manifestación de esta infección es un ligero aumento de la cuenta de células somáticas (Parker *et al.*, 2018).

#### **3.1.5.5. *Klebsiella spp.***

*Klebsiella spp.* es una bacteria Gram-negativa perteneciente al grupo de las bacterias ambientales causante de mastitis, se pueden encontrar en el agua superficiales, agua residuales, suelo, plantas y la superficie de la mucosa de los mamíferos, las infecciones por *Klebsiella* generalmente juega un papel importante ya que puede causar infecciones en el torrente sanguíneo, abscesos hepáticos y mastitis en los mamíferos, siendo considera como un peligro para la producción ganadera, también para la salud pública, ya que la resistencia a

los antibióticos de estos patógenas es un problema mundial (Salaudín *et al.*, 2019).

El genotipo es importante para identificar casos o brotes causados por *klebsiella spp.*, ya que permite rastrear aún más la fuente y la propagación de dicha bacteria, utilizando la técnica de secuencia de multi-locus la que es considerada un buen método diagnóstico ya que tipifica patógenos y caracteriza las relaciones genéticas entre aislamiento bacteriano y la propagación global de cepas resistentes a los medicamentos, los bovinos son un importante reservorio ya que producen alimentos para el ser humano y pueden transmitir bacterias que presenten resistencia a los antimicrobianos (Cheng *et al.*, 2018).

#### **3.1.5.6. *Escherichia coli.***

Es una bacteria Gram-negativa ampliamente diseminada en todo el mundo, es anaerobio facultativa, habita en el intestino de los animales de sangre caliente, en este nicho estas bacterias coexisten con otros microorganismos que comprenden la microbiota intestinal comensal (habita normal), presentándose algunas variantes de *E. coli* que han adquirido atributos específicos que les permite infectar al huésped inmunocompetente y causar un proceso infeccioso, la patogenicidad de *E. coli* está constituida por un gran número de variantes virulentas asociadas con el ser humano y los animales que coexistiendo entre ambos (Umpiérrez *et al.*, 2021).

Dentro de la diversidad de factores de virulencia, está relacionada con varios genes los cuales transmiten sus mecanismos de defensa o virulencia a través de plásmidos, fagos y transposones, a los cuales se han descrito al menos 9 patotipos diferentes o variantes virulentas de *E. coli* causante infecciones (Sattar *et al.*, 2021).

Una de ellas es la enterotoxigénica, la cual se caracteriza por la expresión de las adhesinas fimbriales y fibrilares sobre las células intestinales, teniendo una expresión de toxinas termoestables y termolábiles, las cuales se han asociado significativamente con la causa de la diarrea en mamíferos, pertenece a la familia de patógenos que produce lesiones en las uniones intracelulares de las células epiteliales intestinales (Tahar *et al.*, 2020).

Otro prototipo de *E. coli* son las productoras de toxinas enterohemorrágicas si bien todas las cepas pertenecientes a este grupo se caracterizan por la expresión de la toxina *shiga 1* y *2*, produciendo lesiones en las células epiteliales intestinales, siendo los bovinos los portadores asintomáticos de este tipo de patógenos, son responsables de su propagación y transmisión a el ser humano como el consumidor de sus productos (Ahmed *et al.*, 2021).

Otra variante virulenta de *E. coli* es necrotoxigénica, la que se caracteriza por la expresión de diferentes factores de virulencia, incluyendo fimbrial y afimbrial, adhesinas, sideróforos y toxinas (Factor necrotizantes citotóxico, toxinas destending citoletal) se aísla con frecuencia en diarrea y procesos de septicemia con falla multiorganica por la depleción de metabolitos tóxicos por la fagocitosis, características en mastitis causadas por *E. coli* observando animales deprimidos por el aumento de la temperatura causada por dicha bacteria (Yu *et al.*, 2020).

### **3.2. Pruebas bioquímicas de identificación.**

- Pruebas IMVIC: son cuatro pruebas bioquímicas, que se emplean fundamentalmente para la identificación de Enterobacterias (bacilos Gram negativos, anaerobios facultativos con metabolismos fermentadores), las cuales esta comprendida por; Producción de indol: se fundamenta en determinar si la bacteria posee una enzima (triptófano), el cual hidroliza el triptófano en indol y alanina (Shealy *et al.*, 2021). Rojo de metilo: se fundamenta en detectar la fermentación ácido-mixta, acumulando ácidos (acético, formico, etc.), bajando el pH del medio (Pantoja *et al.*, 2021). Voges-proskauer: detecta la fermentación butanodiólica, produciendo butanodiol, mediante un reactivo (alfa-naftol 6 % y KOH 40 %), se detecta la presente del precursor acetoina la cual se oxida y se transforma en diacetilo que va a proporcionar el anillo color rojo (+) en la superficie del medio (Wenjing *et al.*, 2019). Citrato: determina la utilización del citrato como única fuente de carbono y energía utilizada por la bactericia en cuestión (Kusumawaii *et al.*, 2020).
- Prueba de Triple sugar iron (TSI): Esta prueba se empleó para evidenciar la fermentación de lactosa, sacarosa y glucosa, así como la producción gas, y también la producción de ácido sulfhídrico en bacterias Gram negativas (Arya *et al.*, 2020).

- Oxidasa: La reacción se fundamenta en determinar la presencia de citocromo oxidasa, ya que hay una población bacteriana que usa la oxidación del diclorhidrato de tetrametil-p-fenilendiamina a indofenol, que es el producto final que se tiñe de color púrpura oscuro, la cual es considerado como positivo (+), ningún cambio en la coloración indica una prueba negativa (-) (Islam et al., 2018).
- Catalasa: los organismos aeróbicos y anaeróbicos facultativos producen dos toxinas durante el metabolismo normal; peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y radical superóxido (O<sub>2</sub>), una de ella es la catalasa que es una enzima capaz de convertir el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, cuando se observa una reacción burbujeante en el portaobjeto se considera positiva (+), y la falta de catalasa es la debilidad de la burbuja siendo esta negativa (-) (Wu et al., 2020).

### **3.3.Terapéutica antibiótica frente a la mastitis bovina.**

El principal objetivo de la terapia antibiótica es eliminar al organismo invasor mediante la administración de una cantidad óptima de droga activa en el sitio de la infección, que supere y mantenga por un tiempo adecuado una concentración capaz de inhibir al organismo actuante (Cheng *et al.*, 2020).

Esta definición es válida para cualquier tipo de infección en cualquier tejido del organismo. En el caso particular de una infección mastítica, también es importante lograr que la glándula mamaria y la leche producida retornen a los niveles normales, que se mantenga el potencial de producción, que el tratamiento arroje un índice costo/beneficio positivo y que los riesgos de aparición de residuos en la leche sean mínimos (Cuenca, 2015).

El éxito del tratamiento depende del agente causal, la naturaleza y localización de la infección, el antibiótico utilizado y la concentración de este en el sitio de infección. En principio, se debe tener en cuenta que el antibiótico que administremos no determinará una esterilización química de la glándula mamaria, sino que colaborará para que el hospedador pueda librarse de la infección (Castillo, Suniaga, Rojas, & Hernández, 2017). La desaparición de los signos clínicos, conocida como curación clínica, no es sinónimo de curación bacteriológica, la cual implica la eliminación del agente causal de la glándula mamaria (Mimoune *et al.*, 2021).

La curación bacteriológica se evalúa generalmente a los 7, 14, 21 y 28 días postratamiento. Los índices de curación bacteriológica son altos frente a las distintas especies del género *Streptococcus*, mientras que frente a *Staphylococcus aureus* y organismos coliformes son mucho menores como es la mastitis causada por *Klebsiella sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, etc., ya que varias de las veces persisten la causa de la infección (Bedolla *et al.*, 2017).

En el caso de mastitis agudas por organismos coliformes, la respuesta inflamatoria generada por la endotoxina bacteriana determina que la mayoría de los organismos hayan sido destruidos cuando se advierten los signos clínicos. Por lo tanto, la terapia antibiótica aplicada cuando se advierten los signos clínicos puede ser de escasa utilidad por la gravedad (Tomazi *et al.*, 2018).

De los agentes antimicrobianos de uso común son las: sulfonamidas, penicilinas, aminoglucósidos y cefalosporinas de primera generación, lo cual no penetran fácilmente en la glándula mamaria después de la administración inyectable, mientras que los antibióticos macrólidos, trimetoprima, tetraciclinas y fluoroquinolonas se distribuyen bien en la glándula inflamada (Gelasikis *et al.*, 2015).

Actualmente, uno de los antibióticos más recomendados para mastitis son los macrólidos, que tiene un espectro para bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas, siendo considerados como bacteriostáticos, pero puede ser bactericidas en altas concentración contra organismos susceptibles, también ejercen propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras. Por otra parte, los antibióticos aminoglucósidos son utilizados para infecciones causadas por microorganismos Gram negativos, y algunos Gram positivos, teniendo un espectro bactericida dependiendo de la concentración (Hickey *et al.*, 2018).

El tratamiento de la mastitis subclínica generalmente se realiza mediante antibióticos intramamarios, ya que no existe un criterio uniforme para determinar la conveniencia de la vía parenteral o intramamaria, en ciertas ocasiones puede mejor la respuesta ya que algunos organismos están en los ductos o alveolos mamarios, dan una respuesta favorable para mastitis causada

por estreptococos, *Corynebacterium spp.*, siendo los más frecuentes causantes de mastitis bovina (Zhu *et al.*, 2018).

### **3.3.1. Aspectos para tomar en cuenta al momento del tratamiento.**

Las grandes variaciones en la eficacia de curación determinan que el conocimiento del agente causal sea un aporte fundamental para delinear un protocolo de terapia antibiótica sobre una base racional. Normalmente, cuando un veterinario debe enfrentarse con un caso clínico, desconoce la etiología de este (FAO, 2017).

En una comprensión completa de la patogenicidad de esta enfermedad podría tener un impacto profundo en la salud pública, es económicamente importante en la industria lechera, representado el 70% de los gastos totales para los ganaderos. Es considerada una enfermedad altamente prevalente en los hatos lecheros, provocando la disminución en la calidad y cantidad de leche elaborada, representando un aumento en los costos de tratamiento y servicios veterinarios (Mera *et al.*, 2017).

Si bien existen clasificaciones basadas en las características patológicas de la inflamación que tendrían cierta correlación con determinadas etiologías, las manifestaciones clínicas causadas por los diferentes organismos infectantes (ya sea presencia de grumos, decoloración de la leche, inflamación del cuarto) no son fácilmente diferenciables en la práctica, y el agente causal solo puede ser identificado en forma confiable por medio de análisis bacteriológico (Mimoune *et al.*, 2021).

Hay que recalcar que el desarrollo de esta enfermedad va a depender de muchos factores como son: raza, nivel de producción, sistemas de producción con manejo deficiente y factores medioambientales, es decir si el medio es adecuado para los microorganismos causante de desarrollar la infección, desde el punto de vista sanitario, el manejo en el momento del ordeño tiene relación con el estado de las ubres, dado a que si hay una mala práctica y un abuso del mismo va a ocasionar que este se inflame y un aumento de la carga bacteriana, causando la persistencia en el hato (Pasca *et al.* 2020).

La necesidad de tratar el caso clínico rápidamente no permite lograr con éxito el tratamiento, siendo indispensable la identificar el agente etiológico y determinar su sensibilidad in vitro a los antimicrobianos de primera elección, ya que si tenemos un estudio epidemiológico de nuestro hato lecho podríamos aumentar las probabilidades de una tasa de curación (Ivanyuk *et al.*, 2021).

### **3.4. Antibióticos betalactámicos.**

#### **3.4.1. Penicilina G.**

Las penicilinas pertenecen a una familia de compuestos químicos con una estructura química peculiar que le confiere una actividad característica contra un grupo determinado de bacterias (Katzung, 2017). El descubrimiento de la penicilina se atribuye a Alexander Fleming, quien lo obtuvo a partir del hongo *Penicillium notatum*, que producía una sustancia capaz de impedir el crecimiento de diferentes organismos, tiene la presencia del anillo betalactámico que define químicamente a esta familia de antibióticos, la cual es el principal mecanismo de resistencia las betalactamasas de esta gran familia de antibióticos (Shenoy *et al.*, 2019).

Dentro de esta familia de los betalactámicos, estos inducen una mayor liberación de endotoxinas debido a su rápida capacidad bactericida lo cual provoca una mayor respuesta inflamatoria en el parénquima glandular de la ubre (Gómez *et al.*, 2015).

La penicilina, como el resto de los  $\beta$ -lactámicos, ejerce una acción bactericida por su mecanismo de acción que se centra en alterar la pared celular bacteriana, estructura que no existe en las células humanas. La pared bacteriana se encuentra por fuera de la membrana plasmática y confiere a las bacterias la resistencia necesaria para soportar, sin romperse, la elevada presión osmótica que existe en su interior, la misma cuando es alterada proporción, presiones y cambios osmóticos que llevan a la muerte de esta (Mimoune *et al.*, 2021).

La penicilina-G es el representante genuino del grupo de los betalactámicos, los que se comercializan desde la década de 1940, presentado una vida media de 4 horas y su aplicación es vía intravenosa, la tolerancia de esta familia de

antibióticos es muy buena y solo el 10 % de los pacientes presentan alergias verdaderas (hipersensibilidad) a los betalactámicos (Gómez *et al.*, 2015).

La penicilina muestra un efecto sinérgico con los aminoglucósidos, puesto que la inhibición de la síntesis del peptidoglicano permite que los aminoglucósidos penetren la pared celular con mayor facilidad, permitiendo así trastornos en la síntesis de proteínas dentro de la región 16S de la célula bacteriana, hecho que resulta en una concentración menor de antibiótico que la requerida para eliminar al microorganismo susceptible (Ivanyuk *et al.*, 2021).

- **Farmacocinética:** Después de su absorción en aquellos sitios donde se ha aplicado por vía IM (intramuscular) o SC (subcutánea), la penicilina G tiene buena distribución, y queda en una conveniente proporción 1:1 entre plasma y tejidos. En la mayoría de las especies la unión a proteínas es cercana al 50 %. Se elimina principalmente por la orina por filtración glomerular (80 %) y secreción tubular (20 %). La vida media es muy rápida: 1 hora o menos. Su gran capacidad excretora en los animales hace que se comporte como un fármaco de primer orden para infecciones bacterianas (Bedolla *et al.*, 2017).

#### 3.4.2. Cefalexina

La Cefalexina es un antibiótico betalactámico de primera generación perteneciente a las cefalosporinas con excelente actividad contra la mayoría de las bacterias Gram positivas. Recomendada para el tratamiento mastitis contagiosa y pododermatitis en ganado bovino. Fue aislada de cepas del hongo *Cephalosporium acremonium*, en su estructura lo constituye el ácido 7-aminocefalosporánico que resultado la fusión del anillo betalactámico y dihidrotiacínico, otorgándole mayor eficacia contra microorganismos susceptibles, ya que las cefalosporinas no presentan retiro en la producción de leche (Buckley *at al.*, 2022).

Debido a su baja toxicidad y buena actividad contra bacterias Gram positivas, es usado para el tratamiento de infecciones respiratorias, urogenitales, gastrointestinales, de piel y tejidos blandos en bovinos, porcinos, ovinos, y caprinos, proporcionando una actividad bactericida dependiente del tiempo (Katzung, 2017). Sus presentaciones comerciales incluyen cápsula, tabletas,

jarabes, pomos y suspensiones para administración oral, parentales e intramamarios (Villalba & Lopez, 2017).

- **Mecanismo de acción:** se caracteriza por ser Bactericida, pues inhibe la síntesis y reparación de la pared celular bacteriana. Actúan a nivel de la pared celular mediante una inhibición competitiva, se unen a las proteínas ligadoras de penicilinas (PBPs), imposibilitando que estas ejerzan su acción catalítica en la unión y entrecruzamientos de las cadenas de péptidos glicanos que le confiere la forma y rigidez de la pared celular bacteriana (Beccaria *et al.*, 2021).

- La Cefalexina se une dentro de la membrana citoplasmática bacteriana a las enzimas encargadas de la síntesis de pared celular, lo que provoca la inhibición y muerte bacteriana, las bacterias han reaccionado desarrollando mecanismo de resistencia que neutralizan su acción, en el caso de las cefalosporinas el principal mecanismo está a la ruptura del anillo betalactámico por la acción de enzimas betalactamasas comúnmente denominadas cefalosporinas, otros mecanismos es la síntesis de nuevas PBPs con menor afinidad por los agente antibacterianos (Bedolla *et al.*, 2017).

- **Farmacocinética:** se absorben rápidamente en el tracto gastrointestinal, y presentan unos parámetros farmacocinéticos similares a los otros betalactámicos. A pesar de cefalexina monohidrato debe ser convertida al clorhidrato en el estómago antes de la absorción en el intestino delgado, el grado de absorción para la base de cefalexina (monohidrato) y el clorhidrato son similares. (Tortora, 2016). en algunos estudios los parámetros farmacocinéticos hallaron que la coadministración vía oral de cefalexina produce un retraso en la absorción del antibiótico (Prados *et al.*, 2017).

### **3.4.3. Resistencia de las bacterias a los Betalactámicos.**

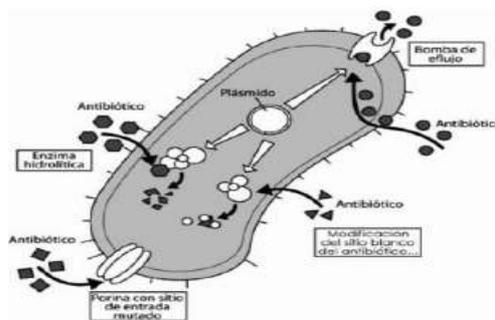
El mecanismo más importante de resistencia a los antibióticos betalactámicos en las bacteria es por la producción de betalactamasas, como por ejemplo en las Enterobacteriaceae que poseen betalactamasas cromosómicas naturales, probablemente derivadas de las propias proteínas fijadoras de penicilinas (PBP; *penicillin-binding proteín*), expresadas por los genes que codifican estas enzimas, las cuales se pueden encontrar en el cromosoma o

extracromosómicamente, proporcionando métodos genéticos móviles (Plásmidos) que transfieren a otras bacterias, de la misma familia o incluso a distinto género (Takako *et al.*, 2021).

Las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) se definen como enzimas capaces de hidrolizar las penicilinas, todas las cefalosporinas (menos cefamicinas) y las monobactamas, pero no a los carbapenemas, siendo así que en 1983 se descubrió en Alemania la primera enzima capaz de hidrolizar las cefalosporinas de amplio espectro, inaugurando el capítulo de las BLEE, siendo esta de origen extracromosómico conocido como Plásmido (Klibi *et al.*, 2019).

Además de las BLEE clásicas de naturales plásmídica, algunos microorganismos producen betalactamasas de origen cromosómico, confiriendo la hiperproducción de BLEE, aportando microorganismos muy resistentes a los betalactámicos, incluso haciéndolos resistentes a las cefalosporinas de espectro extendido, dentro de las enterobacterias que producen estas betalactamasas de forma natural se encuentra; *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter koseri* (Aboud *et al.*, 2021).

Siendo de mucha importancia su identificación, para ello la mayoría de los métodos descritos para detectar microorganismos productores de BLEE se han diseñado para *E. coli* y *Klebsiella spp*, la cual se fundamenta en la inhibición de estas enzimas por el ácido clavulánico u otros inhibidores de betalactamasa, no se puede menospreciar la presencia del gen *AmpC*, con la cual se diseñados métodos moleculares para la amplificación de dichos genes que le confieren la resistencia (Liu *et al.*, 2018).



**Figura 1.** Producción de Betalactamasa por parte de las bacterias.

**Fuente:** Hamon *et al.*(2021).

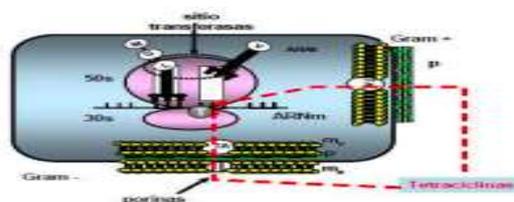
### 3.5. Antibióticos de la familia de las tetraciclinas.

#### 3.5.1. Oxitetraciclina.

Las tetraciclinas constituyen una familia de productos naturales la cual encontramos a la oxitetraciclina, es son derivados del *Streptomyces spp.*, lo cual tiene el mecanismo de inhibir la síntesis de las proteínas bacterianas mediante la unión a la subunidad ribosomal 30s de la bacteria, poseen un núcleo de estructura tetracíclica lineal compuesta de 4 anillos fusionados, los cuales forman complejos quelantes con distintos cationes como es calcio, magnesio o hierro, proporcionando la insolubilidad en el agua y dificulta su absorción (Velásquez *et al.*, 2018).

En algunos estudios sobre la utilización de la oxitetraciclina se a evaluado la eficacia contra parasito hemáticos como los tripanosomosis bovina y sobre todo en bacterias susceptibles a dicho fármaco, ya que nos ayuda por su efecto de amplio espectro, dependiendo de la concentración puede ser bactericida o bacteriostático, según la necesidad y la intensidad de la infección (Echeverri *et al.*, 2020).

La Oxitetraciclina, antibiótico de amplio uso en medicina veterinaria, pertenece al grupo de las tetraciclinas. Inhibe la síntesis de proteínas en la bacteria a nivel ribosomal, para interactuar con su sitio blanco, debe atravesar uno o dos sistemas de membrana, su paso es por difusión pasiva, presenta principalmente una acción bacteriostática frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, así como también frente a otros microorganismos tales como espiroquetas, clamidias y rickettsias (Rodríguez, 2019).



**Figura 2.** Inhibición de la síntesis proteínica bacteriana por parte de las tetraciclinas

**Fuente:** Rodríguez, (2019).

La clasificación es de acuerdo con el orden de descubrimiento, propiedades farmacocinéticas y el espectro de actividad antimicrobiana se puede dividir en: primer generación que son los menos lipofílicas y pobre absorción en la que se incluye a la oxitetraciclina, en segunda generación presenta una mejor absorción y son 3 a 5 veces más lipofílicas y la tercera generación las cuales son análogos semi-sintéticos obtenidos tras modificar la posición 9 del anillo tetracíclico de los compuestos de las generaciones antiguas (Madera, 2020).

Esto le da la habilidad para alcanzar el sitio de infección a una concentración eficaz y mantenerse en concentraciones sobre la mínima necesaria para eliminar o inhibir el crecimiento bacteriano (CMI), también las propiedades farmacocinéticas como es la unión a proteínas plasmáticas, volumen de distribución aparente, metabolización etc. (Cornejo *et al.*, 2021).

- **Mecanismo de acción.** Las tetraciclinas son antibióticos de acción principalmente bacteriostática. Esta acción está mediada por una inhibición de la síntesis proteica bacteriana en el proceso de reproducción y crecimiento celular, al ligarse al ribosoma bacteriano 30S y evitar la llegada al complejo aminoacil ARNt al sitio receptor (A) en el complejo ARNm-ribosoma (Castillo *et al.*, 2017).

La resistencia se produce principalmente impidiendo la unión del antibiótico a la diana (Protección ribosomal) o mediante la expulsión del antibiótico al exterior de la célula por medio de bombas (achique o efflux), las cuales se encuentran en genes que se localizan normalmente en elementos móviles como plásmidos, transposones conjugativos e integrones, portadores de los genes de resistencia pueden transferirse a bacterias de la misma especie o de especies diferente mediante conjugación y transformación bacteriana, algunos de estos genes son; (*gene cassettes, tet* y *otr*) los que confieren resistencia a las tetraciclinas e incluso los integrones puede dar la resistencia a las bacterias a otros antibióticos (Jiménez *et al.*, 2020).

- **Farmacocinética:** Cuanto mayor es la liposolubilidad de una tetraciclina, mayor es su velocidad e índice de absorción, mayor será su unión a proteínas plasmáticas y más lenta su biotransformación, y como consecuencia,

más prolongada su semivida biológica (Tortora, 2016). Las vías de administración pueden ser vías parentales, las concentraciones máximas séricas depende de la dosis administrada con una unión a las proteínas del 20 – 65 %, se difunde ampliamente en todo los tejidos y líquidos por su gran liposolubilidad, con buena concentración en leche, con una semivida corta de 5-9 horas, se elimina por las heces (García *et al.*, 2022).

### **3.6. Antibióticos de la Familia Aminoglucósidos.**

#### **3.6.1. Estreptomicina**

La estreptomicina es el primer antibiótico descubierto perteneciente al grupo de los aminoglucósidos, se aisló por primer vez en 1943 del hongo *Streptomyces griseus* por Albert Schatz, Elizabeth Bugie y Selman Waksman, su importancia radica en ser el primer fármaco que se mostró activo contra la tuberculosis (García S. , 2021).

Es un antibiótico indicado en el tratamiento de las infecciones bacterianas de los animales domésticos, causadas por gérmenes sensibles a la estreptomicina. Actúa sobre bacterias Gram negativas y algunas Gram positivas, es recomendado para el tratamiento de mastitis por *E. coli* Entre los efectos adversos se encuentra la toxicidad renal y auditiva, se cree que el daño está asociado en parte a su lenta metabolización y su acumulación en la corteza renal (Tortora, 2016).

- **Mecanismo de acción:** su efecto bactericida reside en la inhibe la síntesis proteica bacteriana a nivel de subunidad 30S ribosomal. Para ser efectiva el ribosoma bacteriano debe estar realizando la lectura del RNA mensajero, la subunidad ribosomal 30S está conformado por 15 proteína, la cual la estreptomicina se una a la proteína 10, lo cual provoca errores de lectura, lo que finalmente perturba la proliferación proteica de la bacteria, ocasionando la muerte de esta (Cuenca, 2015).
- **Farmacocinética:** Se distribuye en plasma extracelular y en múltiples tejidos del organismo, exceptuando el cerebro; asimismo alcanza solo concentraciones muy bajas en líquido cefalorraquídeo (LCR o cerebroespinal) en

secreciones bronquiales y vaginales. La estreptomycinina no penetra bien al interior de las células, por lo que es un agente con efecto en contra de los bacilos exclusivamente extracelulares. Los niveles séricos se mantienen altos por más de 12 horas y su eliminación se da principalmente por vía renal-urinaria, observándose que entre el 50-60% de fármaco se elimina sin cambio alguno (Katzung, 2017).

### 3.6.2. Gentamicina

La Gentamicina es un antibacteriano bactericida perteneciente al grupo de los aminoglucósidos cuya acción antimicrobiana resulta de la actuación sobre la subunidad 30S de los ribosomas, impidiendo la síntesis proteica. Altera la fase de iniciación, perturbándose la ordenación del ARN mensajero y provocando una lectura incorrecta del código genético por el ARN de transferencia, transfiriendo proteínas con mala secuencia (Rodríguez, 2019).

- **Mecanismo de acción:** La Gentamicina se une a la subunidad S30 del ribosoma bacteriano, impidiendo la transcripción del DNA bacteriano y, por tanto, la síntesis de proteínas en los microorganismos susceptibles ocasionando la muerte por una transcripción inadecuada del DNA bacteriano (Vera *et al.*, 2020).
- **Farmacocinética:** Después de la administración intramuscular, la concentración máxima se alcanza a los 30-60 minutos. La distribución tisular es amplia, pasando a hígado, pulmón, endometrio y parénquima mamario; no alcanza el SNC ni la cámara ocular. Traspasa la barrera placentaria (Castillo *et al.*, 2017).

### 3.6.3. Neomicina.

La Neomicina es un antimicrobiano de la familia de los aminoglucósidos es producido por el *Streptomyces fradiae.*, aunque la biodisponibilidad después de la administración oral es pobre, es derivado de la 2-desoxiestreptamina, su efecto bactericida se debe a la inhibición de la síntesis proteica, activo frente a bacterias Gram negativas y Gram positiva, tales como; *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Salmonella spp.*, *Shigella spp.* (Hidalgo *et al.*, 2018).

- **Mecanismos de acción:** La Neomicina tiene una acción bactericida, inhibiendo la síntesis de proteínas bacterianas mediante su unión irreversible a la subunidad ribosómica 30 S de las bacterias susceptibles, de igual manera este antibiótico se transporta de forma activa a la célula bacteriana donde se une a receptores presentes en la subunidad ribosómica 30 S, esta unión interfiere con el complejo de iniciación entre el ARN mensajero y la subunidad 30 S, da como resultado la formación de proteínas anormales no funcionales, debido a la mala interpretación del ADN (Maymo, 2018).

### **3.7. Cultivo y Antibiograma.**

#### **3.7.1. Generalidades.**

El cultivo se hace en el medio adecuado y con la temperatura idónea, por lo que los gérmenes presentes en la leche se multiplican a las pocas horas en una proporción que llega a las 100.000 UFC, Las diversas bacterias muestran un crecimiento distinto por lo que pueden diferenciarse entre sí por su forma fenotípica y características visibles en el medio de cultivo (Bedolla *et al.*, 2017).

Existen medios tanto generales como específicos utilizados para el crecimiento e identificación de los microorganismos, en este caso en particular las bacterias. Si bien es cierto cada fabricante presenta en el producto sus recomendaciones que hay que tomarlas en cuenta, hay que considerar una preparación de medios de referencia que sigue cada laboratorio (Dueñas *et al.*, 2021).

#### **3.7.2. Antibiograma.**

El antibiograma consiste en medir la sensibilidad de una cepa bacteriana que se sospecha es la responsable de una infección a uno o varios antibióticos. Además, por medio del antibiograma se determina la evolución de las resistencias bacterianas.

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos es una de las funciones más importantes de los laboratorios, su realización se desarrolla mediante las pruebas de sensibilidad o antibiograma, cuyo principal objetivo es evaluar en el laboratorio de la respuesta de un microorganismo a uno o varios antibióticos (Nieves *et al.*, 2022).

El antibiograma define la actividad in vitro de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana, la farmacología del antimicrobiano, en particular en el lugar de la infección y los aspectos clínicos del paciente y su infección, los puntos de corte epidemiológicos (ECOFF) pueden estimarse empleando procedimientos estadísticos, son conceptualmente e invariables, no dependen de la dosis del antimicrobiano (Martínez & Porras, 2021).

Usualmente se utiliza el agar de Mueller-Hinton en las pruebas de sensibilidad de microorganismos aeróbicos de rápido crecimiento. Cuando se trata de estreptococos u otros microorganismos exigentes, se le añade al Mueller-Hinton, 5% de sangre desfibrinada (Bedolla *et al.*, 2017).

La selección de principios activos a probar dependerá de: la disponibilidad de productos comerciales en el mercado local, la legislación del país sobre uso de antibióticos, el tipo de microorganismo aislado, si es para vaca en lactancia o en el periodo seco y si se va a usar vía parenteral o vía intramamaria. En una caja de Agar de 100 mm de diámetro se pueden colocar seis discos (6 mm) como máximo (CLSI, 2020).

#### **3.7.2.1. Método de disco difusión.**

Este es un método cualitativo, que se caracteriza por ser fácilmente estandarizado y que está indicado para microorganismo no exigente de crecimiento rápido de una muestra clínica (Bonoso *et al.*, 2021).

Se debe realizar un cultivo puro para poder comenzar el estudio de la sensibilidad antibiótica, para esto se utiliza la técnica de aislamiento en placas que contenga un medio adecuado para la cepa en estudio, para la cual se deben otorgar las condiciones atmosféricas específicas de esa cepa, el antibiograma por disco difusión basado en el trabajo de Kirby-Bauer, es uno de los métodos que el CLSI recomienda para determinar la susceptibilidad antimicrobiana de bacteriana causantes de una enfermedad (Martínez & Porras, 2021).

El fundamento consiste en que el método de disco difusión deposite en la superficie de una placa de agar MH (Mueller-Hinton) previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnados con los diferentes

antibióticos, tan pronto el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas las 18 – 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición, esto en dependencia de la susceptibilidad del aislado (Mamani *et al.*, 2019).

Discos de antibiótico: los discos deben mantenerse en el freezer o en el refrigerador para que se mantenga la actividad del antibiótico, deben ser secados una o dos horas antes del uso. El patrón de turbidez para estandarizar la densidad del inóculo se usa una suspensión de sulfato de bario como estándar de turbidez que corresponde a un 0,5 de nefelómetro de McFarlan (Larrosa *et al.*, 2020).

La densidad se corrobora con un espectrofotómetro, luego de preparado el patrón de turbidez se distribuye en tubos de ensayos. Estos deben ser guardados a temperatura ambiente y proteger de la luz, lo cual esto corresponde a  $1.5 \times 10^8$  UFC/mL (Martínez & Porras, 2021).

### **3.7.2.2. Concentración mínima inhibitoria (CMI).**

Estos son métodos son para el estudio de la sensibilidad antibiótica; estos métodos pueden clasificarse en métodos cuantitativos y cualitativos, en los cuales los cuantitativos son aquellos procedimientos que permiten determinar la concentración inhibitoria mínima (CMI) y la concentración bactericida mínima (CBM) (Takako *et al.*, 2021).

La CMI, o concentración mínima inhibitoria, es la concentración más baja (en  $\mu\text{g/mL}$ ) de un antibiótico que inhibe el crecimiento de una determinada cepa bacteriana. Un método cuantitativo de prueba de sensibilidad, que ofrezca una CMI, ayuda a determinar qué clase de antibiótico es más eficaz. Esta información puede conducir a la elección adecuada de un antibiótico, lo que aumentará las probabilidades de éxito del tratamiento y ayudará en la lucha para frenar la resistencia a antibióticos (Katzung, 2017).

El valor crítico y el intervalo de dilución son distintos en función del fármaco y la especie bacteriana (véase la tabla de la página siguiente). Por tanto, la

comparación entre las CMI de diferentes antibióticos no debe basarse solo en el valor numérico, sino en la diferencia que hay entre la CMI y el valor crítico (Méndez *et al.*, 2019).

### 3.7.3. Punto Crítico de Resistencia Microbiológica (Punto de corte).

El punto de corte o punto crítico se define como la concentración más baja de antibiótico que inhibe la “población más sensible” (que carece de mecanismos de resistencia)” Pero no todas las cepas presentan la misma Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) aunque estén agrupadas en la representación gráfica. Por tanto, tácitamente se admite que la PCR<sub>M</sub> es la concentración que inhibe el 95% de las cepas del primer pico de la gráfica. El otro 5% serían dudosas (Morales *et al.*, 2020).

Los organismos se clasifican de acuerdo a su resistencia farmacológica como se describe a continuación:

- **Sensibles:** Cuando la concentración mínima inhibitoria de un antibiótico para una bacteria se puede conseguir in vivo con dosis terapéuticas.
- **Resistentes:** Cuando el microorganismo no es inhibido por las concentraciones que normalmente se pueden obtener en el sitio de la infección.
- **Intermedios:** Cuando las bacterias se inhiben con concentraciones que no se alcanzan con dosis habituales, pero que pueden alcanzarse con dosis más altas sin que sean tóxicas. **Fuente:** (Sánchez *et al.*, 2018).

## CAPITULO IV

### IV. MARCO METODOLÓGICO

#### 4.1. Ubicación de la investigación.

##### 4.1.1. Lugar de investigación.

La toma de muestras se la realizó en las fincas de los afiliados a la Cooperativa Agropecuaria “La Colina” y en el centro de acopio de leche cruda perteneciente a dicha entidad, ubicada en el recinto San Pedro en el noroccidente de la provincia de Pichincha y la fase de laboratorio se realizó en el laboratorio general, de la facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente perteneciente a la Universidad Estatal de Bolívar.

**Tabla 1** *Lugar de la investigación.*

<b>Fase de campo.</b>	
<b>País</b>	Ecuador
<b>Provincia</b>	Pichincha
<b>Cantón</b>	San Miguel de los Bancos
<b>Parroquia</b>	San Miguel de los Bancos
<b>Recinto</b>	San Pedro Km 18 Vía Los Bancos -Valle Hermoso
<b>Fase de laboratorio</b>	
<b>País</b>	Ecuador
<b>Provincia</b>	Bolívar
<b>Cantón</b>	Guaranda
<b>Sector</b>	Vía Guaranda – San Simón Km 1 ½

Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022).

#### 4.1.2. Situación geográfica.

**Tabla 2** Situación geográfica del lugar de la investigación.

Parámetros	San Miguel de los Bancos
Altitud	655 m.s.n.m.
Latitud	18.4855
Longitud	-69.8731
Temperatura máxima	30°C
Temperatura mínima	14°C
Temperatura media anual	22,9°C
Precipitación media anual	3000 a 4000 mm
Humedad relativa (%)	58% la mínima y 100% la máxima

**Fuente:** INAMHI (2019), Gad San Miguel de los Bancos (2021).

#### 4.1.3. Zona de vida

El cantón San Miguel de los Bancos está ubicado en el ecosistema de bosque nublado, bosque subtropical y bosque húmedo tropical (INEC, 2000).

De acuerdo con la sistematización de zonas de vida publicados por Leslie Holdridge, el cantón Guaranda corresponde a la formación Bosque Húmedo Montano Bajo (B.h.m.b) (Holdridge, 1967).

#### 4.2. Material experimental

- 51 cepas bacterianas aisladas.

##### 4.2.1. Material de oficina

- Computadora
- Papel bond tamaño A4
- Lápices, esferográficos y rotuladores

- Libreta de apuntes
- Cinta
- Tijeras

#### **4.2.2. Material de campo**

- Sogas
- Botas
- Overol
- Raqueta de examinación de fondo negro
- Papel periódico
- Pissetas
- Jeringa

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

- Estufa (Biobase, BOV-V30F, China)
- Balanza analítica (OHAUS, Scout Pro SP 2001, China)
- Incubadora (Mettler, Alemania)
- Cámara de flujo laminar (Biobase, BBS-H1800, China)
- Agitador vórtex (DLAB, MX-S, China)
- Microscopio eléctrico convencional (Amscope, USA)
- Centrífuga (BEILI CENTRIFUGE, DT5-6A (3), China)
- Microondas (Indurama, MWI-28VL, Ecuador).
- Micropipetas 10-100 ul. (DLAB, YM5D077650, China)
- Micropipetas 0.1-1 ul. (TOPSCIEN, S01N809, Germany)
- Tubos Vacutainer (Vacutec, Lot. 01610049, Ecuador)
- Refrigerador (Biobase, China)
- Cuenta Colonias (Amscope, USA)

#### **4.2.4. Material de laboratorio**

- Vasos de precipitación
- Probetas
- Cajas Petri.
- Balón de aforo
- Pipeta Pasteur
- Matraz Erlenmeyer
- Cinta Testigo.
- Papel aluminio.
- Papel Film de cocina
- Papel Craft.
- Tubos Eppendorf.
- Crioviales.
- Puntas para pipetas.
- Hisopos.
- Mechero
- Gradillas
- Tubos de ensayo
- Jarra de anaerobiosis
- Parafilm.

#### **4.2.5. Reactivos**

- Blood Agar Base sangre 500g (Difco, Lot.0237250, USA).
- Agar tripticasa soya 500g (Difco, Lot.1153604, USA).
- Sangre de oveja.
- Agar MacConkey 500g (Difco, Lot.9364856, USA).

- Agar Eosin Methylene Blue (EMB) 500g (Difco, Lot.0286056, USA).
- Agar Sal Manitol (REF: CM0085, LOT: 3289843).
- Agar Mueller Hinton 500g (Difco, LOT: 0294294, USA).
- Agar Triple Sugar Iron (TSI) 500g (Criterion Hardy, USA)
- Agar Citrato de Simon's 500g (Difco, Lot.9302976, USA).
- Clado MR-VP (Broth) 500g (Difco, Lot.0286583, USA).
- Agua peptona (Acumedia, Lot. 107596<sup>a</sup>, USA).
- Peróxido de hidrogeno (Iira, Ecuador)
- Tiras de oxidasa (OxiStrips, Lot.485435, USA)
- Kit de tinción de Gram.
- Plasma sanguíneo
- Reactivo de Kovac's (LABO CHEMIE, Lot. LM11071813, India).
- Rojo de Metilo (TM MEDIA, C.I.13020, India).
- Alfa Naftol 6%. (Novachen, Ecuador)
- Hidróxido de potasio (KOH) 40%
- Etanol 96%.
- Agua Destilada.
- Escala de turbidez McFarland 0.5 (USGS, USA)
- Discos de Penicilina G 10ug (BBL, Lot.0118222, USA)
- Discos de Gentamicina 10ug (BBL, Lot.1056694, USA)
- Discos de Neomicina 30ug (Bioanalyse, Lot.211111C, Turquía)
- Discos de Estreptomicina 10ug (Oxoid, Lot.3174305, Reino Unido)
- Disco de Cloxacilina 1µg (Bionalyse, Lot.210810N, Turquía)
- Discos de Cefalexina 30ug (Bioanalyse, Lot.210810N, Turquía)
- Discos de Oxitetraciclina 30ug (Oxoid, Lot.2990807, Reino Unido)

- Discos de antibióticos en blanco (Oxoid, Lot. 3337882, Reino Unido).
- Antibiótico Gentamicina 160 mg. (Farmionni, Lot. 1361199, Colombia).
- Antibiótico Cefalexina 500mg (Medigener, Colombia).
- Antibiótico Oxitetracilina 200mg (MK, lot.1R0712B, Colombia).
- Antibiótico Penicilina (Benzatina L-A, Ecuador).
- Antibiótico Neomicina (Medigener, Colombia).
- Antibiótico Estreptomicina (Medigener, Colombia).
- Antibiótico Cloxacilina (Wexford, Turquía)
- California Mastits Test 1000 mL. (Life, Lot.2101216, Ecuador)

### **4.3. METODOS**

#### **4.3.1. Factores en estudio**

Para el análisis de susceptibilidad de las bacterias aisladas de mastitis bovina frente a los antimicrobianos en estudio a las concentraciones propuestas, se tomó en consideración los diferentes factores.

##### **4.3.1.1. Factor A**

- A1= Patógeno aislado

##### **4.3.1.2. Factor B**

- B1= Penicilina
- B2= Cefalexina
- B3= Cloxacilina
- B4= Gentamicina
- B5= Neomicina
- B6= Estreptomicina
- B7= Oxitetraciclina

#### 4.3.2. Combinación de factores (tratamientos)

**Tabla 3** Descripción de factores

Tratamiento	Código del tratamiento	Descripción
1	a1b1	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Penicilina (5µg, 10µ y 30 µg)
2	a1b2	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Cefalexina (5µg, 10µ y 30 µg)
3	a1b3	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Cloxacilina (1 µg, 5µ y 10µg)
4	a1b4	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Gentamicina (5µg, 10µ y 30 µg)
5	a1b5	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Neomicina (5µg, 10µ y 30 µg)
6	a1b6	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Estreptomicina (5µg, 10µ y 30 µg)
7	a1b7	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Oxitetraciclina (5µg, 10µ y 30 µg)

**Experimental:** Mazón & Mazón, (2022)

#### 4.3.3. Tratamientos

**Tabla 4** Subdivisión de los tratamientos planteados en la investigación.

Tratamiento	Descripción
T1	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Penicilina (5µg, 10µ y 30 µg)
T2	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Cefalexina (5µg, 10µ y 30 µg)
T3	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Cloxacilina (1 µg, 5µ y 10µg)
T4	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Gentamicina (5µg, 10µ y 30 µg)
T5	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Neomicina (5µg, 10µ y 30 µg)
T6	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Estreptomicina (5µg, 10µ y 30 µg)
T7	Patógeno aislado + Disco antibiótico de Oxitetraciclina (5µg, 10µ y 30 µg)

**Experimental:** Mazón & Mazón, (2022).

#### 4.3.4. Tipo de Diseño.

Para la presente investigación se utilizó el siguiente modelo estadístico y diseño experimental:

- Diseño de Bloques Completamente al Azar (DBCA), con el siguiente modelo matemático:  $Y_{ij} = \mu + Y_{BLOQUES} + t_i + t_j + \epsilon_{ij}$ .
- Prueba de Tukey al 5%, cómo comparativa de las medias de los tratamientos

#### 4.3.4.1. Características numéricas del diseño.

*Tabla 5 Características numéricas del diseño.*

<b>Número de tratamientos (7) x (3 concentraciones)</b>	21
<b>Número de repeticiones</b>	51
<b>Tamaño de la unidad experimental</b>	100 g
<b>Número de aislados totales</b>	51
<b>Número total de análisis</b>	1071

**Experimental:** Mazón & Mazón, (2022).

#### 4.3.4.2. Análisis de varianza (ADEVA).

*Tabla 6 Análisis de varianza (ADEVA).*

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Grados de libertad</b>
<b>Total (t*r)-1</b>	1070
<b>Tratamientos (Tto - 1)</b>	20
<b>Bloque (Repeticiones - 1)</b>	50
<b>Error Experimental (GI total - GI Tto)</b>	1050

**Experimental:** Mazón & Mazón, (2022).

#### **4.3.5. Datos tomados.**

##### **4.3.5.1. Prevalencia de la mastitis.**

La prevalencia se determinó mediante el registro de animales positivos a mastitis del número total de animales de un lote en cuestión, para lo cual se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Prevalencia} = \frac{\text{Número de casos afectados por la enfermedad}}{\text{Número total de la población}} \times 100$$

**Fuente:** Alvarado *et al.* (2019).

##### **4.3.5.2. Variables Antimicrobianas**

###### **4.3.5.2.1. Sensibilidad.**

Es la incapacidad de un agente patógeno de resistir al mecanismo de acción de un fármaco a una concentración determinada. Es una variable de tipo independiente y se mide en base los halos de inhibición (mm), para el establecimiento de los criterios de susceptibilidad se toma en cuenta las guías (CLSI, 2020), el documento (VET01S, 2020) y (EUCAST, 2022), los cuales indican por medio de los puntos de corte si las especies bacterianas aisladas en esa zona agroecológica específica son susceptibles o resistentes (Larrosa *et al.*, 2020).

###### **4.3.5.2.2. Resistencia**

Es una herramienta facultativa que tienen ciertos patógenos de soportar el mecanismo de acción de un fármaco (antibiótico) evitando así que este pueda inhibir su crecimiento o multiplicación o a su vez eliminarlo. Es de tipo independiente y se mide el halo de inhibición (mm), para ello se basó en los puntos de corte establecidos por la CLSI y EUCAST, ya que permitirá determinar si el aislados de esa zona agroecológica es resiste a los antibióticos en estudio. (Bautista *et al.*, 2018)

###### **4.3.5.2.3. Concentración del fármaco**

Es la cantidad requerida del fármaco en estudio, impregnada en un disco de papel filtro de celulosa. Considerada una variable de tipo dependiente utilizada para la medición de las concentraciones mínimas requeridas para inhibir el crecimiento de

una cepa bacteriana (CMI), en este contexto, para la investigación se plantearon 3 concentraciones: 5 µg, 10 µg y 30 µg.

#### 4.3.5.3. Variables de la identificación bacteriana.

##### 4.3.5.3.1. Pruebas Bioquímicas.

En la presente investigación se confirmó las bacterias causantes de la mastitis por medio de pruebas bioquímicas, en donde se pudo determinar el género y las especies involucradas, para ello se clasificó tanto para las Gram + como para las Gram -, conforme los siguientes métodos (tablas 8 y 9):

**Tabla 7** Perfiles bioquímicos de identificación de bacterias Gram negativas aisladas de mastitis bovina.

<b>Prueba</b> <b>Aislados</b>	Fer. Lac (+/-)	Cata. (+/-)	Oxidasa (+/-)	Indol (+/-)	Rojo M. (+/-)	V. P. (+/-)	Citr. (+/-)	TSI. (++) (--)
<i>E. coli.</i>	+	-	-	+	+	-	-	-/+
<i>Klepsiella spp.</i>	+		-	-/+	-V	+	+	-/+
<i>Citrobacter spp.</i>	+V	+	-	-	+	-	+V	+/+

**Fuente:** Tiller, (2017) / V. P.: Voges Proskauer. TSI: Triple Sugar Iron V: variable.

**Tabla 8** Perfiles bioquímicos de identificación para bacterias Gram positivas aisladas de mastitis bovina.

<b>Prueba</b> <b>Aislados</b>	Coagulase (+/-)	Catalasa (+/-)	Oxidasa (+/-)	Fermentación del manitol.	Patrón de Hemolisis
<i>S. aureus.</i>	+	+	-	+	Beta
<i>Bacillus spp.</i>	-	+	-/+	-V	Beta
<i>Staphylococcus spp</i>	-	+	+	V	V

**Fuente:** Tiller, (2017).

#### **4.3.6. Procedimiento.**

##### **4.3.6.1. Estimación de la presencia de mastitis en leche mediante la utilización de CMT (California Mastitis Test) en campo y el conteo de bacterias totales (CBT) del tanque de almacenamiento de la leche en estudio como métodos diagnósticos.**

Se realizó la exploración física de cada uno de los animales al momento del ordeño, para determinar de signología patológica específica a nivel del sistema mamario, buscando alteraciones físicas en la leche y anatómicas a nivel de ubre, para posteriormente aplicar el CMT (California Mastitis Test) que nos permitan discernir entre aquellos animales que padecen mastitis de los sanos. Este método se fundamenta en predecir relativamente el número de células somáticas.

El CMT (California Mastitis Test) es un detergente con un indicador de pH, este permite romper las paredes externas de cualquier célula, procediendo a la agrupación proteica y gelificación formando una solución viscosa, metodológicamente esta operación consiste en aplicar el CMT a una relación de 2:1, 2 mL de leche y uno de reactivo CMT (Balemi *et al.*, 2021).

Para ello se realizó el procedimiento descrito por Maldonado *et al.* (2022)

- Limpieza en seco de los pezones
- Desinfección de los pezones (Solución yodada 10%)
- Secado de los pezones con papel periódico
- Despuntado y descarte de los primeros chorros de leche
- Colecta de 1 a 2 mL de leche en los pocillos de la raqueta de examinación
- Colocación de 2 a 4 mL de reactivo CMT (California Mastitis Test)
- Se realiza movimientos circulares de la solución y se espera 2 min.
- Evaluación del grado de gelificación de la muestra
- Registro de los resultados.

El conteo de bacterias totales (CBT), se analizó del tanque de enfriamiento donde se almacena la leche a 8°C y del tanque del carro recolector la cual se encontraba a temperatura ambiente.

Este análisis permite determinar la cantidad de bacterias mesófilas presentes en la leche cruda, el ensayo fue realizado mediante citometría de flujo, la cual se fundamenta básicamente para establecer la calidad microbiológica o determinando el número de UFC/mL de leche cruda a través del conteo individual de bacterias (IBC/mL.) este método diagnóstico proporciona información general de la calidad higiénica del producto además de las condiciones del proceso de obtención de esta, se basa en la dispersión de luz y fluorescencia de una marcador de ADN bacterial. (Contero *et al.*, 2021).

Este ensayo fue estipulado por la normativa ISO 16297 IDF 161/2013 (LCL-PE-03 para CBT) en el laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana ubicada en la ciudad de Cayambe, Ecuador, para esta determinación se realizó mediante el protocolo sugerido por Contero *et al.*, (2019).

- Obtención de envases estériles de 20 mL + comprimido de azidiol
- Colecta de la muestra (20 mL) de leche del tanque refrigerado a 8°C
- Colecta de la muestra (20mL) de leche del tanque del carro colector
- Etiquetado y codificación de la muestra tomada
- Transporte de la muestra al laboratorio de la UPS
- Proceso y registro de los resultados obtenidos mediante citometría de flujo

#### **4.3.6.2. Establecimiento de la tasa de prevalencia de mastitis en las fincas de los afiliados a la cooperativa.**

En la presente investigación se determinó la prevalencia de la mastitis siendo esta un concepto estadístico usado en epidemiología, para planificar la política sanitaria de un establecimiento lechero y saber la casuística de una patología. (Avellán *et al.*, 2019). La prevalencia se determinó mediante el registro de animales positivos a mastitis del número total de animales de un lote en cuestión.

#### **4.3.6.3. Aislar patógenos nocivos a partir de leche de vacas positivas para mastitis bovina.**

En este plan de trabajo se dividió en dos partes de la investigación, una que consiste en el aislamiento (Obtención de bacterias) y otra en la identificación bacteriana.

##### **➤ Aislamiento bacteriano.**

- Consecuentemente, después de haber identificado una vaca con mastitis clínica o subclínica, se recolectó una muestra del cuarto afectado, esto solamente de aquellas vacas que no han recibido un tratamiento antibiótico intramamario o sistémicos, iniciando con la desinfección del pezón con alcohol etílico al 70%, posteriormente se realizó el despunto y descarte de los dos primeros chorros de leche de cada cuarto, y, consiguientemente se tomó una muestra de leche en un tubo de ensayo, preferiblemente que este sea de tipo cónico de tapa rosca, se etiquetó con el número de identificación del animal y el cuarto de donde fue extraída la muestra y se guarda en un cooler de refrigeración a una temperatura de 4 a 8 °C (National Mastitis Council, 2017).
- Posteriormente se analizó la muestra en el laboratorio, donde se inició llenando las hojas de registro, anotando el código de identificación que etiquetan la muestra para poder saber la procedencia y trazabilidad a la hora de emitir los resultados que se obtuvieron.
- Imprescindiblemente primero se enriqueció el sustrato en donde se encuentran suspendidos los microorganismos, para ello se debe preparar un volumen determinado de agua peptona (**Acumedia, Lot. 107596<sup>a</sup>, USA**) el cual estará en dependencia del número de muestras a analizar, para ello se suspendió 11 gramos del sustrato en polvo en un litro de agua destilada, se siguió las recomendaciones dadas por el fabricante para la preparación completa del caldo, posteriormente, trascurrido este procedimiento se procedió a pipetear 9 mL para el empaque del caldo en tubo de tapa rosca, y se dejó enfriar hasta que la temperatura disminuya a los 40°C, adicionalmente se pipetió 1 mL de leche dando la relación final de 9:1; es decir 9 mL de agua peptona y 1 mL de leche positiva a mastitis, se procedió a incubar, por un periodo de 24 horas a 37°C.

- Transcurrido el tiempo necesario de incubación, a continuación, se realizó la siembra con las muestras que fueron previamente enriquecidas, para lo cual se tomó 100 µL de la muestra enriquecido y se agregó a los medios de cultivos. En el contexto de la investigación se trabajó con el agar MacConkey (**Difco, Lot.9364856, USA**) para el aislamiento de bacterias Gram negativas y para aislar Gram positivos el agar base sangre (**Difco, Lot.0237250, USA**) con el adicionamiento del 5% de sangre de oveja.

- Como siguiente, paso se procedió al duplicado y triplicado del cultivo inicial, con el fin de establecer la purificación o separación de la cepa bacteriana que causa la mastitis, se realizó con la ayuda de la técnica de triple estriado. La siembra por estría permite aislar las bacterias que dan lugar a colonias separadas que posteriormente permiten la transferencia a medios de cultivo nuevos, esto para la obtención del crecimiento bacteriano de una sola cepa en un medio de cultivo (Tille, 2017).

- Posterior a este procedimiento de inoculación del medio de cultivo presente en la caja Petri, se procedió a someter a un periodo de incubación durante 24 horas a una temperatura de 37°C, esto para favorecer el crecimiento de un solo género y especie bacteriana.

- Una vez que se aislaron los patógenos causantes de mastitis bovina, se pudo obtener colonias bacterianas de características fenotípicas uniformes y específicas de un agente bacteriano en cuestión, para su posterior identificación mediante pruebas bioquímicas poniendo en manifiesto una ruta metabólica determinada para cada microorganismo, permitiendo así crear un perfil de identificación.

- **Identificación de la bacteria**

Para el procedimiento de identificación de las bacterias causantes de mastitis, se tuvo en cuenta las rutas metabólicas de nutrición bacteriana y fermentación de azúcares a más de los indicadores colorimétricos y de crecimiento homogéneo presentes en cada medio selectivo y diferencial, aspectos morfológicos y fenotípicos de las bacterias en estudio.

De manera práctica para discernir en la identificación de bacterias Gram negativos se usó el agar MacConkey (**Difco, Lot.9364856, USA**) y el agar Eosin Methylene Blue (EMB) (**Difco, Lot.0286056, USA**).

Para la identificación de las bacterias Gram positivos como el *Staphylococcus aureus* se utilizó el agar Sal Manitol (**Oxoid, REF: CM0085, LOT: 3289843, Reino Unido**) y agar Tripticasa Soja (**Difco, Lot.1153604, USA**), los cuales resultaron ser una herramienta imprescindible que estimulo el crecimiento selectivo de un género específico de bacteria, para así tener en primera instancia un criterio de reconocimiento bacteriano y usar eficazmente los recursos para su consecuente identificación.

○ **Pruebas Bioquímicas.**

▪ **Pruebas IMVIC**

Es una serie de pruebas que agrupa las determinaciones de: Indol, Rojo metilo, Voges-Poskauer (VP) y la fermentación de Citrato.

▪ Ya obtenidos los cultivos bacterianos, se procedió a la preparación de los medios específicos para la elaboración de estas pruebas, que consistió en la utilización de agua peptonada (**Acumedia, Lot. 107596<sup>a</sup>, USA**), caldo MR-vP (**Difco, Lot.0286583, USA**), y Agar citrato de Simon's (**Difco, Lot.9302976, USA**). Los procedimientos de preparación y empaquetado de estos medios se realizaron según las recomendaciones del fabricante. Donde posteriormente se procedió a verter 5 mL en tubos de ensayo de 15 ml, en el siguiente orden:

- Tubo con 5 mL de agua peptona para la prueba de indol.
- Tubo con 5 mL de caldo MR-vP para la prueba Rojo de metilo.
- Tubo con 5 mL de caldo MR-vP para la prueba de Voges-Proskauer.
- Tubo con 5 mL de agar citrato de Simon's inclinado.

Se procedió a la inoculación de los medios de cultivo antes mencionados para la determinación IMVIC, objetivamente se consideró para esto un cultivo previamente incubado a 37° C durante 24 horas.

- Posteriormente se inició a empacar en recipientes reservorios con gotero los siguientes reactivos: Reactivo de Kovac's (**LABO CHEMIE, Lot. LM11071813, India**), Rojo de Metilo (**TM MEDIA, C.I.13020, India**) y Alfa Naftol 6%. (**Novachen, Ecuador**).
- **Indol:** para esta prueba se utilizó el reactivo de Kovacs (**LABO CHEMIE, Lot. LM11071813, India**) a una proporción de 5 gotas en el primer tubo que contiene agua peptona con una suspensión bacteriana. Al añadir el reactivo dentro de 20 minutos se puede observar la reacción en el tubo donde se forma un anillo de color rojo [positivo (+)], mientras que un anillo de color amarillo es [negativo (-)]. Estrictamente debido a que la bacteria inoculada previamente transforma la triptofanasa en piruvato e indol (Fernandez, 2021).
- **Rojo metilo:** para esta prueba se utilizó el reactivo rojo de metilo 0.1 gramos (**TM MEDIA, C.I.13020, India**) los cuales se diluyeron en 1500 ml de metanol 96%, finalmente se aplicaron 5 gotas en el segundo tubo que contiene una suspensión bacteriana en caldo MR-vP (**Difco, Lot.0286583, USA**), dentro de unos minutos se observó la reacción de fermentación ácido mixta produciendo ácidos (acético y fórmico), siendo considerado como positivo (+) la presentación de una coloración roja del medio debido a la bajada de pH, mientras que una coloración amarilla o ningún cambio es negativa (-) (Lopez & Pérez, 2019).
- **Voges-Proskauer:** para esta prueba se utilizó los siguientes reactivos; Alfa naftol 6%. (**Novachen, Ecuador**) e hidróxido de potasio (KOH 40%), siguiendo la cronología de los tubo antes mencionados, para esta prueba es tomó el tercer tubo que contiene caldo MR-vP con una suspensión bacteriana y se le añadió 5 gotas de alfa naftol 6%, más 5 gotas de KOH 40%, posteriormente se dejó reposar por 20 minutos para observar la siguiente reacción; detectando la presencia de un precursor del butanodiol que es la acetoína, la cual en presencia del oxígeno se oxida a diacetilo, esta reacción provoca un coloración roja [positivo (+)] al interactuar con los restos guanidínicos de algunos aminoácidos de la peptona del medio, mientras que una coloración amarilla o ninguna es [negativo (-)] (Bauzad *et al.*, 2019).
- **Citrato:** está prueba se fundamentó en la utilización del agar citrato de Simon's (**Difco, Lot.9302976, USA**), donde se colocó 5 mL del medio en un tubo

de tapa rosca y luego se inclinó el tubo aproximadamente a 30°, posteriormente a ello cuando el medio se ha solidificado se sembró la bacteria en la superficie y se incubó por 24 horas a 37 °C (Kusumawaii *et al.*, 2020).

El piruvato puede entonces entrar en el ciclo metabólico del organismo para la producción de energía bacteriana en forma de ATPasa, el principio de este ensayo es poder identificar las bacterias que usan el citrato y lo convierten en fosfato de amonio y amoníaco e hidróxido de amonio, cambiando el pH alcalino, de color azul considerado como [positivo (+)] y verde como [negativo (-)] (Joseph & Kalyanikutty, 2022).

- **Prueba de Triple Sugar Iron (TSI)**

Retóricamente al igual que el anterior ensayo consiste en determinar la expresión de una o más rutas metabólicas de las bacterias, para ello se procedió a la preparación del agar Triple Sugar Iron (TSI) (**Criterion, Lot:488618, USA**), se utilizó la cantidad de 5 mL en tubos de ensayo de tapa rosca, se dejó gelificar en forma inclinada a 30°, esta prueba se caracteriza por que el medio debe ser picado en el fondo y sembrado en la superficie (Masi *et al.*, 2021).

- Una vez realizada la siembra se procedió a incubar durante 24 horas a 37 ° C, para poder determinar las siguientes reacciones:

- a) Parte central ácido (amarillo): glucosa fermentada, Bisel ácido (amarilla): lactosa y/o sacarosa fermentada.

- b) Parte central ácido (amarilla) glucosa fermentada, bisel alcalino (rojo) lactosa y/o sacarosa no fermentada.

- c) Parte central alcalino (rojo) y bisel alcalino (rojo): ninguna de las pruebas glúcidos es fermentada.

- d) La aparición de burbujas en la parte central indica que produce gas.

- e) La apariencia de un color negro en el medio indica la producción de ácido sulfhídrico y sumado a esto, se evidencia un característico olor alcantarilla, ya que el tiosulfato de sodio es el sustrato para la producción de ácido sulfhídrico.

**Fuente:** Chauhan & Jindal. (2020).

- **Oxidasa**

Para esta prueba se utilizó una placa de cultivo previamente incubado por 24 horas a 37 ° C, donde se tomó el inóculo (una asada del cultivo) y se colocó sobre las tiras de oxidasa, después de unos minutos observaremos la reacción:

se tiñe de color púrpura oscuro, la cual es considerado como positivo (+), ningún cambio en la coloración indica una prueba negativa (-).

- **Catalasa**

En esta prueba se utilizó el reactivo peróxido de hidrógeno al 3%, lo que consistió en tomar una colonia bacteriana con el asa previamente esterilizada y ponerla sobre un portaobjeto, posteriormente se le añade unas gotas de peróxido de hidrógeno y se espera la reacción (Derdak *et al.*, 2021).

La reacción de la prueba se observa una reacción burbujeante en el portaobjeto se considera positiva (+), y la falta de catalasa es la debilidad de la burbuja siendo esta negativa (-) (Wu *et al.*, 2020).

- **Coagulasa**

Esta prueba es específica para la identificación de *Staphylococcus aureus*, ya que es el único capaz de producir un coagulo a partir del plasma, por lo tanto, a continuación, se detalla el procedimiento de la prueba (Bano *et al.*, 2020).

Se recolectó sangre de conejo en tubos Vacuntainer tapa lila que contiene anticoagulante (EDTA), posteriormente se dejó reposar por 30 minutos la muestra, a continuación, se llevó a la centrifuga, donde se centrifugó por 5 minutos a 3000 rpm (Ravahatra *et al.*, 2019).

Posterior a eso con la ayuda de la micropipeta se recolectó todo el plasma que se logró obtener de las muestras de sangre, para ello se vertió en tubos Eppendorf 0.5 mL de plasma, posteriormente se realizó la suspensión de la bacteria que se sospecha que es *S. aureus*.

- Se sometió a incubación por un periodo de tiempo de 4 a 6 horas a 37 °C, observándose la siguiente reacción:

El *Staphylococcus aureus* tiene dos tipos de coagulasa (libre y unida), la coagulasa libre es una enzima extracelular producida cuando se cultiva el organismo en caldo y la coagulasa unida conocida como factor de aglutinación que permanece fijada a la pared celular del organismo provocando la formación del coagulo (Abdeen *et al.*, 2021).

Interpretativamente es considerada como positiva (+) siempre y cuando en el fondo del tubo se observó la formación del coagulo, mientras que la ausencia del coagulo en el fondo es negativo (-) (Yildirim *et al.*, 2019).

- **Tinción de Gram de las cepas bacteriana.**

La tinción de Gram es una técnica que permite la identificación temprana y definitiva de los microorganismos, se define como una tinción diferencial ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas y Gram positivas, basados en las características de la pared celular (Guzñay, 2021).

A continuación, se detalla el procedimiento:

- Se suspendió el inóculo bacteriano en una gota de agua destilada, sobre el portaobjeto, la cual se fijó con la ayuda del mechero.
- Se procedió a la colocación de unas gotas de violeta Genciana y se dejó en reposo durante de un minuto.
- Trascurrido el minuto, se le añadió unas gotas de Lugol, el cual también se espera su fijación por un lapso de un minuto.
- Se lavó el sobrenadante con la ayuda de una piseta, a continuación, se colocó unas gotas de alcohol cetona por un tiempo de 30 segundos y finalmente se volvió a lavar.
- Después se colocó unas gotas de safranina sobre la superficie fijada, se dejó actuar durante 3 minutos y finalmente se lavó el sobrenadante.
- Finalmente, se procedió a secar y colocar una gota de aceite de inmersión para su posterior observación al microscopio (objetivo 100X).

- **Preservación de cepas bacterianas.**

La preservación de los aislados se realizó con la utilización del medio MR-vP (Broth) mas 10 %, de Glicerol, dicha solución aporta los nutrientes necesarios para mantener las funciones vitales bacterianas ralentizadas más un estabilizador de membrana que confiere la capacidad de soportar bajas temperaturas sin provocar la formación de cristales en la membrana bacteriana y el citosol (Espín, 2021).

Para ello a continuación se detalla el procedimiento utilizado:

- Se realizó el medio en caldo MR-vP, según las instrucciones del fabricante.
- Posteriormente, se añadió el 10 % de glicerina al caldo preparado y se hace la mezcla hasta homogenizar la solución.
- A continuación, se vertió 1 mL de dicha solución en tubos Eppendorf.
- Con la ayuda de un asa de siembra se colectó la mayor cantidad de colonias y se suspendieron en los tubos Eppendorf con la solución de caldo + glicerina.
- Finalmente, se rotuló con el código único correspondiente a la cepa identificada y se colocó en una caja cepario.

#### **4.3.6.4. Determinación de la actividad antimicrobiana de los fármacos en estudio, contra patógenos aislados de muestras positivas para mastitis bovina.**

El antibiograma es una técnica de estudio in vitro de la actividad de los antimicrobianos sobre un microorganismo determinado (Abd El-Aziz *et al.*, 2021)

La actividad antimicrobiana se realizó por el método de Kirby-Bauer, difusión de disco de antibiótico a las concentraciones propuestas en la investigación (1µg, 5µg, 10µg y 30µg) para lo cual mediante la escala de Mcfarlan 0.5 (USGS, USA) se inocularon las placas, luego sometieron a incubación por un periodo de 24 horas a 37° C posteriormente se midió el halo de inhibición del crecimiento bacteriano y se establece la susceptibilidad a los antibióticos (CLSI, 2020).

- Se suspendió 1.5 UFC/mL de agua destilada estéril lo cual se compara con la escala de turbidez McFarland 0.5 (USGS, USA) utilizada para el análisis, con el fin de evitar interacciones debido a la sobrepoblación bacteriana y el mecanismo de

acción de los discos de inhibición a una concentración determinada.

- Posteriormente, con la ayuda de un hisopo estéril se impregnó en el medio de cultivo en cuatro direcciones distintas que permita una buena difusión del microorganismo en la superficie del medio.
- A continuación, se depositó los discos de papel filtro con los antibióticos a las concentraciones en estudio debidamente separados para evitar interacciones entre ellos.
- Finalmente se colocó el código único de registro y es sellada la caja Petri con parafilm esto con el fin de evitar que ingresen agentes contaminantes o a su vez salgan del medio donde se inocularon con su respectivo código.

El antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas las 18 – 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición (Schabauer, Zutz, Lung, Wagner, & Rychli, 2018).

#### **4.3.6.5. Estimación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los fármacos en estudio.**

La CMI, o concentración mínima inhibitoria, es la concentración más baja (en µg/ml) de un antibiótico, ayuda a determinar la mínima concentración del antibiótico que se requiere para inhibir el crecimiento bacteriano. Esta información puede conducir a la elección adecuada de un antibiótico, lo que aumentará las probabilidades de éxito del tratamiento (Katzung, 2017).

Para llegar a las concentraciones en estudio (5 µg, 10 µg y 30µg) se trabajó, con discos comerciales (**Oxoid, Reino Unido**), y las concentraciones de los antibióticos no existentes de manera comercial se procedió a realizar microdilución de medicamentos comerciales, para llegar a la concentración deseada se realizó mediante el despeje de la fórmula:

$$V1 = \frac{C2 V2}{C1}$$

Donde:

V1: Volumen que se requiere.

V2: Volumen de escala.

C1: concentración inicial del producto a diluir.

C2: concentración requerida para el estudio.

- Se procedió a esterilizar todos los equipos utilizados, como vasos de precipitación de medidas exactas, micropipetas, puntas de micropipetas, matraz, tubos eppendorf, etc.
- Con la ayuda de una jeringa de 3 mL. se realizó la extracción del antibiótico, la cual fue colocada en un vaso de precipitación el cual contenía agua destilada estéril para su posterior envase con la cantidad necesaria para llegar a la concentración establecida.
- Los discos de antibiótico en blanco se sumergieron en la dilución establecida por lapso de 5 minutos, hasta lograr una impregnación completa del disco, para su colocación es necesario escurrir el excedente que pueda llevar el disco.
- Finalmente, se repitió el procedimiento que se realizó para la actividad antimicrobiana con las pautas establecidas por el método de Kirby-Bauer, se procedió a incubación por un periodo de 24 horas a 37°C.
- Posteriormente se toma la medida del diámetro de los halos con la ayuda del calibrador de vernier, desde los extremos pasando por el centro del disco en estudio. desde los extremos pasando por el centro del disco en estudio.

#### **4.3.6.6. Interpretación de datos.**

Los datos recolectados durante la investigación fueron tabulados y interpretados con la ayuda del paquete estadístico (*SAS 9.4*) este permitió determinar el efecto del tratamiento sobre las unidades experimentales, además de poder obtener la comparación de medias Tukey al 5% de las medidas obtenidas de los halos de inhibición conferidas por la interacción del fármaco en estudio con cada una de las especies bacterianas en cuestión.

## CAPITULO V.

### V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

#### 5.1. Determinación de mastitis mediante la prueba de California Mastitis Test (CMT).

*Tabla 9 Casuística de la mastitis en los predios*

Predio	Tipo de Ordeño	Mastitis	
		Si	No
Predio #1	Manual	2	9
Predio # 2	Manual	4	11
Predio #3	Manual	11	15
Predio #4	Mecánico	3	7
Predio # 5	Mecánico	16	24
Predio #6	Manual	10	12
Predio #7	Manual	4	8
<b>Número total de vacas</b>			<b>136</b>

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Análisis:** En la tabla 10 podemos ver un estratificado de la casuística de la mastitis bovina en los predios de los afiliados a la cooperativa y el sistema de ordeño que utiliza cada uno de ellos, siendo el predio#5 el que presentó la mayor cantidad de animales con mastitis, con 16 vacas positivas y 24 vacas negativas, las cuales se ordeñan mecánicamente, mientras que el predio# 1 presentó los menores casos de mastitis con 2 vacas positivas y 9 vacas negativas, siendo estas ordeñadas manualmente.

**Discusión:** Según Domínguez, (2018) nos refiere que más del 49 % de las vacas presenta mastitis subclínica en un hato lechero, infiriendo que la casuística de mastitis por predio en la presente investigación está dentro de lo referenciado anteriormente.

## 5.2. Conteo de bacterias totales (CBT) como métodos diagnósticos.

En la presente investigación objetivamente se realizó el ensayo de conteo de bacterias totales por mL de leche proveniente del tanque refrigerado, este método diagnóstico permite determinar la calidad higiénica de la leche, establecida en la normativa ISO 16297 IDF 161/2013 (LCL-PE-03 para CBT) (ISO 16297 , 2013).

Este ensayo se realizó en el laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana del Ecuador, ubicado en la ciudad de Cayambe.

**Tabla 10** Resultados del CBT de leche pre-almacenada y refrigerada en tanque.

Concepto	CBT (UFCx1000/ml)
Tanque#1 pre-Almacenamiento.	5.771
Tanque#2 pre-Almacenamiento.	5.447
Tanque#3 pre-Almacenamiento.	5.319
Tanque#1 enfriamiento.	2.701
Tanque#2 enfriamiento.	2.830
Tanque#3 enfriamiento.	2.760
Observación.	300* Según el reglamento o normativa 394.

**Fuente:** (laboratorio de Calidad de Leche, 2022).

**Análisis:** En la tabla 11 podemos ver los valores del conteo de bacterias totales (CBT) de los tanques de almacenamiento lácteo de la cooperativa, encontrando que antes del proceso de enfriamiento de la leche los valores se encontraron superiores a los 5 millones UFC/mL, mientras que después de haber transcurrido un lapso de 2 horas y la temperatura de la leche haya disminuido (4°C) los valores de CBT se encontraron por debajo de los 2.8 millones de UFC/mL, concluyendo que el nivel de contaminación microbiológica es superior al permitido por la normativa, además de que estos resultados no intervienen sobre los hallazgos evidenciados en los cultivos a nivel de laboratorio ya que la leche está sujeta al riesgo de contaminación debido al transporte y manipulación.

**Discusión:** Sah y col. (2018), mencionan que la leche de alta calidad es definida como un alimento de sabor agradable, sin olores, de adecuada composición química, libre de agente patógenos con recuentos bajos de bacterias y compuestos contaminantes. Sin embargo, en el ensayo realizado en la investigación, la leche sometida al CBT presentó una población considerablemente alta de UFC/mL desde la llegada hasta el enfriamiento del contenido. Según MAGAP, (2008) en el acuerdo ministerial 394 estipula que la calidad microbiológica debe tener rangos máximos de 300 mil UFC/mL, así mismo menciona que el precio del litro de leche cruda no se ve influenciado por la composición u otros parámetros.

### 5.3. Determinación de la prevalencia de mastitis de las fincas.

En la presente investigación se determinó los resultados obtenidos de los casos que fueron considerados como positivos a mastitis concluyendo en la determinación del porcentaje de prevalencia de la enfermedad con la ayuda del CMT.

**Tabla 11** *Frecuencia y porcentajes de la prevalencia de mastitis.*

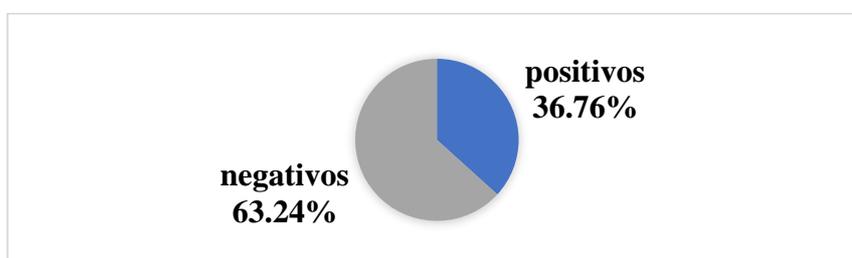
<b>Población de muestras obtenidas en las explotaciones ganaderas.</b>			
<b>Número de explotación</b>	<b>Población total de vacas/ Frec.</b>	<b>Vacas positivas/ Frec.</b>	<b>Tasa de prevalencia (%).</b>
Predio #1.	11	2	18.2
Predio # 2.	15	4	26.6
Predio # 3.	26	11	42.30
Predio # 4.	10	3	30
Predio # 5.	40	16	40
Predio # 6.	22	10	45
Predio # 7.	12	4	33.3
<b>Sumatoria total</b>	<b>136</b>	<b>50</b>	<b>36.76</b>

**Elaborado por:** Mazón & Mazón (2022).

**Análisis:** Según los resultados obtenidos mediante la aplicación de CMT (California Mastitis Test) como método diagnóstico, la tabla #12, expresa la tasa de prevalencia de mastitis es de un 36.76 % de un número total de 136 animales testados, considerándose 50 animales como positivos, además se evidenció que el predio número 6 tiene un mayor porcentaje de prevalencia con 45% de casos, mientras tanto el predio número 1 es el que tiene menor prevalencia con el 18.2% de ocurrencia.

**Discusión:** Según Avellan *et al.* (2019), en su investigación encontró una tasa de prevalencia de mastitis bovina del 38.57%, también Sánchez, (2014) en su investigación en la determinación de mastitis bovina mediante aplicación de CMT (California Mastitis Test) en el Chaupi - Cayambe presentó una prevalencia del 35.48 % en sistemas lecheros, siendo estos datos similares a los obtenidos en la presente investigación, concluyendo que esta patología está presente siempre y cuando los protocolos de ordeño y de sanitización de la ubre no sean los adecuados para garantizar la salud de la glándula mamaria y la inocuidad del producto final.

Según García *et al.* (2011), en su investigación observó que la limpieza en el momento de ordeño y la higiene del operario varía entre las lecherías del noroccidente de Pichincha, encontrando que un 33.35% si realiza un correcto proceso de sanitización y un 64.44% no realiza el procedimiento de limpieza y desinfección. De manera complementaria, en la presente investigación añadiendo como dato observado en la zona de San Miguel de los Bancos el 100% de los productores afiliados a la cooperativa “La Colina” tienen limitados procedimientos de higiene en el ordeño.



**Figura 3.** Porcentaje total de casos positivos y negativos mediante el CMT (California Mastitis Test).

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

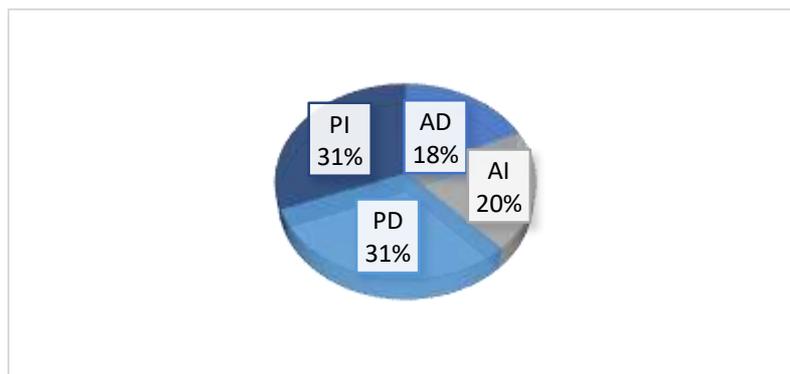
**Tabla 12.** *Números de muestras por cuartos mamarios*

Cuarto mamario	Frecuencia	%
Anterior Derecho (AD).	9	18
Anterior Izquierdo (AI).	10	20
Posterior Derecho (PD).	16	31
Posterior Izquierdo (PI).	16	31
Total	51	100

**Elaborador por:** Mazón & Mazón (2022).

**Análisis:** En la tabla 13 se observa los resultados en la distribución del asentamiento de la mastitis en relación con la ubicación de los cuartos de la glándula mamaria. Se evidenció que la mayor frecuencia de casos de mastitis se asienta en los cuartos posteriores en una proporción igual (31%) en cada cuarto de cada lado respectivamente, además, se encontró una menor ocurrencia de casos en los cuartos anteriores, siendo de estos el lado izquierdo el mayormente afectado (20%), mientras que el cuarto anterior derecho tuvo la menor afectación de todos los cuartos (18%), se asume que este hallazgo de presentación se debe a que en la mayoría de los hatos lecheros hacen uso de ternero al pie en el momento del ordeño, esto como medida de estimulación, aferente oxitocina dependiente, para el descenso de la leche.

**Discusión:** Quispe, (2015) en su investigación demostró que del total de cuartos de la glándula mamaria que presentaron mastitis el cuarto posterior izquierdo fue el menos afectado (40%) y el cuarto posterior derecho fue el más afectado (45.4%), demostrando así diferencias significativas en el asentamiento de la mastitis entre los cuartos, estos resultados fueron tomados en hatos lecheros en donde se utiliza el método de cría al pie como fuente de estimulación (oxitocino-aferente) para el descenso de la leche, corroborando la existencia de resultados similares en la presente investigación en donde se pudo observar que en gran medida los productores de leche utilizan dicho método y el asentamiento de la casuística en su mayoría se estable en los cuartos posteriores.



**Figura 4.** Prevalencia del asentamiento de la mastitis y ubicación de los cuartos de la glándula mamaria.

PI: posterior izquierdo, PD: posterior derecho, AD: anterior derecho, AI: anterior izquierdo

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

#### 5.4. Aislamiento e identificación de los patógenos causantes de mastitis.

El aislamiento e identificación de las bacterias se realizó con la recolección de 51 muestras positivas a mastitis, procedente de 50 vacas de los predios de los socios afiliados a la cooperativa “La colina”.

**Tabla 13.** Frecuencia y porcentaje de bacterias aisladas.

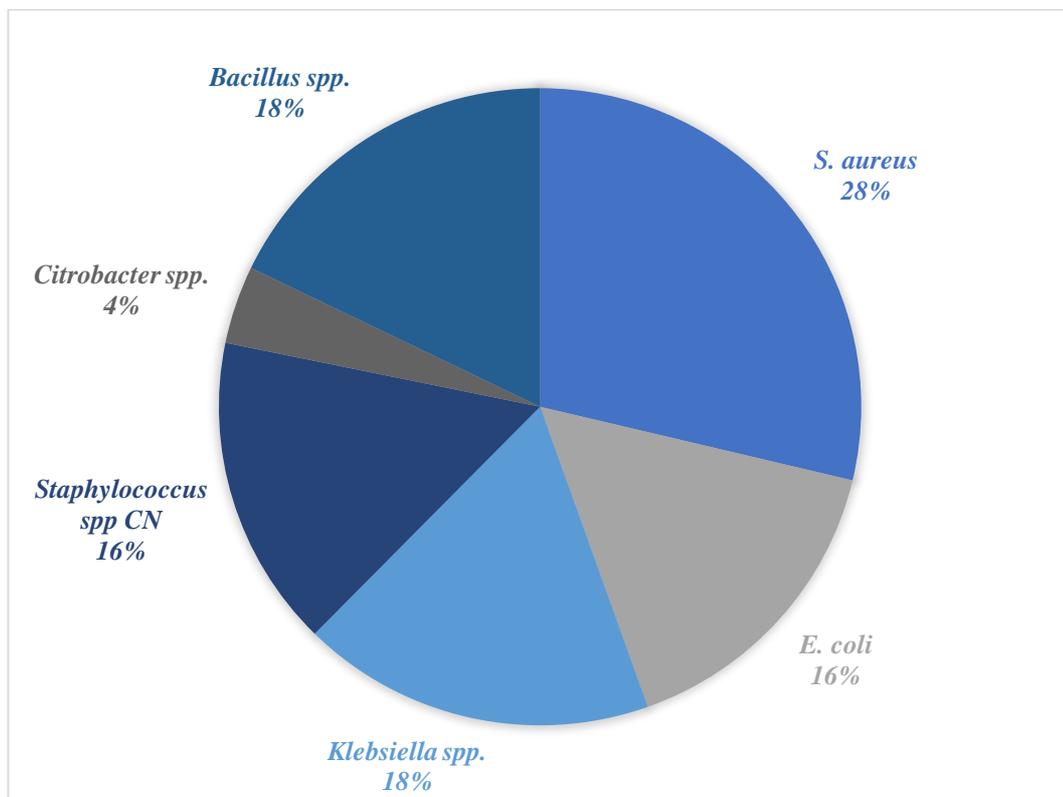
Patógeno.	Frecuencia	Porcentaje %
<i>Staphylococcus aureus</i> .	15	29.42 %
<i>E. coli</i>	8	15.68%
<i>Klebsiella spp.</i>	9	17.64 %
<i>Staphylococcus spp.</i> / Coagulasa negativo	8	15.68 %
<i>Citrobacter spp.</i>	2	3.94 %
<i>Bacillus spp.</i>	9	17.64 %
Total	51	100%

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Análisis:** De acuerdo con los datos obtenidos en la tabla 14 podemos determinar que el patógeno con mayor prevalencia es el *Staphylococcus aureus* con un 29.42 %, seguido por *Klebsiella spp.* Con un 17.64 %, los *Bacillus spp.* Con un 17.64 %, *E. coli* con un 15.68 %, *Staphylococcus spp.* con un 15.68 %, *Citrobacter spp.* con un 3.94 %.

*E. coli* con un 15.68 %, *Staphylococcus spp. coagulasa* negativo con un 15.68%, y finalmente el microorganismo con menor frecuencia que aisló de leche positiva a mastitis es el *Citrobacter spp.*, con un 3.94 %, sumando un total de 51 cepas bacterianas aisladas.

**Discusión:** En el estudio de Jaramillo *et al.* (2018), se puede observar que los resultados en el análisis microbiológico de muestras de leche procedente de vacas con mastitis subclínica y clínica con sistemas de ordeño manual y mecánico, las bacterias encontradas fueron; *Arcanobacterium haemolyticum* en un 20,14 %, *Staphylococcus coagulasa* negativos 17,36 %, *Streptococcus agalactiae* en un 12,50 %, *Staphylococcus aureus* en un 10,42 %, *Streptococcus uberis* en un 1,73 %, y bacterias Gram negativas como; *Enterococcus spp.*, en un 1.39 %, *Yersinia spp.*, en un 0.70 % y *Enterobacter spp.*, en un 0.35 %, en comparativa con lo obtenido en la presente investigación se puede deducir que los patógenos que se logren aislar en un estudio en cuestión están en dependencia de la zona geográfica y otros factores.



**Figura 5.** Porcentajes de los patógenos aislados durante la investigación.  
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

### 5.5. Patógenos por el tiempo de lactancia.

En la presenta investigación se consideró analizar los diferentes tipos de patógenas más frecuente según la edad de lactancia (0-305 días) de las vacas muestreadas.

**Tabla 14.** Frecuencia de los microorganismos por el tiempo de lactancia.

Bacterias	Tiempo de Lactancia						
	1/3		2/3		3/3		Total
	(0-99 Días)		(100-199 Días)		(200-305 Días)		
	Fr.	%	Fr.	%	Fr.	%	
<i>S. aureus.</i>	1	3.57	9	60	5	62.5	15
<i>E. coli</i>	8	28.5	-	-	-	-	8
<i>Klebsiella spp.</i>	7	25	2	13.3	-	-	9
<i>Staphylococcus spp.</i> CN	2	7.1	4	26.7	2	25	8
<i>Citrobacter spp.</i>	1	3.57	-	-	1	12.5	2
<i>Bcillus spp.</i>	9	32.1	-	-	-	-	9
<b>Total</b>	<b>Fr.</b>	<b>28</b>	<b>15</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>51</b>
	<b>%</b>	<b>55</b>	<b>29</b>	<b>16</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	<b>100</b>

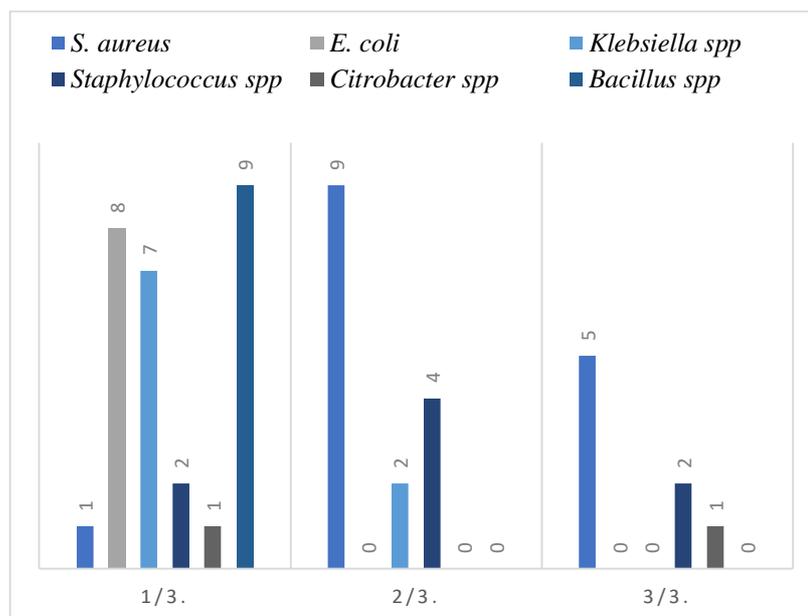
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022). CN: *coagulasa negativa*.

**Análisis:** En la tabla 15 Podemos observar que los patógenos aislados durante el primer tercio de lactancia comprendido del día 0 (día del parto) al día 99 representó el 55 % de los aislados totales, en esta etapa las bacterias causantes de mastitis fueron; *Bacillus spp.*, en un 32.14 %, seguido por bacterias Gram negativas como *E. coli* y *Klebsiella spp.*, en 28.57% y 25% respectivamente, continuando con *Staphylococcus spp.* coagulasa negativo en un 7.15% y finalmente las bacterias con menor porcentaje de casuística en este periodo fueron el *S. aureus* y *Citrobacter spp.*, los que se presentaron en un 3.57 % de los aislados respectivamente.

En lo concerniente al segundo tercio de lactancia (100 – 199 días) las cepas obtenidas representan el 29 % de los aislados totales, en este periodo se pudo encontrar que el 60 % de los aislados corresponden a *Staphylococcus aureus*, seguido del 26.67 % a los *Staphylococcus* spp. coagulasa negativa, y finalmente el 13.33 % representado por 2 aislados de *Klebsiella* spp.

En el último tercio de lactancia (200 – 305 días) se aislaron el 16 % de las bacterias totales obtenidas (n=51) en este periodo se logró aislar; *S. aureus*, que representa el 62.5%, seguido por el 25 % que corresponde a 2 bacterias del genero *Staphylococcus* spp., coagulasa negativa, y finalmente se aisló 1 bacteria del genero *Citrobacter* spp. que corresponde al 12.5 % del total.

**Discusión:** En la investigación realizada por Atajo, (2019) menciona que la prevalencia de la mastitis en las diferentes etapas de la lactancia (1/3, 2/3, 3/3), exhibió que en el 1/3 de lactancia existió mayor prevalencia de cuadros mastítico en relación con las otras etapas. Así mismo, Quilapanta, (2021) menciona que las infecciones intramamarias de patógenas ambientales son mucho mayores en el inicio de la lactancia, concordando con lo antes citado, comparativamente en la presente investigación se observó que en el primero tercio de lactancia tiene mayor ocurrencia los patógenos ambientales.



**Figura 6.** Frecuencias de los aislados causantes de mastitis según el tiempo de lactancia.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

## 5.6. Análisis de la actividad antimicrobiana de los fármacos en estudios frente a los géneros bacterianos aislados.

### 5.6.1. Análisis de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.

Efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis bovina. Para la determinación del efecto inhibitorio de la oxitetraciclina sobre *Staphylococcus aureus*, se analizó cada uno de los tratamientos mediante análisis de varianza del diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con la finalidad de establecer si los tratamientos tienen interacción en el crecimiento bacteriano.

**Tabla 15.** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.

Fuente Variación	Grados de libertad	Suma de Cuadrados	Cuadrados Medios	F-Valor	Pr >F
Tratamiento clínico	2	1260.31	630.155	468.16	<.0001**
Bloque	14	93.11	6.650	4.94	0.0002**
Error	28	37.688	1.3460		CV:11.10%
Total	44	1391.11			

CV: Coeficiente de variación, \*\* Altamente significativo.

**Análisis:** en la tabla 16 se puede observar la expresión de diferencias altamente significativas en cuanto a bloques en esta investigación, esto quiere decir que existió influencia o efecto en los resultados por parte de las repeticiones, interpretando así que los aislados de *Staphylococcus aureus* tuvieron un comportamiento diferente en la inhibición del crecimiento con oxitetraciclina.

En el caso de los tratamientos se logró evidenciar mediante la prueba de Fisher que el efecto inhibitorio de la Oxitetraciclina a diferentes concentraciones sobre *Staphylococcus aureus*, expresó una diferencia altamente significativa, poniendo en manifiesto que el fármaco exhibe un distinto efecto inhibitorio sobre el

crecimiento de la bacteria previamente mencionada. Expresando un coeficiente de variación de 11.10% confirmando aceptabilidad y confiabilidad en los datos.

**5.6.1.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de la actividad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.**

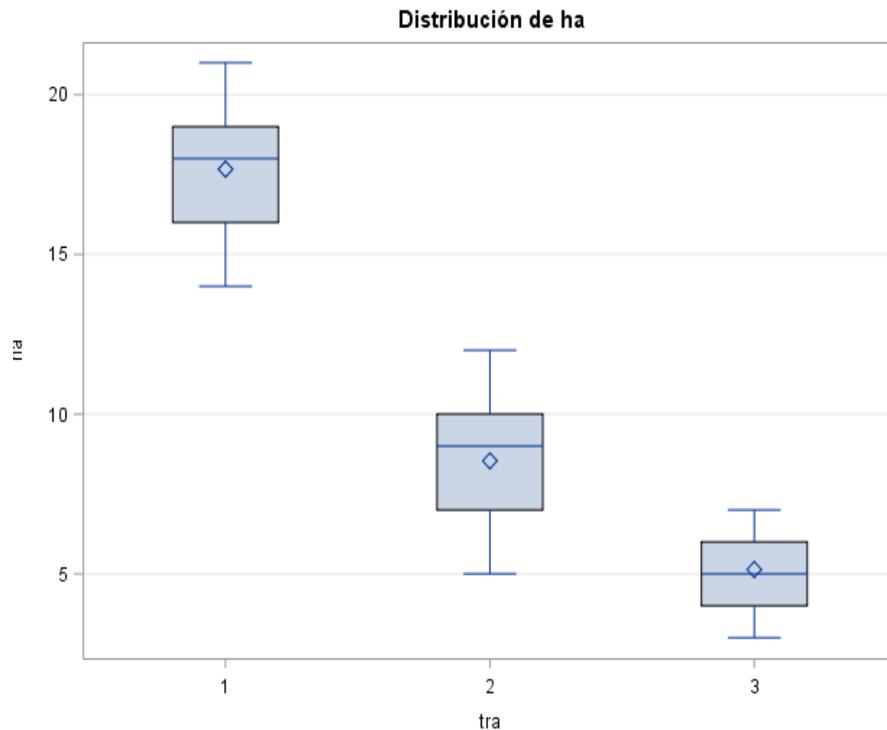
**Tabla 16.** Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus*.

Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
1 (30 µg)	15	17.66	A
2 (10 µg)	15	8.53	B
3 (5 µg)	15	5.13	C

*N*: número de unidades experimentales.

**Análisis:** De acuerdo con el análisis de comparación de medias Tukey al 5%, manifiesta que los tratamientos presentaron diferencias significativas, demostrando que el T1 (30 µg) expresó una medida de halo de inhibición de 17.66 mm de diámetro, comportándose como el tratamiento de mayor efecto inhibitorio del crecimiento bacteriano.

Seguido del T2 (10µg) el cual presentó un promedio de 8.53 mm de diámetro de halo, y finalmente, el tratamiento T3 (5µg) tuvo el promedio más bajo con 5.13 mm de diámetro de halo de inhibición. En la figura 7 podemos ver la distribución de los halos de inhibición del efecto de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.



**Figura 7.** Efecto de la actividad de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**5.6.1.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus*, aisladas de leche positivas a mastitis.**

**Tabla 17.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición (mm) de oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus*.

Interpretación	Difusión de discos (mm)					
	6	7-13	≤ 14	15-18	19 - 21	>22
Guía CLSI	R			I	S	
Guía EUCAST	R					S

R: Resistente, I: Intermedio, S: Sensible.

**5.6.1.3. Actividad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus*., aisladas de mastitis bovina**

Los resultados obtenidos son comparados con los puntos de corte ya descritos anteriormente en la tabla 18 para la asignación de un criterio de susceptibilidad.

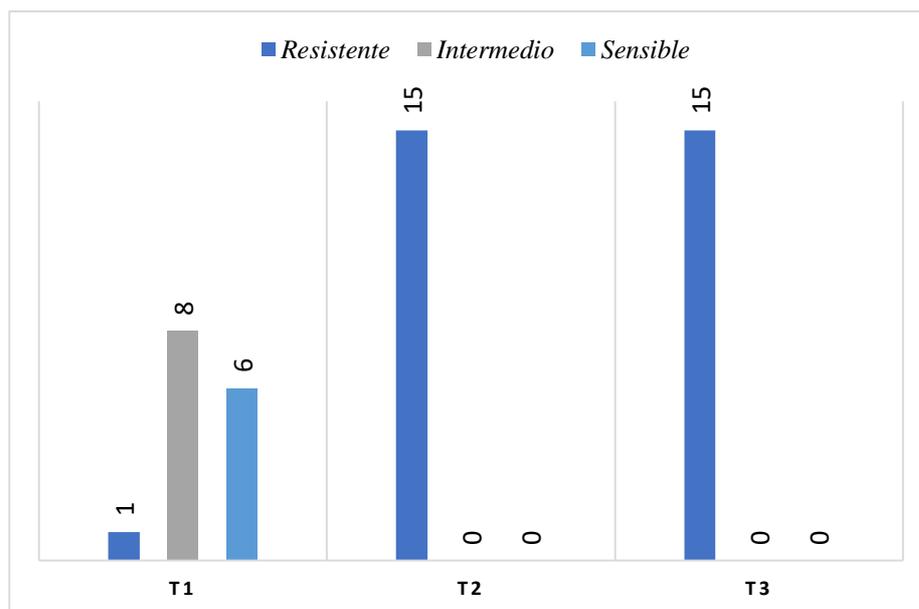
**Tabla 18** Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus*.

<i>S. aureus</i> .	Código	Concentración de Oxitetraciclina					
		(30µg)	P.C.	(10µg)	P.C.	(5µg)	P.C.
		T1		T2		T3	
1	D001AI	17	I	9	R	4	R
2	D004AI	18	I	10	R	6	R
3	D004AD	16	I	8	R	5	R
4	EA001AI	15	I	7	R	5	R
5	EA002PI	16	I	9	R	7	R
6	EA003PD	19	S	10	R	6	R
7	EA004AI	20	S	8	R	4	R
8	EA004AD	21	S	9	R	5	R
9	EA005PI	15	I	7	R	3	R
10	EA009AI	14	R	5	R	3	R
11	EA010PI	18	I	6	R	5	R
12	AR010PI	20	S	12	R	7	R
13	AR018PI	19	S	10	R	6	R
14	ACH001AD	19	S	9	R	7	R
15	ACH002PD	18	I	9	R	4	R

P.C.: Puntos de Corte. S: Sensible. R: Resistente. I: Intermedio

**Análisis:** En lo expresado en la tabla 19 podemos ver que el T1 (30 µg) obtuvo 6 aislados sensibles que presentaron un halo  $\geq 19$  mm esto en referencia a lo establecido por el CLSI, (2020). Así mismo la guía EUCAST, (2022) proporciona los puntos de corte para organismo de tipo salvaje (Wild Type Organisms) mencionando que para considerarse sensible debe haber evidencia de halos de inhibición  $\geq 22$  mm, por lo tanto, en la presente investigación ningún aislado presentó halos de tal valor.

Además, los otros tratamientos propuestos en la investigación T2 (10 µg) y T3 (5 µg) presentaron en todos sus aislados resistencia total al fármaco en estudio, ya que la concentración mínima inhibitoria de la Oxitetraciclina se encuentra en la mayor concentración que las establecidas en esta investigación. En la Figura 8 podemos ver la frecuencia de la susceptibilidad de la Oxitetraciclina frente a *S. aureus* aislados de mastitis bovina.



**Figura 8.** Barras de frecuencias de la susceptibilidad de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.

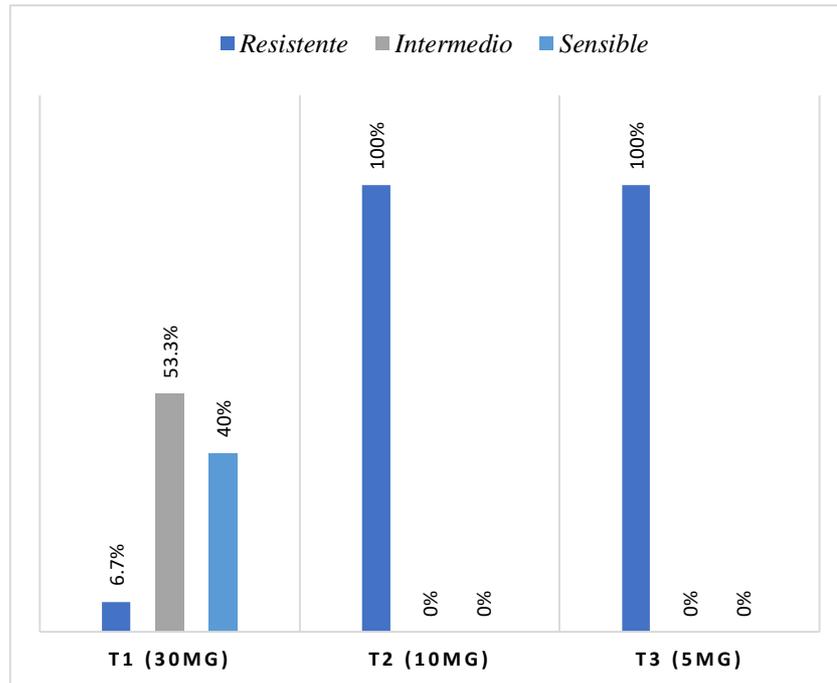
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Tabla 19** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *S. aureus*.

Criterio	T1		T2		T3	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	1	6.7	15	100	15	100
I	8	53.3	0	0	0	0
S	6	40	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>

A.A.: Actividad Antimicrobiana, R: resistente, I: intermedio, S: sensible:

**Análisis:** Los resultados de la tabla 20 mostraron que el T3 (5µg) tiene un 100 % de resistencia en un total de 15 aislados, de igual manera ocurre en la expresión de los resultados del T2 (10µg) el cual expresa de igual manera un 100 % de resistencia. Finalmente, el T1 (30 µg) tiene un 53.3 % de resistencia intermedia con un número de 8 cepas bacterianas, expresando también en sus resultados un 40 % de sensibilidad con una representación de 6 bacterias, y un 6.7 % de resistencia con un número de 1 cepas bacteriana. En la figura 9 se observa el porcentaje de la susceptibilidad antimicrobiana la Oxitetraciclina frente a bacterias del genero *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.



**Figura 9.** Porcentajes de susceptibilidad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Discusión:** Según Arroba. (2019), en su investigación del análisis de susceptibilidad a los antibióticos en muestras de leche con mastitis en el Noroccidente de Pichincha; los resultados de la susceptibilidad a tetraciclina de 30 µg evidenció un 8.4 % de sensibilidad y un 91.6 % de resistencia por parte del *S. aureus*. Por otra parte, Lucas *et al.* (2017), en su investigación indica que el *S. aureus* presentó una resistencia del 59 % a las tetraciclinas a la misma concentración antes mencionada, así mismo Martínez, (2020) en su investigación de resistencia antibiótica en el cantón Mejía demostró que la Tetraciclina presentó un 18.6 % de resistencia, comparativamente en la presente investigación se evidenció que el *Staphylococcus aureus*, sometido a 30µg de oxitetraciclina, expresó un 6.7% de resistencia y un 53.3% de resistencia parcial o intermedia, asumiendo de tal modo que la expresión de la resistencia al fármaco citado es variable y está bajo la influencia de muchos factores.

**5.6.2. Efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Staphylococcus aureus* aislado de mastitis bovina.**

Se analizó el efecto de cada uno de los tratamientos mediante el análisis de varianza del diseño completamente alzar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos que tuvieron un mejor comportamiento frente al crecimiento de cepas de *Staphylococcus aureus* aislados de leche positiva a mastitis.

**Tabla 20** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.

Fuente Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
Tratamiento clínico	8	6383.466	797.93	649.27	<.0001**
Bloque	14	117.822	8.4158	6.85	<.0001**
Error	112	137.644	1.2289		CV: 9.76%
Total	134	6638.933			

CV: Coeficiente de variación, \*\* Altamente significativo.

**Análisis:** En la tabla 21 podemos inferir que los resultados obtenidos al analizar la actividad antimicrobiana de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, la prueba de Fisher nos demuestra que: En lo concerniente a los bloques se expresa diferencias altamente significativas, esto quiere decir que existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, pudiendo interpretar que las unidades experimentales tuvieron un comportamiento diferente en la expresión de los halos de inhibición frente los Betalactámicos mencionados.

En el caso de los tratamientos se pudo justificar que la actividad farmacológica de los Betalactámicos mencionados a diferentes microconcentraciones frente a *Staphylococcus aureus*, muestra una diferencia altamente significativa, evidenciando que los Betalactámicos tiene un efecto diferente al momento de inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada. Con un coeficiente de variación de 9.76 % confirmando aceptabilidad y confiabilidad a los datos.

**5.6.2.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de los betalactámicos frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.**

**Tabla 21.** Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Staphylococcus aureus*.

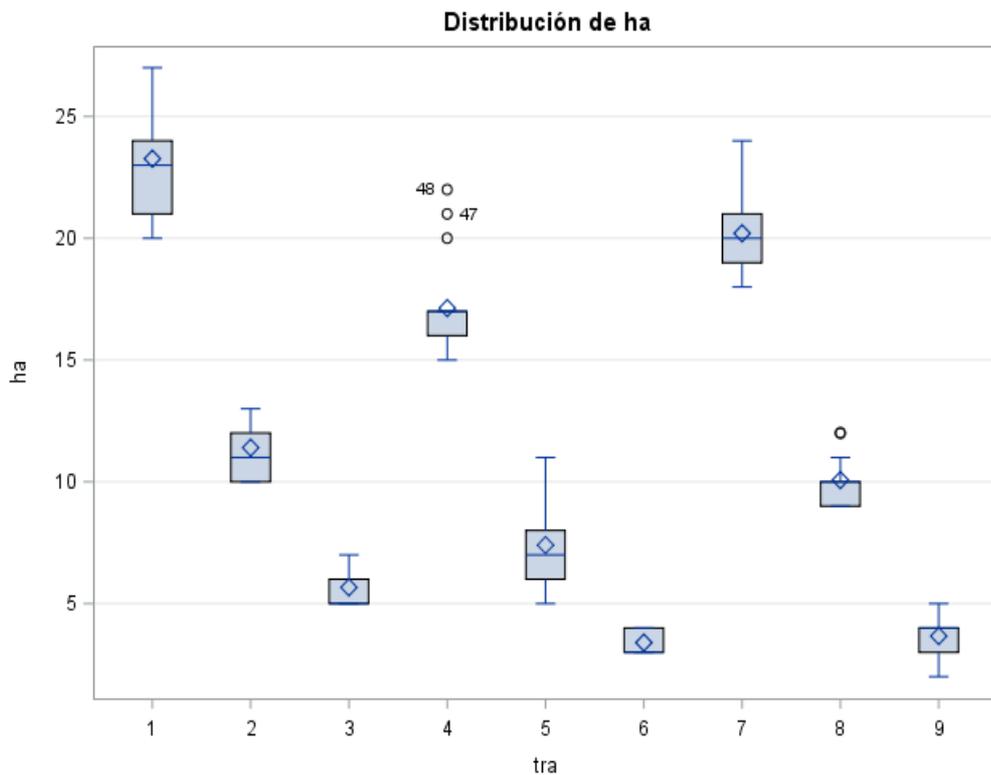
Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
1 (30 µg Pen.)	15	23.2667	A
7 (10 µg Clox.)	15	20.200	B
4 (30 µg Cl.)	15	17.133	C
2 (10 µg Pen.)	15	11.400	D
8 (5 µg Clox.)	15	10.0667	E
5 (10 µg Cl.)	15	7.400	F
3 (5 µg Pen.)	15	5.6667	G
9 (1 µg Clox.)	15	3.6667	H
6 (5 µg Cl.)	15	3.400	H

*N:* número de unidades experimentales. *Pen.:* penicilina, *Clox.:* cloxacilina, *Cl.:* cefalexina.

**Análisis:** En la tabla 22 se muestra la comparación de medias de la prueba de Tukey al 5 % donde nos refiere que el mejor tratamiento es el T1 (30µg de Penicilina) con una media de 23.26 mm de halo de inhibición, siguiéndoles el T7 (10µg de Cloxacilina) con un promedio de 20.20 mm de halo, posteriormente el T4 (30 µg de Cefalexina) con un promedio de 17.13 mm de halo de inhibición, siendo los tratamientos con las concentraciones más altas de cada fármaco considerado en este grupo respectivamente, al mismo tiempo que se puede observar la diferencias establecidas en la agrupación o rango de Tukey al 5%.

Además, en este análisis los tratamientos con concentraciones intermedias se comportaron de una manera indistintas entre sí; expresando el T2 (10µg de Penicilina) un promedio de 11.40 mm de halo, siguiéndole el T8 (5µg de Cloxacilina) con una media de 10.06 mm y finalmente el T5 (10µg de Cefalexina) con menor promedio de 7.40 mm de halo de inhibición, los cuales demuestran diferencias estadísticas en el rango del análisis de Tukey.

Los tratamientos con promedios más bajos fueron; el T3 (5µg de Penicilina) con una media de 5.66 mm de halo, siguiéndole el T9 (1µg de Cloxacilina) y el T6 (5µg de Cefalexina) con promedios de 3.66 mm y 3.40 mm de halos de inhibición respectivamente, estos tratamientos no presentan diferencias significativas en la agrupación de Tukey, siendo estos dos últimos tratamientos estadísticamente iguales. En la figura 10 efecto de la actividad de los Betalactámicos frente a bacterias del generó *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.



**Figura 10.** Efecto de la actividad de los betalactámicos frente a bacterias del genero *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.

Elaborador por: Mazón & Mazón, (2022)

#### 5.6.2.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Staphylococcus aureus*, aislados de leche positivas a mastitis

La interpretación se determinó mediante las recomendaciones del comité Europeo de Pruebas de susceptibilidad (EUCAST, 2022) y el Clínical Laboratory Estándar Institute (CLSI, 2020), donde establecen los puntos de corte para *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis, en particular se consideró como referencia los documentos; VET01S, VET08 y M100-S19 para esta investigación.

**Tabla 22** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Penicilina frente a *Staphylococcus aureus*.

	Difusión de discos (mm)					
<b>Interpretación</b>	≤ 6	7-13	14	15-25	26 - 28	≥29
<b>Guía CLSI</b>	R					S
<b>Guía EUCAST</b>	R				S	

*R: Resistente, S: susceptible.*

**Análisis:** Según la guía EUCAST, (2022) considera sensibles a los aislados que manifiesten medidas de halo de inhibición  $\geq 26$  mm y resistentes aquellos que exhiban medidas de halo de inhibición  $\leq 25$  mm. De manera comparativa con la guía CLSI, (2020) podemos inferir que un aislado es sensible cuando hay medida de halos  $\geq 29$  mm de diámetro de inhibición y resistencia en aquellos con halos de inhibición  $\leq 28$  mm.

**Tabla 23** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Cefalexina frente a *Staphylococcus aureus*.

	Difusión de discos (mm)		
<b>Interpretación</b>	≤ 14	15 - 17	≥ 18
<b>Guía CLSI</b>	R	I	S

*R: resistente, I: intermedio, S: susceptible.*

**Análisis:** La Guía CLSI, (2020) y el documento M100-S19 recomiendan el uso de Cefalotina para reporte de susceptibilidad antimicrobiana, estableciendo sus valores como referenciales para la instauración de los criterios de susceptibilidad antimicrobiana de las cefalosporinas de primera generación en *Staphylococcus aureus* Esparza *et al.* (2013), refiere que dicha bacteria es sensible cuando hay evidencia de medidas de los halos  $\geq 18$  mm y resistente con medidas de  $\leq 14$  mm.

**Tabla 24** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Cloxacilina frente a *Staphylococcus aureus*.

	Difusión de discos (mm)	
Interpretación	≤ 21	≥ 22
Guía CLSI	R	S

*R: resistente, I: intermedio, S: susceptible.*

**Análisis:** La Guía CLSI, (2018) específicamente en el documento VET08 recomienda el uso de Cefoxitina para reporte de pruebas de susceptibilidad de otras penicilinas estables a las penicilinasas como la Cloxacilina. En dicho documento refiere que cuando existe evidencia de medidas de halo de inhibición ≤ 21 mm son resistentes y sensibles cuando exhiben medidas de halos de inhibición de ≥ 22 mm.

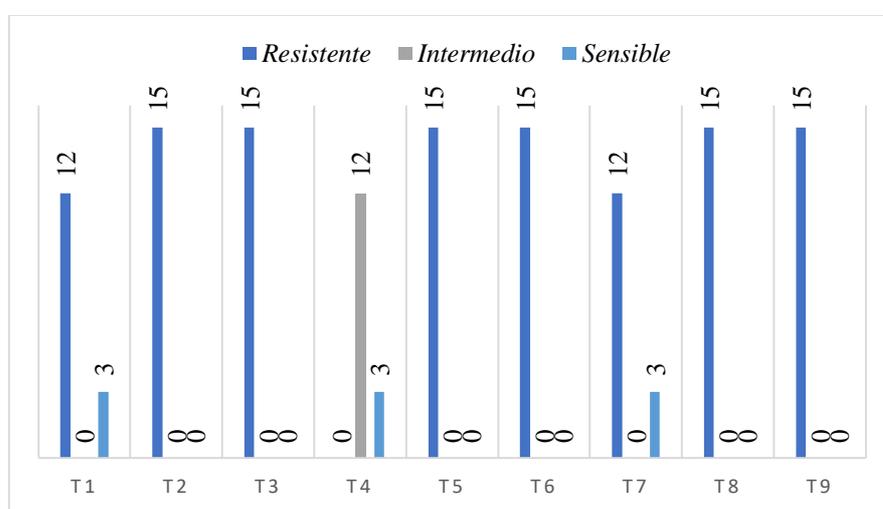
### **5.6.2.3. Actividad antimicrobiana de los betalactámicos frente a *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis bovina.**

**Tabla 25** Actividad antimicrobiana de los antibióticos betalactámicos frente a la bacteria *Staphylococcus aureus* aislada de mastitis.

S. <i>aureus</i> #	Código	Concentración de Penicilina						Concentración de la Cefalexina						Concentración de la Cloxacilina					
		30µg T1	P.C.	10µg T2	P. C	5µg T3	P. C	30µg T4	P. C	10µg T5	P. C	5µg T6	P.C	10µg T7	P. C.	5µg T8	PC	1µg T9	P.C.
1	D001AI	26	S	12	R	6	R	20	S	9	R	4	R	24	S	12	R	4	R
2	D004AI	26	S	12	R	5	R	21	S	10	R	3	R	23	S	12	R	4	R
3	D004AD	27	S	13	R	7	R	22	S	11	R	3	R	22	S	11	R	5	R
4	EA001AI	23	R	11	R	5	R	17	I	8	R	3	R	20	R	10	R	4	R
5	EA002PI	21	R	10	R	5	R	16	I	7	R	4	R	19	R	9	R	2	R
6	EA003PD	24	R	11	R	5	R	17	I	8	R	4	R	20	R	10	R	4	R
7	EA004AI	23	R	10	R	6	R	16	I	7	R	3	R	18	R	9	R	2	R
8	EA004AD	24	R	13	R	7	R	15	I	6	R	3	R	19	R	10	R	4	R
9	EA005PI	23	R	11	R	5	R	16	I	7	R	4	R	20	R	10	R	4	R
10	EA009AI	23	R	11	R	5	R	15	I	7	R	4	R	19	R	9	R	3	R
11	EA010PI	24	R	12	R	6	R	17	I	7	R	4	R	18	R	9	R	3	R
12	AR010PI	24	R	13	R	6	R	15	I	6	R	3	R	20	R	10	R	4	R
13	AR018PI	20	R	10	R	5	R	17	I	6	R	3	R	21	R	10	R	3	R
14	ACH001AD	22	R	12	R	7	R	16	I	5	R	3	R	20	R	10	R	4	R
15	ACH002PD	21	R	10	R	5	R	17	I	7	R	3	R	20	R	10	R	5	R

*S: sensible, R: resistentes, I: intermedio.*

**Análisis:** En la tabla 26 se observa el análisis de la actividad antimicrobiana de los antibióticos betalactámicos considerados en la presente investigación a diferentes microconcentraciones, en donde el T1, T4 y T7 (30µg de Penicilina, 30µg de Cefalexina y 10µg Cloxacilina) exhiben 3 aislados sensible, al analizar los resultados obtenidos a menor concentración se puede encontrar que los aislados presentan una resistencia total, es decir que dichas concentraciones no son suficientes para derivar en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus*. En la figura 11 se observa la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* causantes de mastitis frente a los Betalactámicos.



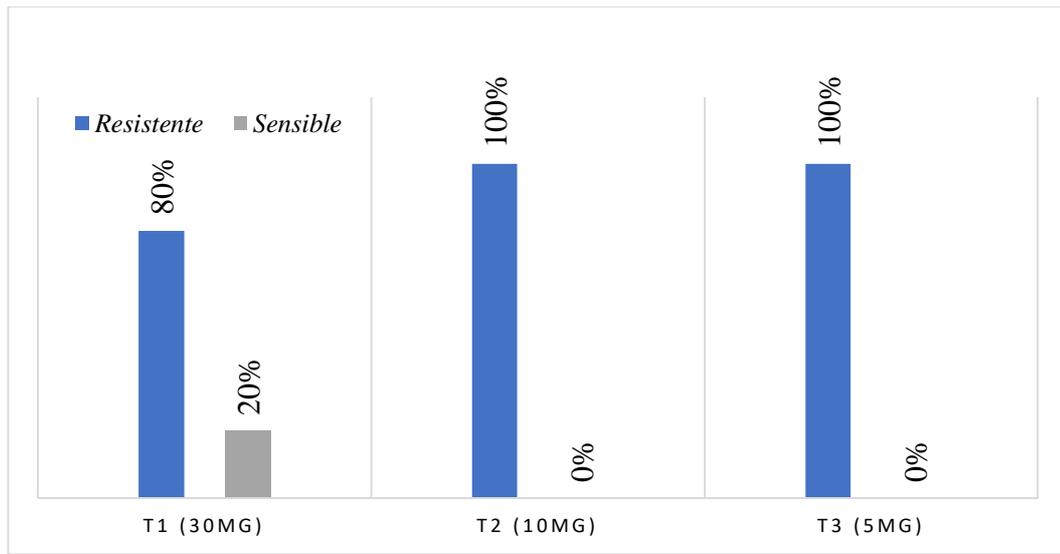
**Figura 11.** Actividad antimicrobiana de los Betalactámicos frente a *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis bovina.  
Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022).

**Tabla 26** Frecuencia y porcentaje de actividad antimicrobiana de la Penicilina frente a *Staphylococcus aureus* aisladas de leche positiva a mastitis bovina.

Criterio	T1		T2		T3	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	12	80	15	100	15	100
S	3	20	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>

R: resistente, S: sensible.

**Análisis:** Los resultados de la tabla 27 muestran que el T3 (5µg) tiene un 100 % de resistencia en un total 15 aislados bacterianos, así mismo el T2 (10µg) tiene un 100 % de resistencia, y finalmente, el T1 (30µg) exhibe un 80% de resistencia con un 12 aislados resistentes y un 20 % de susceptibilidad con 3 *Staphylococcus aureus* sensibles. En la figura 12 se observa los porcentajes de la actividad antimicrobiana de la penicilina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.



**Figura 12.** Porcentajes de la susceptibilidad antimicrobiana de la penicilina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

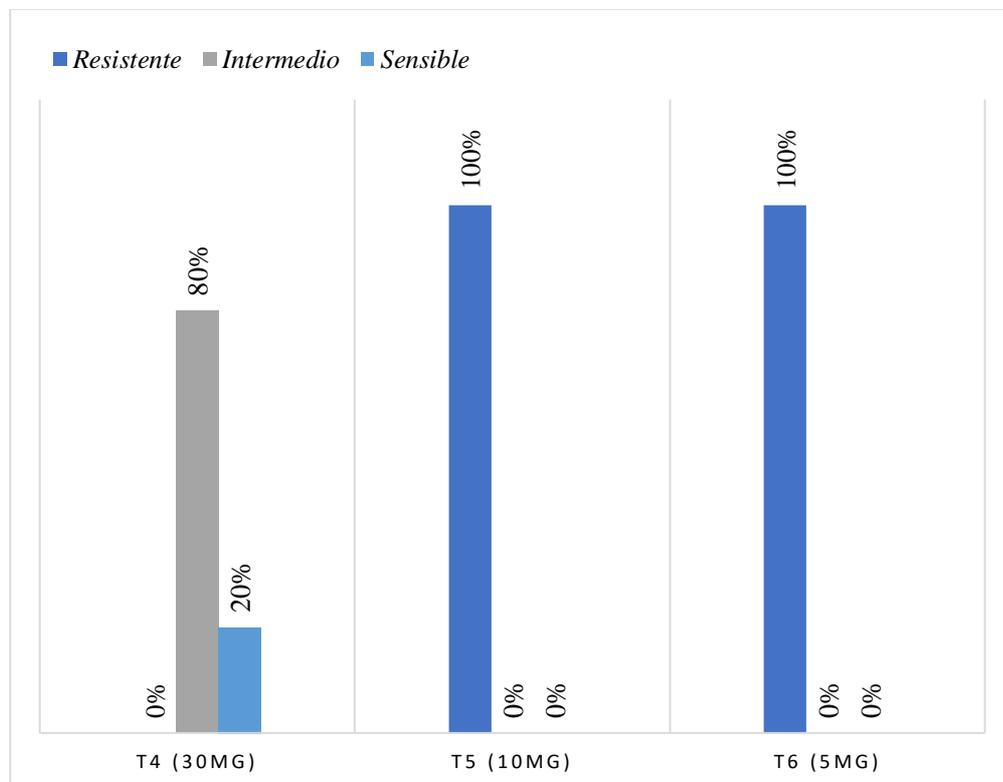
**Discusión:** En la investigación de Neder *et al.* (2016), evidenció la resistencia a la penicilina (10 µg) en un 28,12% de un total 96 aislados de *Staphylococcus aureus*, así también en la investigación de Srednik *et al.* (2016), obtuvo una resistencia a la penicilina (30 µg) algo similares a los obtenidos en la presente investigación en donde de un total de 65 aislados de *Staphylococcus aureus* evidenció una resistencia de un 33,85%. Finalmente, en la investigación de Anangonó, (2020) en tres estratos lecheros del cantón Mejía observó una resistencia a la Penicilina en un 52.94% por parte del mismo microorganismo mencionado. Comparativamente en la presente investigación se evidenció que a concentraciones de 5 y 10 µg se observó una resistencia del 100 %, sin embargo, a la mayor concentración de 30µg la resistencia encontrada fue del 80 %, se asume que dichos valores de resistencia están en relación con factores como la zona agroecológica de producción lechera y al mal gerenciamiento en la aplicación del fármaco mencionado para tratar la mastitis.

**Tabla 27** Frecuencia y porcentaje de actividad antimicrobiana de la Cefalexina frente *Staphylococcus aureus*.

Criterio	T4		T5		T6	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	0	0	15	100	15	100
I	12	80	0	0	0	0
S	3	20	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>

R: resistente, I: intermedio, S: sensible:

**Análisis:** Los resultados de la tabla 28 muestran que el T4 (30µg de Cefalexina) exhibió un 80 % de resistencia intermedia con 12 aislados y un 20 % de susceptibilidad con 3 aislados, a su vez el T5 y T6 ostentaron de un 100 % de resistencia respectivamente.



**Figura 13.** Porcentajes de la susceptibilidad de Cefalexina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

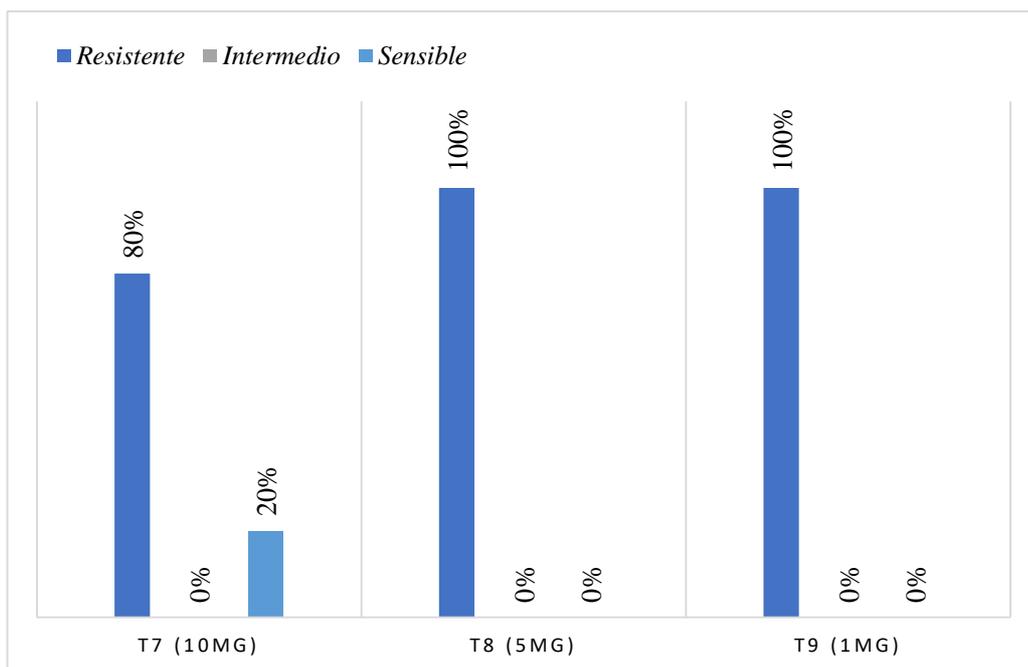
**Discusiones:** Según Neder *et al.* (2016), en su investigación de susceptibilidad del *Staphylococcus aureus* causante de mastitis bovina a determinados antibióticos, se evaluó la susceptibilidad a las Cefalosporinas, la actividad de la Cefalexina presentó un 99 % de sensibilidad y solo el 1.04 % de resistencia, comparativamente, en la presente investigación se pudo evidenciar el 20 % de susceptibilidad y 80 % de resistencia intermedia o parcial, estos hallazgos fueron observados en la mayor concentración (30µg), asumiendo en este caso que la presentación de este valor en la resistencia por parte del *Staphylococcus aureus* se debe fundamentalmente a la aplicación de antibióticos sin la existencia de un criterio clínico.

**Tabla 28** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana del *Staphylococcus aureus* frente a la Cloxacilina.

Criterio	T7		T8		T9	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	12	80	15	100	15	100
I	0	0	0	0	0	0
S	3	20	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>

A.A.: Actividad Antimicrobiana:

**Análisis:** Los resultados de la tabla 29 muestran que el T7 (10µg de Cloxacilina) exhibió un 80 % de resistencia en un número de 12 aislados y un 20 % de susceptibilidad con 3 aislados sensibles, mientras que el T8 y T9 (5µg) y (1µg) respectivamente ostentaron de un 100 % de resistencia, en la figura 14 se evidencia el porcentaje de la susceptibilidad del *Staphylococcus aureus* aislado de mastitis frente a la Cloxacilina.



**Figura 14.** Porcentajes de la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina frente a la Cloxacilina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Discusión:** En la investigación de Abdul *et al.* (2014), en sus resultados de la susceptibilidad de 59 aislados encontró el 72.42 % de sensibilidad a 10 µg de cloxacilina, comparativamente en la presente investigación se evidenció el 20% (n=3) de aislados sensibles a Cloxacilina a 10µg, demostrando que en base a estos hallazgos hay una considerable diferencia en la resistencia del *Staphylococcus aureus* a dicho antibiótico, asumiendo que esto es debido a las diferencias agroambientales involucradas así como al mal manejo de los antimicrobianos propiciado por un sinnúmero de factores involucrados.

Vázquez *et al.* (2015), en su estudio de detección de genes resistentes manifestó que los aislados de *Staphylococcus aureus* resistentes a los betalactámicos son portadores del gen *mecA*, dicho gen le confiere resistencia a los fármacos pertenecientes a dicha familia, por lo tanto se propone realizar el un estudio molecular para la detecciones de genes que permitan expresar dicha resistencia ya que en la presente investigación los aislados de la bacteria antes mencionada expresaron un 100 % de resistencia a la concentración de 1 µg de cloxacilina recomendada por el CLSI.

### 5.6.3. Efecto de la actividad antimicrobiana de los Aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Staphylococcus aureus*.

Se analizó el efecto de cada uno de los tratamientos mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos aminoglucósidos que tuvieron un mejor comportamiento en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus aureus* aislados de leche positivas a mastitis.

**Tabla 29** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los antibióticos aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.

Fuente Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F-V.	Pr >F
<b>Tratamiento clínico</b>	8	9488.77	1186.09	331.64	<.0001**
<b>Bloque</b>	14	119.303	8.521693	2.38	0.0061**
<b>Error</b>	112	400.5629	3.57646	<b>CV:12.32%</b>	
<b>Total</b>	134	10008.63			

\*\* : Altamente significativo, CV: coeficiente de variación.

**Análisis:** En la tabla 30 se puede observar los resultados obtenido al analizar el efectos de los Aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Staphylococcus aureus*, en donde la prueba de Fisher refiere que existió diferencias altamente significativas en cuanto a bloques en la presente investigación, implícitamente demostrando que existió efecto en los resultados por parte de la interacción de las repeticiones, demostrando así que las unidades experimentales tuvieron un comportamiento diferente.

En el caso de los tratamientos se logro afirmar mediante la prueba de Fisher que el efecto de los Aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) a tres distintas microconcentraciones sobre el *Staphylococcus aureus*, expresó diferencia altamente significativa, interpretando así que los aminoglucósidos utilizados en esta investigación tienen un distinto efecto inhibitorio sobre el crecimiento de la bacteria mencionada. Con un coeficiente de variación de 12.32 % aseverando la confiabilidad de los datos obtenidos.

**5.6.3.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de la actividad antimicrobiana de los Aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a Staphylococcus aureus aislados de mastitis bovina.**

Mediante el análisis de la comparación de medias (Tukey 5%), se comprobó los promedios entre los tratamientos de los aminoglucósidos a (30µg), (10µg) y (5µg), donde se determinó cual es el mejor tratamiento según la media de la población de 15 *Staphylococcus aureus* aislados.

**Tabla 30 Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a Staphylococcus aureus**

Tratamiento Clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
7 (30 µg Estr.)	15	27.8667	A
4 (30 µg Neo.)	15	25.400	B
1 (30 µg Gen.)	15	24.800	B
2 (10 µg Gen.)	15	17.133	C
5 (10 µg Neo.)	15	13.200	D
8 (10 µg Estr.)	15	11.933	D
6 (5 µg Neo.)	15	6.1333	E
3 (5 µg Gen.)	15	6.000	E
9 (5 µg Estr.)	15	5.6667	E

*N: unidades experimentales, Estr.: estreptomicina, Neo.: neomicina, Gen.: Gentamicina.*

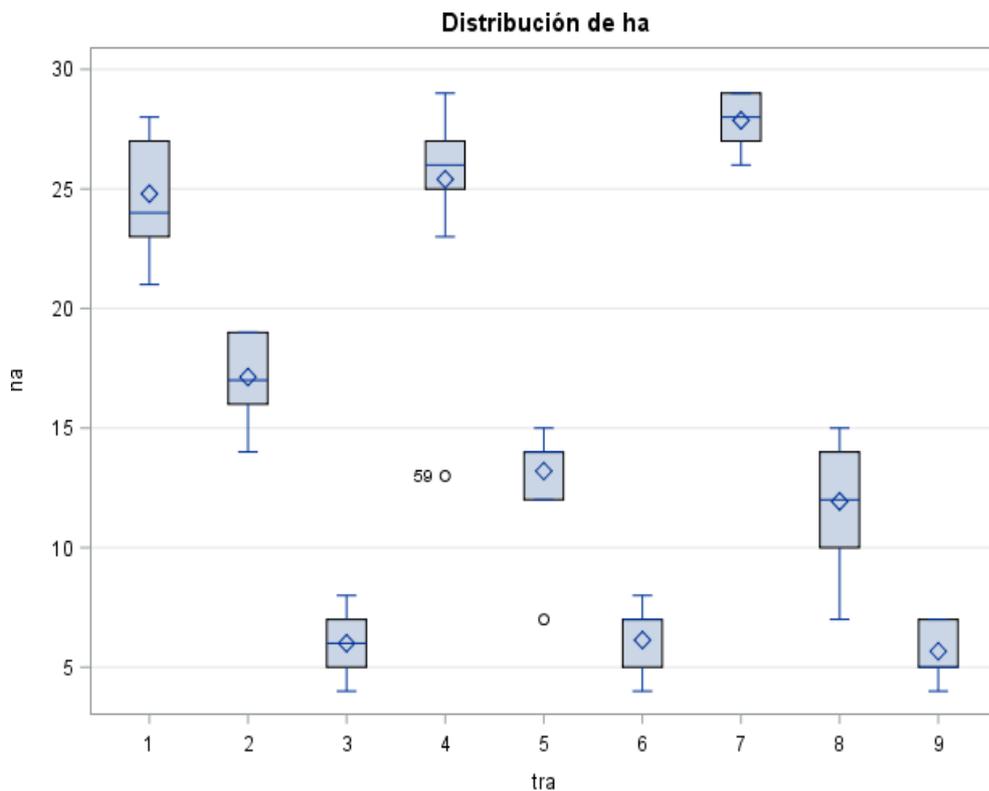
**Análisis:** En la tabla 31 se observa los resultados del análisis de la comparación de medias de Tukey al 5%, al comparar los 3 antibióticos a la concentración mas alta (30µg), el T7 (Estreptomicina 30 µg) expresó el mayor promedio destacándose significativamente del resto, con una media de 27.86 mm de diámetro de halos de inhibición, seguido por los T4 (30µg de Neomicina) y T1 (30µg de Gentamicina) que no presentan diferencias significativas con promedios de 25.40 mm y 24.80 mm respectivamente, los cuales presentaron el mismo rango en la prueba de Tukey.

Al analizar la concentración de 10 µg de los antibióticos mencionados en el estudio la prueba de Tukey nos refiere; que el T2 (10µg de Gentamicina) expreso el mayor

promedio con 17.33 mm de inhibición de halo, los T5 y T8 (Neomicina 10µg y Estreptomicina 10µg) presentan el mismo rango de agrupamiento ya que estadísticamente no tienen diferencias significativas esto con medias de 13.20 mm y 11.93 mm de diámetro de inhibición respectivamente.

De igual manera al comparar las medias de los halos de inhibición producidos por los antibióticos a la concentración de 5µg la prueba de Tukey al 5 % nos expresa que no existe diferencias significativas entre los tratamientos, donde el T6 (5µg de Neomicina), T3 (5µg de Gentamicina) y T9 (5µg de Estreptomicina) presentan promedios de 6.13 mm, 6 mm y 5.66 mm respectivamente. Pudiendo inferir de tal manera que estadísticamente son iguales.

En la Figura 15 se observa la distribución del efecto de la actividad de los Aminoglucósidos frente al *Staphylococcus aureus*.



**Figura 15.** Efecto de la actividad de los Aminoglucósidos frente al *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.  
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**5.6.3.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomina) frente a *S. aureus*, aisladas de leche positiva a mastitis.**

**Tabla 31.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Gentamicina frente a *Staphylococcus aureus*.

	Difusión de discos (mm)				
Interpretación	≤ 6	7-12	13-14	15- 17	≥ 18
<b>Guía CLSI</b>	R		I	S	
<b>Guía EUCAST</b>	R				S

*R: resistente, I: intermedio, S: sensible*

**Análisis:** En la tabla 32 se presenta los puntos de corte para *Staphylococcus aureus* según la guía (CLSI, 2020), como referencia el documento (VET01S, 2020) expresa que para establecer los criterios de susceptibilidad en aislados de mastitis bovina se consideró como resistentes cuando los aislados muestran evidencia de medidas de halos ≤ 13 mm y sensibles cuando hay evidencia de medidas de halos ≥ 15 mm, de forma comparativa con la guía (EUCAST, 2022), nos expresa que cuando hay medida de halo ≤ 17 mm son resistentes, mientras que cuando hay medias de halo ≥ 18 mm son sensibles.

**Tabla 32.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Neomicina frente a *Staphylococcus aureus*.

	Difusión de discos (mm)	
Interpretación	≤ 13	≥ 14
<b>Guía EUCAST</b>	R	S

*R: resistente, I: intermedio, S: sensible*

**Análisis:** En la tabla 33 se observa los puntos de corte para *Staphylococcus aureus*, obtenidos de la guía (EUCAST, 2022) donde se considera resistente cuando hay la existencia de halos ≤ 13 mm y sensibilidad con halos de inhibición ≥ 14 mm.

**Tabla 33.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Estreptomicina frente a *Staphylococcus aureus*.

	Difusión de discos (mm)	
Interpretación	≤ 11	≥ 12
<b>Guía EUCAST</b>	<b>R</b>	<b>S</b>

*R: resistente, I: intermedio, S: sensible*

**Análisis:** En la tabla 34 se observa los puntos de corte para *Staphylococcus aureus* establecidos por la guía del (EUCAST, 2022) la cual expresa que es resistente cuando hay evidencia de halos ≤ 11 mm y sensibilidad con halos de inhibición del crecimiento ≥ 12 mm.

**5.6.3.3. Actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Staphylococcus aureus* aisladas de mastitis bovina.**

**Tabla 34.** Actividad antimicrobiana de los antibióticos aminoglucósidos frente a *Staphylococcus aureus* aislado de mastitis.

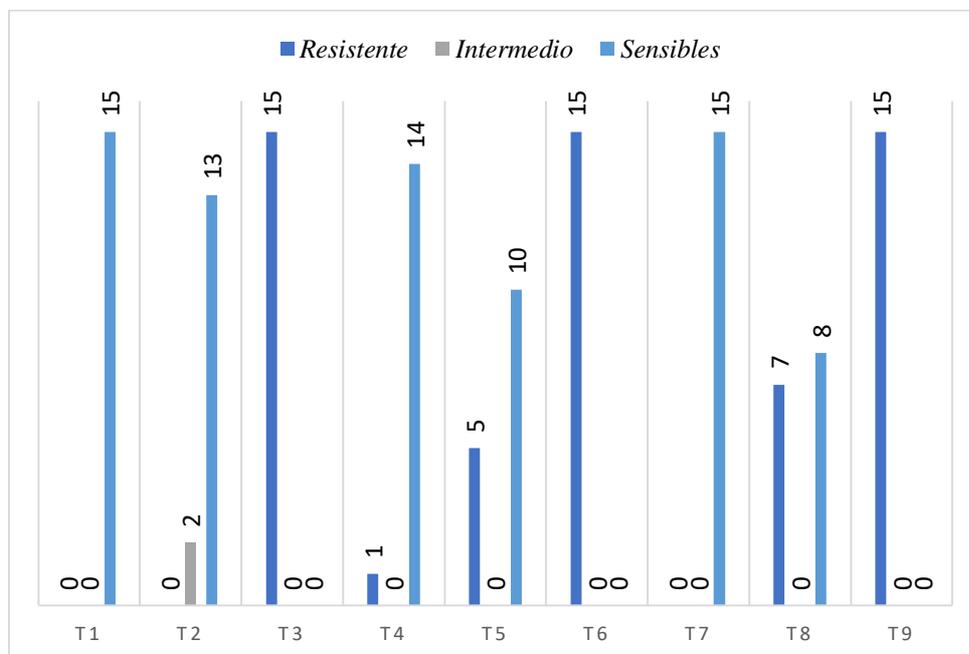
#	<i>S. aureus</i>	Código	Concentración de Gentamicina						Concentración de la Neomicina						Concentración de la Estreptomicina					
			30µg	P.C.	10µg	P.C.	5µg	P.C.	30µg	P.C.	10µg	P.C.	5µg	P.C.	30µg	PC	10µg	P.C.	5µg	P.C.
			T1		T2		T3		T4		T5		T6		T7		T8		T9	
1		D001AI	21	S	14	I	5	R	25	S	14	S	7	R	29	S	10	R	5	R
2		D004AI	24	S	15	S	5	R	26	S	15	S	7	R	28	S	9	R	4	R
3		D004AD	23	S	14	I	4	R	27	S	14	S	7	R	29	S	7	R	4	R
4		EA001AI	25	S	17	S	7	R	26	S	15	S	8	R	27	S	11	R	5	R
5		EA002PI	28	S	19	S	7	R	26	S	14	S	6	R	29	S	10	R	5	R
6		EA003PD	24	S	18	S	6	R	27	S	14	S	7	R	26	S	12	S	6	R
7		EA004AI	27	S	19	S	8	R	29	S	14	S	7	R	27	S	13	S	7	R
8		EA004AD	26	S	18	S	7	R	29	S	14	S	4	R	28	S	14	S	7	R
9		EA005PI	24	S	17	S	5	R	27	S	14	S	5	R	27	S	15	S	7	R
10		EA009AI	22	S	16	S	4	R	27	S	13	R	6	R	28	S	15	S	6	R
11		EA010PI	26	S	18	S	7	R	25	S	12	R	5	R	27	S	14	S	5	R
12		AR010PI	23	S	17	S	6	R	26	S	12	R	5	R	29	S	13	S	7	R
13		AR018PI	28	S	19	S	5	R	25	S	12	R	7	R	27	S	15	S	7	R
14		ACH001AD	24	S	17	S	6	R	13	R	7	R	4	R	28	S	11	R	5	R
15		ACH002PD	27	S	19	S	8	R	23	S	14	S	7	R	29	S	10	R	5	R

*R: resistente, I: intermedio, S: sensible*

**Análisis:** De acuerdo con la tabla 35 podemos ver los resultados del análisis de la actividad antimicrobiana en relación a cada microconcentración de los aminoglucósidos propuestos, para ello se etiquetó como sensibles, intermediamente resistentes y resistentes según el diámetro del halo de inhibición, en los resultados se evidenció que en lo concerniente a la Gentamicina a una concentración de 30 y 10  $\mu\text{g}$  los microorganismo son sensibles, pero a 5  $\mu\text{g}$  *Staphylococcus aureus* ya expresó resistencia.

Lo mismo con la Neomicina a 30  $\mu\text{g}$  la cual expresó 14 aislados sensibles y tan solo 1 aislado presentó resistencia a dicha concentración, al observar los halos obtenidos con la Neomicina a 10  $\mu\text{g}$  se evidenció un número de 5 aislados de *Staphylococcus aureus* con resistencia y 10 aislados sensibles, sin embargo, a la concentración de 5  $\mu\text{g}$  se observó resistencia del total en los 15 aislados.

La Estreptomicina a 30  $\mu\text{g}$  expresa que los 15 aislados presentaron sensibilidad, sin embargo, a 10  $\mu\text{g}$  7 aislados bacterianos fueron resistentes y 8 sensibles, finalmente la Estreptomicina a 5  $\mu\text{g}$  expresó que el 100% de los *Staphylococcus aureus* fueron resistentes. En la figura 16 se representa la susceptibilidad de lo Aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Staphylococcus aureus*.



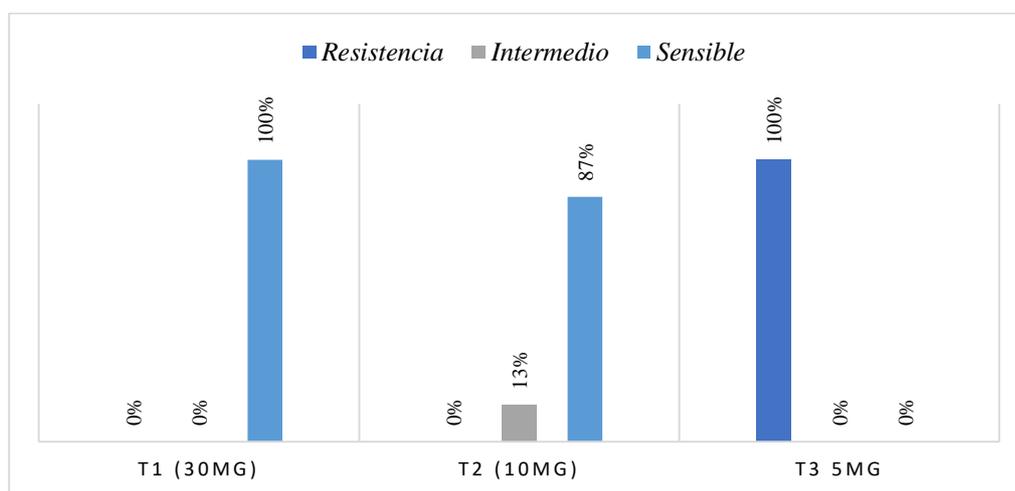
**Figura 16.** Efecto de la susceptibilidad del *Staphylococcus aureus* frente a los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina).  
Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022).

**Tabla 35.** Tabla de frecuencia y porcentaje de actividad antimicrobiana de la Gentamicina frente a la bacteria del generó *S. aureus*.

Criterio	T1		T2		T3	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	0	0	0	0	15	100
I	0	0	2	13	0	0
S	15	100	13	87	0	0
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>

A.A.: Actividad Antimicrobiana, S: sensible, R: resistentes, I: intermedio.

**Análisis:** Los resultados de la tabla 36 muestran que el T3 expresó un 100 % de resistencia en un total de 15 aislados, mientras que el T2 exhibió un 87 % de sensibilidad que representa 13 aislados y un 13 % de resistencia intermedia con 2 aislados bacterianos, finalmente, el T1 exhibió un 100 % de sensibilidad a 30µg de Gentamicina, en la figura 17 se obserba los Porcentajes de la susceptibilidad de la Gentamicina frente a bacterias del genero *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina.



**Figura 17.** Porcentajes de susceptibilidad del *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina a la Gentamicina

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Discusión:** Según Abdul *et al.* (2014), en su investigación donde analizó la sensibilidad a diferentes agentes antimicrobianos frente a 59 cepas de

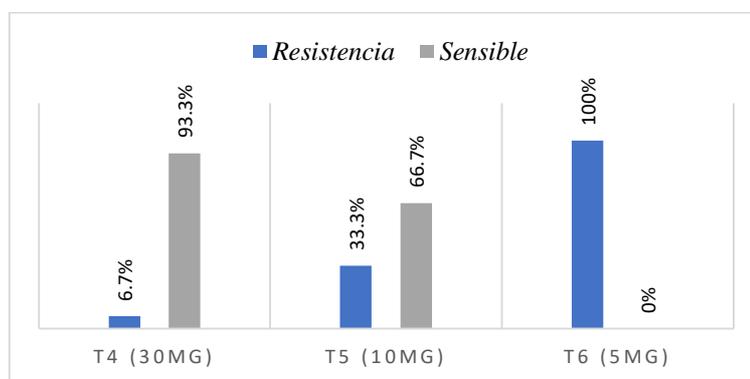
*Staphylococcus aureus*, estos expresaron el 93.08 % de sensibilidad a la Gentamicina de 10µg, comparativamente en la presente investigación los resultados obtenidos expresaron un 87 % sensibilidad, infiriendo que en condiciones medio ambientales similares 10µg de Gentamicina son suficientes para inhibir el crecimiento de dichos aislados.

**Tabla 36** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Neomicina frente a la bacteria del genero *S. aureus*.

Criterio	T4		T5		T6	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	1	6.7	5	33.33	15	100
S	14	93.3	10	66.67	0	0
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>

S: sensible, R: resistentes,

**Análisis:** Los resultados de la tabla 37 muestran que el T6 tiene un 100 % de resistencia, mientras que el T5 tiene un 66.67 % de sensibilidad con un número de 10 bacterias y un 33.33 % de resistencia que representan 5 bacterias, finalmente el T4 tiene un 93.3 % de sensibilidad con un número de 14 bacterias, y una resistencia del 6.7 % lo que representa una sola cepa bacteriana resistente a dicha concentración. En la Figura 18 podemos observar los Porcentajes de la susceptibilidad de la Neomicina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 18.** Porcentajes de la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* aislados de leche positiva a mastitis bovina a la Neomicina.

**Fuente:** Mazón & Mazón, (2022)

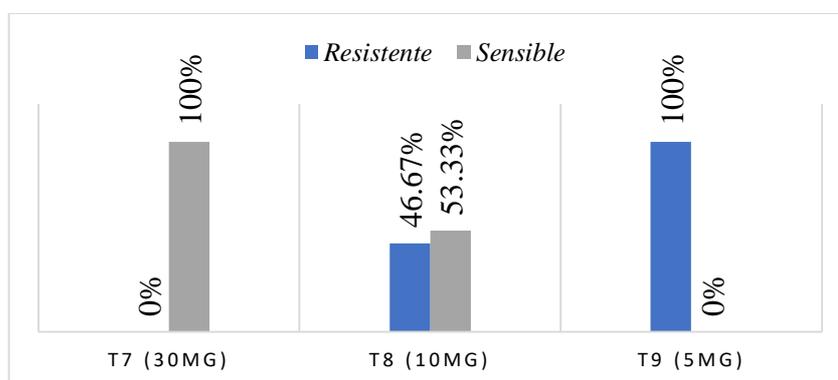
**Discusión:** Según Abdul *et al.* (2014), en su estudio donde analizó la sensibilidad a diferentes agentes antibióticos en 59 cepas de *Staphylococcus aureus*, la Neomicina (30µg) exhibió un 87.93 % de sensibilidad, de formar comparativa en la presente investigación se obtuvieron resultados similares a la misma concentración de dicho fármaco, donde se mostró un 93.3 % de sensibilidad, añadiendo a esto a 10 µg se presentó una sensibilidad de 66.7% por ello se asume que dicha concentración de neomicina fue suficiente para inhibir el crecimiento de 10 aislados de *S. aureus*.

**Tabla 37.** Tabla de frecuencia y porcentaje de actividad antimicrobiana de la Estreptomicina frente a *Staphylococcus aureus*.

Criterio	T7		T8		T9	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	0	0	7	46.67	15	100
S	15	100	8	53.33	0	0
<b>Total</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>	<b>15</b>	<b>100</b>

R: resistente, I: intermedio, S: sensible:

**Análisis:** Los resultados de la tabla 38 muestran que el T9 presentó un 100 % de resistencia en total de 15 aislados, mientras que el T8 tiene un 53.33 % de sensibilidad y un 46.67 % de resistencia, finalmente, el T7 tiene un 100 % de sensibilidad. En la figura 19 se observa los Porcentajes de la susceptibilidad de la Estreptomicina frente a *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis.



**Figura 19.** Porcentajes de la susceptibilidad de *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina frente a la Estreptomicina.

**Fuente:** Mazón & Mazón, (2022).

**Discusión:** Según Pineda, (2016) en su investigación de resistencia antibiótica por parte de los agentes causantes de la mastitis, aislaron 63 *Staphylococcus aureus*, en dicho estudio obtuvieron una presentación del 20.6 % de resistencia a la Estreptomicina (10µg), de manera comparativa dicho valor antes mencionado es menor a los resultados obtenidos en la presente investigación a 10 µg del fármaco citado donde se presentó un 75 % de resistencia.

#### **5.6.4. Efecto de la actividad antimicrobiana oxitetraciclina frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis.**

Se analizó el efecto de cada uno de los tratamientos mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente alzar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos que tuvieron un mejor comportamiento frente a *Escherichia coli* aisladas de leche positivas a mastitis.

**Tabla 38.** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de Oxitetraciclina frente a *Escherichia coli* aisladas de leche positiva a mastitis bovina.

<b>Fuente Variación</b>	<b>GL</b>	<b>SC</b>	<b>CM</b>	<b>F-Valor</b>	<b>Pr &gt;F</b>
<b>Tratamiento Clínico</b>	2	1072.58	536.29	533.12	<.0001**
<b>Bloque</b>	7	119.29	17.04	16.94	<.0001**
<b>Error</b>	14	14.08	1.005		<b>CV: 8.50%</b>
<b>Total</b>	23	1205.95			

\*\**: Altamente significativo, CV: coeficientes de variación.*

**Análisis:** En la tabla 39 se muestran los resultados obtenidos al analizar la interacción de la actividad antimicrobiana de la Oxitetraciclina en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli*, la prueba de Fisher nos indica:

En lo que concierne a los bloques o repeticiones se observa una interacción altamente significativa, esto quiere decir que existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, interpretando así que las unidades experimentales tuvieron un comportamiento diferente al ser sometidas al efecto de la oxitetraciclina.

En el caso de los tratamientos la prueba de Fisher manifiesta que la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina a diferentes microconcentraciones sobre *Escherichia coli* ostenta una diferencia altamente significativa, evidenciando que la oxitetraciclina posee un diferente efecto al momento de inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada. Con un coeficiente de variación de 8.50 % confirmando veracidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la presente investigación.

**5.6.4.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Escherichia coli* aislados de mastitis bovina.**

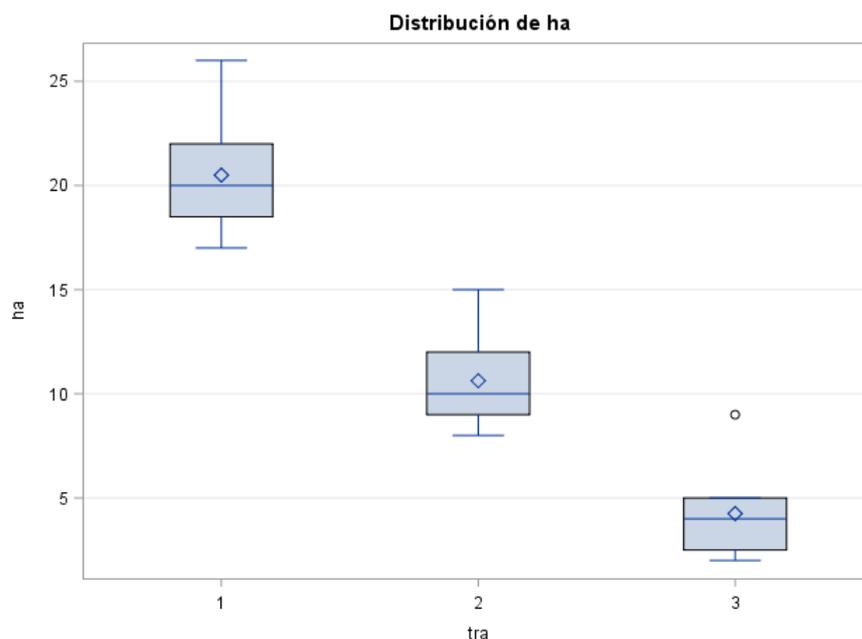
Mediante el análisis de la prueba de Tukey 5%, para la comparación de medias de los tratamientos se observó las medias de los valores de los halos de inhibición de oxitetraciclina a (5µg, 10µg y 30µg) frente a *Escherichia coli*.

**Tabla 39.** Prueba de comparación de medias (Tukey), del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Escherichia coli*.

Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
1 (30 µg)	8	20.50	A
2 (10 µg)	8	10.62	B
3 (5 µg)	8	4.25	C

N: número de unidades experimental.

**Análisis:** Para determinar cual fue el mejor tratamiento, se realizó la comparación de medias Tukey al 5%, donde el tratamiento T1 (30µg) fue el que presentó la mayor zona de inhibición de crecimiento bacteriano con un promedio de 20.45 mm de diámetro de halo de inhibición; seguido del tratamiento T2 (10µg) con un promedio de 10.62 mm de diámetro de zona de inhibición; y finalmente, el tratamiento T3 exhibió el promedio mas bajo con 4.25 mm de zona de inhibición. En la figura 20 se aprecia el Efecto de la actividad de la oxitetraciclina frente a bacterias del genero *Escherichia coli* aislados de mastitis bovina.



**Figura 20.** Efecto de la actividad de la oxitetraciclina frente a *Escherichia coli* aislados de mastitis bovina.

Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022)

#### 5.6.4.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de oxitetraciclina frente a *Escherichia coli*, aisladas de leche positivas a mastitis.

La interpretación se llevó acabo en base a las recomendaciones del Clínical Laboratory Estándar Institute (CLSI, 2020), y las recomendaciones del comité Europeo de Pruebas de Susceptibilidad (EUCAST, 2022) donde se establecen los puntos de corte para organismos de tipo salvaje.

**Tabla 40.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de la zona de inhibición en milímetros (mm) de Oxitetraciclina frente a *Escherichia coli*.

	Difusión de discos (mm)			
Interpretación	≤ 11	12-14	15- 18	≥ 19
Guía CLSI	R	I	S	
Guía EUCAST	R			S

*R: resistente, I: intermedio, S: susceptibles.*

**Análisis:** En la tabla 41 se observa los puntos de corte establecidos por la guía CLSI, (2020) del documento VET01, donde se considera a la Tetraciclina como fármaco representativo de este grupo farmacológico para el establecimiento de

criterios de susceptibilidad, en los documentos citados se menciona que la dosis usual para realizar actividad antimicrobiana es de 30 µg en enterobacterias donde se incluye a la *E. coli*.

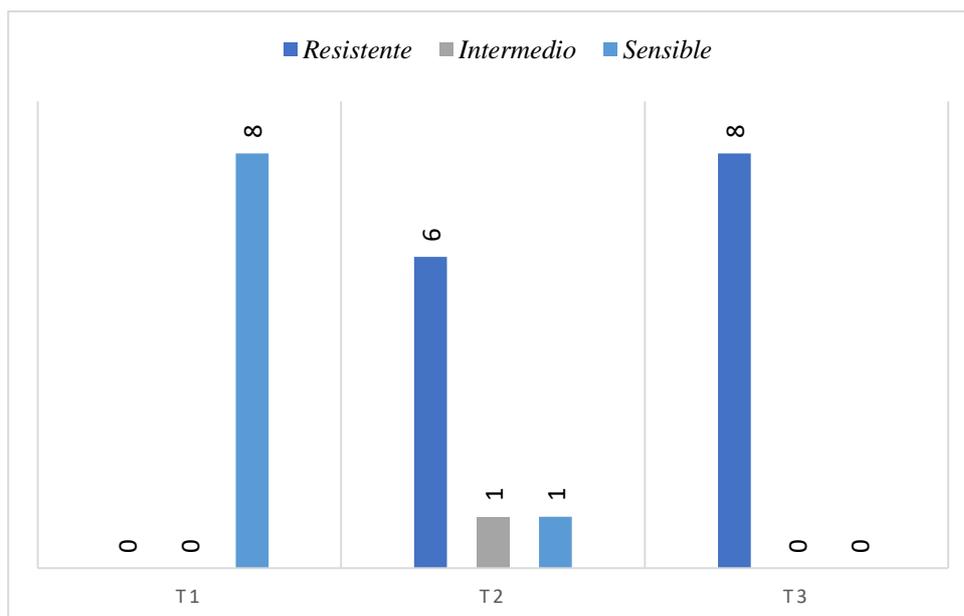
#### 5.6.4.3. Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina

**Tabla 41.** Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente *Escherichia coli*.

<i>Escherichia coli</i> #	Código	Concentración de Oxitetraciclina					
		(30µg)	P.C.	(10µg)	P.C.	(5µg)	P.C.
		T1		T2		T3	
1	D002PI	19	S	10	R	5	R
2	D003PI	26	S	15	S	9	R
3	EA006PI	21	S	11	R	3	R
4	AR001AI	23	S	13	I	4	R
5	AR001AD	17	S	9	R	2	R
6	AR002PD	18	S	8	R	2	R
7	AR0004PD	19	S	9	R	4	R
8	AR013PI	21	S	10	R	5	R

*S: susceptible. I: intermedio, R: Resistente. P.C: punto de corte*

**Análisis:** La actividad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a *Escherichia coli* aisladas de leche positivas a mastitis bovina se observa en la tabla 42 los resultados obtenidos demuestran que al T1 (30µg) presenta el 100% de susceptibilidad en los 8 aislados, mientras que el T2 (10µg) presenta un 75% de resistencia expresado por 6 bacterias, finalmente en el T3 (5µg) se observo que existe un 100% de resistencia en los 8 aislados. En la figura 21 se representa la susceptibilidad de lo Oxitetraciclina frente a las bacterias del género *Escherichia coli*.



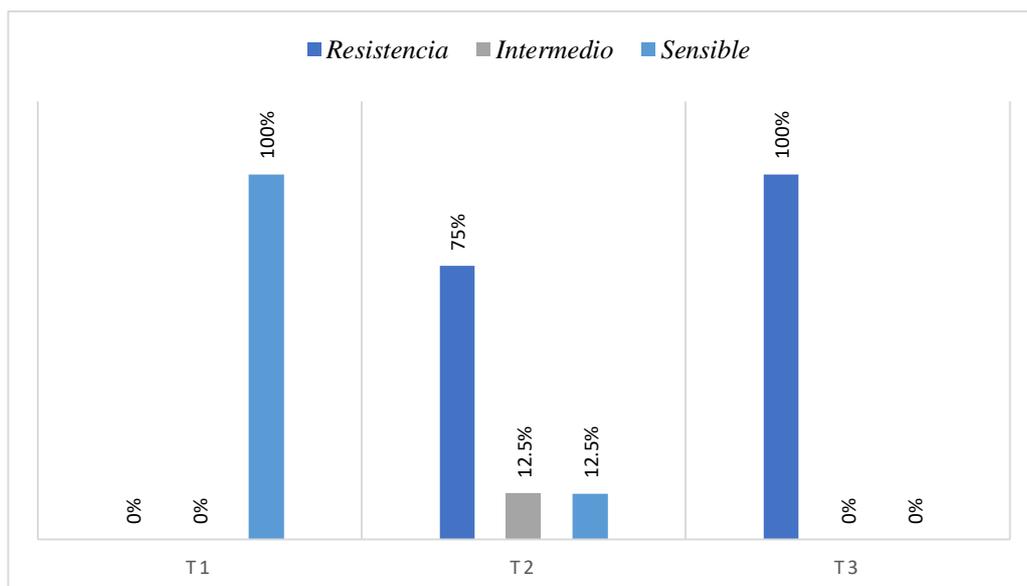
**Figura 21.** Efecto de la susceptibilidad de *E. coli* frente a oxitetraciclina.  
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Tabla 42** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Escherichia coli*.

Criterio	T1		T2		T3	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	0	0	6	75	8	100
I	0	0	1	12.5	0	0
S	8	100	1	12.5	0	0
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

*R: resistente, I: intermedio, S: sensible*

**Análisis:** Los resultados de la tabla 43 muestran que el T3 (5µg) tiene un 100 % de resistencia expresándose en 8 aislados, mientras que el T2 (10µg) presenta un 12.5 % de resistencia intermedia contemplado por 1 bacteria, además presenta 12.5 % de susceptibilidad, y un 75 % de resistencia, finalmente el T1 (30µg) presenta un 100 % de susceptibilidad, según los puntos de corte tomados en referencia de la guía del CLSI, (2020). En la figura 22 se representa los porcentajes de la susceptibilidad de la Oxitetraciclina frente a *E. coli* aisladas de leche positiva a mastitis bovina



**Figura 22.** Porcentajes de la susceptibilidad de la oxitetraciclina frente a bacterias del género *E. coli* aisladas de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**Discusión:** Según Nibret *et al.* (2011), en su estudio donde evaluó la actividad antimicrobiana en patógenos causantes de mastitis, aisló 5 cepas de *Escherichia coli* causantes de mastitis de las cuales el 40 % (n=2) presentaron susceptibilidad a la Tetraciclina y el 60% restante resistencia, también Cruz *et al.* (2017), en su estudio de identificación y resistencia de patógenos aislados de mastitis bovina demostró que *E. coli* presentó el 33.3% de resistencia frente a oxitetraciclina (30µg), de tal manera podemos inferir que en la presente investigación se evidenció una mejor efectividad ya el 100 % de los aislados son susceptibles a la oxitetraciclina a una concentración de 30µg.

#### **5.6.5. Efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos en estudio sobre bacterias del género *Escherichia coli*.**

Se analizó el efecto de cada uno de los tratamientos mediante el análisis de varianza del diseño completamente alzar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos que tuvieron un mejor comportamiento contra *Escherichia coli* aisladas de leche positivas a mastitis.

**Tabla 43** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Escherichia coli*.

Fuente Variación	GL	SM	CM	F-Valor	Pr >F
Tratamiento clínico	8	4102.94	512.8680	677.55	<.0001**
Bloque	7	12.98	1.855	2.45	0.0289 *
Error	56	42.388	0.756		CV: 7.30%
Total	71	4158.31			

\*\* : Altamente significativa, \* : significativo, CV: coeficiente de variación.

**Análisis:** En la tabla 44 podemos inferir que los resultados obtenidos al analizar la actividad antimicrobiana de los betalactámicos en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli*, la prueba de Fisher nos indica:

En lo que concierne a los bloques o repeticiones se evidencia una interacción significativa, esto quiere decir que existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, interpretando así que las unidades experimentales tuvieron un comportamiento diferente al ser sometidas a los antibióticos de la familia betalactámicos.

En el caso de los tratamientos se justifica en base a la prueba de Fisher que la actividad antimicrobiana de los betalactámicos a diferente microconcentraciones sobre *Escherichia coli*, posee una diferencia altamente significativa, evidenciando que tiene un comportamiento diferente al momento de inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada. Con un coeficiente de variación de 7.30 % confirmando veracidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la presente investigación.

#### **5.6.5.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Escherichia coli* aislados de mastitis bovina.**

El análisis de la comparación de medias (Tukey 5%), permitió corroborar los promedios entre los tratamientos de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina, a 5µg, 10µg y 30µg), pudiendo determinar que tratamiento obtuvo el

mejor promedio en la medida de los halos de inhibición en base a la media de la población de un total de 8 aislados confirmados como *Escherichia coli*, los cuales se asilaron de mastitis bovina.

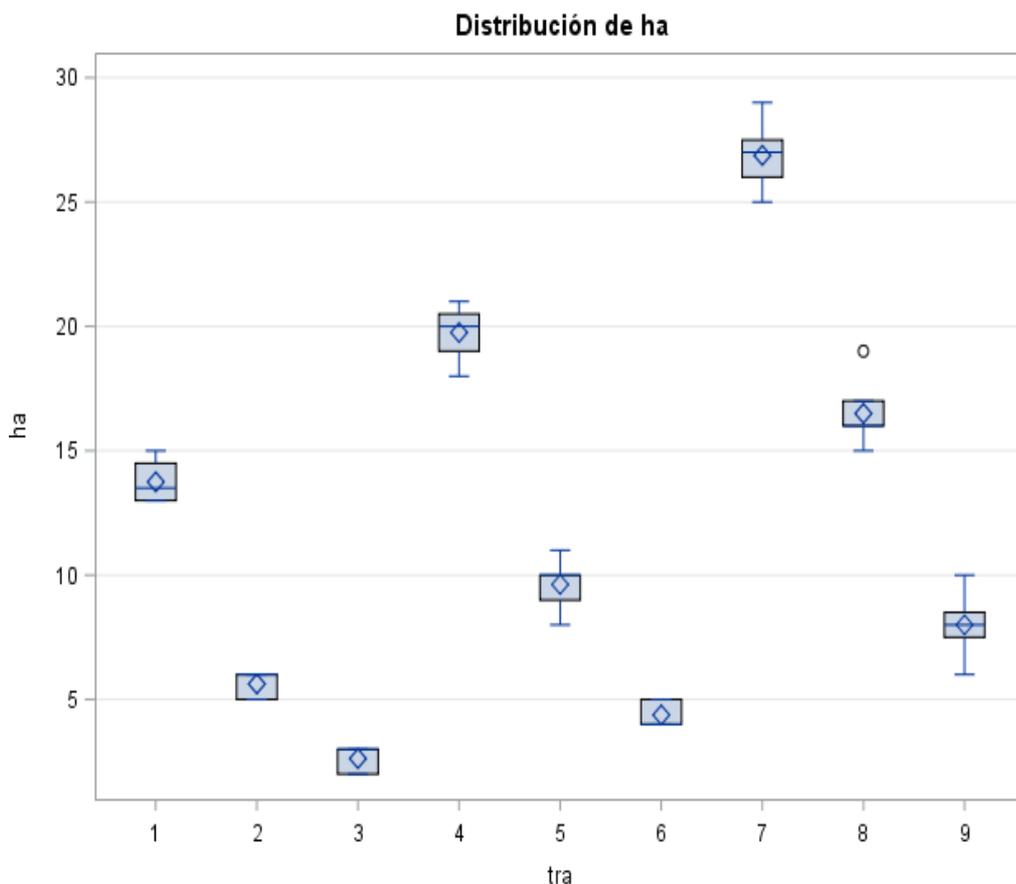
**Tabla 44** Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los betalactámicos frente a *Escherichia coli*.

Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
7 (10 µg Clox.)	8	26.87	A
4 (30 µg Cl.)	8	19.75	B
8 (5 µg Clox.)	8	16.50	C
1 (30 µg Pen.)	8	13.75	D
5 (10 µg Cl.)	8	9.62	E
9 (1 µg Clox.)	8	8.00	F
2 (10 µg Pen.)	8	5.62	G
6 (5 µg Cl.)	8	4.37	G
3 (5 µg Pen.)	8	2.62	H

*N*: número de unidades experimentales, *Pen.*: penicilina, *Clox.*: cloxacilina, *Cl.*: cefalexina.

**Análisis:** La prueba de Tukey al 5% no ayudó a determinar la categorización de los tratamientos y entender su expresión, donde el tratamiento T7 (10µg Cloxacilina) fue el que presentó mayor zona de inhibición de crecimiento bacteriano con un promedio de 26.87 mm de diámetro de halo; seguido del tratamiento T4 (30µg Cefalexina) con un promedio de 19.75 mm de diámetro de zona de inhibición de crecimiento bacterianos; continuando el tratamiento T8 (5µg de Cloxacilina) presentó un promedio de 16.50 mm diámetro de zona de inhibición, posteriormente se sitúa el T1 (30µg de Penicilina) con un promedio de 13.75 mm diámetro de halo de inhibición, los cuales representan la concentración suficiente para inhibir el crecimiento bacterianos.

Además, en la expresión del T5 (10µg de Cefalexina) este fármaco presentó un promedio de 9.62 mm de diámetro de halo de inhibición, siguiéndole el T9 (1µg de Cloxacilina) con un promedio de 8 mm de halo, posteriormente el T2 (10µg de Penicilina) obtuvo un promedio de 5.62 mm de diámetro el cual no presenta diferencias significativas con el T6 (5µg de Cefalexina) con un promedio de 4.37 mm de halo y finalmente el tratamiento con menor promedio de diámetro fue T3 (5µg de Penicilina) con 2.62 mm. En la figura 23 se evidencia el efecto de la actividad de los betalactámicos frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina.



**Figura 23.** Efecto de la actividad de los betalactámicos frente *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina.

Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022)

**5.6.5.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de los antibióticos betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) sobre bacterias *Escherichia coli*, aisladas de leche positivas a mastitis.**

La interpretación se llevó acabo según a las recomendaciones del Clínical Laboratory Estándar Institute (CLSI, 2020), y las recomendaciones del comité

Europeo de Pruebas de susceptibilidad (EUCAST, 2022) donde establecen los puntos de corte para organismo de la familia Enterobacterias.

**Tabla 45.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de la Penicilina frente a *Escherichia coli*.

	Difusión de discos (mm)		
Interpretación	≤ 13	14-16	≥ 17
<b>Guía CLSI</b>	R	I	S
<b>Guía EUCAST</b>	R	S	

R: Resistencia, S: sensible, I: intermedio

**Análisis:** En la tabla 46 podemos ver los puntos de corte establecidos por la guía (CLSI, 2022) en el documento M100-ED32 indica los puntos de corte usados para la penicilina donde se establece que se considera como resistente cuando la medida de los halos es ≤ 13mm y sensible cuando la medida de los halos es ≥ 17 mm, igual manera en la guía (EUCAST, 2022), establece los puntos de corte para *Escherichia coli*, considerando que es sensible cuando la medida del halo es ≥ 14 mm y resistentes cuando la medida del halo de inhibición es de ≤ 13 mm.

**Tabla 46.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de la Cefalexina frente a *Escherichia coli*.

	Difusión de discos (mm)	
Interpretación	≤ 13	≥ 14
<b>Guía EUCAST</b>	R	S

R: Resistencia, S: susceptibles.

**Análisis:** La Guía (EUCAST, 2022), Establece los puntos de corte para *Escherichia coli* frente cefalexina con discos de 30µg, la cual estipula que este patógeno es susceptible cuando su medida de halo es ≥ 14 mm y resistente cuando hay evidencia de medida de halo ≤ 13mm de zona de inhibición.

**Tabla 47.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de la Cloxacilina *Escherichia coli*.

	Difusión de discos (mm)		
Interpretación	≤ 10	11-12	≥ 13
<b>Guía EUCAST</b>	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>S</b>

*R: resistencia, S: susceptibles, I: intermedio.*

**Análisis:** En la tabla 48 podemos ver los puntos de corte establecidos por la guía (CLSI, 2015), estipulando que la concentración recomendada es de 1 µg de cloxacilina para trabajos in vitro en donde para establecerse como susceptibles debe haber evidencia de medidas de halos ≥ 13 mm.

**5.6.5.3. Actividad antimicrobiana de los antibióticos betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina.**

**Tabla 48** Actividad antimicrobiana de los antibióticos aminoglucósidos frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina.

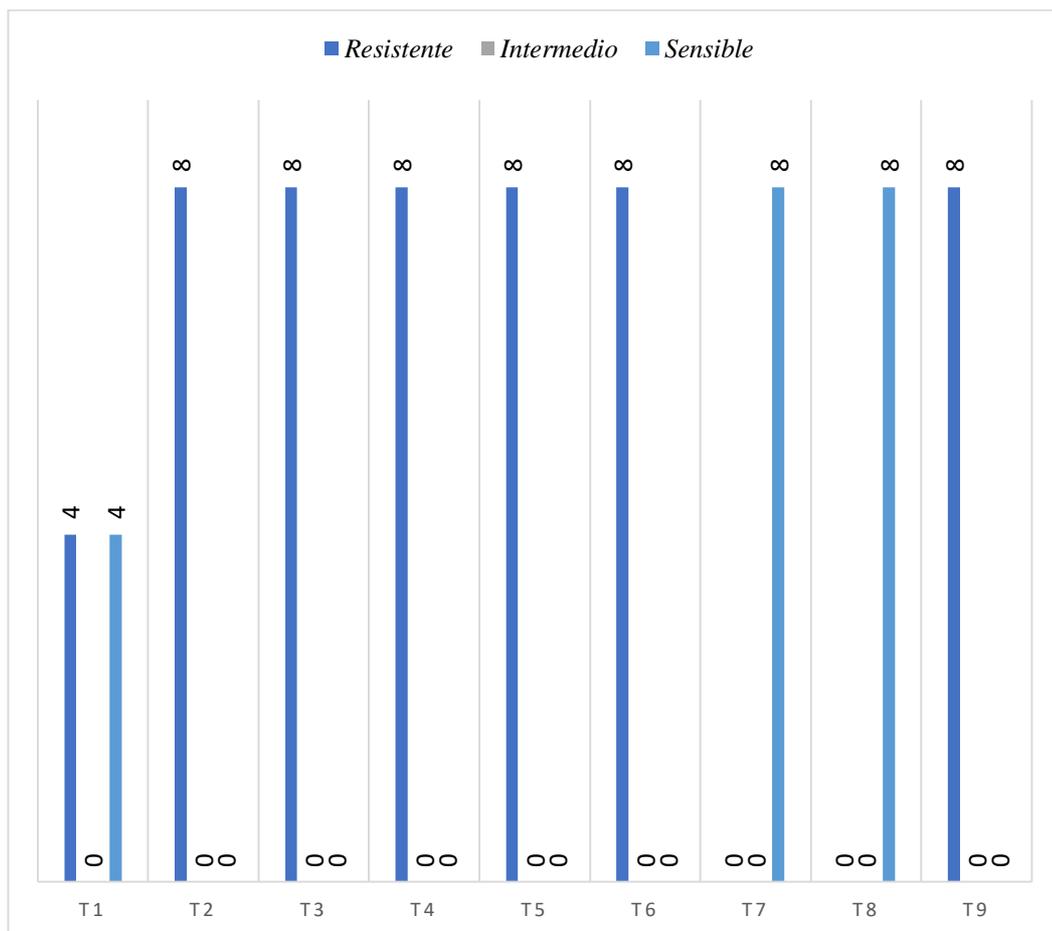
<i>Escherichia coli</i> #	Código	Concentración de Penicilina						Concentración de la Cefalexina						Concentración de la Cloxacilina					
		30µg	P C	10µ g	P C	5µg	P. C	30µg	P. C	10µg	P. C	5µg	P.C .	10µg	P C	5µg	P. C.	1µg	P.C.
		T1		T2		T3		T4		T5		T6		T7		T8		T9	
1	D002PI	15	S	6	R	3	R	19	S	8	R	5	R	29	S	19	S	10	R
2	D003PI	13	R	5	R	2	R	18	S	9	R	4	R	26	S	16	S	6	R
3	EA006PI	14	S	5	R	2	R	21	S	10	R	5	R	27	S	17	S	7	R
4	AR001AI	13	R	6	R	3	R	20	S	11	R	4	R	26	S	16	S	8	R
5	AR001AD	13	R	6	R	3	R	20	S	10	R	4	R	25	S	17	S	9	R
6	AR002PD	13	R	6	R	3	R	20	S	10	R	5	R	27	S	16	S	8	R
7	AR0004PD	14	S	5	R	2	R	21	S	9	R	4	R	28	S	15	S	8	R
8	AR013PI	15	S	6	R	3	R	19	S	10	R	4	R	27	S	16	S	8	R

R: resistencia, S: sensible, P.C.: punto de corte.

**Análisis:** en la tabla 49 se puede evidenciar los resultados, de la actividad antimicrobiana de los 3 antibióticos pertenecientes a la familia de los betalactámicos, donde la penicilina determinada a 30 µg expresa 4 aislados resistentes a dicha concentración, por otra parte, a menores concentraciones se evidencia que los 8 aislados tiene resistencia a los antibióticos mencionados.

Cefalexina a 30 µg muestra una susceptibilidad total, considerándose que a menores concentraciones 10 y 5 µg se observa la presentación de resistencias por parte de los 8 aislados causantes de mastitis bovina.

En lo que concierne a la cloxacilina a concentración de 1 µg exhibe una resistencia total por parte de los 8 aislados, además se observó que a mayor concentración los 8 aislados expresaron una susceptibilidad total. En la figura 24 se representa la susceptibilidad de los betalactámicos frente a *Escherichia coli*.



**Figura 24.** Efecto de la susceptibilidad de los betalactámicos frente a *E. coli* aisladas de mastitis bovina.

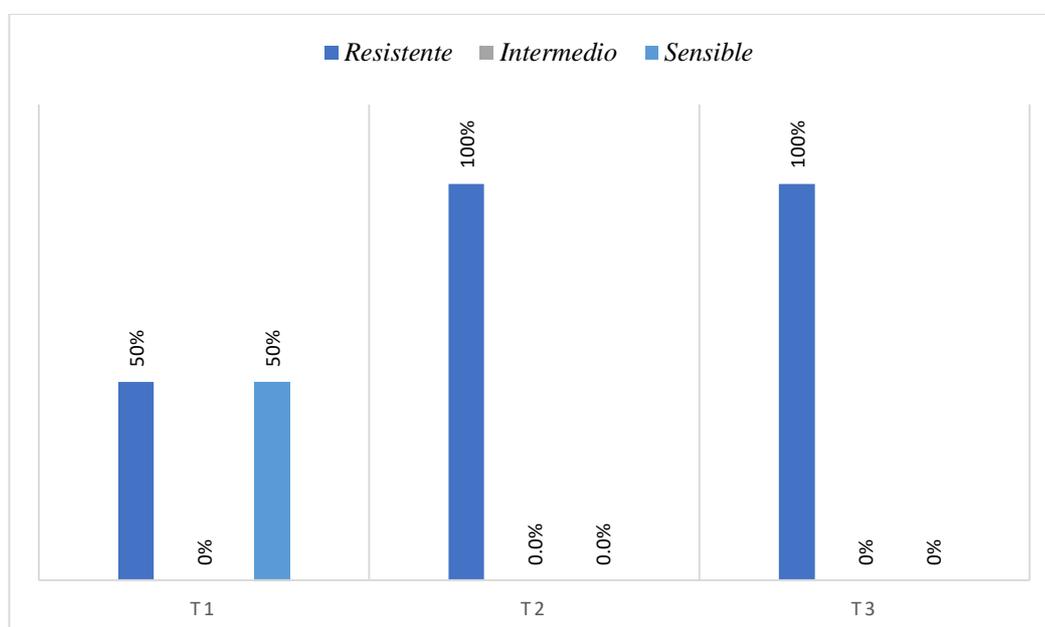
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Tabla 49.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de la Penicilina frente *Escherichia coli*.

Criterio	Penicilina					
	T1		T2		T3	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
S	4	50	0	0	0	0
I	0	0	0	0	0	0
R	4	50	8	100	8	100
<b>total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

P.C: puntos de corte, R: resistente, I: intermedio, S: susceptible, F: frecuencia.

**Análisis:** La tabla 50 Muestra que el T3 (5µg) expresó un 100 % de resistencia en un total de 8 aislados, así mismo el T2 (10µg) exhibió un 100 % de resistencia, finalmente el T1 (30µg) presentó un 50 % de susceptibilidad y 50 % de resistencia. En la figura 25 se observa los porcentajes de la susceptibilidad a la penicilina por parte de *Escherichia coli*. aisladas de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 25.** Porcentajes de la susceptibilidad a la Penicilina por parte de *Escherichia coli*, aisladas de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

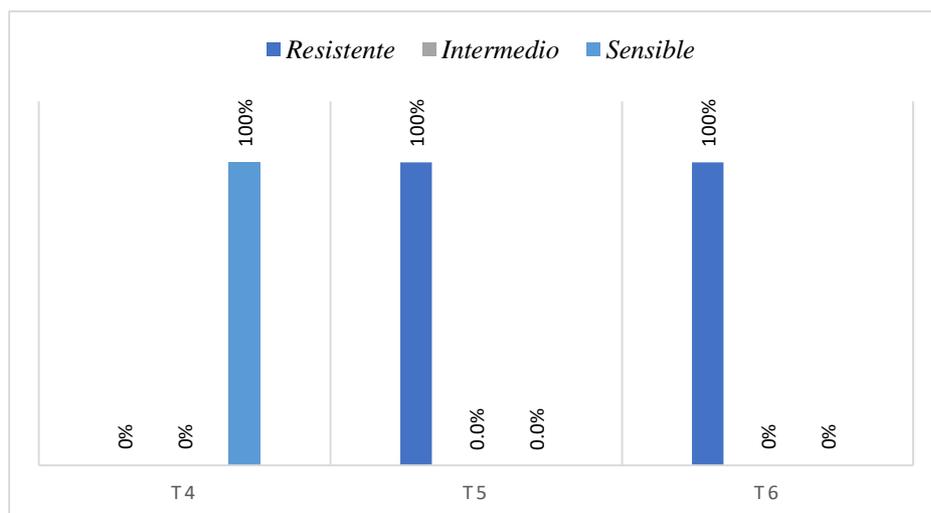
**Discusión:** Franco, (2020) en su investigación evaluó la susceptibilidad a la Penicilina (10µg) por parte de 27 cepas de *E. coli* demostrando que el 81 % (n=22) eran resistentes y el 19 % (n=5) eran sensibles a dicho fármaco a dicha concentración, comparativamente en la presente investigación a la misma concentración los 8 aislados son 100 % resistentes, mientras que al exponer los aislados a 30µg el 50 % son sensibles y 50 % son resistentes.

**Tabla 50.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Cefalexina frente a *Escherichia coli*.

Criterio	Cefalexina					
	T4		T5		T6	
	Frec	%	Frec	%	Frec	%
S	8	100	0	0	0	0
I	0	0	0	0	0	0
R	0	0	8	100	8	100
<b>total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

*R: resistente, I: intermedio, S: sensible, F: frecuencia.*

**Análisis:** Los resultados de la tabla 51 muestran que el T6 (5µg) presentó un 100 % de resistencia, así mismo que el T5 (10µg) exhibió un 100 % de resistencia, finalmente, el T4 (30µg) ostentó de un 100 % de susceptibilidad en 8 aislados a dicha concentración. En la figura 26 se observa los porcentajes de la susceptibilidad de la cefalexina frente a *Escherichia coli* aislados de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 26.** Porcentajes de la susceptibilidad de la cefalexina frente *Escherichia coli* aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**Discusión:** Según Mohamed *et al.* (2016), en su investigación aisló *E. coli* la cual representaba el 32.14% (n=36) del total de los aislados, dichos aislados en las pruebas de susceptibilidad in vitro con cefalexina (30µg) demostraron un 50 % de susceptibilidad (n=18), discerniendo de esta investigación ya que de 8 cepas de *E. coli* el 50 % (n=4) expresaron sensibilidad y el 50% resistencia a una concentración de 30µg.

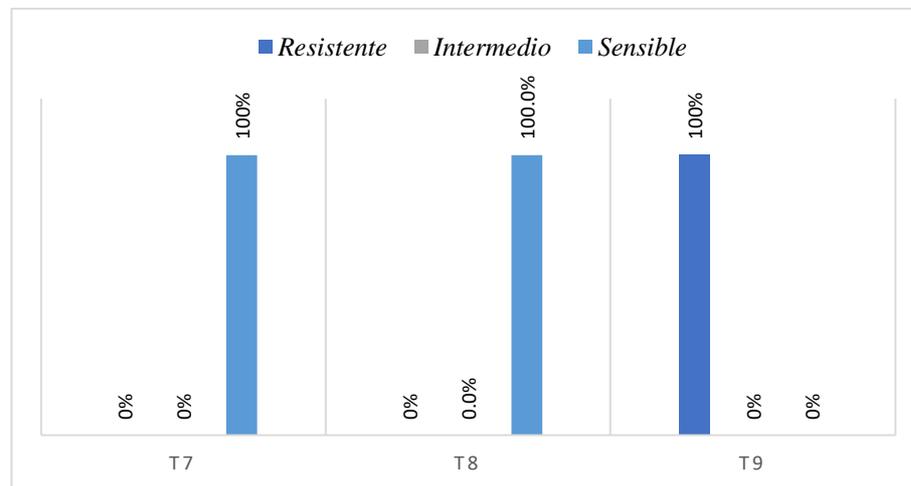
**Tabla 51.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Cloxacilina frente a *Escherichia coli*.

Criterio	Cloxacilina					
	T7		T8		T9	
	F	%	F	%	F	%
S	8	100	8	100	0	0
I	0	0	0	0	0	0
R	0	0	0	0	8	100
<b>total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

*P.C:* puntos de corte, *R:* resistente, *I:* intermedio, *S:* susceptible, *F:* frecuencia.

**Análisis:** Los resultados de la tabla 52 muestran que el T9 (1µg) exhibió un 100 % de resistencia en 8 aislados, mientras que el T8 (5µg) presentó un 100 % de

susceptibilidad, finalmente, así mismo el T7 (10µg) ostentó de un 100 % de susceptibilidad. En la figura 27 podemos observar los Porcentajes de la susceptibilidad a la Cloxacilina por parte de *Escherichia coli* aislada de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 27.** Porcentajes de la susceptibilidad de la Cloxacilina frente a *Escherichia coli* aislados de mastitis bovina.  
**Elaborado por:** Mazón & Mazón (2022).

**Discusión:** Trevizan, (2019) en su investigación aisló 114 cepas de *E. coli* de vacas con mastitis de las cuales se evaluó la susceptibilidad in vitro a la cloxacilina (25µg) pudiendo demostrar que el 99.1 % (n=113) son resistentes y tan solo el 0.9 % (n=1) es sensible, comparativamente se demostró que en los resultados obtenidos en la actual investigación 5 µg del fármaco citado fueron suficientes para inferir en el crecimiento de dicha bacteria ya que presentó el 100 % de susceptibilidad, se asume que esto se debe al desconocimiento en el uso de antimicrobianos y su mecanismo de acción.

#### **5.6.6. Efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Escherichia coli*.**

Se analizó el efecto de cada uno de los tratamientos mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos antibióticos aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) que tuvieron un mejor comportamiento en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli* aislados de leche positivas a mastitis.

**Tabla 52.** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los aminoglucósidos sobre bacterias del género *Escherichia coli*.

Fuente Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
Tratamiento clínico	8	5586.777	698.34722	557.79	<.0001**
Bloque	7	17.76388	2.5376	2.03	0.0675 NS
Error	56	70.11111	1.2519		CV: 7.55%
Total	71	5674.6527			

\*\* : Altamente significativa, NS: no significativo, CV: coeficiente de variación.

**Análisis:** En la tabla 53 podemos inferir que los resultados obtenidos al analizar la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos en la inhibición del crecimiento de *Escherichia coli*, la Fisher manifiesta que:

En lo que concierne a los bloques o repeticiones la interacción es no significativa, demostrando que no existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, asumiendo que las unidades experimentales tuvieron un comportamiento similar contra los antibióticos de la familia aminoglucósidos.

En el caso de los tratamientos se evidenció mediante la prueba de Fisher que la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos a diferente microconcentraciones sobre *Escherichia coli*, se le atribuye una diferencia altamente significativa, evidenciando de tal modo que tiene un efecto diferente al momento de inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada. Esto con un coeficiente de variación de 7.55 % confirmando veracidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la presente investigación.

#### **5.6.6.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de los Aminoglucósidos frente *Escherichia coli*.**

Mediante el análisis de la prueba de Tukey 5%, para la comparación de medias de los tratamientos se observó las medias de los valores de los halos de inhibición de aminoglucósidos a (5µg, 10µg y 30µg) frente a *Escherichia coli*.

**Tabla 53.** Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a genero *Escherichia coli*.

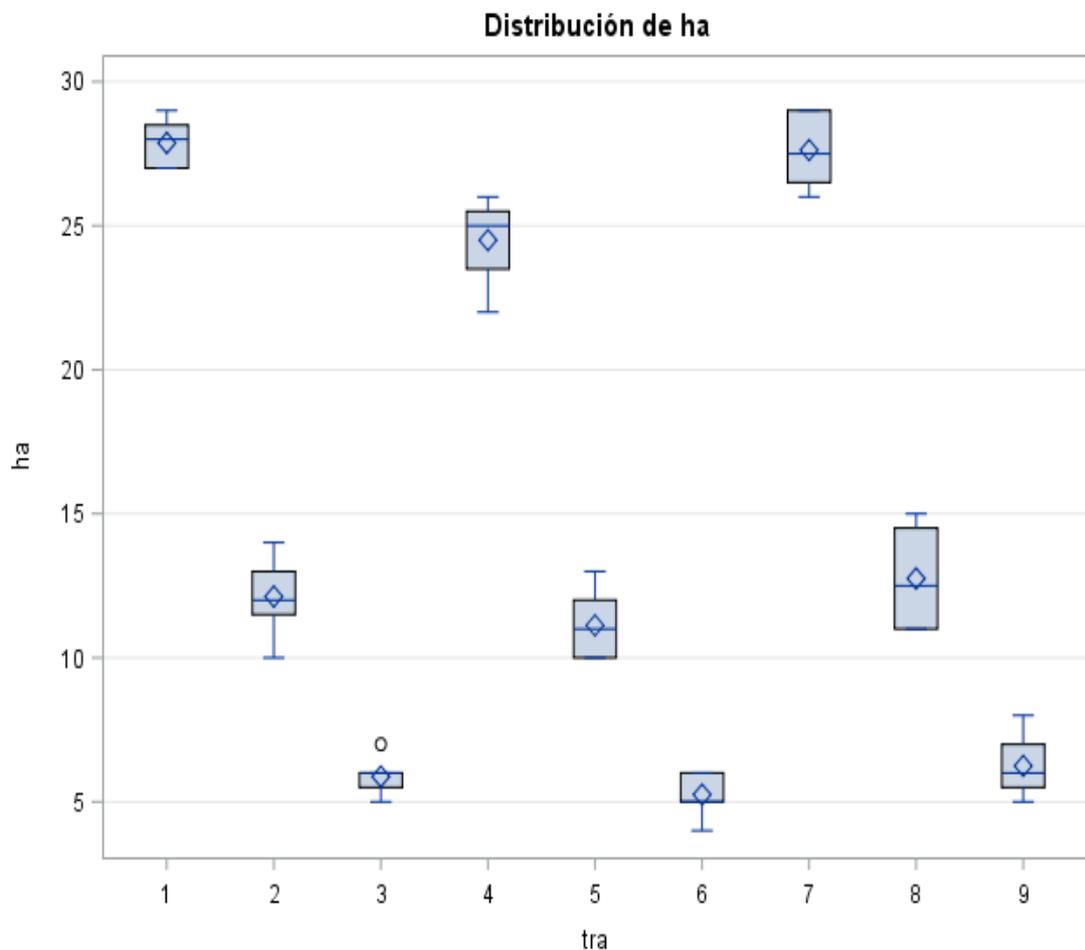
Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
1 (30 µg Gen.)	8	27.87	A
7 (30 µg Estr.)	8	27.62	A
4 (30 µg Neo.)	8	24.50	B
8 (10 µg Estr.)	8	12.75	C
2 (10 µg Gen.)	8	12.12	C
5 (10 µg Neo.)	8	11.12	C
9 (5 µg Estr.)	8	6.25	D
3 (5 µg Gen.)	8	5.87	D
6 (5 µg Neo.)	8	5.25	D

N: unidades experimentales, Gen.: gentamicina, Neo.: neomicina, Estr.: estreptomicina.

**Análisis:** El T1 (30µg Gentamicina) fue el que presentó mayor zona de inhibición de crecimiento bacteriano con un promedio de 27.87 mm de diámetro de halo; seguido del tratamiento T7 (30µg Estreptomicina) con un promedio de 27.62 mm de diámetro de zona de inhibición compartiendo el mismo rango de Tukey que expresa igualdad estadística; y finalmente, el tratamiento T4 (30µg de Neomicina) presentó una media de 24.50 mm diámetro de zona de inhibición de crecimiento bacteriano.

Al comparar los antibióticos a la concentración de 10µg se expresan la misma interacción en el rango de Tukey, lo que nos refiere que no se le atribuye diferencias significativas; siendo el T8 (Estreptomicina 10µg) el que presentó la mayor media con 12.75 mm de diámetro de halo de inhibición, seguido por el T2 (10µg de Gentamicina) con un promedio de 12.12 mm de diámetro de halo de inhibición y finalmente el T5 (10g de Neomicina) obtuvo el promedio de 11.12 mm siendo el mas bajo a la concentración antes mencionada frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina.

De tal manera que los antibióticos aminoglucósidos al ser comprados a la concentración mas baja propuesta (5µg) de los fármacos frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina, se reportó que expresan la misma agrupación de rango de la prueba de Tukey demostrando que no tiene diferencias significativas para ello; el T9 (5µg de Estreptomicina) es el que presentó mayor promedio de 6.25 mm de halo de inhibición, seguido del T3 (5µg Gentamicina) con un promedio de 5.87 mm y finalmente el T6 (5µg de Neomicina) tiene el promedio mas bajo con 5.25 mm de diámetro de halo de inhibición. En la figura 28 podemos ver el efecto de la actividad de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a bacterias del género *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina.



**Figura 28.** Efecto de la actividad de los aminoglucósidos frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**5.6.6.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de los antibióticos aminoglucósidos frente a *Escherichia coli*.**

La interpretación se llevó a cabo según a las recomendaciones del Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2020), y del comité Europeo de Pruebas de susceptibilidad (EUCAST, 2022) donde establecen los puntos de corte para organismo de la familia Enterobacterias.

**Tabla 54.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de la Gentamicina frente a *Escherichia coli* mediante el método difusión en disco.

	Difusión de discos (mm)			
Interpretación	≤ 12	13-15	16	≥17
Guía CLSI	R	I	S	
Guía EUCAST	R			S

R: resistente, I: intermedio, S: sensible.

**Análisis:** En la tabla 55 podemos ver los puntos de corte establecidos por la guía del CLSI, (2020) y el documento VET01, dichos manifiestos indican que la Gentamicina a 10 µg frente enterobacterias, se considera sensibles cuando hay medias de halos ≥ 16 mm y resistentes con medidas de halo ≤ 12 mm, igualmente en la guía del EUCAST, (2022) refiere que este tipo de aislados son sensible cuando tiene medidas de halo ≥ 17 mm y es resistente cuando tiene medidas ≤ 16 mm para organismos de tipo salvaje.

**Tabla 55.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de la Neomicina frente a *Escherichia coli*.

	Difusión de discos (mm)			
Interpretación	≤ 11	12	13-16	≥17
Guía CLSI	R		I	S
Guía EUCAST	R	S		

R: resistente, I: intermedio, S: sensible.

**Análisis:** En la tabla 56 podemos ver los puntos de corte establecidos para microorganismos de la familia enterobacterias, según la guía (CLSI, 2015) donde dicho publicado manifiesta que la Neomicina a 30µg se considera sensibles cuando hay medias de halos  $\geq 17$  mm y resistentes con medidas de halo  $\leq 12$  mm, de igual manera según la guía (EUCAST, 2022) refiere que este tipo de aislados son considerados sensible cuando expresan medidas de halo  $\geq 13$  mm y resistentes cuando tienen medidas  $\leq 12$  mm para organismos de tipo salvaje.

**Tabla 56.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de la Estreptomicina frente a *Escherichia coli*.

	Difusión de discos (mm)		
Interpretación	$\leq 11$	12-14	$\geq 15$
Guía CLSI	R	I	S

*R: resistente, I: intermedio, S: susceptible.*

**Análisis:** En la tabla 57 podemos ver los puntos de corte establecidos por la guía del (CLSI, 2020) en el documento VET01 donde dicho publicado manifiesta que la Estreptomicina a 10 µg se considera sensibles cuando hay medias de halos  $\geq 15$  mm y resistentes con medidas de halo  $\leq 11$  mm.

**5.6.6.3. Actividad antimicrobiana de aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina.**

**Tabla 57.** Actividad antimicrobiana de los antibióticos animoglucósidos frente a *Escherichia coli* aislada de mastitis bovina.

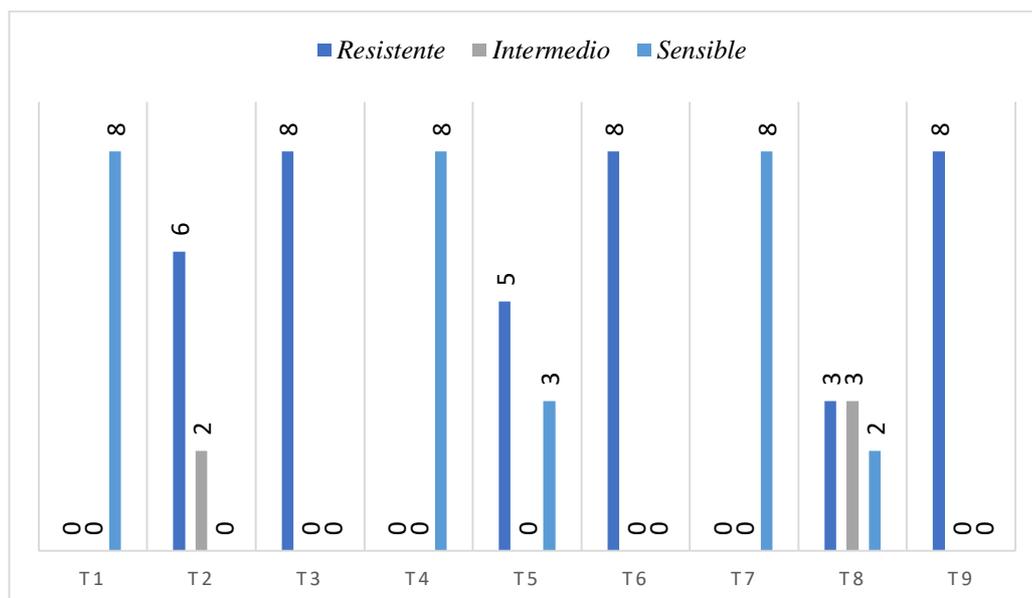
<i>Escherichia coli</i>	Código	Concentración de Gentamicina						Concentración de la Neomicina						Concentración de la Estreptomina					
		30µg	PC	10µg	PC	5µg	PC	30µg	P C	10µg	P.C	5µg	P.C.	30µg	PC	10µg	P.C	5µg	P.C
		T1		T2		T3		T4		T5		T6		T7		T8		T9	
1	D002PI	29	S	10	R	5	R	23	S	11	R	5	R	26	S	11	R	5	R
2	D003PI	27	S	11	R	6	R	25	S	12	S	6	R	29	S	14	I	7	R
3	EA006PI	27	S	12	R	6	R	24	S	10	R	5	R	27	S	11	R	5	R
4	AR001AI	28	S	14	I	7	R	26	S	13	S	4	R	27	S	12	I	6	R
5	AR001AD	28	S	12	R	6	R	26	S	12	S	5	R	26	S	15	S	6	R
6	AR002PD	29	S	12	R	5	R	22	S	11	R	6	R	29	S	15	S	6	R
7	AR0004PD	28	S	14	I	6	R	25	S	10	R	5	R	29	S	13	I	7	R
8	AR013PI	27	S	12	R	6	R	25	S	10	R	6	R	28	S	11	R	8	R

R: resistente, S: sensible, I: intermedio, P.C: Puntos de corte.

**Análisis:** en la tabla 58 se aprecia la interacción de la actividad antimicrobiana de los 3 antibióticos perteneciente a la familia de los aminoglucósidos frente a *Escherichia coli*, aisladas de mastitis bovina.

En lo concerniente a los 3 antibióticos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina), se evidenció que en su mayoría los aislados bacterianos ya presentan resistencia a 10µg de cada fármaco en cuestión; en el caso de la Gentamicina 6 aislados son considerados como resistentes y 2 aislados presentan una resistencia intermedia, también en el caso de la Neomicina a dicha concentración 5 aislados se consideran resistentes y tan solo 3 son sensibles, finalmente la Estreptomicina presentó el menor expresión de resistentes, en donde 3 aislados son resistente, 2 cepas sensibles y 3 con resistencia intermedia.

Al analizar la concentración de 30µg en todos los antibióticos, se puede observar un 100% de sensibilidad en todos los aislados, interpretando de tal modo que las bacterias ya presentan resistencia total a una concentración mínima de 5µg, por ello se asume que las concentraciones mínimas inhibitorias de los aminoglucósidos en estudio están entre intervalos > 10 µg hasta <30 µg. En la figura 29 se representa la susceptibilidad de los aminoglucósidos frente a las bacterias del género *Escherichia coli*.



**Figura 29.** Efecto de la susceptibilidad de los aminoglucósidos frente a *E. coli* aisladas de mastitis bovina.

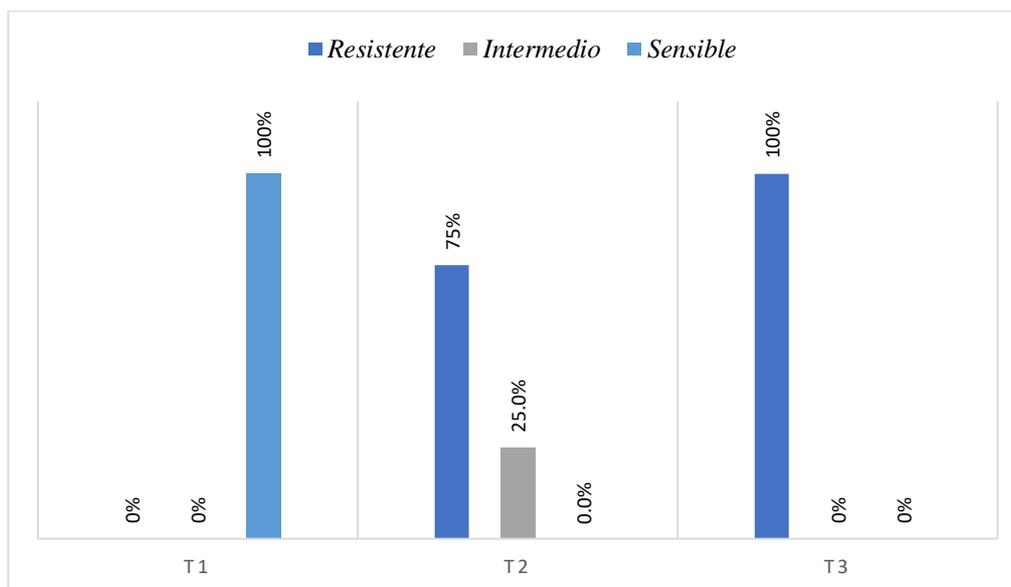
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**Tabla 58.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina) frente a *Escherichia coli*.

Criterio	Gentamicina					
	T1		T2		T3	
	F	%	F	%	F	%
S	8	100	0	0	0	0
I	0	0	2	25	0	0
R	0	0	6	75	8	100
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

P.C: puntos de corte, R: resistente, I: intermedio, S: sensible, F: frecuencia.

**Análisis:** Los resultados de la tabla 59 muestra que el T3 (5µg) presenta un 100 % de resistencia en los 8 aislados, mientras que el T2 (10µg) tiene un 75 % de resistencia y un 25 % de resistencia intermedia, finalmente el T1 (30µg) tiene un 100 % de sensibilidad en 8 bacterias a dicha concentración, en la figura 30 observamos los porcentajes de la susceptibilidad de la Gentamicina frente a *Escherichia coli* aislados de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 30.** Porcentajes de la susceptibilidad de la Gentamicina frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina.

Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022)

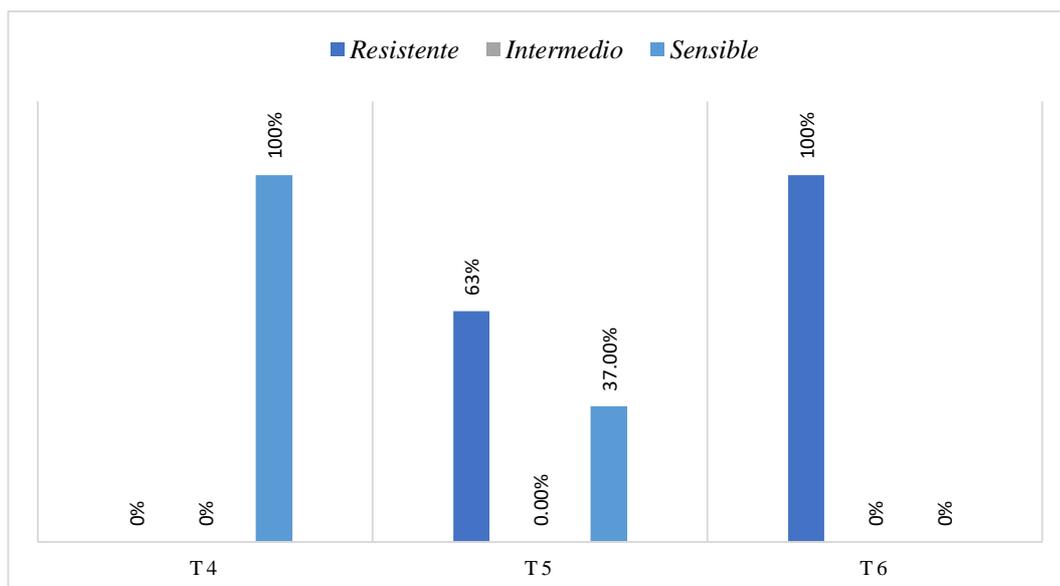
**Discusión:** Según Raygosa, (2017) en su investigación donde determinó la actividad antimicrobiana de algunos agente terapéuticos frente a *Escherichia coli* aislada de mastitis, observó un porcentaje de resistencias a la Gentamicina (10µg) de 35.7 %, comparativamente en la presente investigación, se evidenció una resistencia del 75 % a la concentración antes mencionada, discrepando en lo expresado en la investigación citada ya que hay que considerar un sinnúmero de factores que puedan intervenir en la expresión de dichos resultados. De tal modo se asume que la CMI se encuentra determinada en 30µg

**Tabla 59** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Neomicina frente a *Escherichia coli*.

Criterio	Neomicina					
	T4		T5		T6	
	F	%	F	%	F	%
S	8	100	3	37	0	0
I	0	0	0	0	0	0
R	0	0	5	63	8	100
<b>total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

*P.C: puntos de corte, R: resistente, I: intermedio, S: sensible, F: frecuencia.*

**Análisis:** en la tabla 60 se puede evidenciar que el T4 (30µg) presenta un 100% de sensibilidad con 8 aislados, mientras que en el T5 (10µg) expreso un 63% de resistencia y un 37%, de sensibilidad, y finalmente el T6 (5µg) tiene una resistencia del 100 %. En la figura 31 se observa el Porcentajes de la susceptibilidad de la Neomicina frente a *Escherichia coli*. aislados de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 31.** Porcentajes de la actividad antimicrobiana de la neomicina frente a *Escherichia coli*. aisladas de mastitis bovina.  
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

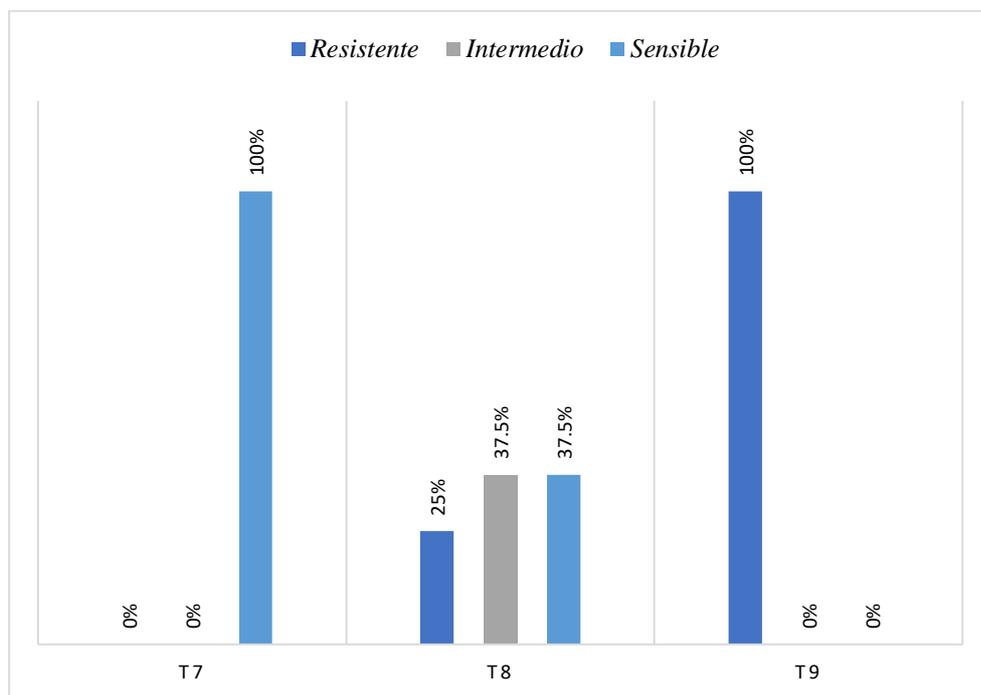
**Discusión:** Según Mohamed *et al.* (2016), en su estudio donde aisló 112 géneros bacterianos diferentes, demostró que 32.14 % (n=36) es representando por *E. coli* causantes de mastitis, a las cuales se le aplicó la susceptibilidad in vitro de Neomicina (30µg) el cual obtuvo el 50 % (n=18) de susceptibilidad, Comparativamente en la presente investigación a 30µg se observó 100% de susceptibilidad por parte de *Escherichia coli* al fármaco mencionado.

**Tabla 60.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Estreptomina frente a *Escherichia coli*.

Criterio	Estreptomina					
	T7		T8		T9	
	F	%	F	%	F	%
S	8	100	2	25	0	0
I	0	0	3	37.5	0	0
R	0	0	3	37.5	8	100
<b>total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

R: resistente, I: intermedio, S: sensible, F: frecuencia.

**Análisis:** En la tabla 61 se puede evidenciar que el T7 (30µg) tiene 8 aislados de los cuales el 100% son sensibles, mientras que en el T8 (10µg) se expresó una resistencia del 37.5 % y una resistencia intermedia del 37.5%, además una sensibilidad del 25 %, finalmente el T6 (5µg) tiene una resistencia del 100 %. En la figura 32 se puede observar los porcentajes de la susceptibilidad de la *Escherichia coli* aislados de leche positiva a mastitis bovina frente a estreptomina.



**Figura 32.** Porcentajes de la susceptibilidad de la Estreptomina frente a *Escherichia coli* aisladas de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**Discusión:** Según Pérez *et al.* (2017), en el estudio de la susceptibilidad antimicrobiana de bacterias causantes de mastitis bovina logró aislar 54 cepas de *Escherichia coli* que correspondió el 28 % del total, al medir la actividad de la estreptomina (10µg) esta presentó el 100 % de susceptibilidad, Según Mohamed *et al.*, (2016), en su estudio donde aisló 112 géneros bacterianos diferentes, de los cuales el 32.14 % (n=36) es representando por *E. coli* causantes de mastitis, a las cuales se le aplicó in vitro Estreptomina (10µg) obtuvo 50 % de sensibilidad y 50% de resistencia.

### 5.6.7. Efecto de la actividad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a *Klebsiella* spp.

Se analizó el efecto de cada una de las concentraciones de oxitetraciclina sobre el crecimiento de *Klebsiella* spp. mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos que tuvieron un mejor comportamiento al inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada.

**Tabla 61.** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de la oxitetraciclina frente *Klebsiella* spp.

Fuente Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
<b>Tratamiento clínico</b>	2	1185.4074	592.703704	309.99	<.0001**
<b>Bloque</b>	8	21.185185	2.648148	1.38	0.2751 NS
<b>Error</b>	16	30.592593	1.912037		<b>CV:9.38 %</b>
<b>Total</b>	26	1237.18518			

\*\**: Altamente significativo, NS: no significativo, CV: coeficientes de variación.*

**Análisis:** En la tabla 62 podemos analizar los resultados obtenidos de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina en la inhibición del crecimiento de *Klebsiella* spp., en donde la prueba de Fisher indica que:

En lo que concierne a bloques o repeticiones la interacción es no significativa, expresado así que no existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, es decir las unidades experimentales tuvieron un comportamiento similar frente al efecto inhibitorio de la oxitetraciclina.

En el caso de los tratamientos se justificó mediante la prueba de Fisher que la acción farmacológica de la oxitetraciclina a diferentes concentraciones sobre *Klebsiella* spp., expresó una diferencia altamente significativa, manifestando que dicho fármaco exhibió un efecto diferente al momento de inhibir el crecimiento de la

bacteria antes mencionada, con un coeficiente de variación de 9.38% confirmando confiabilidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la presente investigación.

**5.6.7.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Klebsiella* spp. aisladas de mastitis bovina.**

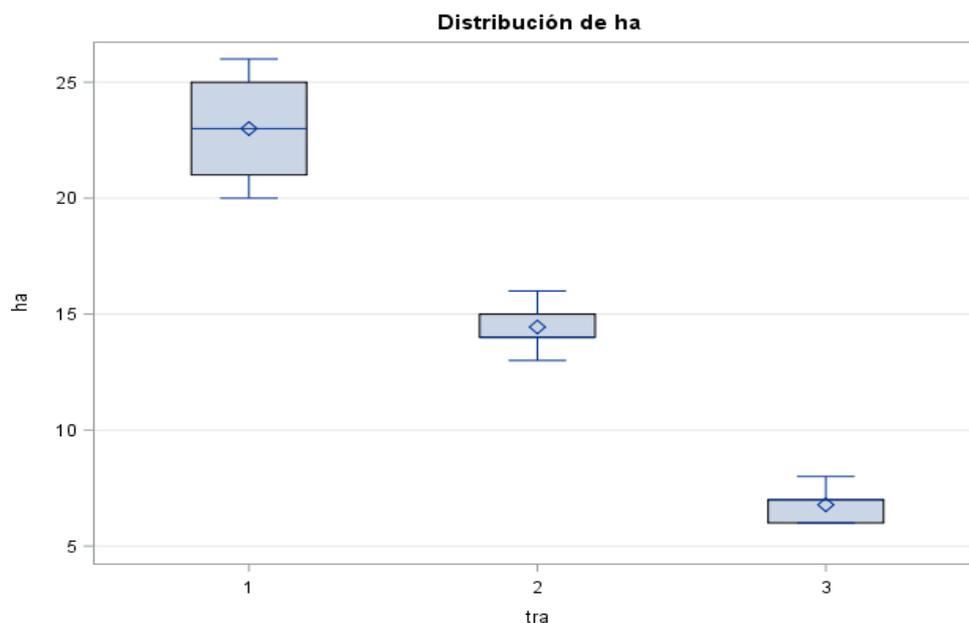
El análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) exhibió los promedios entre los tratamientos de la oxitetraciclina a (30µg), (10µg) y (5µg), expresando cual es el mejor tratamiento según la media de la población en 9 aislados de *Klebsiella* spp.

**Tabla 62.** Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Klebsiella* spp.

Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
1 (30 µg)	8	23.00	A
2 (10 µg)	8	14.44	B
3 (5 µg)	8	6.77	C

*N: unidades experimentales.*

**Análisis:** Para determinar cual fue el mejor tratamiento, se realizó la comparación de medias Tukey al 5%, donde se expresa que el T1 (30µg) fue el que presentó el mayor promedio en la medida de la zona de inhibición de crecimiento bacteriano con 23 mm de diámetro; seguido del tratamiento T2 (10µg) con un promedio de 14.44 mm de diámetro de halo, y finalmente, el tratamiento T3 fue el que ostentó el promedio mas bajo con 6.77 mm diámetro de zona de inhibición. En la figura 33 se aprecia la distribución del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Klebsiella* spp. aisladas de mastitis bovina.



**Figura 33.** Efecto de la actividad de la oxitetraciclina frente a *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.

Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022)

#### 5.6.7.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de oxitetraciclina sobre *Klebsiella* spp., aisladas de leche positivas a mastitis

La interpretación se llevó a cabo según a las recomendaciones de la guía del Clínical Laboratory Estándar Institute (CLSI, 2020).

**Tabla 63.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de oxitetraciclina frente a *Klebsiella* spp.

	Difusión de discos (mm)		
Interpretación	≤ 11	12-14	≥ 15
<b>Guía CLSI</b>	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>S</b>

*R: resistente, I: intermedio, S: sensible.*

**Análisis:** En la tabla 64 podemos ver los puntos de corte establecidos por la guía (CLSI, 2018) donde establece los criterios concernientes a la tetraciclina como representativa de la oxitetraciclina, expresando que la dosis considerada para investigaciones in vitro es de 30 µg para las enterobacterias.

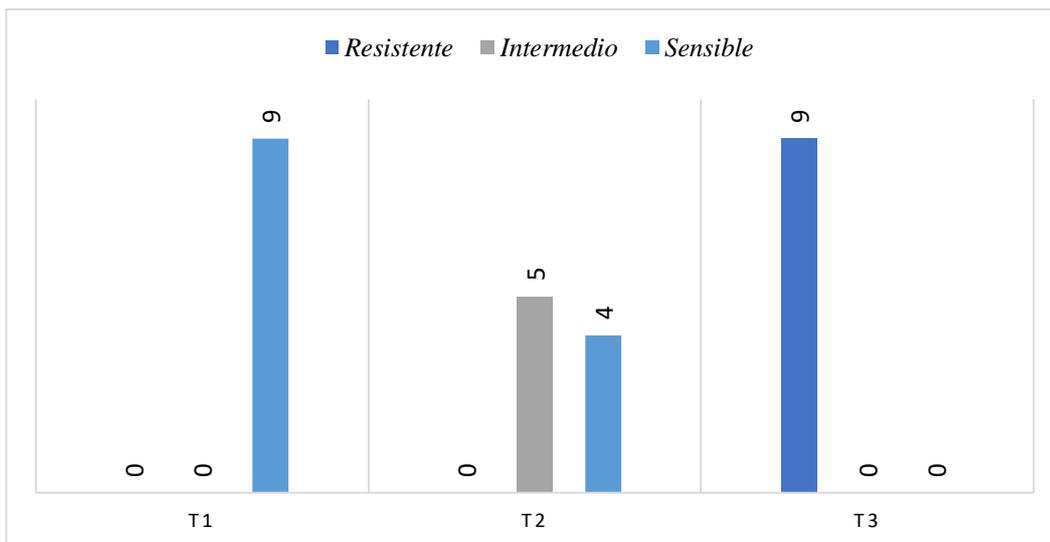
**5.6.7.3. Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.**

**Tabla 64.** Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a la *Klebsiella* spp., aislada de mastitis bovina.

<i>Klebsiella</i> spp.	Código	Concentración de Oxitetraciclina					
		30µg	P.C.	10µg	P.C.	5µg	P.C.
		T1		T2		T3	
1	EA006PD	20	S	13	I	6	R
2	EA007PI	26	S	14	I	8	R
3	EA008PI	25	S	14	I	7	R
4	EA012PD	24	S	14	I	6	R
5	EA013AI	20	S	14	I	8	R
6	EA014AD	25	S	16	S	6	R
7	AR014PD	23	S	15	S	7	R
8	AR015PI	23	S	15	S	7	R
9	AR016PD	21	S	15	S	6	R

S: Sensible. I: intermedio, Resistente.

**Análisis:** La actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Klebsiella* spp. aisladas de mastitis bovina con los puntos de corte para el establecimiento de los criterios de resistencia y susceptibilidad a dicho fármaco, la tabla 65 manifiesta que el T1 (30µg) expreso sensibilidad completa en los 9 aislados a dicha concentración, mientras que el T2 (10µg) ostentó de 4 cepas bacterianas susceptibles, finalmente, el T3 (5µg) exhibió 9 aislados resistentes a dicha concentración, de tal manera la concentración mínima inhibitoria de dichos aislados esta entre los valores de 10 a 30µg de oxitetraciclina. En la figura 34 podemos observar la susceptibilidad de la Oxitetraciclina frente a bacterias del género *Klebsiella* spp., asiladas de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 34.** Efecto de la susceptibilidad de la Oxitetraciclina frente a *Klebsiella spp.*, aisladas de mastitis bovina.

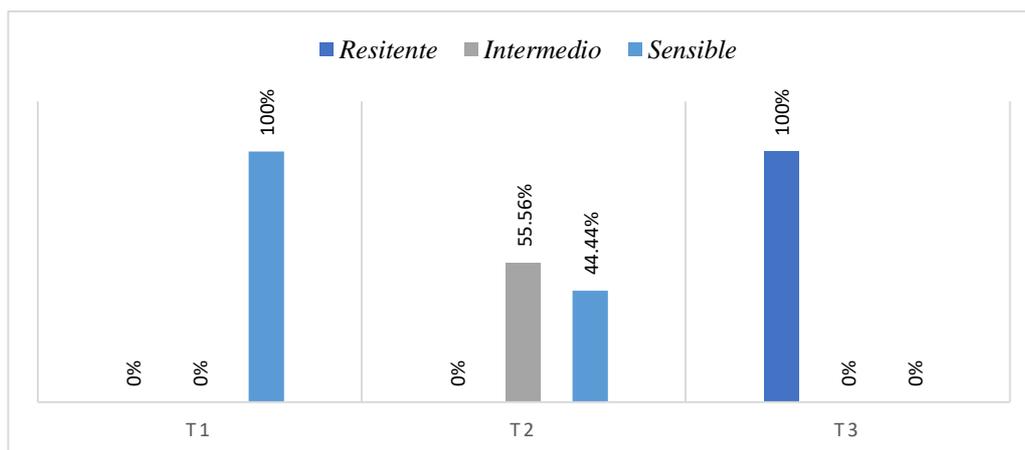
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Tabla 65.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Klebsiella spp.*

Criterio	T1		T2		T3	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	0	0	0	0	15	100
I	0	0	5	55.56	0	0
S	9	100	4	44.44	0	0
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>

A.A.: Actividad Antimicrobiana, R: resistente, I: intermedio, S: susceptible:

**Análisis:** Los resultados de la tabla 66 muestran que el T3 (5µg) exhibió un 100 % de resistencia en 9 aislados, mientras que el T2 (10µg) ostentó de un 44.44 % de sensibilidad con un número de 4 bacterias y un 55.56 % de resistencia parcial o intermedia, finalmente, el T1 (30µg) tiene un 100 % de susceptibilidad en 9 aislados de *Klebsiella spp.*, según los puntos de corte tomados como referencia de la guía (CLSI, 2020). En la figura 35 se observa los Porcentajes de la susceptibilidad de la Oxitetraciclina frente a bacterias del genero *Klebsiella spp.*, aislados de mastitis bovina.



**Figura 35.** Porcentajes de la susceptibilidad de la oxitetraciclina frente a *Klebsiella spp.*, aisladas de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Discusión:** Según Cruz *et al.* (2017), en su investigación de identificación y resistencia de patógenos aislados de mastitis bovina, *Klebsiella spp.*, exhibió el 33.3% de resistencia frente a oxitetraciclina (30µg), de manera comparativa en la presente investigación se observó que el 100 % de los aislados (n=9) son susceptibles a dicha concentración.

#### 5.6.8. Efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomycin) en estudio sobre bacterias del género *Klebsiella spp.*

Se analizó el efecto de cada uno de los tratamientos mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos que tuvieron un mejor comportamiento frente a *Klebsiella spp.*

**Tabla 66** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomycin) frente a *Klebsiella spp.*, aisladas de mastitis bovina.

Fuente Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
Tratamiento clínico	8	7740.0246	967.503	583.07	<.0001**
Bloque	8	23.1358	2.8919	1.74	0.1055 NS
Error	64	106.1975	1.659	CV:8.36 %	
Total	80	7869.35			

\*\* : Altamente significativa, NS: no significativo, CV: coeficiente de variación.

**Análisis:** En la tabla 67 se observa los resultados obtenidos al analizar la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomycin) en la inhibición del crecimiento de *Klebsiella* spp., la prueba de Fisher indica:

En lo concerniente a bloques o repeticiones se expresó una interacción no significativa, observando que no existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, interpretando así que las unidades experimentales tuvieron un comportamiento similar en la inhibición por los antibióticos mencionados.

En el caso de los tratamientos se justifica con la prueba de Fisher que la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomycin) a diferentes microconcentraciones frente a *Klebsiella* spp., exhibe una diferencia altamente significativa, evidenciando un efecto diferente al momento de inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada. Con un coeficiente de variación de 8.36 % confirmando veracidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la presente investigación.

#### **5.6.8.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a *Klebsiella* spp. aisladas de mastitis bovina.**

El análisis de la comparación de medias Tukey 5% exhibió los promedios entre los tratamientos de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Cloxacilina 30µg, 10µg y 5µg), en donde se determinó cual es el mejor tratamiento según las medias de la población en 9 aislados de *Klebsiella* spp.

**Tabla 67** Prueba de comparación de medias Tukey 5%, del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Klebsiella spp.*, aisladas de mastitis bovina.

Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
7 (30 µg Estr.)	9	31.77	A
1 (30 µg Gen.)	9	29.11	B
4 (30 µg Neo.)	9	24.77	C
8 (10 µg Estr.)	9	12.33	D
2 (10 µg Gen.)	9	12.22	D
5 (10 µg Neo.)	9	10.88	D
3 (5 µg Gen.)	9	6.11	E
9 (5 µg Estr.)	9	6.00	E
6 (5 µg Neo.)	9	5.33	E

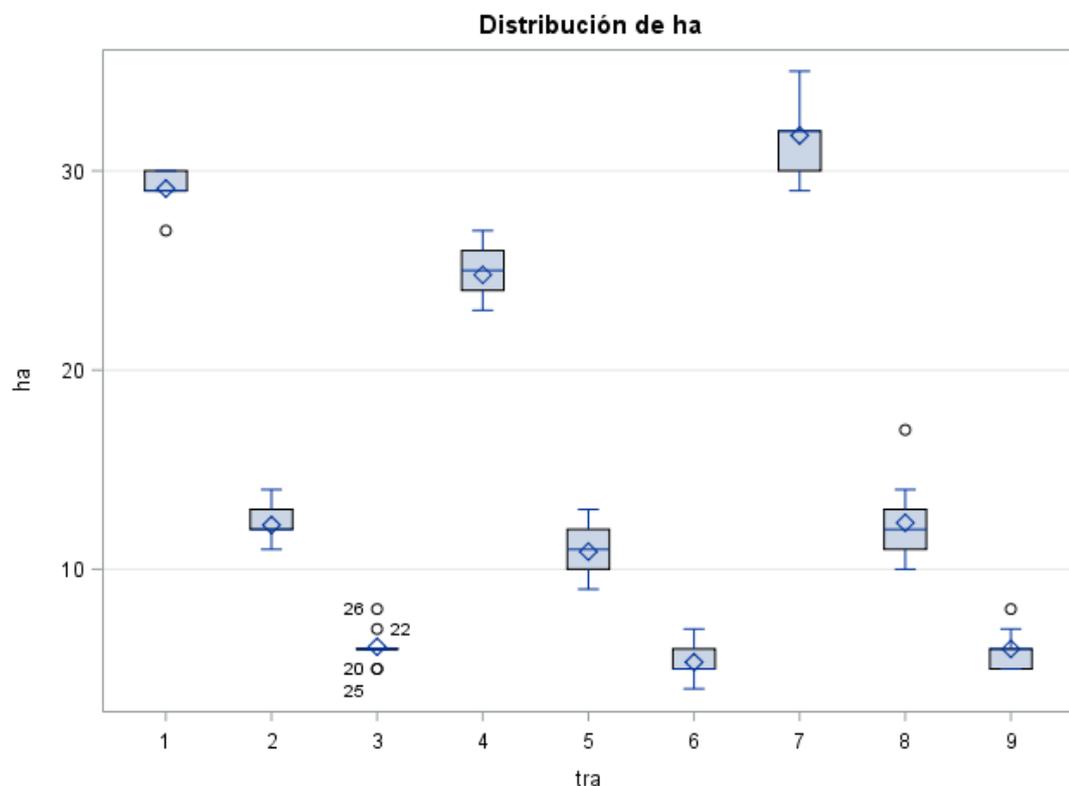
*N*: unidades experimentales, *Gen.*: Gentamicina, *Neo.*: neomicina, *Estr.*: estreptomicina.

**Análisis:** Para determinar que tratamiento exhibió la mayor media en las medidas de los halos se realizó la comparación de medias Tukey al 5%, donde el T7 (30µg de Estreptomicina) expresó el mayor promedio en la medida de la zona de inhibición de crecimiento bacteriano con 31.77 mm de diámetro; seguido del T1 (30µg Gentamicina) con un promedio de 29.11 mm de diámetro de zona de inhibición, finalmente, el T4 (30µg de Neomicina) con un promedio de 24.77 mm diámetro.

Posteriormente se comparó los tratamientos a una concentración de 10µg, situándose el T8 (10µg de Estreptomicina) como el de mayor promedio con 12.33 mm de halo de inhibición, seguido del T2 (10µg de Gentamicina) con un promedio de 12.22 mm de diámetro de halo y el tratamiento con menor promedio es el T5 (10 µg de Neomicina) con una media de 10.88 mm de diámetro de halo, estos tratamientos no expresaron diferencias significativas por lo cual comparte el mismo rango de agrupación en la prueba de Tukey al 5%.

Dentro de la prueba de comparación de medias el T3 (5µg de Gentamicina) presentó un promedio de 6.11 mm de diámetro de halo de inhibición, seguido por el T9 (5µg de Estreptomicina) el cual obtuvo una media de 6 mm de halo de inhibición, y finalmente el T6 (5µg de Neomicina) con 5.33 mm de halo es el tratamiento con menor promedio, interpretando así que esta concentración no muestra diferencias significativas en la expresión de la medida del halo de inhibición.

De igual manera al analizar los promedios podemos inferir que se observa claramente la influencia de cada una de las concentraciones establecidas, observando la estratificación de los promedios obtenidos en base a la concentración utilizada. donde 10 µg fueron suficientes para inhibir el crecimiento de *Klebsiella* spp., añadiendo a esto la guía CLSI, (2021) establece esta concentración como mínima para estudios de inhibición en la bacteria antes mencionada. En la figura # 36 se observa el efecto de la actividad de los aminoglucósidos frente a bacterias del género *Klebsiella* spp. aislados de mastitis bovina.



**Figura 36.** Efecto de la actividad de los aminoglucósidos frente a *Klebsiella* spp. aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**5.6.8.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de los antibióticos aminoglucósidos frente a *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis.**

La interpretación se llevó a cabo según a las recomendaciones del Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2020), y las recomendaciones del comité Europeo de Pruebas de susceptibilidad (EUCAST, 2022) quienes establecen los puntos de corte para organismo de la familia Enterobacterias.

**Tabla 68.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de la Gentamicina frente a *Klebsiella* spp.

	Difusión de discos (mm)		
Interpretación	≤ 12	13-15	≥ 16
<b>Guía CLSI</b>	R	I	S

R: resistencia, S: susceptibles, I: intermedio

**Tabla 69.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de la Neomicina frente a *Klebsiella* spp.

	Difusión de discos (mm)	
Interpretación	≤ 11	≥ 12
<b>Guía EUCAST</b>	R	S

R: resistencia, S: susceptibles.

**Tabla 70.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de la Estreptomicina frente a *Klebsiella* spp.

	Difusión de discos (mm)		
Interpretación	≤ 11	12-14	≥ 15
<b>Guía EUCAST</b>	R	I	S

R: resistencia, S: susceptibles, I: intermedio.

**Análisis:** En las tablas 69, 70 y 71 se contempla los puntos de corte de los antibióticos pertenecientes a la familia de los Aminoglucosidos, donde se midió la susceptibilidad antimicrobiana según el método difusión de disco (Kirby-Bauer).

**5.6.8.3. Actividad antimicrobiana de los antibióticos aminoglucósidos frente a *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.**

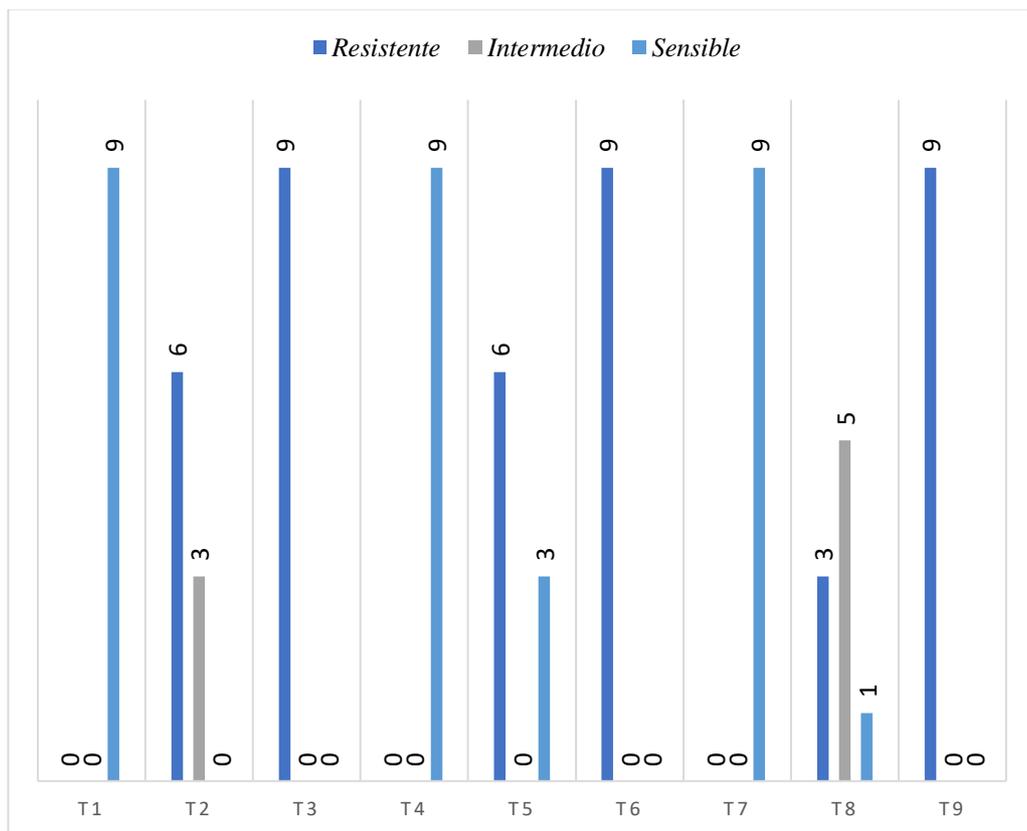
**Tabla 71.** Actividad antimicrobiana de los antibióticos animoglucosis frente a *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.

<i>Klebsiella</i> spp.	Código	Concentración de Gentamicina						Concentración de la Neomicina						Concentración de la Estreptomina					
		30µg	P C	10µg	P C	5µg	P. C	30µg	P C	10µg	P C	5µg	P C	30µg	P C	10µg	P C	5µg	P C
		T1		T2		T3		T4		T5		T6		T7		T8		T9	
1	EA006PD	29	S	12	R	6	R	23	S	10	R	5	R	30	S	11	I	5	R
2	EA007PI	29	S	11	R	5	R	24	S	9	R	4	R	32	S	14	I	7	R
3	EA008PI	30	S	13	I	6	R	26	S	10	R	5	R	35	S	17	S	8	R
4	EA012PD	27	S	12	R	7	R	25	S	11	R	6	R	30	S	13	I	6	R
5	EA013AI	30	S	13	I	6	R	23	S	12	S	7	R	32	S	11	R	5	R
6	EA014AD	29	S	12	R	6	R	25	S	10	R	5	R	32	S	12	I	6	R
7	AR014PD	29	S	11	R	5	R	26	S	13	S	5	R	34	S	11	R	5	R
8	AR015PI	29	S	12	R	8	R	24	S	12	S	6	R	32	S	10	R	6	R
9	AR016PD	30	S	14	I	6	R	27	S	11	R	5	R	29	S	12	I	6	R

*R: resistencia, S: susceptibles, I: resistencia intermedia, PC: Punto de corte*

**Análisis:** En la tabla 72 se evidencia los resultados obtenidos en la presente investigación con los puntos de corte establecidos por las guías CLSI y EUCAST, donde podemos inferir que: en el T2 (10µg de Gentamicina) exhibe 6 aislados resistentes y 3 sensibles, así mismo el T5 (10µg de Neomicina) ostenta de 6 cepas resistentes y 3 aislados sensibles, finalmente el T8 (10µg de Estreptomicona) presentó 3 aislados resistentes, 5 aislados que presentaron resistencia intermedia y tan solo 1 aislado presentó sensibilidad completa a este fármaco a dicha concentración, esto de un total 9 bacterias.

Al comparar los tres antibióticos a la mayor concentración establecida (30 µg) se encontró que todos los aislados, presentaba sensibilidad, no siendo así en el caso de la menor concentración (5µg) la cual exhibió una resistencia en todos los 9 aislados. En la figura 37 podemos ver el efecto de la susceptibilidad de los aminoglucósidos frente a las bacterias del género *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.



**Figura 37.** Efecto de la susceptibilidad de *Klebsiella* spp aisladas de mastitis bovina frente a los aminoglucósidos.

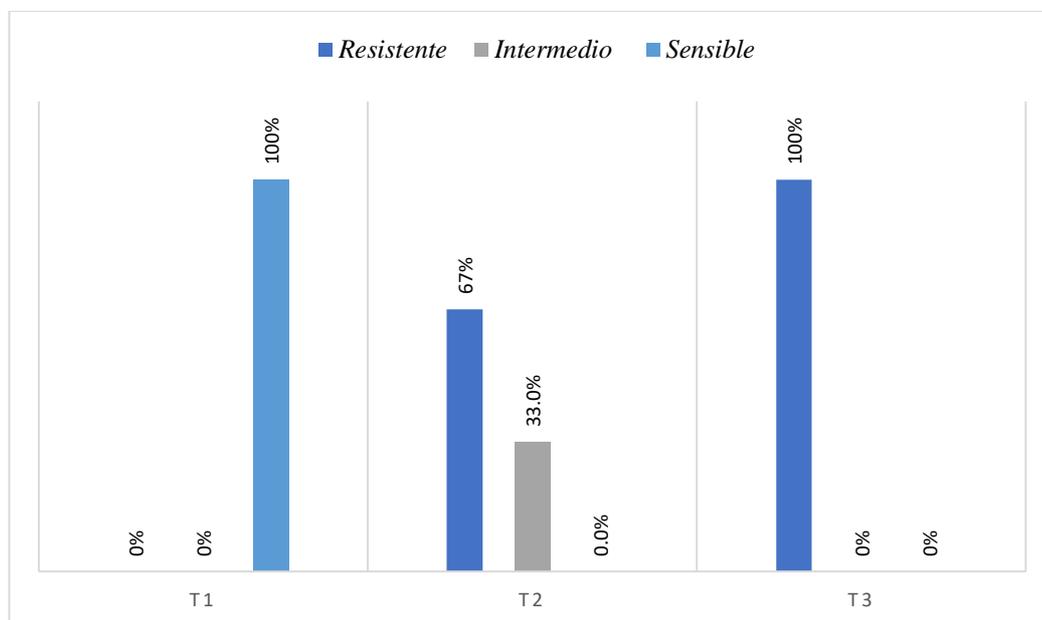
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Tabla 72.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de gentamicina frente a *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.

Criterio	Gentamicina					
	T1		T2		T3	
	F	%	F	%	F	%
S	9	100	0	0	0	0
I	0	0	3	33	0	0
R	0	0	6	67	9	100
total	9	100	9	100	9	100

P.C: puntos de corte, R: resistente, I: intermedio, S: susceptible, F: frecuencia.

**Análisis:** La tabla 73 exhibe que el T3 (5µg) presentó un 100 % de resistencia en 9 aislados, mientras que el T2 (10µg) exhibió un 67 % de resistencia y un 33 % de resistencia intermedia, finalmente, el T1 (30µg) ostentó de un 100 % de susceptibilidad. En la Figura 38. Porcentajes de la susceptibilidad de la Gentamicina frente a *Klebsiella* spp., aisladas de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 38.** Porcentajes de la susceptibilidad de la Gentamicina frente a *Klebsiella* spp. aislados de leche positiva a mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

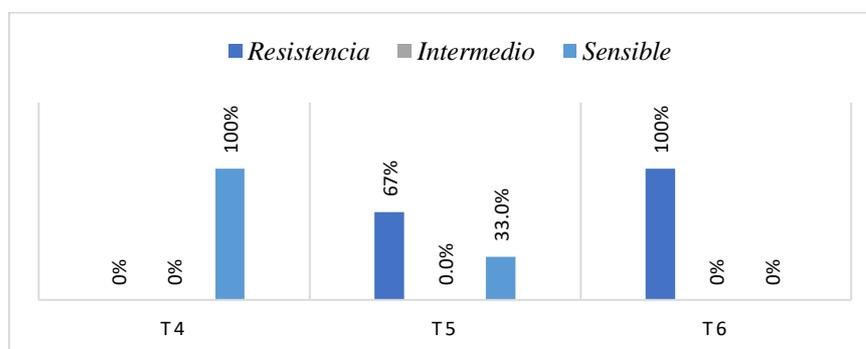
**Discusión:** Según Pérez *et al.* (2017), en su investigación logró aislar 46 cepas de *Klebsiella spp.*, la cual en sus resultados representó el 24 % de los aislados totales, al evaluar la susceptibilidad a gentamicina (10µg) observó que el 100 % de las cepas son susceptibles, mientras que en la presente investigación 100 % de susceptibilidad se obtuvo a una concentración de 30µg, ya que a 10 µg se expresó el 67% de resistencia y el 33% restante presentó resistencia intermedia.

**Tabla 73.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Neomicina frente a *Klebsiella spp.*

Criterio	Neomicina					
	T4		T5		T6	
	F	%	F	%	F	%
S	9	100	3	33	0	0
I	0	0	0	0	0	0
R	0	0	6	67	9	100
<b>total</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>

P.C: puntos de corte, R: resistente, I: intermedio, S: susceptible, F: frecuencia.

**Análisis:** La tabla 69 muestran que el T6 (5µg) expresó un 100 % de resistencia en 9 aislados, mientras que el T2 (10µg) exhibió un 67 % de resistencia y un 33 % de susceptibilidad, finalmente, el T1 (30µg) ostentó un 100 % de susceptibilidad. en la figura 39 se observa el porcentaje de la susceptibilidad a la neomicina por parte de *Klebsiella spp.*, aisladas de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 39.** Porcentajes de la susceptibilidad a la Neomicina por parte de *Klebsiella spp.* aisladas de mastitis bovina.  
Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022).

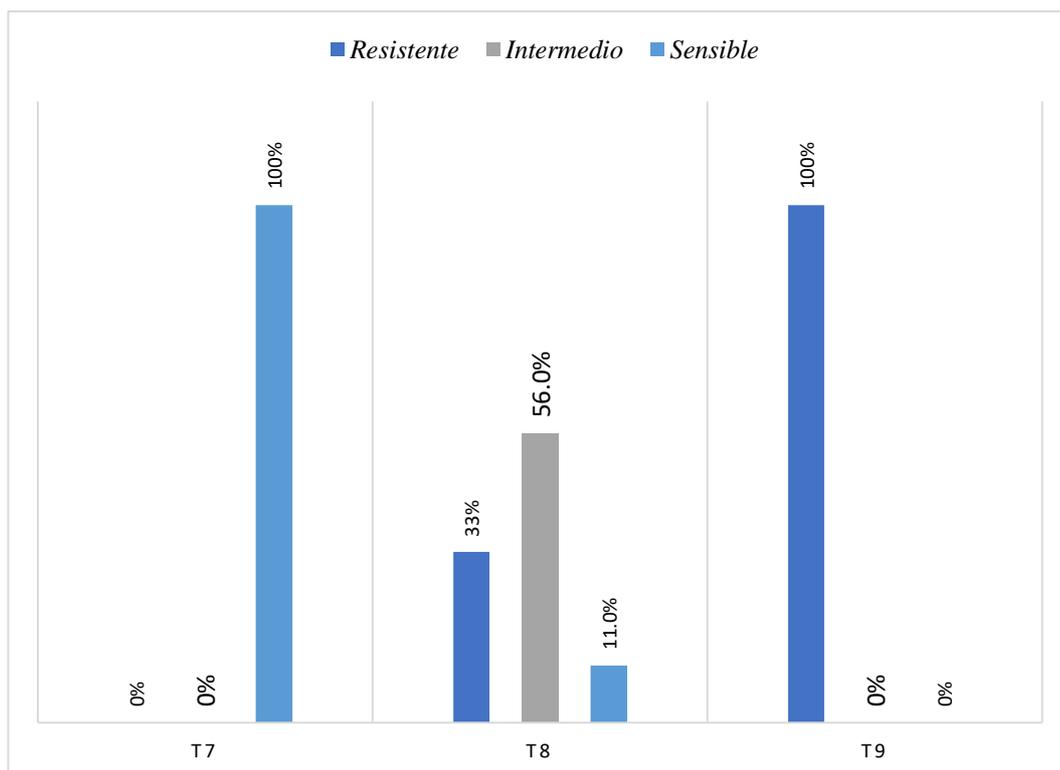
**Discusión:** Según Vásquez *et al.* (2018), en su investigación aisló 5 cepas de *Klebsiella* spp., de las cuales el 60 % (n=3) presentaron susceptibilidad y el 40 % (n=2) resistencia a neomicina (30µg), comparativamente con los resultados de la presente investigación observamos que la neomicina a 30µg presentó el 100 % de susceptibilidad, interpretando que la sensibilidad o resistencia parcial y total de *Klebsiella* spp., esta en dependencia de factores como la patogenicidad y la exposición repetida y mal administrada de un agente antimicrobiano.

**Tabla 74.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de estreptomycin frente a *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.

Criterio	Estreptomycin					
	T7		T8		T9	
	F	%	F	%	F	%
S	9	100	1	11	0	0
I	0	0	5	56	0	0
R	0	0	3	33	9	100
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>

*P.C: puntos de corte, R: resistente, I: intermedio, S: susceptible, F: frecuencia.*

**Análisis:** La tabla 75 Muestra que el T9 (5µg) exhibió un 100 % de resistencia en 9 aislados, mientras que el T8 (10µg) presentó un 33 % de resistencia, un 11 % de sensibilidad y un 56% de resistencia intermedia, finalmente, el T1 (30µg) ostentó de un 100 % de susceptibilidad. en la figura 40 se observa el porcentaje de la susceptibilidad a la estreptomycin por parte de *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.



**Figura 40.** Porcentajes de la susceptibilidad a la estreptomicina por parte de *Klebsiella spp.* aisladas de leche positiva a mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**Discusión:** Miranda, (2018) en su investigación aisló *Klebsiella spp.*, a las cuales se les evaluó la actividad antimicrobiana in vitro de estreptomina (10µg), donde presentó un 68.3 % de resistencia, además exhibió un 13.3 % de resistencia intermedia y un 18.33 % de sensibilidad total. Comparativamente en la presente investigación realizada se obtuvieron valores cuyo comportamiento fue del 56 % de resistencia intermedia, 33 % de resistencia total y tan solo el 11 % de sensibilidad a (10µg de estreptomina) la misma concentración de la investigación citada.

#### **5.6.9. Efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Klebsiella spp.***

Se analizó el efecto de cada uno de los betalactámicos (Penicilina, cefalexina y Cloxacilina) mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos que tuvieron un mejor comportamiento in vitro frente *Klebsiella spp.*, causante de mastitis bovina.

**Tabla 75.** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Klebsiella spp.*, aisladas de mastitis bovina.

Fuente V.	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
<b>Tratamiento clínico</b>	8	1338.88	167.361	111.06	<.0001**
<b>Bloque</b>	8	50.22	6.277	4.17	0.0005**
<b>Error</b>	64	95.44	1.5069	<b>CV:15.85 %</b>	
<b>Total</b>	80	1485.55			

\*\* : Altamente significativa, CV: coeficiente de variación.

**Análisis:** En la tabla 76 se observan los resultados obtenidos al analizar la actividad antimicrobiana de los betalactámicos en la inhibición del crecimiento de *Klebsiella spp.*, la prueba de Fisher nos indica:

En el F-valor que concierne a bloques o repeticiones la interacción se manifiesta como altamente significativa, esto quiere decir que existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, interpretando así que las unidades experimentales tuvieron un comportamiento diferente en la inhibición propiciada por los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina).

En el caso de los tratamientos se pudo justificar mediante la prueba de Fisher que la actividad antimicrobiana de los betalactámicos a diferente microconcentraciones frente a *Klebsiella spp.*, exhibe una diferencia altamente significativa, aseverando que poseen un efecto diferente al momento de inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada. Con un coeficiente de variación de 15.85 % confiriendo confiabilidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la presente investigación.

#### **5.6.9.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) de la actividad antimicrobiana de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Klebsiella spp.*, aisladas de mastitis bovina.**

El análisis de la comparación de medias (Tukey 5%), permitió evaluar la interacción entre los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina a 30µg, 10µg, 5µg y 1µg, frente a los 9 aislados de *Klebsiella spp.*, aisladas de mastitis bovina.

**Tabla 76.** Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente *Klebsiella spp.*, aislados de mastitis bovina.

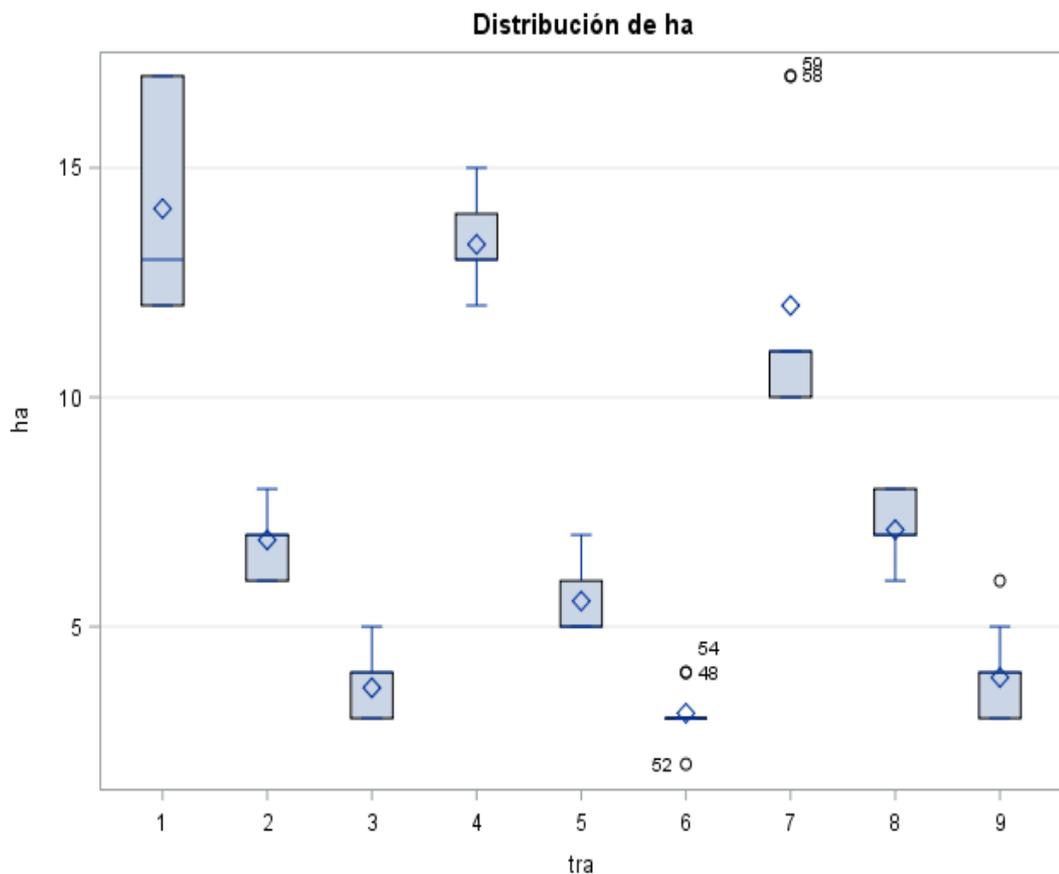
Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
1 (30 µg Pen.)	9	14.11	A
4 (30 µg Cl.)	9	13.33	A
7 (10 µg Clox.)	9	12.00	B
8 (5 µg Clox.)	9	7.11	C
2 (10 µg Pen.)	9	6.88	C
5 (10 µg Cl.)	9	5.55	C
9 (1 µg Clox.)	9	3.88	C E
3 (5 µg Pen.)	9	3.66	E
6 (5 µg Cl.)	9	3.11	E

*N:* número de unidades experimentales, *Pen.:* penecilina, *Cl.:* cefalexina, *Clox.:* cloxacilina.

**Análisis:** Mediante la prueba de Tukey al 5% podemos inferir que el comportamiento de los tratamientos fue diferente, en donde; el T1 (30µg de Penicilina) es el que mayor promedio de diámetro de halo de inhibición obtuvo con un valor de 14.11 mm, siguiéndoles el T4 (30µg de Cefalexina) con un valor de 13.33 mm expresando que estos dos tratamientos no tuvieron diferencias estadísticas ya que comparten el mismo rango de agrupación, también podemos expresar que si existió diferencias significativas en comparación con el T7 (10µg de Cloxacilina) el cual presentó un promedio de 12 mm de diámetro de inhibición.

Así mismo se observa que el T8 (5µg de Cloxacilina), T2 (10µg de Penicilina) y T5 (10 µg de Cefalexina) con promedios de 7.11 mm, 6.88 mm y 5.55 mm respectivamente no expresan diferencias estadísticamente significativas, al igual que el T5 y el T9 (10 µg de Cefalexina y 1µg de Cloxacilina) no presentaron diferencias ya que obtuvieron un promedio de 5,55 y 3.88 mm de halo respectivamente. Los Tratamiento con menor promedio son el T3 (5µg de

Penicilina) y T6 (10µg de Cefalexina) los cuales presentaron un promedio de 3.66 mm y 3.11 mm respectivamente, en la interacción no se observan diferencias estadísticas significativas, ya que comparte el mismo rango de agrupación según Tukey al 5%. En la figura 41 se observa el efecto de la actividad de los betalactámicos frente a *Klebsiella* spp., aislados de mastitis bovina.



**Figura 41.** Efecto de la actividad de los Betalactámicos frente a *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**5.6.9.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de los antibióticos Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) sobre *Klebsiella* spp., aisladas de leche positivas a mastitis.**

La interpretación se llevó acabo según a las recomendaciones de la guía (CLSI, 2020), y las recomendaciones del comité Europeo de Pruebas de susceptibilidad (EUCAST, 2022) donde establecen los puntos de corte para organismo de la familia Enterobacterias.

**Tabla 77.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de la zona de inhibición en milímetros (mm) de la Penicilina frente a *Klebsiella spp.*

	Difusión de discos (mm)		
Interpretación	≤ 13	14-16	≥ 17
<b>Guía CLSI</b>	R	I	S

R: resistencia, S: sensible, I: intermedio

**Análisis:** En la tabla 78 se observan los puntos de corte establecidos según la guía (CLSI, 2022) en el documento M100-ED32 los cuales son usados como referencia para el uso de fármacos de la familia de las penicilinas frente a Enterobacterias donde es sensibles con medidas de halos ≥ 17 mm de diámetro.

**Tabla 78.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Cefalexina frente a *Klebsiella spp.*

	Difusión de discos (mm)	
Interpretación	≤ 13	≥ 14
<b>Guía EUCAST</b>	R	S

R: resistencia, S: sensible.

**Tabla 79** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Cloxacilina frente a *Klebsiella spp.*

	Difusión de discos (mm)		
Interpretación	≤ 10	11-12	≥ 13
<b>Guía EUCAST</b>	R	I	S

R: resistencia, S: sensibles, I: intermedio.

**Análisis:** En la Guía (EUCAST, 2022), Establece los puntos de corte para *Klebsiella spp.*, frente a Cefalexina con discos de 30µg refiriendo susceptibilidad con medidas de halo ≥ 14 mm, y en la tabla 80 se observa los puntos de corte según (CLSI, 2015), donde estipula que cloxacilina (1µg) es susceptible halos ≥ 13 mm.

### 5.6.9.3. Actividad antimicrobiana de los antibióticos betalactámicos frente a *Klebsiella spp.*, aisladas de mastitis bovina.

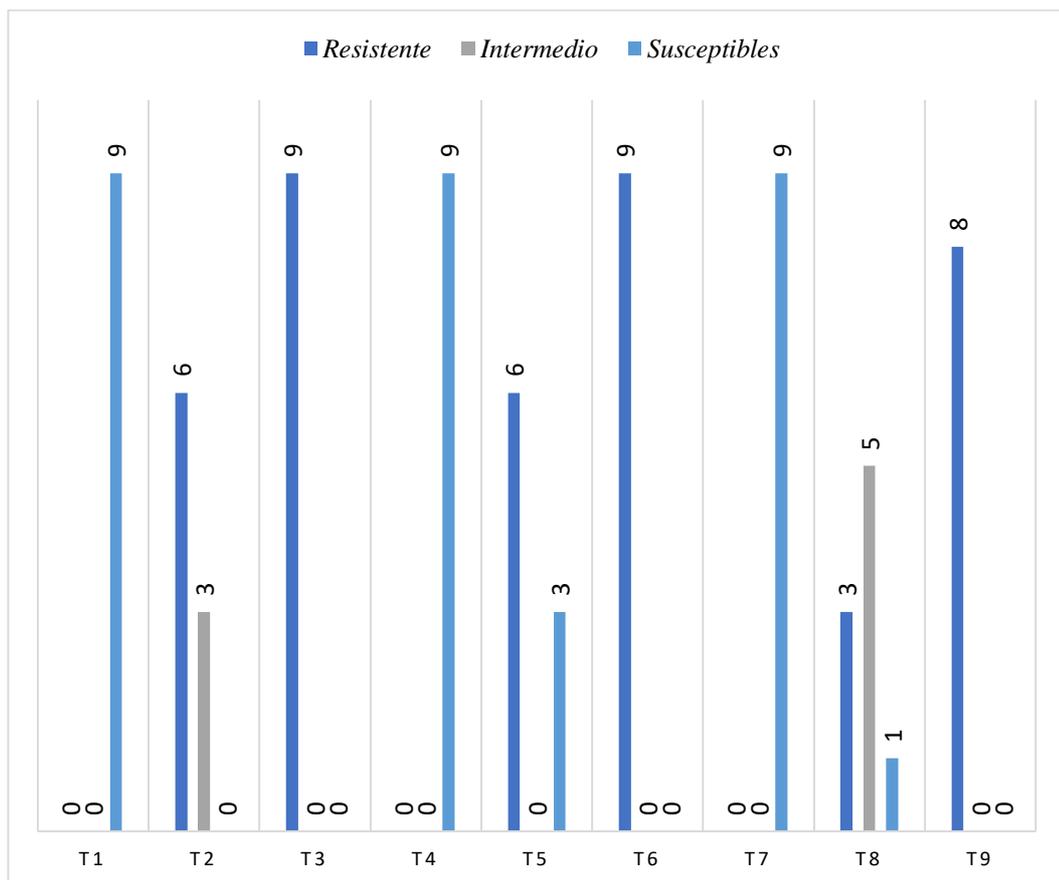
**Tabla 80** Actividad antimicrobiana de los antibióticos betalactámicos frente a *Klebsiella spp.*, aisladas de mastitis bovina.

<i>Klebsiella spp.</i>	Código	Concentración de Penicilina						Concentración de la Cefalexina						Concentración de la Cloxacilina					
		30µg	P · C	10µ g	P · C	5µg	P. C	30µg	P. C	10µ g	P. C	5µg	P.C ·	10µg	P. C.	5µg	P. C	1µg	P.C.
		T1	.	T2	.	T3	.	T4	.	T5	.	T6	.	T7	.	T8	.	T9	.
1	EA006PD	13	R	7	R	4	R	13	R	5	R	3	R	10	R	7	R	4	R
2	EA007PI	12	R	6	R	3	R	12	R	5	R	3	R	10	R	8	R	4	R
3	EA008PI	13	R	7	R	4	R	13	R	5	R	4	R	11	R	7	R	3	R
4	EA012PD	17	S	6	R	3	R	15	S	5	R	3	R	17	S	8	R	6	R
5	EA013AI	17	S	8	R	4	R	14	S	6	R	3	R	17	S	8	R	5	R
6	EA014AD	12	R	7	R	5	R	12	R	6	R	3	R	11	R	6	R	3	R
7	AR014PD	12	R	6	R	3	R	13	R	5	R	2	R	11	R	6	R	3	R
8	AR015PI	14	I	8	R	4	R	13	R	6	R	3	R	10	R	7	R	3	R
9	AR016PD	17	S	7	R	3	R	15	S	7	R	4	R	11	R	7	R	4	R

S: susceptible R: resistente I: Resistencia intermedia PC: Punto de Corte

**Análisis:** En la tabla 81 se observan que en los resultados el T1 (30 µg de Penicilina) presentó 3 aislados susceptibles, 1 aislado con resistencia intermedia y 5 aislados con resistencia total, interpretando así que a menor concentración mayor es el grado de resistencia por parte de *Klebsiella* spp., cefalexina a 30µg exhibió 3 aislados susceptibles y 6 aislados con resistencia, también se observó que en las menores concentraciones (10 y 5 µg) los 9 aislados presentaron resistencia total a dicho fármaco, Cloxacilina a 10 µg exhibió 2 aislados susceptibles, mientras que a 5 µg y 1 µg los 9 aislados presentaron resistencia total.

En la figura 42 podemos ver la susceptibilidad de los Betalactámicos frente a bacterias del género *Klebsiella* spp., En la Figura 42 se observa el efecto de los Betalactámicos frente a las bacterias del género *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.



**Figura 42.** Efecto de la susceptibilidad de los Betalactámicos frente a *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.

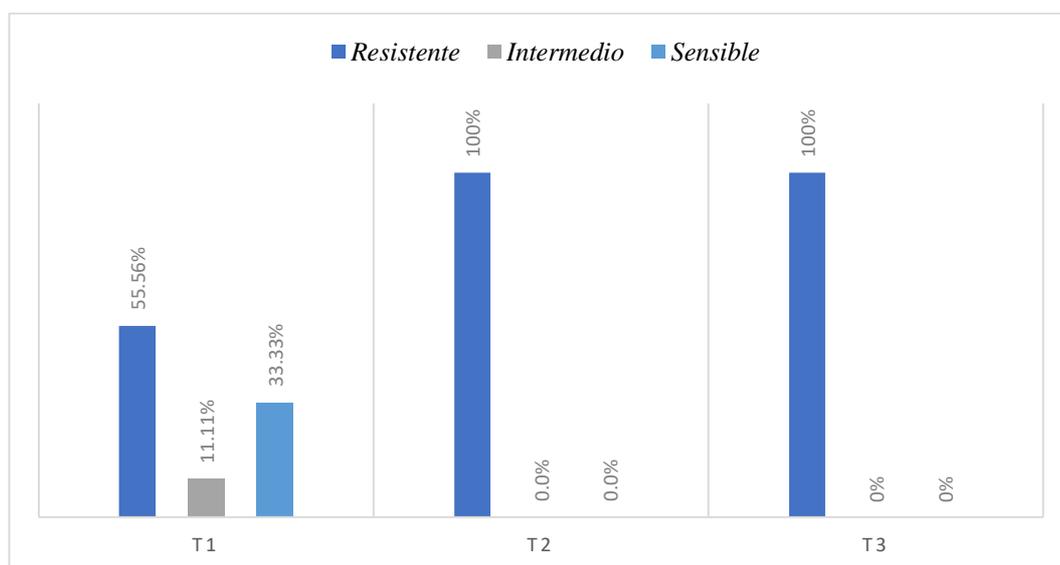
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**Tabla 81.** Tabla de frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Penicilina frente a *Klebsiella spp.*, aisladas de mastitis bovina.

Criterio	Penicilina					
	T1		T2		T3	
	F	%	F	%	F	%
S	3	33.33	0	0	0	0
I	1	11.11	0	0	0	0
R	5	55.56	9	100	9	100
<b>total</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>

*P.C:* puntos de corte, *R:* resistente, *I:* intermedio, *S:* susceptible, *F:* frecuencia.

**Análisis:** Los resultados de la tabla 82 se exhibe que el T3 (5µg) tiene un 100 % de resistencia de 9 aislados, ocurriendo lo mismo en el T2 (10µg) donde presentó un 100 % de resistencia, finalmente el T1 (30µg) exhibe un 55.56 % de resistencias, 33.33 % de susceptibilidad y el 11.11% de resistencia intermedia. En la figura 43 se observa la distribución de los porcentajes de la susceptibilidad de la Penicilina frente a *Klebsiella spp.*, aisladas de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 43.** Porcentajes de la susceptibilidad de la Penicilina frente *Klebsiella spp.*, aisladas de leche positiva a mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

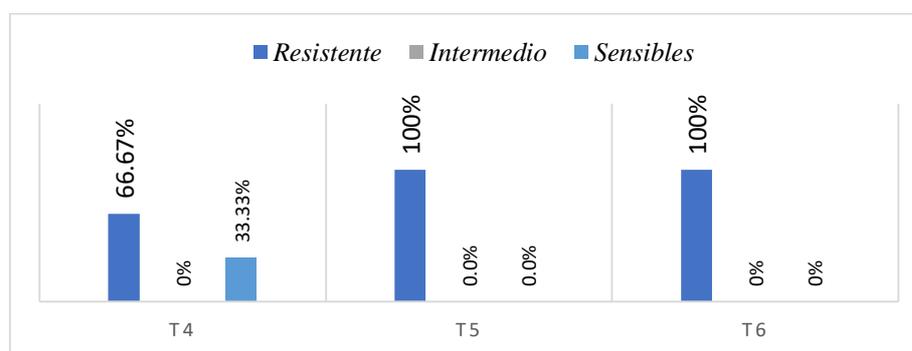
**Discusión:** Según Miranda, (2018) es su estudio donde aisló *Klebsiella* spp., en un 20.2 % de los aislados totales y fueron sometidas a la actividad in vitro frente a Penicilina (10µg), expresaron un 95 % de resistencias, dichos resultados se asemejan con los datos obtenidos en la presente investigación ya que el 100 % de los aislados es resistente a dicha concentración.

**Tabla 82.** frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Cefalexina frente a *Klebsiella* spp.

Criterio	Cefalexina					
	T4		T5		T6	
	F	%	F	%	F	%
S	3	33.33	0	0	0	0
I	0	0	0	0	0	0
R	6	66.67	9	100	9	100
<b>total</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>

P.C: puntos de corte, R: resistente, I: intermedio, S: susceptible, F: frecuencia.

**Análisis:** Los resultados de la tabla 83 muestran que el T6 (5µg) presentó un 100 % de resistencia en 9 aislados, ocurriendo lo mismo en el T5 (10µg) que exhibió un 100 % de resistencia, finalmente, el T4 (30µg) tiene un 33.33 % de susceptibilidad y un 66.67 % de resistencia. En la figura 44 se observa el porcentaje de la susceptibilidad de la cefalexina frente a *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.



**Figura 44.** Porcentajes de la susceptibilidad de la Cefalexina frente a *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

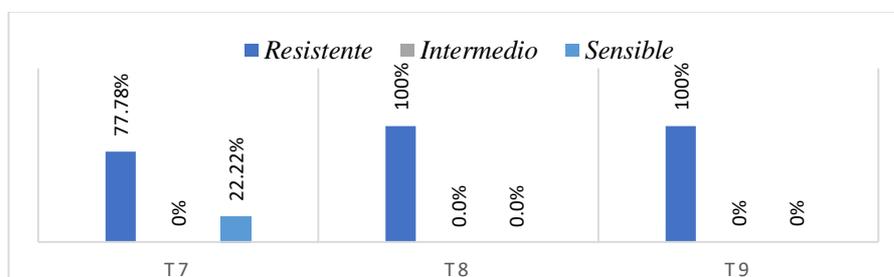
**Discusión:** Vásquez *et al.* (2018), en su investigación aisló *Klebsiella* spp., de las cuales el 100 % (n=2) presentaron susceptibilidad a Cefalexina (30µg), además Miranda, (2018) en su investigación obtuvo el 76.92 % (n=40) de resistencia, el 17.31 % (n=9) resistencia intermedia y el 5.77% (n=3) de sensibilidad de un total de 52 *Klebsiella* spp., a 30µg de cefalexina, comparativamente en la presente investigación se exhibió el 66.67% de resistencia y el 33 % de susceptibilidad a la misma concentración que la utilizada en las investigaciones citadas.

**Tabla 83.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de Cloxacilina frente a *Klebsiella* spp.

Criterio	Cloxacilina.					
	T7		T8		T9	
	F	%	F	%	F	%
S	2	22.22	0	0	0	0
I	0	0	0	0	0	0
R	7	77.78	9	100	9	100
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>

P.C: puntos de corte, R: resistente, I: intermedio, S: susceptible, F: frecuencia.

**Análisis:** Los resultados de la tabla 84 exhibieron que el T9 (1µg) y T8 (5 µg) expresaron un 100 % de resistencia en 9 aislados respectivamente, finalmente, el T7 (10µg) exhibió un 22 % de susceptibilidad y un 77.78 % de resistencias. En la figura 45 se puede ver los porcentajes de la susceptibilidad a la cloxacilina por parte de *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.



**Figura 45.** Porcentajes de la susceptibilidad a la Cloxacilina por parte de *Klebsiella* spp., aisladas de mastitis bovina.  
Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022).

**5.6.10. Efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina sobre *Staphylococcus spp.*, coagulasa negativo.**

Se analizó el efecto de cada una de las concentraciones de oxitetraciclina mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con la finalidad de encontrar cuales tuvieron un mejor comportamiento contra *Staphylococcus spp.*, coagulasa negativo aislados de mastitis bovina.

**Tabla 84.** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad del antibiótico oxitetraciclina sobre bacterias del género *Staphylococcus spp.*, aisladas de mastitis

Fuente Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
<b>Tratamiento clínico</b>	2	2431.5833	1215.79	320.65	<.0001**
<b>Bloque</b>	7	649.29166	92.7559	24.46	<.0001**
<b>Error</b>	14	53.0833	3.79166	<b>CV:8.39 %</b>	
<b>Total</b>	23	3133.9583			

\*\**: Altamente significativa, CV: coeficiente de variación*

**Análisis:** En la tabla 85 se observan los resultados obtenidos al analizar la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus spp.*, coagulasa negativo en donde la prueba de Fisher nos indica:

En lo concerniente a bloques o repeticiones la interacción es altamente significativo, es decir que existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, interpretando que las unidades experimentales tuvieron un comportamiento diferente frente a la exposición a oxitetraciclina.

En el caso de los tratamientos se pudo justificar con la prueba de Fisher que la interacción de actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina a diferentes concentraciones sobre *Staphylococcus spp.*, coagulasa negativo, fue altamente significativa, evidenciando que la oxitetraciclina tiene un efecto diferente al momento de inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada, con un coeficiente de variación de 8.39 % expresando confiabilidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la presente investigación.

**5.6.10.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus spp.*, coagulasa negativo aislados de mastitis bovina.**

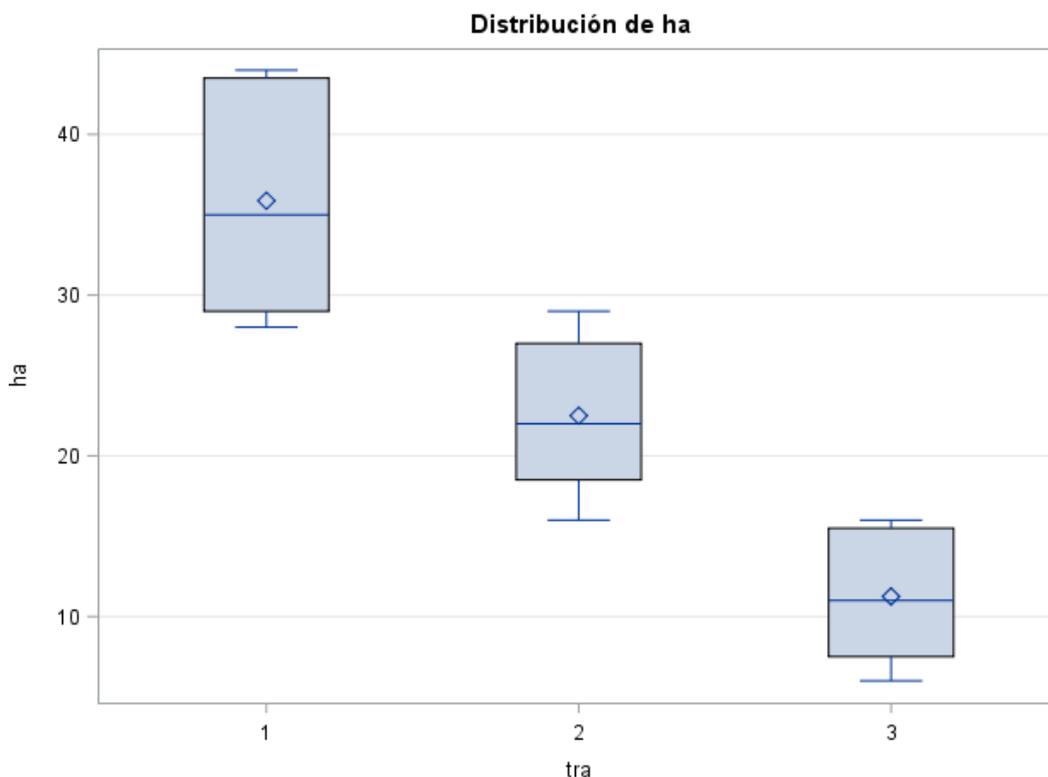
El análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) permitió evidenciar los promedios entre los resultados obtenidos de los tratamientos con oxitetraciclina a (5µg, 10µg y 30µg) donde se exhibió el mejor tratamiento según la media de la población en 8 aislados de *Staphylococcus spp.*, coagulasa negativo aislados de mastitis bovina.

**Tabla 85.** Prueba de comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus spp.* aislados de leche positiva a mastitis.

Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
1 (30 µg)	8	35.8750	A
2 (10 µg)	8	22.50	B
3 (5 µg)	8	11.25	C

*N:* unidades experimentales.

**Análisis:** En la tabla 86 podemos observar el análisis de la comparación de medias Tukey 5%, la cual nos indica que el mejor tratamiento fue el T1(30µg) con un promedio de 35.87 mm de diámetro de halo de inhibición, seguido por el T2 (10µg) con un promedio de 22.50 mm de diámetro de halo de inhibición y el menor promedio lo exhibió el T3 (5µg) con una media de 11.25 mm de halo de inhibición, interpretando así la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tres tratamientos. En la figura 46 se puede observar el efecto de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus spp.*, coagulasa negativo aisladas de mastitis bovina.



**Figura 46.** Efecto de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus spp.*, aislados de mastitis bovina.

Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022)

**5.6.10.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de oxitetraciclina sobre *Staphylococcus spp.*, aisladas de leche positivas a mastitis.**

La interpretación se llevó acabo según a las recomendaciones del Clínical Laboratory Estándar Institute (CLSI, 2020). donde se expresan los puntos de corte para *Staphylococcus spp.*, coagulasa negativo.

**Tabla 86.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de oxitetraciclina frente a *Staphylococcus spp.*, coagulasa negativo.

	Difusión de discos (mm)		
Interpretación	≤ 17	18-22	>23
<b>Guía CLSI</b>	<b>R</b>	<b>I</b>	<b>S</b>

*R: Resistente, I: Intermedio, S: Susceptible.*

**Análisis:** En la tabla 87 se exhibe los criterios de sensibilidad y resistencia establecidos en la guía CLSI, (2020) , donde se estipula que *Staphylococcus spp.*,

CN es considerado resistente cuando hay evidencia de una medida de halo  $\leq 17$  mm y sensible cuando hay evidencia de una medida  $\geq 23$  mm de halo de inhibición en la actividad antimicrobiana propiciada por las tetraciclinas.

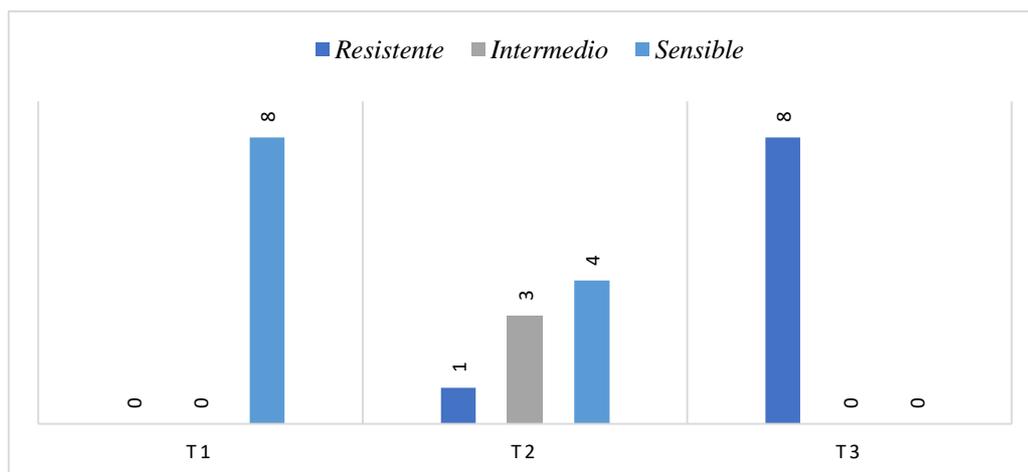
### 5.6.10.3. Actividad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a *Staphylococcus* spp., CN aislados de mastitis bovina.

**Tabla 87.** Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus* spp. CN aislados de leche positiva a mastitis.

<i>Staphylococcus</i> spp. #	Código	Concentración de Oxitetraciclina					
		(30µg)	P.C.	(10µg)	P.C.	(5µg)	P.C.
		T1		T2		T3	
1	AR003PD	29	S	16	R	8	R
2	AR008PI	43	S	26	S	14	R
3	AR009PD	44	S	29	S	16	R
4	AR017PI	28	S	19	I	8	R
5	AR020PI	44	S	28	S	16	R
6	AR021AD	29	S	18	I	7	R
7	AR022PD	30	S	19	I	6	R
8	AR025PI	40	S	25	S	15	R

S: susceptible, R: resistente, I: intermedio.

**Análisis:** Se pudo evidenciar la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina a una concentración de 30 µg en donde e 8 aislados presentó un 100% susceptibilidad, mientras a 10µg un aislados es resistente, 4 aislados susceptibles y 3 aislados presentaron resistencia intermedia, finalmente, a la concentración de 5µg los 8 aislados presentaron resistencia total. En la figura 47 podemos ver la susceptibilidad de la oxitetraciclina frente a bacterias *Staphylococcus* spp., aisladas de leche positiva a mastitis.



**Figura 47.** Susceptibilidad de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus spp.* CN aisladas de mastitis bovina.

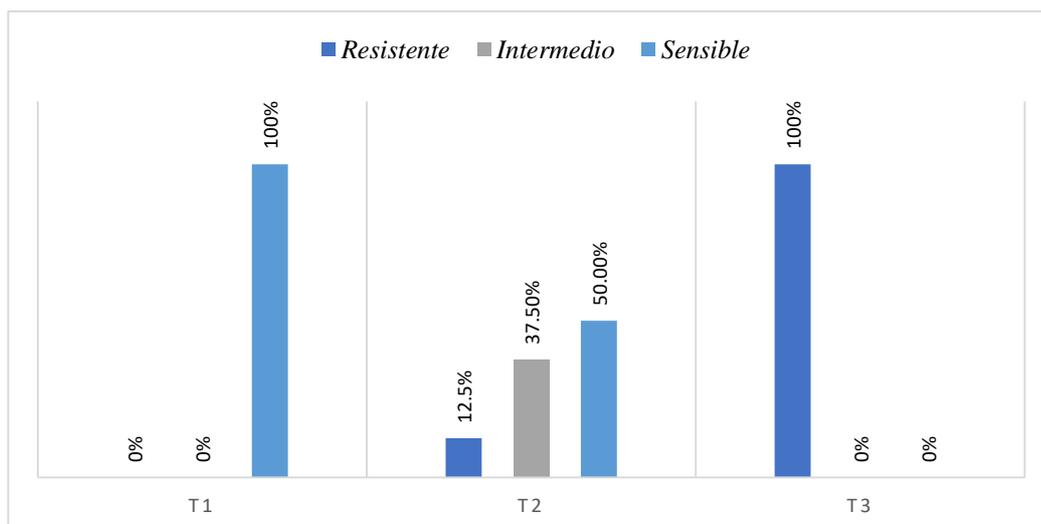
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Tabla 88.** frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus spp.* CN aislados de mastitis bovina.

Criterio	T1		T2		T3	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	0	0	1	12.5	8	100
I	0	0	3	37.5	0	0
S	8	100	4	50	0	0
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

R: resistente, I: intermedio, S: susceptible:

**Análisis:** Los resultados de la tabla 89. Muestran que el T3 (5µg) exhibió un 100 % de resistencia en 8 aislados, mientras que el T2 (10µg) tiene un 50 % de sensibilidad, un 37.5 % de resistencia intermedia y un 12.5 % de resistencia total, finalmente, el T1 (30µg) exhibió un 100 % de susceptibilidad en 8 bacterias aisladas. En la figura 48 se observa los porcentajes de la susceptibilidad de la oxitetraciclina frente a *Staphylococcus spp.*, aisladas de mastitis bovina.



**Figura 48.** Porcentajes de la susceptibilidad de la Oxitetraciclina frente a *Staphylococcus spp.*, aislados de leche positiva a mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Discusión:** Según Arroba, (2019) en su investigación de identificación de dos géneros bacterianos y su resistencia a antibióticos en muestras de leche con mastitis en el Noroccidente de Pichincha; los resultados de la susceptibilidad de las tetraciclinas presentaron un 6.5 % de susceptibilidad, una resistencia del 89.1 % y intermedia del 4.4% por parte del *Staphylococcus spp.*, también Sánchez *et al.* (2018), en su estudio de etiología y resistencia antimicrobianos de la mastitis donde aisló 193 microorganismos donde *Staphylococcus spp.*, lo que representó el 41.45 % (n=90) de los aislados totales, donde se evaluó la actividad antimicrobiana frente a Tetraciclina, de tal manera que presentó el 17 % de resistencia y el 83 % de sensibilidad lo que con los datos obtenidos en la presente investigación el 100 % de los aislados son susceptibles a dicha concentración, mientras que 10 µg fueron suficientes para el 50 % de los aislados ya que presentaron susceptibilidad.

#### **5.6.11. Efecto de la actividad antimicrobiana de betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) sobre *Staphylococcus spp.*, coagulasa negativo.**

Se analizó el efecto de cada uno de los betalactámicos (penicilina, cefalexina, cloxacilina) a diferentes microconcentraciones (5µg, 10µg, 30µg) mediante el análisis de varianza del diseño completamente alzar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos que tuvieron un mejor comportamiento en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus spp.*, CN aislados de leche positivas a mastitis.

**Tabla 89.** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) sobre *Staphylococcus spp.*

Fuente Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
<b>Tratamiento clínico</b>	8	3698.69	462.3368	594.81	<.0001**
<b>Bloque</b>	7	24.097	3.4424	4.43	0.0006**
<b>Error</b>	56	43.52	0.777282	<b>CV: 6.83 %</b>	
<b>Total</b>	71	3766.319			

\*\**: Altamente significativa, CV: coeficiente de variación*

**Análisis:** En la tabla 90 podemos observar los resultados obtenidos al analizar la actividad antimicrobiana de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus spp.*, CN en donde la prueba de Fisher nos indica que:

En lo que concierne a los bloques o repeticiones la interacción es altamente significativa, interpretando que existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, demostrando así que los aislados de *Staphylococcus spp.*, CN tuvieron un comportamiento diferente frente a la exposición a los betalactámicos mencionados.

En el caso de los tratamientos se pudo justificar con la prueba de Fisher que la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) a diferentes concentraciones (1µg, 5µg, 10µg y 30µg) sobre *Staphylococcus spp.*, CN, manifestó una diferencia altamente significativa, evidenciando que los betalactámicos expresan un efecto diferente al momento de inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada, con un coeficiente de variación de 6.83 % confirmando confiabilidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la presente investigación.

**5.6.11.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina, Cloxacilina) frente a *Staphylococcus* spp., aislados de mastitis bovina.**

El análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) manifestó los promedios entre los tratamientos de los Betalactámicos a (30µg), (10µg), (5µg), y (1µg) donde se determinó cual es el mejor tratamiento según la media de la población en 8 aislados confirmados como *Staphylococcus* spp., CN.

**Tabla 90.** Prueba de comparación de medias (Tukey), del efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a la bacteria del genero *Staphylococcus* spp., aislados de leche positiva a mastitis.

Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
1 (30 µg Pen.)	8	26.12	A
4 (30 µg Cl.)	8	21.25	B
7 (10 µg Clox.)	8	18.87	C
2 (10 µg Pen.)	8	13.87	D
5 (10 µg Cl.)	8	9.87	E
8 (5 µg Clox.)	8	9.00	E
3 (5 µg Pen.)	8	6.62	F
6 (5 µg Cl.)	8	5.62	F
9 (1 µg Clox.)	8	4.87	F

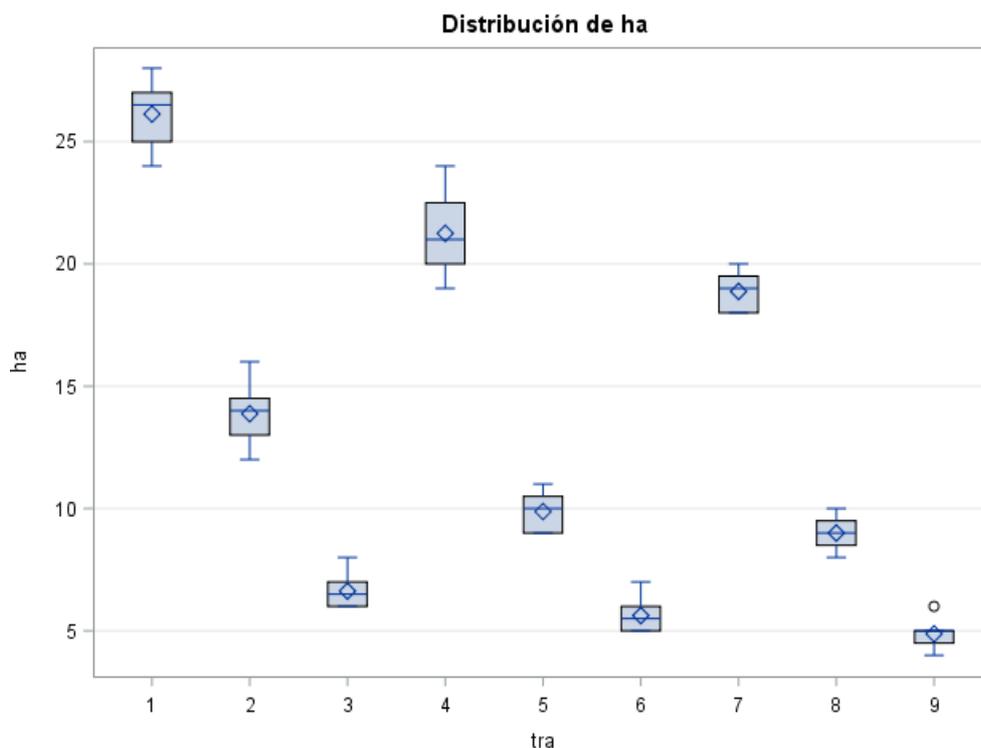
*N:* número de unidades experimentales, *Pen.:* penicilina, *Cl.:* cefalexina, *Clox.:* cloxacilina.

**Análisis:** La prueba de Tukey al 5% en el efecto de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) exhibió que el mejor tratamiento es el T1 (30µg de Penicilina) con un promedio de 26.12 mm de diámetro de halo de inhibición, seguido del T4 (30 µg de Cefalexina) que ostentó un promedio de 21.25 mm de diámetro inhibición, expresando diferencias estadísticas significativas entre las dos concentraciones, finalmente, el T7 (10µg de Cloxacilina) es el que presentó un

promedio de 18.87 mm siendo el más bajo de los 3 antibióticos a las concentraciones mas elevadas consideradas en la investigación.

Al analizar la interacción en lo referente a la concentración de 10µg de cada fármaco en estudio podemos inferir que el mejor tratamiento fue el T2 (10µg de Penicilina) con un promedio de 13.87 mm de diámetro de halo de inhibición, expresando diferencias estadísticas con respecto a los otros tratamientos, siguiéndole el T5 y T8 con 9.87 mm y 9 mm respectivamente los cuales no expresaron diferencias en la expresión del promedio siendo estadísticamente iguales.

Al evaluar la interacción de las concentraciones mas bajas a 5µg y 1µg expresaron los promedios mas bajos donde podemos observar que el mejor tratamiento que se destaca es el T3 (5µg de Penicilina), con un promedio de 6.62 mm de diámetro del halo de inhibición, siguiéndole el T6 (5µg de Cefalexina) que exhibió un promedio de 5.62 mm de diámetro, evidenciando la no existencia de diferencias estadísticas significativas entre los dos tratamientos antes descritos, finalmente, el T9 (1µg de Cloxacilina) presentó un promedio de 4.87 mm de diámetro del halo de inhibición, catalogándose con el tratamiento de menor promedio. En la figura 49 se observa el efecto de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina), frente a bacterias *Staphylococcus* spp., aisladas de leche positiva a mastitis.



**Figura 49.** Efecto de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina), frente a *Staphylococcus spp.*, aisladas de mastitis.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**5.6.11.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de los Betalactámicos sobre *Staphylococcus spp.*, CN aislados de leche positivas a mastitis.**

La interpretación se llevó acabo según a las recomendaciones del Clínical Laboratory Estándar Institute (CLSI, 2020). donde se uso los puntos de corte para *Staphylococcus spp.*

**Tabla 91.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Penicilina frente *Staphylococcus spp.* CN

	Difusión de discos (mm)	
Interpretación	≤ 28	>29
<b>Guía CLSI</b>	<b>R</b>	<b>S</b>

*R: Resistente, I: Intermedio, S: Susceptible.*

**Análisis:** En la tabla 92 se comparó los resultados obtenidos con los establecidos en la guía del CLSI, (2020) , donde se estipula los criterios de sensibilidad de la bacteria citada, siendo considera resistente cuando hay evidencia de medida de halo  $\leq 28$  mm y una sensibilidad cuando el halo de inhibición va desde  $\geq 29$  mm.

**Tabla 92.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Cefalexina y Cloxacilina frente *Staphylococcus spp.* CN.

	Difusión de discos (mm)	
Interpretación	$\leq 24$	$>25$
Guía CLSI	R	S

R: Resistente, I: Intermedio, S: Susceptible.

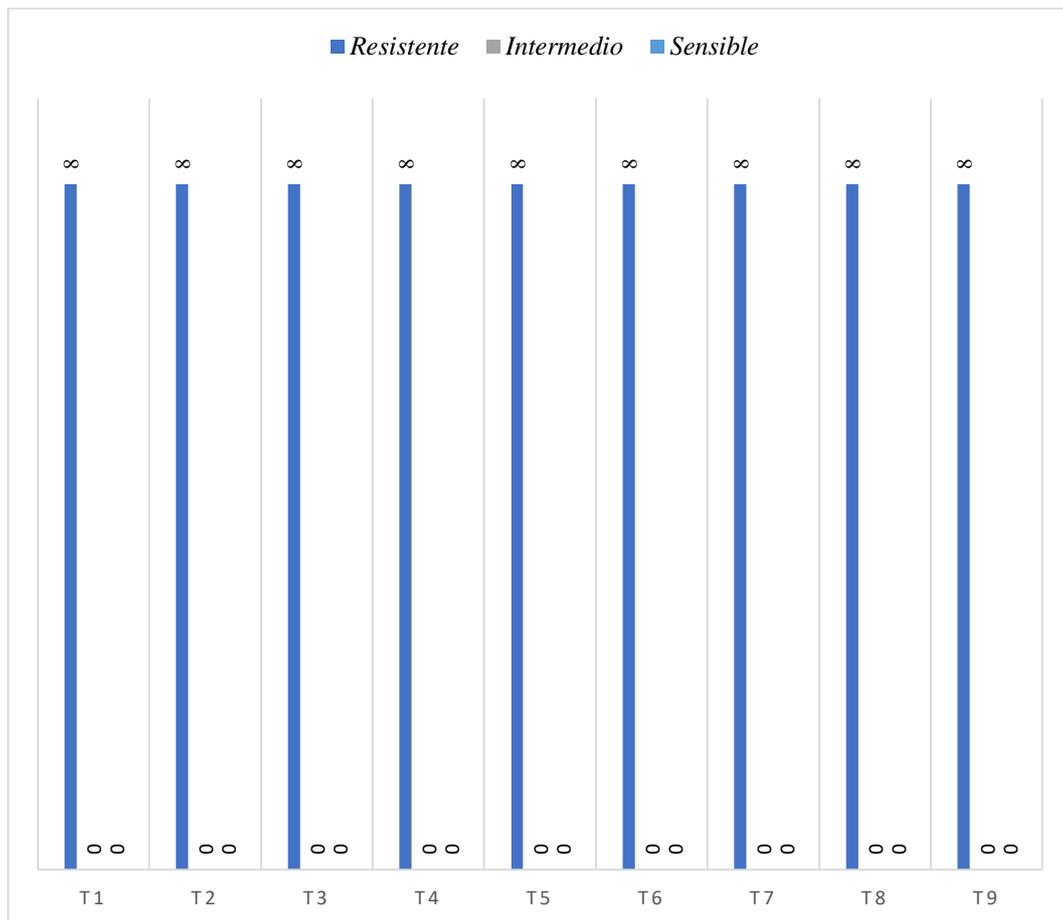
**5.6.11.3. Actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina, Cloxacilina) frente a *Staphylococcus spp.*, aislados de a mastitis bovina.**

**Tabla 93.** Actividad antimicrobiana de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Staphylococcus* spp.CN.

<i>Staphylococcus</i> spp. #	Código	Concentración de Penicilina						Concentración de la Cefalexina						Concentración de la Cloxacilina					
		30µg	P. C.	10µg	P. C.	5µg	P. C.	30µg	P. C.	10µg	P. C.	5µg	P.C.	10µg	P. C.	5µg	P. C.	1µg	P.C.
		T1		T2		T3		T4		T5		T6		T7		T8		T9	
1	AR003PD	27	R	13	R	6	R	20	R	9	R	5	R	18	R	8	R	4	R
2	AR008PI	26	R	14	R	7	R	22	R	10	R	5	R	19	R	9	R	5	R
3	AR009PD	25	R	13	R	6	R	23	R	10	R	6	R	20	R	10	R	6	R
4	AR017PI	25	R	14	R	7	R	21	R	11	R	6	R	18	R	9	R	5	R
5	AR020PI	24	R	12	R	6	R	19	R	9	R	5	R	20	R	9	R	5	R
6	AR021AD	27	R	15	R	6	R	20	R	9	R	5	R	19	R	10	R	5	R
7	AR022PD	27	R	14	R	7	R	21	R	10	R	6	R	18	R	8	R	4	R
8	AR025PI	28	R	16	R	8	R	24	R	11	R	7	R	19	R	9	R	5	R

S: susceptible, R: resistente

**Análisis:** En la tabla 94 podemos observar la actividad antimicrobiana de los betalactámicos a (1µg, 5µg, 10µg, y 30µg) frente a *Staphylococcus* spp., CN aislados de mastitis bovina, se observa también los puntos de corte con los criterios de susceptibilidad a los fármacos en estudio, en donde el T1 (Penicilina 30 µg) expresó un 100 % de resistencia, ocurriendo lo mismo con el T2 (Penicilina 10 µg) y T3 (Penicilina 5 µg), a la vez el T4 (Cefalexina 30 µg) ostentaron el 100% de resistencia, ocurriendo lo mismo con el T5 (Cefalexina 10 µg) y T6 (Cefalexina 5 µg), finalmente, los T7 (Cloxacilina 10 µg), T8 (Cloxacilina 5µg) y T9 (Cloxacilina 1 µg), exhibieron un 100% de resistencia. En la figura 50 se observa la susceptibilidad de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a bacterias *Staphylococcus* spp., aisladas de leche positiva a mastitis bovina.



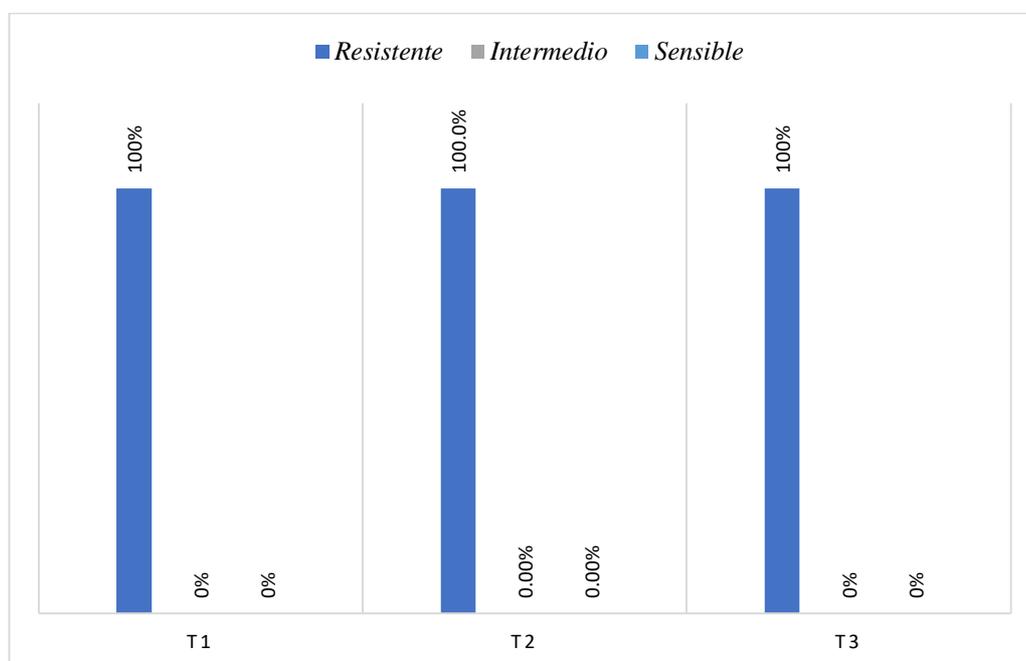
**Figura 50.** Susceptibilidad a los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) por parte del *Staphylococcus* spp. CN aisladas de mastitis bovina. **Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Tabla 94.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Penicilina frente a *Staphylococcus* spp. CN aislados de leche positivo a mastitis bovina.

Criterios	T1		T2		T3	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	8	100	8	100	8	100
I	0	0	0	0	0	0
S	0	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

R: resistente, I: intermedio, S: susceptible:

**Análisis:** Los resultados de la tabla 95 muestran que el T3 (5µg) exhibió un 100 % de resistencia, así mismo que el T2 (10µg) presentó un 100 % de resistencia, finalmente, el T1 (30µg) también ostentó de un 100 % de resistencia en 8 bacterias aisladas. En la figura 51 se observa los porcentajes de la susceptibilidad de la Penicilina frente a bacterias *Staphylococcus* spp., aisladas de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 51.** Porcentajes de la susceptibilidad de la Penicilina frente a bacterias del genero *Staphylococcus* spp. aislados de leche positiva a mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

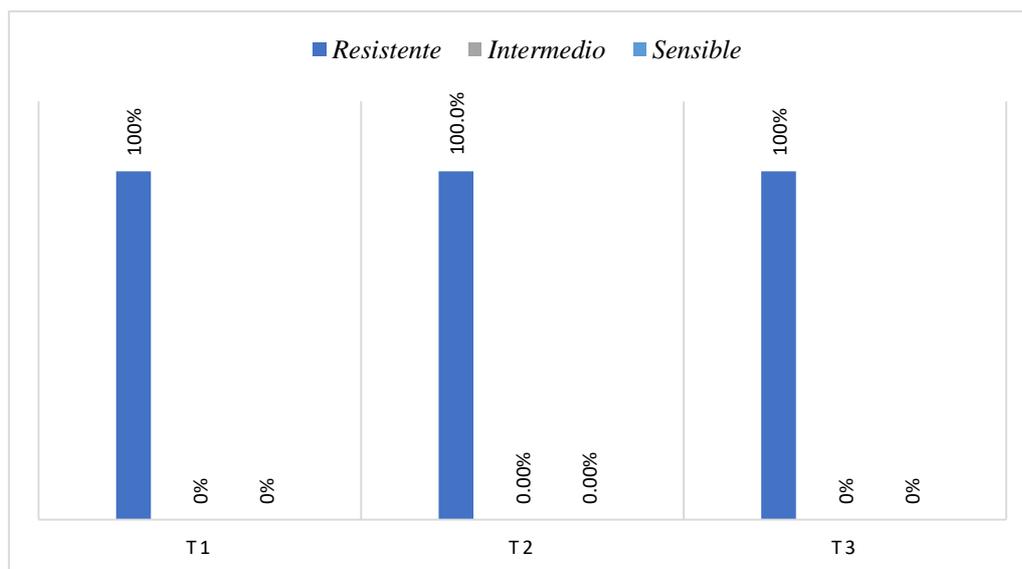
**Discusión:** Sánchez *et al.* (2018), en su investigación determinando la etiología y resistencia antimicrobianos de los agentes causantes de mastitis aisló 193 microorganismos donde *Staphylococcus spp.*, representó el 41.45 % (n=90) de los aislados totales, sumado a esto evaluó la actividad antimicrobiana de la Penicilina, donde obtuvo el 58 % de resistencia y el 42 % de sensibilidad, comparativamente con lo obtenido en la presente investigación el 100 % de los *Staphylococcus spp.*, exhibieron resistencia a las concentraciones en estudio.

**Tabla 95.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Cefalexina frente a *Staphylococcus spp.* CN aislados de leche positivo a mastitis bovina.

Criterio	T4		T5		T6	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	8	100	8	100	8	100
I	0	0	0	0	0	0
S	0	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

*R: resistente, I: intermedio, S: susceptible:*

**Análisis:** Los resultados de la tabla 96 indican que el T6 (5µg) exhibió un 100 % de resistencia en 8 aislados, ocurriendo lo mismo en el T5 (10µg) donde se evidenció un 100 % de resistencia con de un número de 8 bacterias en total, finalmente, el T4 (30µg) así mismo expresó un 100 % de resistencia en 8 bacterias en total. En la figura 52 se observa la distribución de los porcentajes de la susceptibilidad a la Penicilina parte del *Staphylococcus spp.*, (CN) coagulasa negativo, aislados de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 52.** Porcentajes de la susceptibilidad de la Cefalexina frente a *Staphylococcus spp.* CN aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

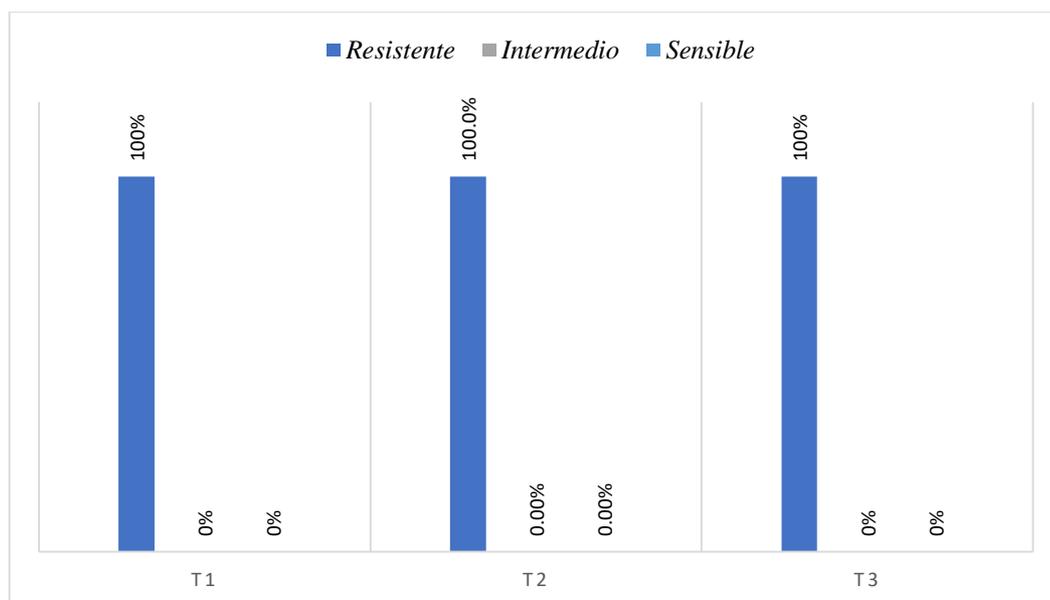
**Discusión:** Según Arroba, (2019) en su estudio aisló un total de 33 cepas de *Staphylococcus spp.*, donde evaluó la susceptibilidad de la Cefalexina (30µg), donde presentó 97% (n=32) de sensibilidad y un 3% (n=1) de resistencia, comparando los resultados obtenidos donde el 100 % de los aislados son resistentes a (30,10 y 5 µg) de Cefalexina, lo cual es consecuencia del mal gerenciamiento de dicho antibiótico.

**Tabla 96.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Cloxacilina frente a *Staphylococcus spp.* CN aislados de leche positivo a mastitis bovina.

Criterio	T7		T8		T9	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	8	100	8	100	8	100
I	0	0	0	0	0	0
S	0	0	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

R: resistente, I: intermedio, S: susceptible.

**Análisis:** Los resultados de la tabla 97 se muestra que el T9 (1µg) tiene un 100 % de resistencia en 8 aislados, el T8 (5µg) expresa lo mismo es decir un 100 % de resistencia, finalmente, el T7 (10µg) exhibió un 100 % de resistencia. En la figura 53 se observa los porcentajes de la susceptibilidad de la Penicilina frente a bacterias *Staphylococcus* spp., aisladas de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 53.** Porcentajes de la susceptibilidad de la Cloxacilina frente *Staphylococcus* spp. CN aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Discusión:** Según Cruz *et al.* (2017), en su investigación donde aisló 15 *Staphylococcus* spp., CN, las cuales correspondía a el 28 % de los aislados totales, fueron sometidos a la evaluación de la actividad antimicrobiana de la Cloxacilina (5µg), donde presentó el 27.2 % de resistencia, comparativamente en la presente investigación se obtuvo el 100 % de resistencia en los aislados obtenidos.

#### **5.6.12. Efecto de la actividad antimicrobiana aminoglucósidos de la sobre bacterias del género *Staphylococcus* spp., coagulasa negativo (CN).**

Se analizó el efecto de cada uno de los aminoglucósidos mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente alzar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos que tuvieron un mejor comportamiento en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus* spp., CN aislados de leche positivas a mastitis.

**Tabla 97.** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los antibióticos de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) sobre *Staphylococcus spp.* CN

Fuente Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
<b>Tratamiento clínico</b>	8	16659.94	2082.49	1231.17	<.0001**
<b>Bloque</b>	7	14.65278	2.0932	1.24	0.2982 NS
<b>Error</b>	56	94.722	1.6914	<b>CV: 3.87%</b>	
<b>Total</b>	71	16769.31944			

\*\* : Altamente significativa, NS: no significativo, CV: coeficiente de variación

**Análisis:** En la tabla 98 podemos se observa los resultados obtenidos al analizar la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) en la inhibición del crecimiento de *Staphylococcus spp.*, CN donde la prueba de Fisher indica:

En lo que concierne a los bloques o repeticiones la interacción es no significativa, interpretando así que no existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, es decir, las unidades experimentales tuvieron un comportamiento similar contra los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina).

En el caso de los tratamientos se pudo justificar con la prueba de Fisher que la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) a diferente microconcentraciones (30µg), (10µg), (5µg), sobre *Staphylococcus spp.*, CN, expresó una diferencia altamente significativa, evidenciando que los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) tiene un efecto diferente al momento de inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada, con un coeficiente de variación de 3.87 % confirmando confiabilidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la presente investigación.

**5.6.12.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Staphylococcus* spp., aislados de mastitis bovina.**

El análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) se evidenció los promedios entre los tratamientos de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) a (30µg), (10µg), y (5µg), permitiendo determinar cual es el mejor tratamiento según la media de la población e 8 aislados confirmados como *Staphylococcus* spp., CN los cuales se asilaron de mastitis bovina.

**Tabla 98.** Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Staphylococcus* spp. CN aislados de leche positiva a mastitis.

Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
4 (30 µg Neo.)	8	54.87	A
7 (30 µg Estr.)	8	53.87	A
1 (30 µg Gen.)	8	51.75	B
8 (10 µg Estr.)	8	33.12	C
5 (10 µg Neo.)	8	30.37	D
2 (10 µg Gen.)	8	27.75	E
9 (5 µg Estr.)	8	18.75	F
6 (5 µg Neo.)	8	16.12	G
3 (5 µg Gen.)	8	15.75	G

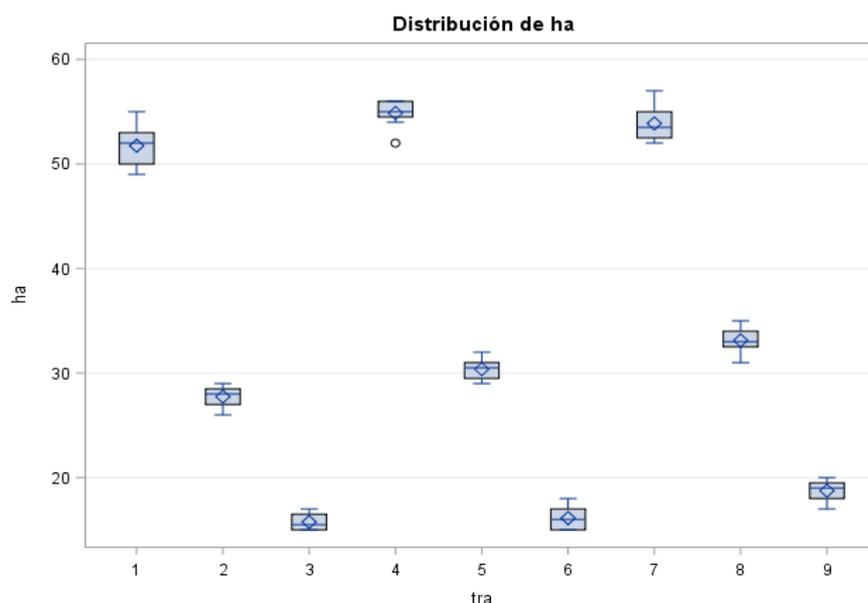
*N:* número de unidades experimentales, *Gen.:* gentamicina, *Neo.:* neomicina, *Estr.:* estreptomicina.

**Análisis** lo resultados de la prueba de Tukey al 5 % determinaron que el mejor tratamiento es el T4 (30µg de Neomicina) con un promedio de 54.87 mm de diámetro de halo de inhibición, seguido del T7 (30µg de Estreptomicina) con 53.87 mm de halo de inhibición, se evidenció que estos tratamientos no tienen diferencias significativas ya que comparte el mismo rango de agrupación, finalmente, el T1

(30µg de Gentamicina) obtuvo el promedio mas bajo de los tratamientos con mayor concentración (30µg) con una media de 51.75 mm de diámetro del halo de inhibición.

Posteriormente al comparar las concentraciones de 10µg, el mejor tratamiento fue el T8 (Estreptomicina) expresando un promedio de 33.12 mm de halo de inhibición, seguido por el T5 (Neomicina) que manifestó un promedio de 30.37 mm de halo de inhibición y finalmente, el T2 (Gentamicina) obtuvo el promedio mas bajo con una media de 27.75 mm de diámetro, mostrando que existió diferencias significativas entre los tratamientos.

Comparativamente la expresión de las medidas de halos de inhibición a la concentración mas baja manifestó que el mejor tratamiento es el T9 (5µg de Estreptomicina) con un promedio de 18.75 mm, el cual obtuvo diferencias significativas en comparación con los otros tratamientos, ya que el T6 (5µg de Neomicina) expresó un promedio de 16.12 mm y el T3 (5µg de Gentamicina) exhibió un promedio de 15.75 mm de diámetro del halo de inhibición, los cuales no expresan diferencias significativas. En la figura 54 se observa el efecto de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente *Staphylococcus spp.*, CN aislados de mastitis bovina.



**Figura 54.** Efecto de los aminoglucósidos frente a *Staphylococcus spp.* CN aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**5.6.12.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de los aminoglucósidos sobre bacterias *Staphylococcus* spp., aisladas de leche positivas a mastitis.**

La interpretación se llevó acabo según a las recomendaciones de la guía del Clínical Laboratory Estándar Institute (CLSI, 2020) del documento VT01 donde manifiesta los puntos de corte para *Staphylococcus* spp., coagulasa negativo CN aislados de mastitis bovina.

**Tabla 99.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina frente a *Staphylococcus* spp. CN.

	Difusión de discos (mm)		
Interpretación	≤ 12	13-14	>15
Guía CLSI	R	I	S

R: Resistente, I: Intermedio, S: sensible.

**Análisis:** En la tabla 100 observamos los resultados obtenidos con los criterios de susceptibilidad antimicrobiana establecidos en la guía del CLSI, (2020) donde se consideró resistentes cuando hay evidencia de una medida ≤ 12 mm y susceptibles cuando la expresión de la medida del halo de inhibición es ≥ 15 mm. Siendo estos valores utilizados para todos los Estafilococos excepto *Staphylococcus aureus*, tomando como referencia los puntos de corte de la Gentamicina a 10µg como interpretativo para el análisis de susceptibilidad de la familia de aminoglucósidos.

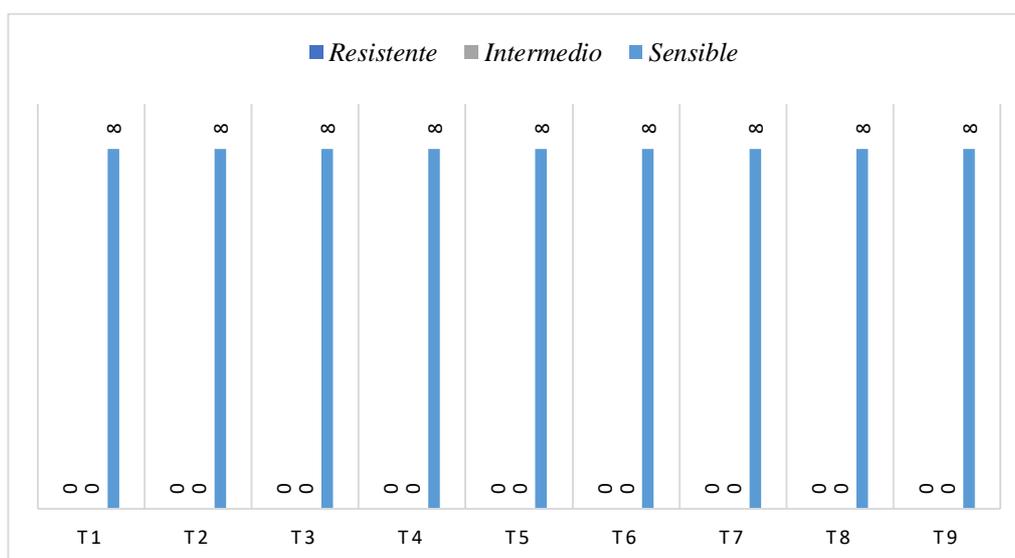
**5.6.12.3. Actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina, Estreptomicina) frente a *Staphylococcus* spp., CN aislados de leche positiva a mastitis.**

**Tabla 100** Tabla de actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina, Estreptomicina) frente a *Staphylococcus* spp. CN aislados de leche positiva a mastitis.

<i>Staphylococcus</i> spp. #	Código	Concentración de Gentamicina						Concentración de la Neomicina						Concentración de la Estreptomicina					
		30µg	P · C	10µ g	P · C	5µg	P. C	30µg	P. C	10µ g	P. C	5µg	P.C ·	30µg	P. C.	10µ g	P. C	5µg	P.C.
		T1	.	T2	.	T3	.	T4	.	T5	.	T6	.	T7	.	T8	.	T9	.
1	AR003PD	50	S	27	S	15	S	55	S	31	S	15	S	53	S	33	S	18	S
2	AR008PI	49	S	28	S	16	S	56	S	32	S	16	S	55	S	34	S	19	S
3	AR009PD	52	S	29	S	17	S	55	S	30	S	15	S	57	S	35	S	20	S
4	AR017PI	53	S	26	S	15	S	54	S	29	S	15	S	54	S	33	S	19	S
5	AR020PI	55	S	27	S	15	S	56	S	31	S	17	S	52	S	33	S	19	S
6	AR021AD	50	S	28	S	16	S	56	S	31	S	18	S	52	S	31	S	17	S
7	AR022PD	52	S	29	S	17	S	55	S	30	S	17	S	53	S	32	S	18	S
8	AR025PI	53	S	28	S	15	S	52	S	29	S	16	S	55	S	34	S	20	S

R: resistente, I: intermedio, S: susceptible:

**Análisis:** En la tabla 101 se observa el análisis de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomina) a una concentración de 5 µg, 10µg y 30µg en cada uno de los antibióticos utilizados, interpretando así que todos los tratamientos expresaron el 100 % de sensibilidad, asumiendo que 5 µg fueron suficiente para inferir en el crecimiento de *Staphylococcus* spp. CN causantes de mastitis bovina. En la figura 55 se presenta la susceptibilidad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a *Staphylococcus* spp., CN aislados de mastitis bovina.



**Figura 55.** Susceptibilidad de los aminoglucósidos frente a *Staphylococcus* spp. aislados de leche positiva a mastitis bovina.

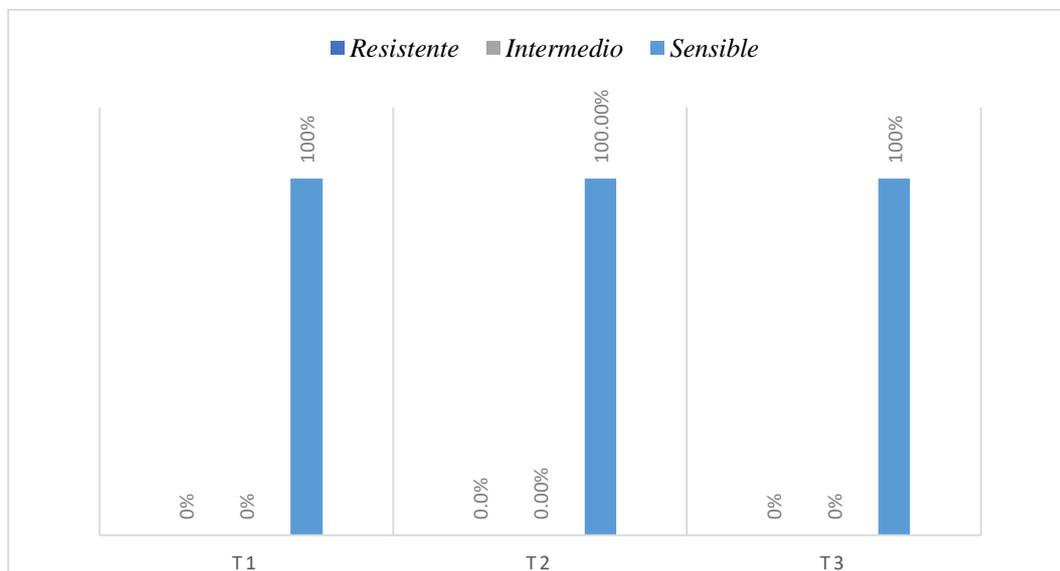
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**Tabla 101.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Gentamicina frente a *Staphylococcus* spp., aislados de leche positivo a mastitis.

Criterio	T1		T2		T3	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	0	0	0	0	0	0
I	0	0	0	0	0	0
S	8	100	8	100	8	100
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

R: resistente, I: intermedio, S: sensible:

**Análisis:** Los resultados de la tabla 102. Se evidencia que el T1, T2 y T3 ostentaron de un 100 % de susceptibilidad en 8 aislados de *Staphylococcus* spp., CN aislados de mastitis bovina.



**Figura 56.** Porcentajes de la susceptibilidad de la gentamicina frente a *Staphylococcus* spp. aislados de leche positiva a mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

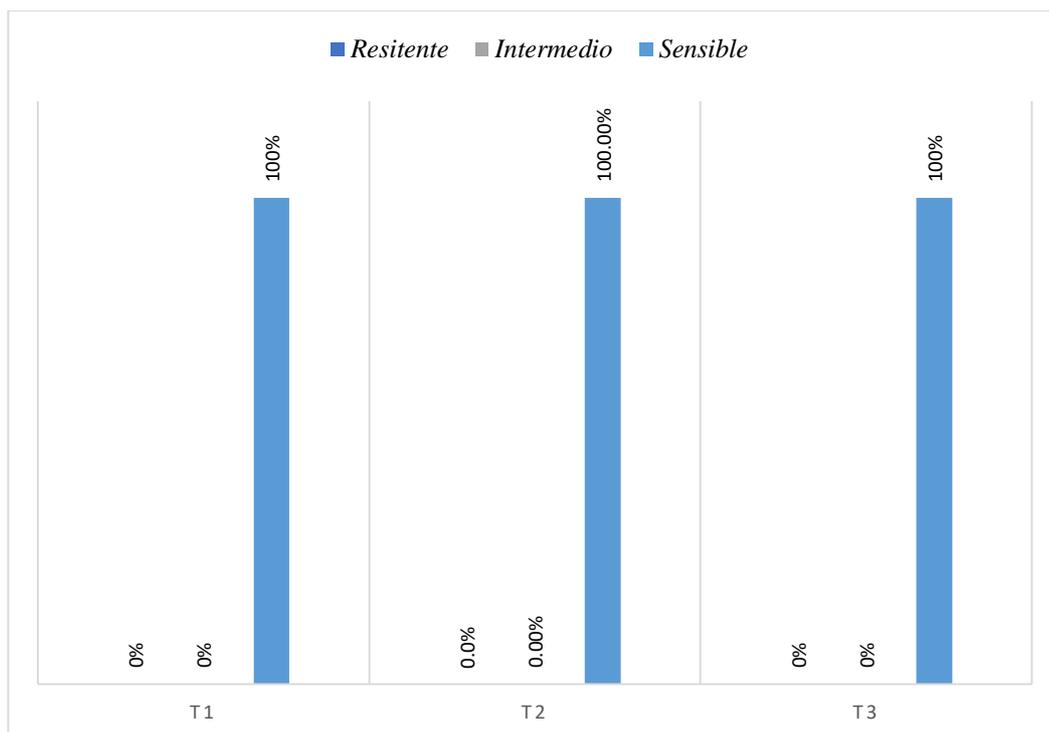
**Discusión:** Según Arroba, (2019) en su investigación en donde evaluó la actividad antimicrobiana de gentamicina (10µg) frente a 46 aislados de *Staphylococcus* spp., CN presentó el 82.6 % de resistencia, 6.6 % de resistencia intermedia o parcial, y 10 % de susceptibilidad. Al comparar con los resultados obtenidos en la presente investigación podemos inferir que la bacteria antes mencionada exhibió un 100% de sensibilidad a la concentración mínima utilizada (5 µg), difiriendo de lo citado.

**Tabla 102.** frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Neomicina frente a *Staphylococcus* spp. aislados de leche positivo a mastitis.

Criterio	T4		T5		T6	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	0	0	0	0	0	0
I	0	0	0	0	0	0
S	8	100	8	100	8	100
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

R: resistente, I: intermedio, S: sensible:

**Análisis:** En los resultados de la tabla 103 se observa el análisis de la susceptibilidad antimicrobiana de la Neomicina a 30µg (T4), 10µg (T5) y 5µg (T6) los cuales presentaron el 100 % de sensibilidad en 8 aislados de *Staphylococcus* spp., CN. causantes de mastitis bovina. En la figura 57 observamos los porcentajes de susceptibilidad antimicrobiana de la Neomicina frente a *Staphylococcus* spp., aislados de mastitis bovina.



**Figura 57.** Porcentajes de la susceptibilidad de la Neomicina frente a bacterias del genero *Staphylococcus* spp. aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

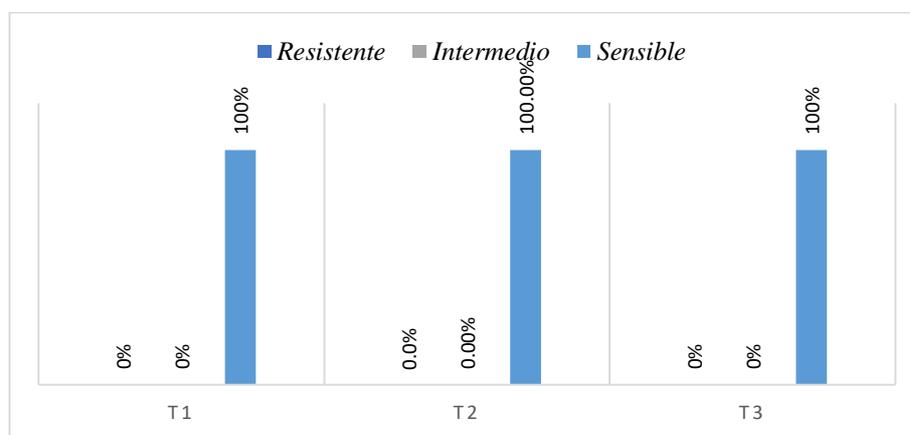
**Discusión:** Según Arroba, (2019) en los resultados de su investigación donde evaluó la actividad de la Neomicina (30µg) frente a 46 aislados de *Staphylococcus* spp., los cuales presentaron el 4.4 % de sensibilidad y el 95.6 % de resistencia, Al comparar con los resultados obtenidos en la presente investigación podemos inferir que la bacteria antes mencionada exhibió un 100 % de sensibilidad a la concentración mínima utilizada (5 µg), difiriendo de lo citado.

**Tabla 103.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la Estreptomicina frente a *Staphylococcus* spp. aislados de leche positivo a mastitis bovina.

Criterio	T7		T8		T9	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	0	0	0	0	0	0
I	0	0	0	0	0	0
S	8	100	8	100	8	100
<b>Total</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>	<b>8</b>	<b>100</b>

A.A.: Actividad Antimicrobiana, R: resistente, I: intermedio, S: susceptible:

**Análisis:** En los resultados de la tabla 104 se observa el análisis de la susceptibilidad antimicrobiana de la Estreptomicina a 30µg (T4), 10µg (T5) y 5µg (T6) los cuales presentaron el 100 % de sensibilidad en 8 aislados de *Staphylococcus* spp., CN. causantes de mastitis bovina. En la figura 58 observamos los porcentajes de susceptibilidad antimicrobiana de la Estreptomicina frente a *Staphylococcus* spp., aislados de mastitis bovina.



**Figura 58.** Porcentajes de la susceptibilidad antimicrobiana de la estreptomicina frente a *Staphylococcus* spp. aislados de leche positiva a mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**Discusión:** Según Sánchez *et al.* (2015), en su investigación susceptibilidad antimicrobiana del estafilococo coagulasa negativo causantes de mastitis bovina, el cual aisló 31 cepas de *Staphylococcus* spp., donde el 77.41 % (n=24) son sensibles y el 22.59 % (n=7) son resistentes a la Estreptomicina a 10 µg, donde podemos inferir ya que en la presente investigación fueron suficientes 5 µg de Estreptomicina para que el 100 % de los aislados sean sensibles.

### 5.6.13. Efecto de la actividad antimicrobiana de los 7 antibióticos en estudio de la sobre bacterias del género *Citrobacter* spp.

Se analizó el efecto de cada uno de los tratamientos mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos que tuvieron un mejor comportamiento en la inhibición del crecimiento de *Citrobacter* spp., aislados de mastitis bovina.

**Tabla 104.** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los 7 antibiótico en estudio sobre *Citrobacter* spp.

Fuente Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
Tratamiento	20	11315.90	565.79524	35.98	<.0001**
Bloque	1	137.52	137.523	8.75	0.0078 **
Error	20	314.47	15.72381		CV: 11.99%
Total	41	11767.90			

\*\* : Altamente significativa, CV: coeficiente de variación

**Análisis:** En la tabla 105 se observa los resultados obtenidos del análisis de varianza de la actividad antimicrobiana de los tratamientos (Oxitetraciclina, Penicilina, Cefalexina, Cloxacilina, Gentamicina, Neomicina y Estreptomina) en la inhibición del crecimiento de *Citrobacter* spp., causantes de mastitis bovina, donde la prueba de Fisher nos indica que:

En lo que concierne a los bloques o repeticiones la interacción es altamente significativa, interpretando así que existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, expresando de tal modo que las unidades experimentales tuvieron un comportamiento similar ante la exposición de los antibióticos previamente citados.

En el caso de los tratamientos la actividad antimicrobiana de los antibióticos en estudio (Oxitetraciclina, Penicilina, Cefalexina, Cloxacilina, Gentamicina, Neomicina y Estreptomina). a diferentes concentraciones (1µg, 5µg, 10µg y 30µg), frente a *Citrobacter* spp., expresó una diferencia altamente significativa, evidenciando que los tratamientos tienen un efecto diferente al momento de inhibir el crecimiento de *Citrobacter* spp., con un coeficiente de variación de 11.99 % confirmando confiabilidad y aceptabilidad de los datos obtenidos en la investigación.

**5.6.13.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de la actividad antimicrobiana de los 7 antibióticos propuestos (Oxitetraciclina, Penicilina, Cefalexina, Cloxacilina, Gentamicina, Neomicina y Estreptomina) frente a *Citrobacter* spp. aislados de mastitis bovina.**

Mediante el análisis de la comparación de medias (Tukey al 5 %), se comprobó los promedios entre de los 7 antibióticos (Oxitetraciclina, Penicilina, Cefalexina, Cloxacilina, Gentamicina, Neomicina y Estreptomina). a (1µg, 5µg, 10µg y 30µg), para saber cual es el mejor tratamiento según la media de la población de 2 aislados confirmados como *Citrobacter* spp., causantes de mastitis bovina.

**Tabla 105.** Prueba de comparación de medias (Tukey), del efecto de la actividad antimicrobiana de los 7 antibióticos en estudio frente a la bacteria del genero *Citrobacter* spp. aislados de leche positiva a mastitis.

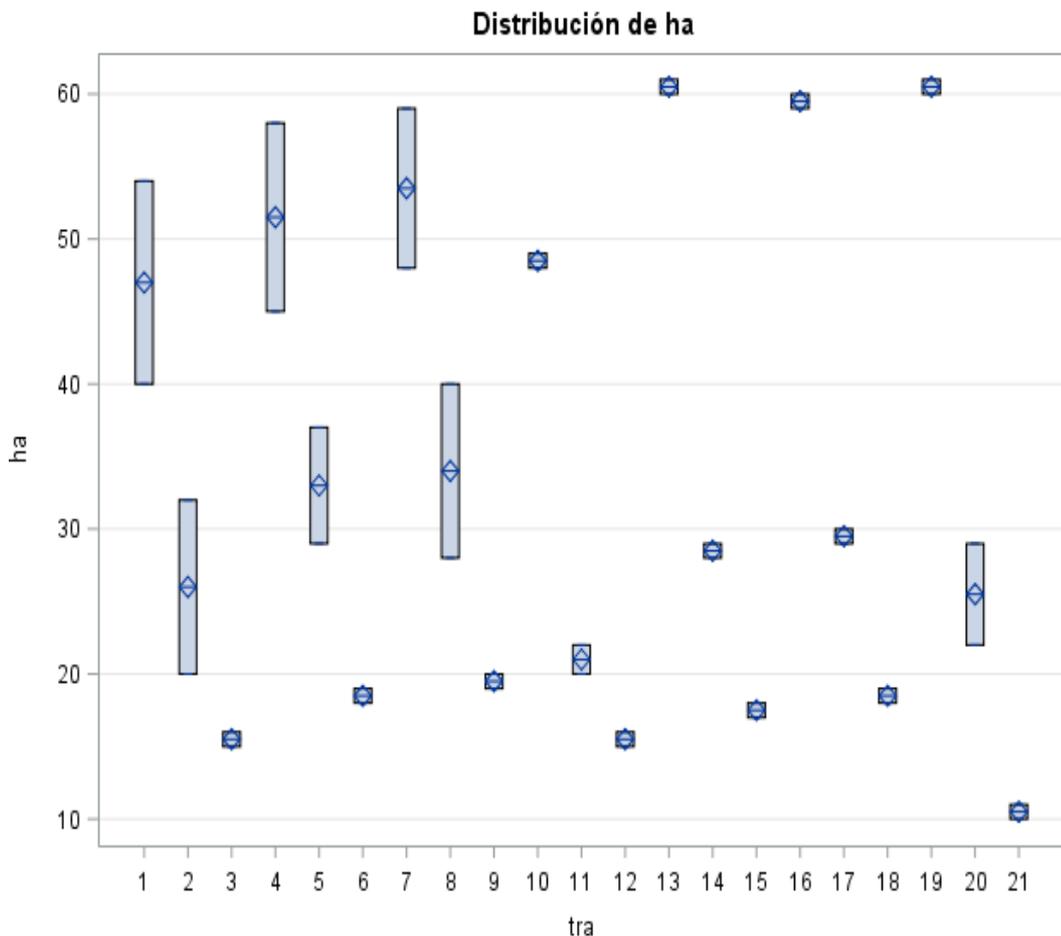
Tratamiento	N	Medias	Tukey Agrupamiento
13 (Gen 30µg)	2	60.50	A
19 (Estr. 30µg)	2	60.50	A
16 (Neo 30µg)	2	59.50	A
7 (Cl. 30µ)	2	53.50	A
4 (Pen 30µg)	2	51.50	A
10 (Clox. 10µg)	2	48.50	B
1 (Oxi 30µg)	2	47.00	B
8 (Cl. 10µg)	2	34.00	B
5 (Pen 10µg)	2	33.00	B C
17 (Neo 10µg)	2	29.50	C D E
14 (Gen 10µg)	2	28.50	C D E
2 (Oxi 10µg)	2	26.00	C D E F
20 (Estrep 10µg)	2	25.50	C D E F
11 (Cloxa 5µg)	2	21.00	C D E F
9 (Cl. 5µg)	2	19.50	C D E F
6 (Pen 5µg)	2	18.50	C D E F
18 (Neo 5µg)	2	18.50	C D E F
15 (Gen 5µg)	2	17.50	D E F
3 (Oxi 5µg)	2	15.50	E F
12 (Cloxa 1µg)	2	15.50	E F
21 (Estrep 5µg)	2	10.50	F

*Gen.:* gentamicina, *Estr.:* estreptomina, *Neo.:* neomicina, *Pen.:* penicilina, *Clox.:* cloxacilina, *Cl.:* cefalexina, *Oxi.:* oxitetraciclina.

**Análisis:** En la tabla 106 observamos el análisis de la prueba de Tukey al 5 %, donde se expresó el promedio del diámetro del halo de inhibición de cada tratamiento, donde se evidenció;

Los promedios exhibidos en los antibióticos Gentamicina, Estreptomina, Neomicina, Cefalexia y Penicilina a 30 $\mu$ g, no expresaron diferencias significativas, obteniendo lo mayores promedios comprendidos por valores de; 60.50mm, 60.50mm, 59.50 mm, 53.50 mm, 51.50 mm, respectivamente.

Igualmente, al referirse a los rangos con el promedio mas bajo en el diámetro del halo de inhibición podemos inferir que Estreptomina (5 $\mu$ g) expresó diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos, siendo así el menor promedio con 10.50 mm de halo de inhibición.



**Figura 59.** Efecto de los 7 antibióticos frente a *Citrobacter spp.* aislados de leche positiva a mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**5.6.13.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de los 7 antibióticos en estudio sobre *Citrobacter spp.*, aislados de leche positivas a mastitis**

La interpretación se llevó a cabo según a las recomendaciones de la guía del Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI, 2020) y el Comité Europeo de Evaluación de la Sensibilidad Antimicrobiana (EUCAST, 2022) donde expresa los puntos de corte para *Citrobacter spp.* haciendo uso de las referencias establecidas para la familia de las Enterobacterias.

**Tabla 106.** *Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de los 7 antibióticos propuestos frente a Citrobacter spp. aislados de leche positiva a mastitis.*

Antibiótico	Difusión de disco (mm)			
	R	I	S	Guía.
Oxitetraciclina	≤ 11	12-14	≥ 15	CLSI
Penicilina	≤ 13	14-16	≥ 17	CLSI
Cefalexina	≤ 18	-	≥ 19	EUCAST
Cloxacilina	≤ 10	11-12	≥ 13	CLSI
Gentamicina	≤ 12	13-15	≥ 16	CLSI
Neomicina	≤ 14	-	≥ 15	EUCAST
Estreptomycinina	≤ 11	12-14	≥ 15	CLSI

*R: resistente, I: intermedio, S: susceptibles.*

**5.6.13.3. Actividad antimicrobiana de los 7 antibióticos en estudio frente a la bacteria del género *Citrobacter spp.*, aislados de leche positiva a mastitis.**

**Tabla 107** Actividad antimicrobiana de los 7 antibióticos en estudio frente a la bacteria del género *Citrobacter spp.* aislados de mastitis.

<i>Citrobacter spp.</i>		Oxitetraciclina						Penicilina						Cefalexina						Cloxacilina					
#	Código	30	P.C.	10	P.C.	5	P.C.	30	P.C.	10	P.C.	5	P.C.	30	P.C.	10	P.C.	5	P.C.	10	P.C.	5	P.C.	1	P.C.
		T1		T2		T3		T4		T5		T6		T7		T8		T9		T10		T11		T12	
1	AR019PD	40	S	20	S	15	S	45	S	29	S	18	S	48	S	28	S	19	S	48	S	20	S	15	S
2	ACH001AD	54	S	32	S	16	S	58	S	37	S	19	S	59	S	40	S	20	S	49	S	22	S	16	S

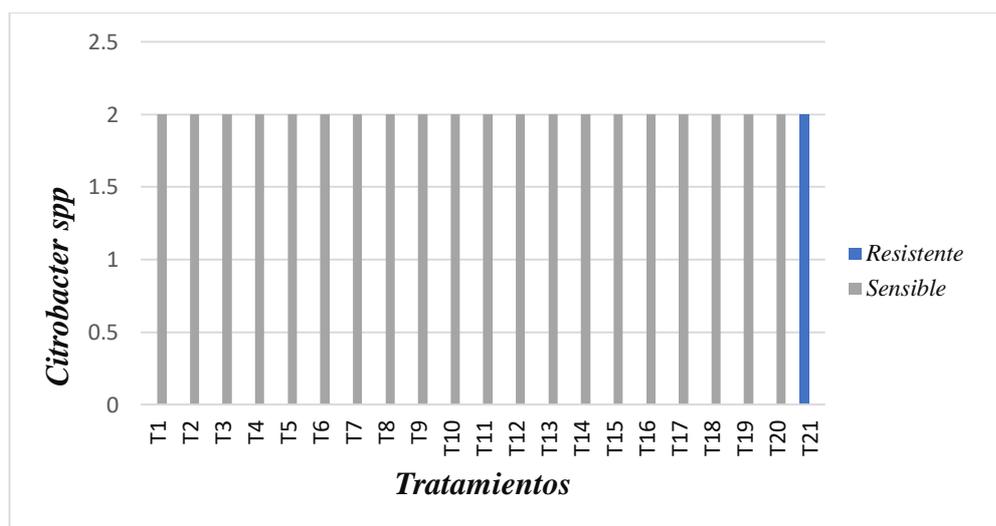
P.C.: punto de corte, S: sensible R: resistente, I: intermedio

**Tabla 108** Actividad antimicrobiana de los 7 antibióticos en estudio frente a la bacteria del género *Citrobacter spp.* aislados de leche positiva a mastitis

<i>Citrobacter spp.</i>		Gentamicina						Neomicina						Estreptomina					
#	Código	30	P.C.	10	P.C.	5	P.C.	30	P.C.	10	P.C.	5	P.C.	30	P.C.	10	P.C.	5	P.C.
		T13		T14		T15		T16		T17		T18		T19		T20		T21	
1	AR019PD	61	S	28	S	17	S	59	S	29	S	18	S	60	S	29	S	10	R
2	ACH001AD	60	S	29	S	18	S	60	S	30	S	19	S	61	S	22	S	11	R

PC: punto de corte, S: sensible. R: resistente, I: intermedio

**Análisis:** Mediante el análisis de la actividad antimicrobiana de los 7 antibióticos a 3 concentraciones podemos expresar que el T21 (5µg de Estreptomina) presentó el 100 % (n=2) de resistencia, mientras los demás tratamientos tienen sensibilidad a dichas concentraciones de los demás antibióticos. En la Figura 60 se puede ver la susceptibilidad de los tratamientos frente a bacterias *Citrobacter spp.*, aislados de mastitis bovina.



**Figura 60.** Susceptibilidad de los tratamientos frente a bacterias *Citrobacter spp.* aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**Discusión:** Según Mbuk *et al.* (2016), en su investigación de aislamiento de coliformes, logró aislar 3 *Citrobacter spp.* Los cuales fueron sometidos a la actividad antimicrobiana de Estreptomina, Tetraciclina y Gentamicina, evidenciando que estos aislados presentaron sensibilidad en 33.3%, 33.3% y 66.7% respectivamente, mientras que Cruz *et al.* (2017), en su investigación donde evaluó la actividad in vitro de la Oxitetraciclina y Gentamicina frente a *Citrobacter spp.*, mostraron el 100 % susceptibilidad, también Nam *et al.* (2009), en su investigación en un periodo de 5 años (2003 - 2008) logró aislar un total de 39 *Citrobacter spp.* las cuales manifestaron un 74.4% de sensibilidad a la tetraciclina (30µg) y 92.3% de sensibilidad a la Gentamicina (10µg), interpretando así que en base a los resultados obtenidos en la investigación se hace inferencia de que la variabilidad en los criterios de sensibilidad por parte *Citrobacter spp.*, están en dependencia de la zona agroecológica y de un sinnúmero de factores que influyen para el desarrollo de la resistencia de dicho patógeno.

#### 5.6.14. Efecto de la actividad antimicrobiana de lo Oxitetraciclina frente a bacterias del género *Bacillus* spp.

Se analizó el efecto de la oxitetraciclina a diferentes microconcentraciones mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos tratamientos que tuvieran un mejor comportamiento en la inhibición del crecimiento de *Bacillus* spp., aislados de leche positivas a mastitis.

**Tabla 109.** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina sobre *Bacillus* spp.

Fuente Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
<b>Tratamiento clínico</b>	2	1013.55	506.77	618.44	<.0001**
<b>Bloque</b>	8	10.000	1.25000	1.53	0.2245NS
<b>Error</b>	16	13.11	0.81944		<b>CV: 8.95%</b>
<b>Total</b>	26	1036.66			

\*\**: Altamente significativo, NS: no significativo, CV: coeficiente de variación.*

**Análisis:** En la tabla 110 se observa los resultados obtenidos al analizar la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina a 5 µg, 10µg y 30µg en la inhibición del crecimiento de *Bacillus* spp., la prueba de Fisher nos indica que:

En lo que concierne a los bloques o repeticiones la interacción es no significativa, interpretando así que no existió efecto en los resultados por parte de las repeticiones, es decir, las unidades experimentales tuvieron un comportamiento similar contra la oxitetraciclina.

En el caso de los tratamientos se pudo justificar con la prueba de Fisher que la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina a diferente microconcentraciones (30µg, 10µg, y 5µg), frente a *Bacillus* spp., expresó una diferencia altamente significativa, evidenciando que la oxitetraciclina tiene un efecto diferente al momento de inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada, con un coeficiente de variación de 8.95 % confirmando confiabilidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la investigación.

**5.6.14.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Bacillus* spp., aislados de mastitis bovina.**

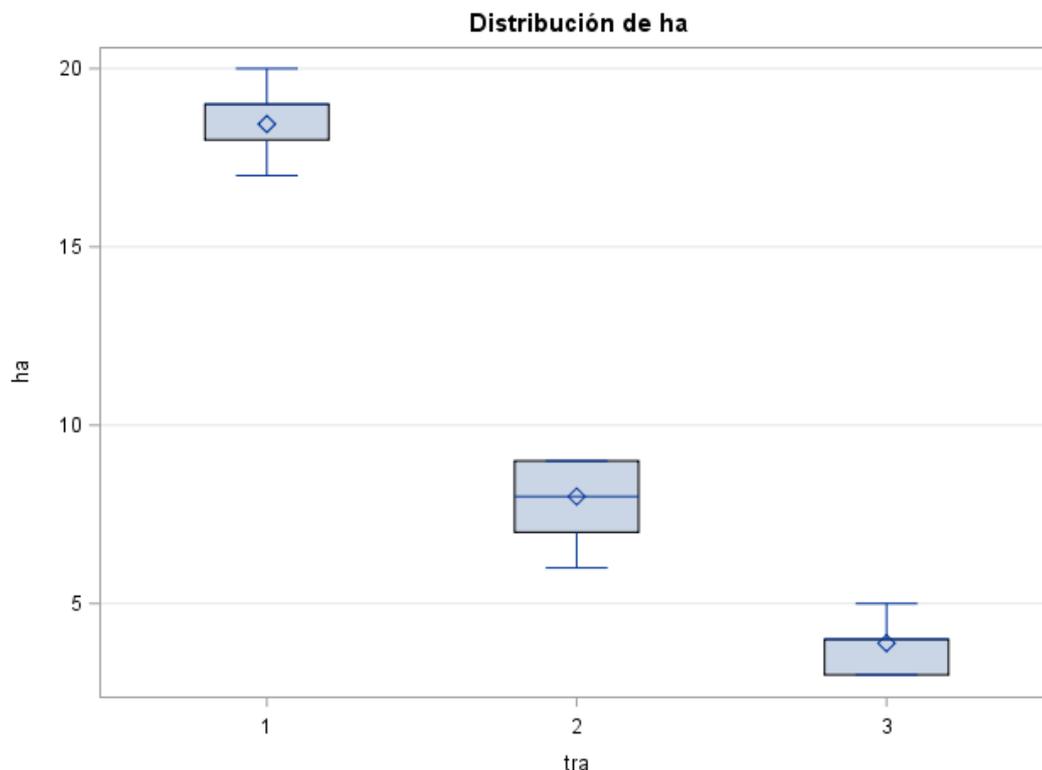
Mediante el análisis de la prueba de Tukey al 5%, se comprobó el comportamiento entre los promedios de los tratamientos de oxitetraciclina a diferentes concentraciones frente a 9 aislados confirmados como *Bacillus* spp., causantes de mastitis bovina.

**Tabla 110.** Comparación de medias (Tukey al 5 %), del efecto de la actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Bacillus* spp. aislados de mastitis bovina.

Tratamiento	N	Medias	Tukey Agrupamiento
1 (30 µg)	9	18.44	A
2 (10 µg)	9	8.00	B
3 (5 µg)	9	3.88	C

*N*: número de unidades experimental.

**Análisis:** En la comparación de medias (Tukey al 5 %), se evidenció que existió diferencias significativas entre los promedios de los tratamientos, expresando que el T1 (30µg) obtuvo el promedio más alto en el diámetro del halo de inhibición con una media de 18.44 mm, siguiéndole el T2 (10µg) el cual manifestó un promedio en el diámetro del halo de inhibición de 8 mm y finalmente, el T3 (5µg) tiene el menor promedio con una media de 3.88 mm en halo de inhibición. En la figura 61 podemos ver la distribución del halo de inhibición del efecto de la oxitetraciclina frente a *Bacillus* spp. aislados de mastitis bovina.



**Figura 61.** Efecto de la oxitetraciclina sobre *Bacillus* spp. aisladas de mastitis bovina.

Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022)

**5.6.14.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de la oxitetraciclina sobre bacterias *Bacillus* spp., aisladas de leche positivas a mastitis.**

La interpretación se llevó acabo según las recomendaciones de la guía (EUCAST, 2022), donde se establecen los puntos de corte para *Bacillus* spp., que hace referencia del uso de discos de tetraciclina a 30 µg como interpretativo para dicha familia de antibióticos.

**Tabla 111.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de la zona de inhibición en milímetros (mm) de oxitetraciclina frente a *Bacillus* spp.

	Difusión de discos (mm)	
Interpretación	≤ 19	>20
<b>Guía EUCAST</b>	<b>R</b>	<b>S</b>

R: Resistente, S: Susceptible.

En la tabla 112 se observa los puntos de corte recomendados por la guía (EUCAST, 2022), donde manifiesta que es sensible cuando expresa medidas en el halo de inhibición de > 20 mm y resistente cuando presenta medidas en el halo de inhibición ≤ 19 mm.

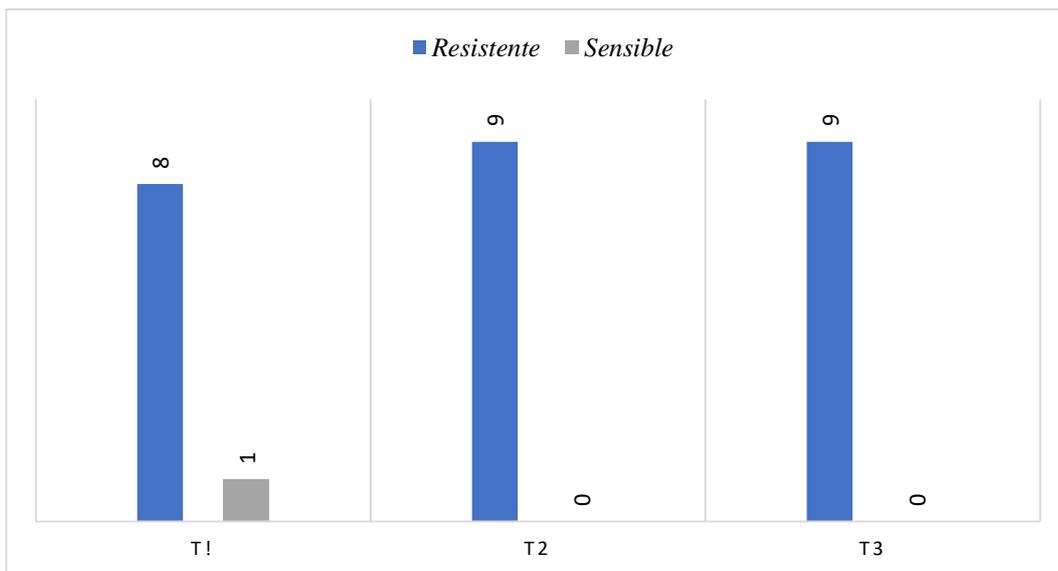
#### 5.6.14.3. Actividad antimicrobiana de la Oxitetraciclina frente a *Bacillus* spp., aislados de mastitis bovina.

**Tabla 112.** Actividad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Bacillus* spp., aislados de mastitis bovina.

Bacillus spp. #	Código	Concentración de Oxitetraciclina					
		(30µg)	P.C.	(10µg)	P.C.	(5µg)	P.C.
		T1		T2		T3	
1	D002PD	19	R	8	R	3	R
2	EA013AD	18	R	9	R	5	R
3	AR005AI	17	R	6	R	4	R
4	AR006AD	19	R	9	R	3	R
5	AR007AD	19	R	9	R	4	R
6	AR011PD	17	R	7	R	5	R
7	AR012AI	19	R	9	R	4	R
8	AR023AI	18	R	7	R	3	R
9	AR026PD	20	S	8	R	4	R

S: sensibles, R: resistente.

**Análisis:** En la tabla 113 se observa el análisis de la susceptibilidad antimicrobiana de *Bacillus* spp., frente a oxitetraciclina, demostrando que 8 aislados tiene resistencia a 30 µg de oxitetraciclina y que solo un aislado expresó sensibilidad, mientras que a menor concentración los 9 aislados presentan resistencia. En la figura 62 se puede observar la susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Bacillus* spp., aislados de mastitis bovina.



**Figura 62.** Susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Bacillus spp.* aislados de mastitis bovina.

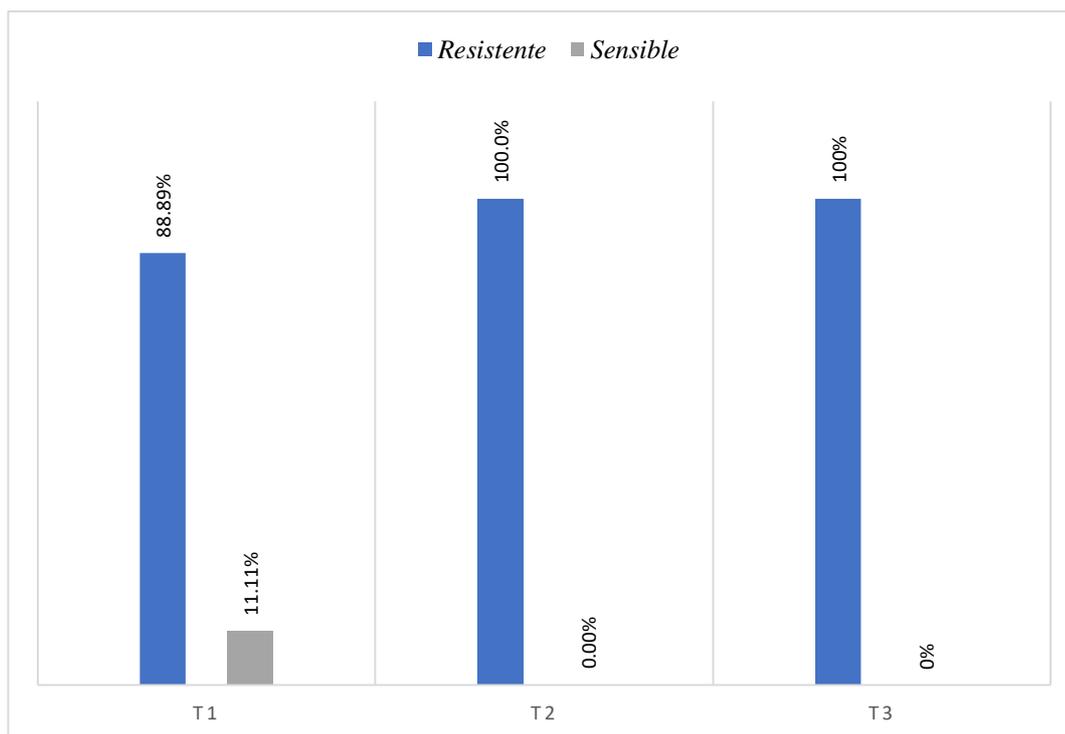
**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**Tabla 113.** Frecuencia y porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Bacillus spp.*, aislados de mastitis bovina.

Criterio	T1		T2		T3	
	Frec.	%	Frec.	%	Frec.	%
R	8	88.89	9	100	9	100
S	1	11.11	0	0	0	0
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>	<b>9</b>	<b>100</b>

R: resistente, S: sensible:

**Análisis:** Los resultados de la tabla 114 indican la distribución de los criterios de susceptibilidad, en donde el T1 presentó 8 aislados resistente lo que representa el 88.89 %, y tan solo 1 aislados es sensible representando el 11.11 % de sensibilidad, añadido a esto los T2 y T3 presentaron el 100 % de resistencia en 9 aislados. En la figura 63 se observa los porcentajes de la susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Bacillus spp.*, aislados de mastitis bovina.



**Figura 63.** Porcentajes de la susceptibilidad antimicrobiana de la oxitetraciclina frente a *Bacillus spp.*, aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**Discusión:** Según Nibret *et al.* (2011), en su estudio aisló 164 cepas bacterianas, presentando 1 aislado de *Bacillus spp.* el cual fue 100 % sensible a tetraciclinas a 30µg, siendo mayor los resultados de esta investigación a los obtenidos, donde un total de 9 aislados de *Bacillus spp.*, obtuvieron el 11.11 % (n=1) de sensibilidad y un 88.89 % (n=8) de resistencia a dicha concentración

#### **5.6.15. Efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos frente a bacterias del género *Bacillus spp.*, aisladas de mastitis bovina.**

Se analizó el efecto de cada uno de los betalactámicos mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos que tuvieron un mejor comportamiento en la inhibición del crecimiento de *Bacillus spp.*, aislados de leche positivas a mastitis.

**Tabla 114** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos frente a *Bacillus spp.*, aislados de mastitis bovina.

Fuente Variación	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
<b>Tratamiento clínico</b>	8	1290.88	161.361	192.83	<.0001**
<b>Bloque</b>	8	19.111	2.388	2.85	0.0089**
<b>Error</b>	64	53.555	0.8368		<b>CV: 16.35%</b>
<b>Total</b>	80	1363.55			

\*\* : Altamente significativo, CV: coeficiente de variación.

**Análisis:** En la tabla 115 podemos observar los resultados obtenidos al analizar la actividad antimicrobiana de los betalactámicos en la inhibición del crecimiento de *Bacillus spp.*, la prueba de Fisher nos indica que:

En lo que concierne a los bloques o repeticiones la interacción es altamente significativa, interpretando así que existió un marcado efecto en los resultados por parte de las repeticiones, es decir, las unidades experimentales no tuvieron un comportamiento similar contra los betalactámicos.

En el caso de los tratamientos se pudo justificar con la prueba de Fisher que la actividad antimicrobiana de los betalactámicos frente a *Bacillus spp.*, expresó una diferencia altamente significativa, es decir que los betalactámicos tiene un distinto efecto inhibitorio, con un coeficiente de variación de 16.35 % confiriendo confiabilidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la investigación.

#### **5.6.15.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de los Betalactámicos frente a *Bacillus spp.*, aislados de mastitis bovina.**

Mediante el análisis de la prueba de Tukey al 5%, se comprobó el comportamiento entre los promedios de los tratamientos de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) a diferentes concentraciones (1µg, 5µg, 10µg y 30 µg) frente a 9 aislados de *Bacillus spp.* causantes de mastitis bovina.

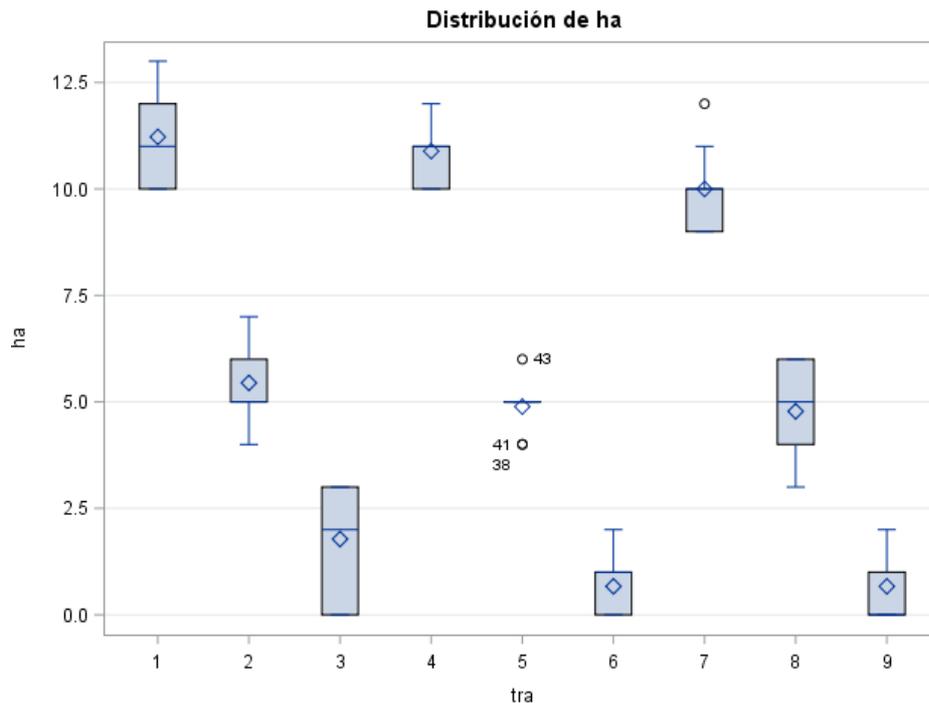
**Tabla 115.** Prueba de comparación de medias (Tukey 5%), del efecto de la actividad antimicrobiana de los betalactámicos frente a *Bacillus spp.*

Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
1 (30 µg Pen.)	9	11.22	A
4 (30 µg Cl.)	9	10.88	A
7 (10 µg Clox.)	9	10.00	A
2 (10 µg Pen.)	9	5.44	B
5 (10 µg Cl.)	9	4.88	B
8 (5 µg Clox.)	9	4.77	B
3 (5 µg Pen.)	9	1.77	C
6 (5 µg Cl.)	9	0.66	C
9 (1 µg Clox.)	9	0.66	C

*N:* número de unidades experimentales, *Pen.:* penicilina, *Cl.:* cefalexina, *Clox.:* cloxacilina.

**Análisis:** En la tabla 116 se puede observar los En la tabla 116 se observa los resultados de la prueba de Tukey al 5% donde nos expresa que los T1 (30µg de Penicilina), T4 (30µg de Cefalexina) y T7 (10µg de Cloxacilina) presentaron promedios de 11.22 mm, 10.88 mm y 10 mm de diámetro respectivamente los cuales no expresan diferencias significativas entre ellos.

Mientras que los tratamientos T2 (10µg de Penicilina), T5 (10µg de Cefalexina) y T8 (5µg de Cloxacilina) obtuvieron promedios de 5.44 mm, 4.88 mm y 4.77 mm de diámetro respectivamente los cuales se observa que no expresaron diferencias significativas entre ellos. Al analizar la concentración mas baja estudiada siendo los tratamientos T3 (5µg de Penicilina), T6 (5µg de Cefalexina) y T9 (1µg de Cloxacilina) presentaron promedios de 1.77 mm 0.66 mm y 0.66mm respectivamente exhibieron la ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos.



**Figura 64.** Efecto de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Bacillus spp.*, aislados de mastitis bovina.

Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022)

#### 5.6.15.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Bacillus spp.*, aisladas de leche positivas a mastitis.

La interpretación se llevó a cabo según a las recomendaciones de la guía CLSI, (2020), donde manifiestan que se utiliza como categoría interpretativa la penicilina para el grupo de los betalactámicos frente a *Bacillus spp.*

**Tabla 116.** Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de los Betalactámicos frente a *Bacillus spp.*

	Difusión de discos (mm)	
Interpretación	≤ 28	>29
Guía EUCAST	R	S

R: Resistente, S: Sensible.

**Análisis:** En la tabla 117 se observan los puntos de corte establecidos por la guía del (CLSI, 2020), donde en las recomendaciones para el estudio de susceptibilidad de microorganismos fastidiosos, se considera como referencia para la interpretación los puntos de corte del *S. aureus*, manifestando así que para ser considerado sensible debe haber evidencia de una medida de halos  $\geq 29$  mm de diámetro de halo de inhibición y resistente debe haber evidencia de una medida  $\leq 28$  mm de halos de inhibición.

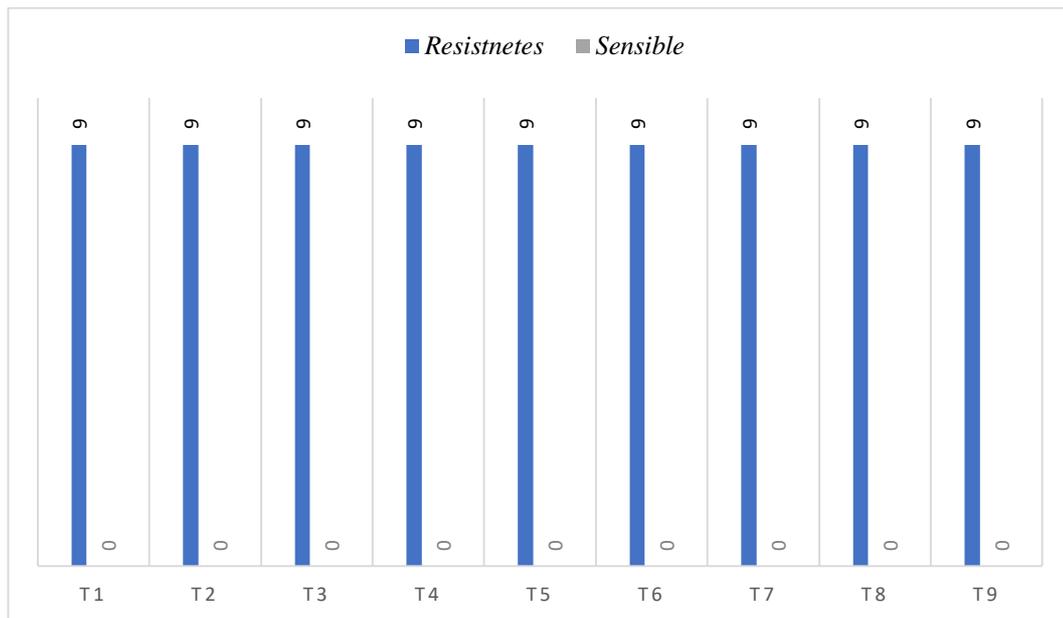
**5.6.15.3. Actividad antimicrobiana de los betalactámicos en estudio frente a la bacteria del género *Bacillus* spp., aislados de leche positiva a mastitis.**

**Tabla 117** Actividad antimicrobiana de los betalactámicos frente a *Bacillus* spp., aislados de mastitis bovina.

<i>Bacillus</i> spp.	Código	Concentración de Penicilina						Concentración de la Cefalexina						Concentración de la Cloxacilina					
		30µg	P . C	10µg	P . C	5µg	P. C	30µg	P. C	10µg	P. C	5µg	P.C .	10µg	P. C.	5µg	P. C	1µg	P.C.
		T1	.	T2	.	T3	.	T4	.	T5	.	T6	.	T7	.	T8	.	T9	.
1	D002PD	10	R	5	R	2	R	11	R	5	R	1	R	9	R	6	R	1	R
2	EA013AD	11	R	6	R	3	R	10	R	4	R	0	R	8	R	5	R	0	R
3	AR005AI	12	R	7	R	3	R	12	R	5	R	1	R	10	R	5	R	0	R
4	AR006AD	13	R	7	R	2	R	10	R	5	R	2	R	10	R	6	R	2	R
5	AR007AD	12	R	6	R	3	R	11	R	4	R	0	R	11	R	5	R	1	R
6	AR011PD	10	R	5	R	3	R	10	R	5	R	1	R	12	R	6	R	2	R
7	AR012AI	11	R	4	R	0	R	12	R	6	R	1	R	9	R	4	R	0	R
8	AR023AI	12	R	4	R	0	R	11	R	5	R	0	R	10	R	3	R	0	R
9	AR026PD	10	R	5	R	0	R	11	R	5	R	0	R	10	R	3	R	0	R

PC: Punto de corte, R: Resistente, S: Susceptible, I: Intermedio

**Análisis:** En la tabla 118 se observa los resultados de la actividad antimicrobiana de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) donde se expresa claramente que los 9 aislados a las 3 concentración de los 3 antibióticos ya tiene una resistencia, por ende, se considera microorganismos resistentes a los Betalactámicos. En la figura 65 se observa la susceptibilidad de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a bacterias *Bacillus* spp., aislados de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 65.** Susceptibilidad de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a *Bacillus* spp., aislados de leche positiva a mastitis bovina.

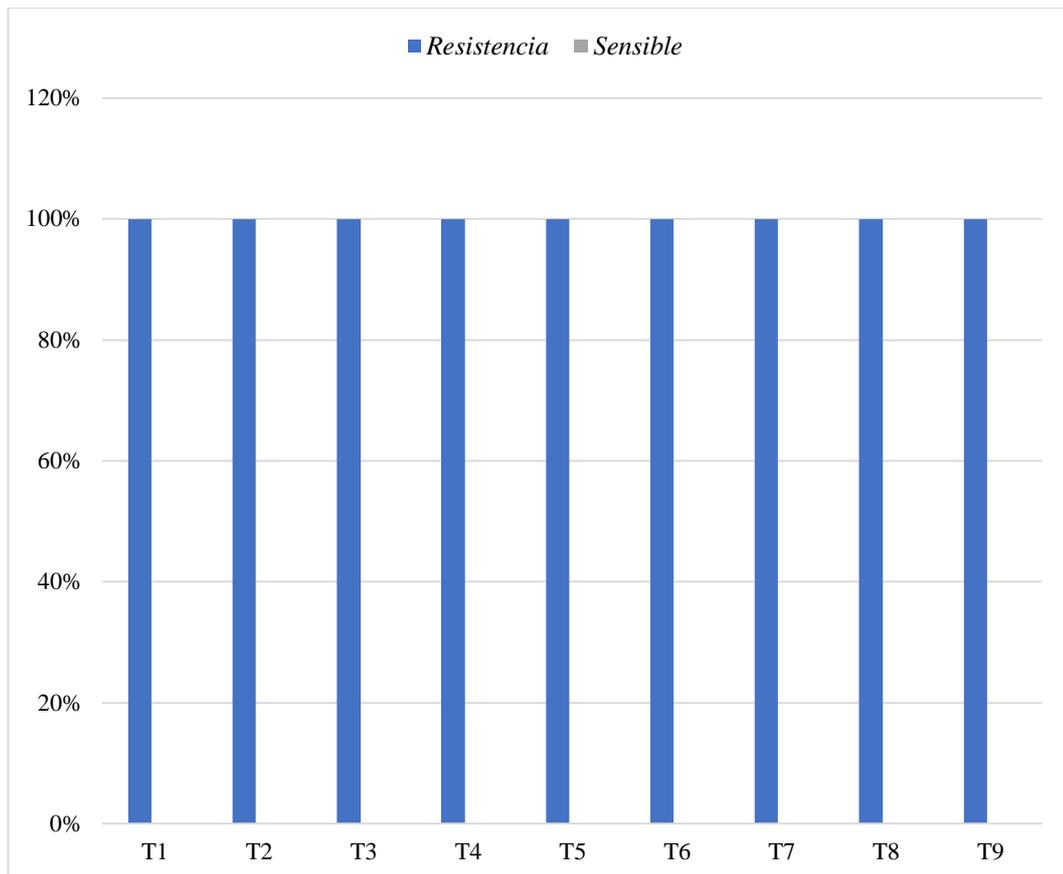
Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022)

**Tabla 118.** Tabla de Frecuencia y porcentaje de la susceptibilidad de los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) frente a bacterias *Bacillus* spp. aislados de leche positiva a mastitis bovina.

Criterio	Penicilina			Cefalexina			Cloxacilina		
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
	%	%	%	%	%	%	%	%	%
R	100	100	100	100	100	100	100	100	100
# aislados	9	9	9	9	9	9	9	9	9

P.C.: puntos de corte, R: resistente.

**Análisis:** De acuerdo con el análisis de susceptibilidad antimicrobiana del *Bacillus spp.* frente a los betalactámicos se expresa que todos los tratamientos presentaron el 100 % de resistencias. En figura 66 se expresa los porcentajes de la susceptibilidad del *Bacillus spp.*, frente a los Betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina).



**Figura 66.** Porcentajes de la susceptibilidad antimicrobiana de los betalactámicos (Penicilina, Cefalexina, Cloxacilina) frente a *Bacillus spp.* aislados de mastitis bovina.

Elaborado por: Mazón & Mazón, (2022)

#### **5.6.16. Efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomina) frente a *Bacillus spp.***

Se analizó el efecto de cada uno de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina, y Estreptomina) mediante el análisis de varianza del diseño de bloques completamente al azar (DBCA), con la finalidad de encontrar aquellos que tuvieron un mejor comportamiento en la inhibición del crecimiento de *Bacillus spp.* aislados de leche positivas a mastitis.

**Tabla 119.** Análisis de varianza (ADEVA) del efecto de la actividad de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina, y Estreptomicina) en estudio sobre bacterias del género *Bacillus spp.*

Fuente V.	G.L.	S.C.	C.M.	F-Valor	Pr >F
<b>Tratamiento clínico</b>	8	14681.209	1835.15	314.12	<.0001**
<b>Bloque</b>	8	308.54	38.5679	6.60	<.0001**
<b>Error</b>	64	373.90	5.84		<b>CV: 7.87%</b>
<b>Total</b>	80	15363.65			

\*\**: Altamente significativo, CV: coeficiente de variación.*

**Análisis:** En la tabla 120 podemos inferir que los resultados obtenidos al analizar la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina, y Estreptomicina 5 µg, 10µg y 30µg) en la inhibición del crecimiento de *Bacillus spp.*, la prueba de Fisher nos indica que:

En lo que concierne a los bloques o repeticiones la interacción es altamente significativa, interpretando así que existió un marcado efecto en los resultados por parte de las repeticiones, es decir, las unidades experimentales no tuvieron un comportamiento similar contra los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina, y Estreptomicina 5 µg, 10µg y 30µg).

En el caso de los tratamientos se pudo justificar con la prueba de Fisher que la actividad antimicrobiana de los betalactámicos a diferente microconcentraciones de aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina, y Estreptomicina 5 µg, 10µg y 30µg) sobre *Bacillus spp.*, expresó una diferencia altamente significativa, evidenciando que los betalactámicos mencionados tienen un efecto diferente al momento de inhibir el crecimiento de la bacteria antes mencionada, con un coeficiente de variación de 7.87 % confirmando confiabilidad y aceptabilidad a los datos obtenidos en la presente investigación.

**5.6.16.1. Análisis de la comparación de medias (Tukey 5%) del efecto de actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a bacterias *Bacillus* spp., aislados de mastitis bovina.**

Mediante el análisis de la comparación de medias (Tukey) a el 5%, se comprobó los promedios entre los tratamientos de los aminoglucósidos a una concentración de (30µg, 10µg, 5µg), interpretativamente se determinó cual es el mejor tratamiento según la media de la población en 9 aislados confirmados como *Bacillus* spp.

**Tabla 120.** Prueba de comparación de medias (Tukey), del efecto de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a *Bacillus* spp. aislados de leche positiva a mastitis bovina.

Tratamiento clínico	N	Medias	Tukey Agrupamiento
7 (30 µg Estr.)	9	52.00	A
4 (30 µg Neo.)	9	50.00	A
1 (30 µg Gen.)	9	41.33	B
8 (10 µg Estr.)	9	31.11	C
5 (10 µg Neo.)	9	28.66	C
2 (10 µg Gen.)	9	22.22	D
9 (5 µg Estr.)	9	20.55	D
6 (5 µg Neo.)	9	18.77	D
3 (5 µg Gen.)	9	11.44	E

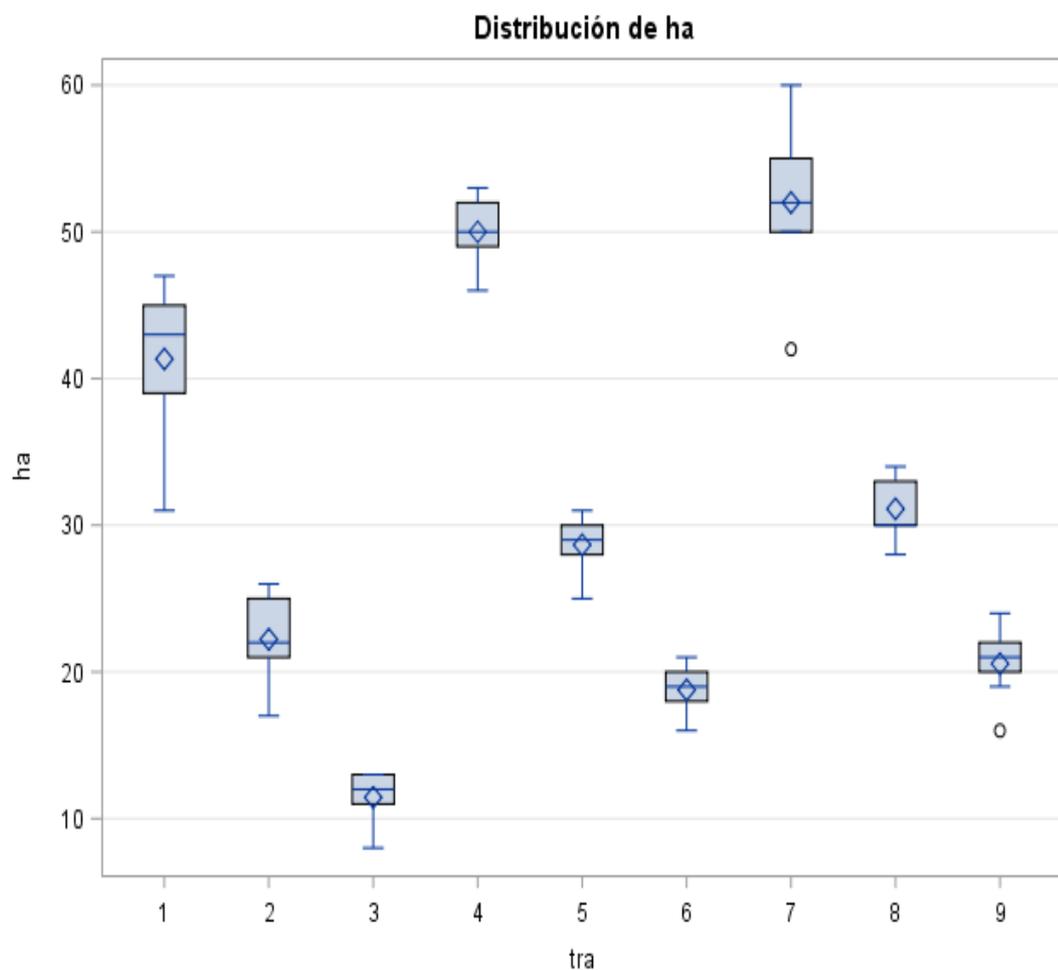
N: número de unidades experimentales.

**Análisis:** En la tabla 121 se observa los resultados de la prueba de Tukey al 5% donde nos expresa que los T7 (30µg de Estreptomina), T4 (30µg de Neomicina) presentaron promedios de 52.00 mm y 50.00 mm respectivamente los cuales no expresan diferencias significativas entre ellos. Siguiendo el T1 (30µg de

Gentamicina) el cual obtuvo un promedio de 41.33 mm, mostrando diferencias significativas a el resto de los tratamientos.

Posteriormente los T8 (10µg de Estreptomicina) y T5 (5µg de Neomicina) mostraron que no presentan diferencias significativas obteniendo promedios de 31.11 mmm y 28.66 mm respectivamente de diámetro del halo de inhibición.

De igual manera los T2 (10µg de Gentamicina), T9 (5µg de Estreptomicina) y T6 (5µg de Neomicina) obtuvieron promedios de 5.44 mm, 4.88 mm y 4.77 mm de diámetro respectivamente, los cuales se observa que no expresaron diferencias significativas entre ellos. Y finalmente el promedio mas bajo lo obtuvo el T3 (5µg de Gentamicina) con un promedio 11.44 mm de diámetro del halo de inhibición.



**Figura 67.** Efecto de los tratamientos de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Bacillus spp.* aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022)

**5.6.16.2. Análisis de la concentración mínima inhibitoria de los aminoglucósidos sobre bacterias *Bacillus* spp., aisladas de leche positivas a mastitis.**

La interpretación se llevó acabo según a las recomendaciones del CLSI, (2020) donde se uso los puntos de corte para *Bacillus* spp.

**Tabla 121.** *Categorías interpretativas y puntos de corte del diámetro de zona de inhibición en milímetros (mm) de los aminoglucósidos frente a Bacillus spp.*

	Difusión de discos (mm)	
Interpretación	≤ 18	>19
Guía EUCAST	R	S

*R: Resistente, S: Sensible.*

**Análisis:** En la tabla 122 se observa los puntos de corte establecidos por (EUCAST, 2022), según las recomendaciones del EUCAST para el estudio de la susceptibilidad antimicrobiana de microorganismos fastidiosos, se usan los puntos de corte del *Bacillus cereus*, frente a Gentamicina de 10 µg, siendo este como interpretativo para toda la familia de los aminoglucósidos, refiriendo que es susceptible cuando hay evidencia de una medida a ≥19 mm de diámetro de halo de inhibición y resistente en medidas ≤ 18 mm de halos de inhibición.

**5.6.16.3. Actividad antimicrobiana de los Aminoglucósidos en estudio frente a la bacteria del género *Bacillus* spp., aislados de mastitis.**

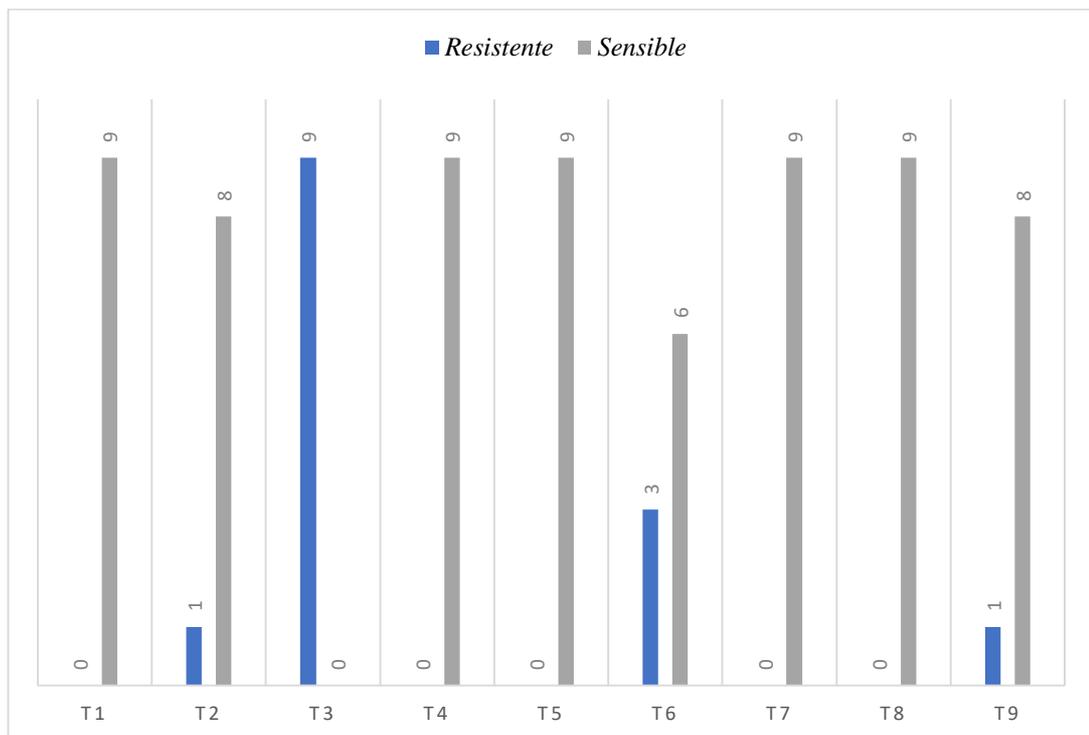
**Tabla 122** Análisis de la actividad antimicrobiana de los aminoglucósidos frente a *Bacillus* spp.

<i>Bacillus</i> spp.	Código	Concentración de Gentamicina						Concentración de la Neomicina						Concentración de la Estreptomicina					
		30µg	P · C	10µ g	P · C	5µg	P. C	30µg	P. C	10µ g	P. C	5µg	P.C	30µg	P. C.	10µ g	P. C	5µg	P.C.
		T1		T2		T3		T4		T5		T6		T7		T8		T9	
1	D002PD	46	S	25	S	13	R	52	S	31	S	20	S	55	S	34	S	22	S
2	EA013AD	45	S	24	S	12	R	50	S	30	S	19	S	53	S	32	S	21	S
3	AR005AI	43	S	21	S	11	R	52	S	29	S	19	S	50	S	30	S	20	S
4	AR006AD	45	S	25	S	13	R	53	S	28	S	18	R	55	S	33	S	22	S
5	AR007AD	41	S	21	S	11	R	46	S	25	S	17	R	51	S	30	S	21	S
6	AR011PD	39	S	19	S	10	R	48	S	27	S	16	R	52	S	30	S	20	S
7	AR012AI	47	S	26	S	13	R	49	S	28	S	21	S	60	S	33	S	24	S
8	AR023AI	41	S	22	S	12	R	51	S	30	S	20	S	42	S	28	S	16	R
9	AR026PD	35	S	17	R	8	R	49	S	30	S	19	S	50	S	30	S	19	S

R: resistente, S: sensible

**Análisis:** El análisis de la actividad antimicrobiana de los tratamientos propuestos podemos encontrar que el antibiótico Gentamicina presentó una sensibilidad de los 9 aislados a la concentración de 30µg, seguido que a 10µg un solo aislado presentó resistencia, mientras que a 5µg los 9 aislados presentaron resistencia.

La Neomicina a 30 y 10 µg, los 9 aislados presentaron sensibilidad, mientras que a 5 µg 3 aislados presentaron resistencia, deduciendo que para 6 aislados los 5 µg de Neomicina fueron suficientes para inferir en el crecimiento bacteriano. y finalmente la Estreptomicina presentó los 9 aislados sensibilidad a las concentraciones 30 µg, 10µg, mientras que a 5 µg solo un aislados es resistente. En la figura 68 se puede ver la susceptibilidad de los aminoglucósidos frente a bacterias *Bacillus spp.* aislados de leche positiva a mastitis bovina.



**Figura 68.** Susceptibilidad de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Bacillus spp.* aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

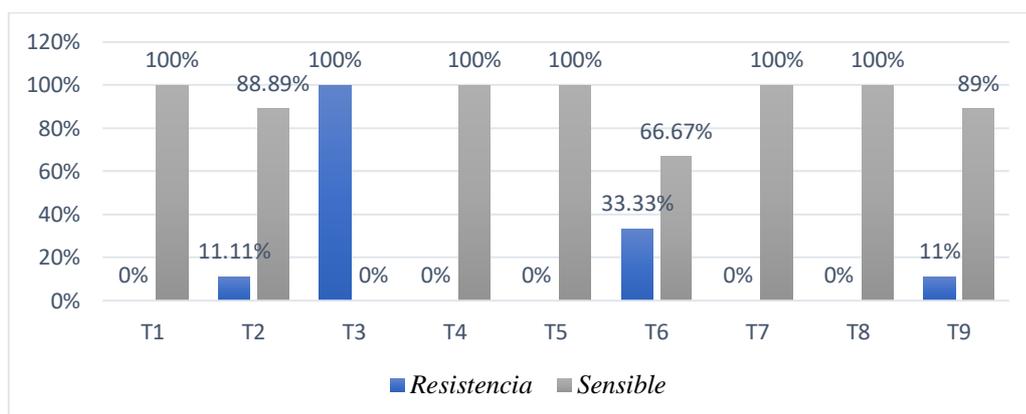
**Tabla 123** Tabla de porcentaje de la susceptibilidad de los Aminoglucosidos frente a bacterias *Bacillus spp.* aislados de mastitis bovina.

Criterio	Gentamicina			Neomicina			Estreptomicina		
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9
	%	%	%	%	%	%	%	%	%
R	0	11.11	100	0	0	33.33	0	0	0
S	100	88.89	0	100	100	66.67	100	100	100

P.C.: puntos de corte, R: resistente.

**Análisis:** los resultados de la tabla 124 nos expresa que todos los tratamientos presentaron diferentes porcentajes de susceptibilidad siendo que el T1 (30µg de Gentamicina) el 100 % de sensibilidad, mientras que el T2 (10µg) presentó el 11.11 % de resistencia, con un 88.89 % de sensibilidad, y a una concentración de 5µg T3, presentó el 100 % de resistencias.

Los T4 (30µg), T5 (10µg) de Neomicina presentaron el 100 % de sensibilidad a dichas concentraciones, mientras que a 5µg (T6) presentó el 33.33 % de resistencias y el 66.67 % de susceptibilidad, y finalmente la Estreptomicina a las concentraciones de 30µg y 10µg, tiene el 100 % de sensibilidad, mientras que a 5µg presentó el 11.11 % (n=1) de resistencia y el 88.89 % (n=8) de sensibilidad.



**Figura 69.** Porcentajes de la susceptibilidad antimicrobiana de los aminoglucósidos (Gentamicina, Neomicina y Estreptomicina) frente a *Bacillus spp.* aislados de mastitis bovina.

**Elaborado por:** Mazón & Mazón, (2022).

**Discusión:** Según Nibret *et al.* (2011), en su investigación aislaron 164 cepas bacterianas, donde 1 aislados correspondía a *Bacillus* spp., el cual fue 100 % sensible a Estreptomicina (10µg), comparando con los resultados obtenido en la investigación, donde 9 (total) aislados son 100 % sensibles a 10 µg, mientras que se manifestó que la concentración mínima inhibitoria para 8 aislados fue de 5 µg de Estreptomicina.

## CAPITULO VI.

### VI. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS.

Por medio del análisis estadístico ejecutado en los valores obtenidos de las variables propuestas en la presente investigación, con el desarrollo de una prueba de hipótesis mediante chi-cuadrado de Pearson se analizaron los resultados los mismos que expresaron la existencia de una interacción altamente significativa al 95% de confiabilidad para validar las hipótesis, donde el límite de la prueba para aceptar la hipótesis nula con 10 grados de libertad fue de un 18.31, mientras que resultado obtenido fue de 108.03 lo que nos indica que no se manifestó dentro del rango para la hipótesis nula, por lo que aceptamos la hipótesis alternas, la misma que nos expresa que “Existe una resistencia de bacterias aisladas de mastitis bovina frente a los antibióticos más comunes en la cooperativa agropecuaria “La colina”, provincia de Pichincha -Ecuador”.

**Tabla 124** Frecuencias de la susceptibilidad de los aislados.

Patógeno	P.C.			
	I	R	S	Total
<i>Bacillus spp.</i>	0	120	69	189
<i>Citrobacter spp.</i>	0	2	40	42
<i>E. coli</i>	6	104	58	168
<i>Klebsiella spp.</i>	14	123	52	189
<i>S. aureus</i>	22	203	90	315
<i>Staphylococcus spp.</i>	3	81	84	168
<b>Total</b>	45	633	393	1071

*P.C.: puntos de corte, R: resistencias, S: sensible, I: intermedio.*

**Tabla 125.** Prueba de chi-cuadrado para comprobación de hipótesis planteadas.

<b>Prueba de Chi-cuadrado</b>			
Estadístico	GL	Valor	Prob.
Chi-cuadrado	10	108.03	<.0001
Chi-cuadrado verosimilitud	10	119.23	<.0001
Coeficiente Phi		0.3176	
Coeficiente de contingencia		0.3037	
<b>Casos</b>	<b>1071</b>		

## CAPITULO VII.

### VII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

#### 7.1. CONCLUSIONES.

- La detección de la mastitis por medio del método diagnóstico California Mastitis Test (CMT) exhibió una casuística de 50 vacas positivas (36.7 % prevalencia) de un total de 136 vacas muestreadas en 7 predios de los afiliados a la cooperativa agropecuaria “La colina”, exhibiendo en los cuartos posteriores la mayor afectación con un 31 % de prevalencia en relación con los otros cuartos mamarios. En lo que concierne el conteo de bacterias totales (CBT) se obtuvieron valores superiores a lo permitido por el acuerdo ministerial 394.
- Una vez realizado el procesamiento y análisis de 51 muestras se aislaron 51 cepas bacterianas en total, de las cuales; el 29.42 % corresponde a *Staphylococcus aureus*, seguido por el 17.64 % que corresponde a *Klebsiella* spp., y *Bacillus* spp. respectivamente, la presencia de *Escherichia coli* y de *Staphylococcus* spp., CN se observó en un 15.68 % respectivamente, y finalmente, *Citrobacter* spp., exhibió una proporción de 3.94 % de los aislados totales.
- El *Staphylococcus aureus* manifestó mayor sensibilidad a los Aminoglicosidos en estudio, así mismo a la oxiteracilina obtuvo el 40 % de sensibilidad a 30 µg, mientras que a los Betalactámicos el 20 % de los aislados presentaron sensibilidad a las concentraciones más altas.
- *Escherichia coli* demostró el 100 % de sensibilidad a 30 µg de Oxitetraciclina, Gentamicina, Neomicina, Estreptomina y Cefalexina, mientras el 50 % de los aislados expresaron sensibilidad a 30 µg de Penicilina, así mismo fueron suficientes 5 µg de Cloxacilina para que el 100 % de los aislados sean inhibidos o demuestre sensibilidad según los puntos de corte mencionados.
- Se observó que el 100 % de los aislados de *Klebsiella* spp., mostraron sensibilidad a 30 µg de Oxitetraciclina, Gentamicina, Neomicina y Estreptomina, mientras que 30 µg de Penicilina y Cefalexina demostraron el 33.33 % de sensibilidad, así mismo, 10 µg Cloxacilina exhibió que el 22.22 % de los islados fueron sensibles.

- La susceptibilidad del *Staphylococcus* spp., CN se manifestó que el 100 % de los aislados son resistentes a las concentraciones más altas de los Betalactámicos, así mismo, 10 µg de oxitetraciclina fueron suficientes para que el 100 % de los aislados expresen sensibilidad y finalmente, la Gentamicina, Neomicina y Estreptomina expresaron que el 100% de los aislados son sensibles a 5 µg.
- En el análisis de la susceptibilidad antimicrobiana de los 7 antibióticos a diferentes concentraciones (1µg, 5 µg, 10 µg y 30 µg) frente a *Citrobacter* spp., exhibieron que a 5 µg de Estreptomina el 100 % de los aislados presentó resistencia, mientras que en las demás concentraciones se apreció el 100 % de sensibilidad.
- Al analizar la actividad antimicrobiana de *Bacillus* spp., se demostró que fueron suficientes 5µg de Estreptomina, 10µg de Neomicina y Gentamicina para interferir en el crecimiento, mientras que la interacción con los antibióticos betalactámicos (Penicilina, Cefalexina y Cloxacilina) se observó el 100 % de resistencia a todas las concentraciones, de igual manera se registró el 11.11 % de sensibilidad y un 88.89 % de resistencia a 30 µg la Oxitetraciclina.

## **7.2. RECOMENDACIONES.**

- Elaborar estrategias de capacitación en estudios posteriores para mejorar los protocolos de sanidad antes, durante y después del ordeño en los predios de los afiliados a la cooperativa agropecuaria “LA COLINA”.
- Realizar un estudio de la inocuidad del producto en el momento de su transporte y manipulación antes de la llegada al tanque reservorio de enfriamiento que se encuentra a 8°C, con la finalidad de encontrar puntos críticos de contaminación que no permitan garantizar la entrega de un producto de buena calidad para su posterior procesamiento.
- Realizar la caracterización (Diagnóstico) molecular de los aislados de la presente investigación.
- Realizar el genotipado de los aislados que se encontraron como resistentes a cada uno de los fármacos utilizados en la actividad antimicrobiana para determinar el origen de la resistencia a los antibióticos antes analizados.
- Utilizar de nuevas combinaciones y familias de antibióticos para observar in vitro la interacción de estos frente a las bacterias aisladas, y dar nuevas recomendaciones medicamentosas que permitan bajar los índices de resistencia por parte de las bacterias causante de mastitis bovina.
- Hacer estudios de enfoque social que permitan identificar el origen de la falta de capacitación y conocimiento en el uso y administración de agentes antibióticos para el tratamiento de enfermedades infecciosas del ganado lechero en la zona de estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abd El-Aziz, N., Ammar, A., El-Naenaeey, E.-S., El Damaty, H., Elazazy, A., Hefny, A., Eldesoukey, I. (2021). Antimicrobial And Antibiofilm Potentials Of Ciannamon Oil And Silver Nanoparticles Against Streptococcus Agalactiae Isolated From Bovine Mastitis: New Avenues For Counterin Resistance. *Bmc Veterinary Research*, 17 (1), pp. 1 - 14.
- Abdeen, E., Mousa, W., Abdelsalam, S., Heikal, H., Shawish, R., Nooruzzaman, M., Abdeen, A. (2021). Prevalence And Characterization Of Coagulase Positive Staphylococcus From Food Products And Human Specimens In Egypt. *Antibiotics*, 10(1), pp. 75.
- Abdul, Q., Bansal, K., & Gupta, D. (2014). Subclinical Mastitis In Machine Milked Dairy Farms In Punjab: Prevalence, Distribution Of Bacterian And Current Antibiogram. *Veterinary World*, 5 (1), pp. 291-294.
- Acuña, V., & Rivadeneria, A. (2008). Aislamiento, Identificación Y Antibiograma De Patógenos Presentes En Leche Con Mastitis En Ganaderías Bovinas De La Provincia De Pichincha. Escuela Politécnica Del Ejercito, URL: <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/2553>.
- Agrocalidad. (2020). Toma De Muestras De Leche Cruda Y Suero De Leche. *Agrocalidad*, URL: <https://www.agrocalidad.gob.ec/wp-content/uploads/2020/05/calech3.pdf>.
- Alfaro, M., Hurtarte, A., & Valle, R. (2014). Implementación De Un Manual De Ordeño Higiénico En Dos Establecimientos Lecheros Y Evaluación De Su Efectividad Mediante Análisis Microbiológico En El Departamento De Sonso Nate, *El Salvador*, pp. 9-10.
- Almeida, D. (2014). Prevalencia De Mastitis Bovina Mediante La Prueba De California Mastitis Test E Identificación Del Agente Etiológico En El Centro De Acopio De Leche En La Comunidad San Pablo Urco, Olmedo- Cayambe Ecuador. *Universidad Politécnica Salesiana*, Quito- Ecuador, URL: <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/9834>.

- Alvarado, W., González, J., Quilcate, C., Saucedo, J., & Bardales, J. (2019). Factores De Prevalencia De Mastitis Subclínica En Vacas Lecheras Del Distrito De Florida, Región Amazonas, Perú. *Revista De Investigaciones Veterinaria Del Perú*, 30(2), pp. 923-931.
- Anangonó, D. T. (2020). Resistencia Antibiotica Del *Staphylococcus aureus* En Vacas Con Mastitis En Tres Estratos Lecheros Del Cantón Mejía. Mejía, Pichincha, Ecuador, URL: <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/24834>.
- Andrade, C., & Orellana, P. (2019). Frecuencia Y Susceptibilidad A Penicilina Y Meticilina De Aislamientos Ambientales De Staphylococcus Aureus En Un Hospital De Cuenca. *Kasmera*, 47(2), pp. 123-130.
- Ariznabarreta, A., Gonzalo, C., & Primitivo, F. (2012). Microbiological Quality And Somatic Cell Count Of Ewe Milk With Special Reference To Staphylococcus. *J. Dairy Sci.*, 85, pp. 1270-1375.
- Arroba., D. (2019). Identificación De Dos Géneros Bacteroamps Y De Su Resistencia A Antibióticos En Muestras De Leche Cruda Bovina Con Mastitis Clínica Y Subclínica Obtenidas Del Noroccidente De Pichincha,. Tesis. Ecuador: Udl.
- Arya, L. K., Kumar, M., Priya, P., Saurabh, K., & Kumari, N. (January De 2020). Isolation And Identification Of Klebsiella Pneumoniae From A Milk Sample. *Indian Veterinary Journal*, 97(1), pp. 15-17.
- Atajo, H. B. (07 De Noviembre De 2019). Prevalencia De La Mastitis Subclínica En Vacas A Partir Del Recuento De Células Somáticas En El Distrito De Cupi-Megar. Puno, Perú.
- Avellán, R. H., Zambrano, M. D., De La Cruz, L. M., Cedeño, C. A., Delgado, M. H., Rezabala, P. F., & Macías, Y. A. (2019). Prevalencia De Mastitis Subclínica En El Ganado Bovino, Mediante La Prueba California Mastitis Test, En El Cantón Rocafuerte De La Provincia De Manabí, Ecuador. *Revista Amazónica Ciencia Y Tecnología*, 8(1), pp. 62 - 79.
- Avellán, R., Zambrano, A., Cruz, L., Cedeño, C., Delgado, M., Rezabala, P., & Macías, Y. (2019). Prevalencia De Mastitis Subclínica En El Ganado Bovino,

Mediante La Prueba California Mastitis Test, En El Canton Rocafuerte De La Provincia Manabí, Ecuador. *Revista Amazónica Ciencia Y Tecnología*, 8(1), pp. 62-70.

- Avila, S. (2016). Mastitis, Diagnostico, Tratamiento Y Control. *Producción De Ganado Lechero*, 4 (1), pp. 1-10.
- Balemi, A., Gumi, B., Amenu, K., Girma, S., Gebru, M., Tekle, M., Diego Oudessa. (2021). Prevalence Of Mastitis An Antibiotic Resistance Of Bacterial Isolates From Cmt Positive Milk Samples Obtained From Dairy Cows, Camels And Goats In Tow Pastoral Districtis In Southern Ethiopia. *Animals*, 11(6), pp. 1530.
- Bano, S., Hayat, M., Samreen, T., Asif, M., Habiba, U., & Uzair, B. (2020). Detection Of Pathogenic Bacteria Staphylococcus Aureus And Salmonella Sp. From Raw Milk Samples Of Different Cities Of Pakistan. *Natural Science*, 12(5), pp. 295.
- Bautista, A., Coy, J., Gacía, P., & Rodríguez, J. C. (3 De Abril De 2018). Cambio De Clsi A Eucast En La Interpretación De La Sensibilidad A Antimicrobianos: Cómo Influye En Nuestro Medio? *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 36(4), pp. 229 - 232.
- Bauzad, M., Yuliati, F. N., Prahesti, K. I., & Malaka, R. (2019). Total Plate Count And Escherichia Coli In Raw Buffalo Milk In Curio District Enrekang Regency. Conference Serie: *Earth And Environmental Science*, 247(1).
- Bedolla, C. C., & Pnce De León, M. (2008). Pérdidas Económicas Ocasionadas Por La Mastitis Bovina En La Industria Lechera. *Redvet: Revista Electrónica De Veterinaria*, 9(4), pp. 1-26.
- Bedolla, C. C., Castañeda, V. H., & Wolter, W. (2017). Método De Detección De La Mastitis Bovina. *Redvet, Revista Electrónica De Veterinaria*, 3(9) pp. 1-19.
- Bedolla, C., & Pnce De León, M. (2008). Pérdidas Económicas Ocasionadas Por La Mastitis Bovina En La Industria Lechera. *Redvet: Revista Electrónica De Veterinaria*, 9(4), pp. 1-26.

- Belli, P. (2013). Microbiological Survey Of Milk And Dairy Products Form A Small Scale Dairy Processing Unit In Marouo. *Food Control*, 32(2), pp. 366-370.
- Blowey, R., & Weaver, D. (2011). Color Atlas Of Diseases And Disorders Of Cattle (Vol. Iii). Columbia, Missouri, Usa: *Mosby Elsevier*.
- Bonetto, C. C. (2014). Mastitis Bovina Causada Por Staphylococcus Coagulasa Negativos. Buenos Aires, Argentina: Universidad Nacional De La Plata, DOI: <https://doi.org/10.35537/10915/40427>
- Bonifaz, N., & Conlago, F. (2016). Prevalencia E Incidencia De Mastitis Bovina Mediante La Prueba Decaliforniamastitis Test Con Identificación Del Agente Etiológico, En Paquiestancia, Ecuador. *La Granja. Revista De Ciencias De La Vida*, 24(2).
- Borie P., C., San Martín N., B., Guerra M., D., Pedraza G., C., & Zurich Z., L. (1993). Avances En Ciencias Veterinarias, 8(2).
- Botana, L., Landoni, M., & Jimenez, T. (2002). Farmacología Y Terapéutica Veterinaria. España: Mcgraw *Interamericana* De España, 4, pp. 34-43.
- Calderón, A., & Rogríguez, V. (2018). Prevalencia De Mastitis Bovina Y Su Etiología Infecciosa En Sistemas Especializados En Producción De Leche En El Altiplano Cundiboyacense (Colombia). *Revista Colombiana De Ciencias Pecuarias*, 21(4) pp. 35.
- Calderón, A., Rodríguez, V., Arrieta, G., & Máttar, V. (2011). Prevalence Of Mastitis In Dual Purpose Cattle Farms In Monteria (Colombia): Etiology And Antibacterial Susceptibility. *Rev. Colombiana De Cien. Pecuarias.*, 24(1) pp.43.
- Calvino. (2005). Estreptococos Ambientales Causantes De Mastitis Bovina. En Innta (Ed.). Montevideo, Uruguay: *Jornada Técnica De Actualización En Mastitis*.
- Cano, C. (2016). Nuevas Alternativas En El Diagnostico Clínico De Campo Y En El Tratamiento De Mastitis. Boletín Técnico Virtual. Mexico.

- Cassoli, D. L. (2017). Correlation Study Between Standard Plate Count And Flow Cytometry For Determination Of Raw Milk Total Bacterial Count. *International Journal Of Dairy Technology*, Págs. 44-48.
- Castillo, M., Suniaga, J., Rojas, G., & Hernández, J. (2017). Prevalencia De Mastitis Subclínica En La Zona Alta De Estado De Mérida. *Agricultura Andina*, 13(2), 65-70.
- Cerioli, M., Moliva, V., Frutos, S., Palma, L., & Reinoso, E. (2021). Aislamiento De Cepas De Bacillus Spp. Inhibitorias De Patógenos Bacterianos Causantes De Mastitis Bovina. I Congreso De Microbiología Veterinaria.
- Cervera, S. S. (2011). Obtencion Y Mantenimiento De Cultivos Puros. En *Práctivas De Microbiología* (Págs. 20-23). Universidad De La Rioja.
- Chauhan, A., & Jindal, T. (2020). Biochemical And Molecular Methods For Bacterial Identification. *Microbiological Methods For Environment, Food And Pharmaceutical Analysis*, pp. 425 - 468.
- Cheng, F., Zhangcheng, L., Shimei, L., Wei, L., Xiaoyan, L., Zuoyung, Z. Shan, W. (2018). Characterization Of Klebsiella Pneumoniae Associate Wit Cattle Infections In Southwest China Using Multi-Locus Sequence Typing (Mlst), Antibiotic Resistance And Virulence-Associated Gene Profile Analisis. *Brazilian Journal Of Microbiology*, 49, pp. 93-100.
- CLSI. (2015). Performance Standards For Antimicrobial Disk Susceptibility. Clsi.
- CLSI. (2018). Vet08; Estándares De Rendimiento Para Pruebas De Susceptibilidad De Dilución Y Disco Antimicrobiano Para Bacterias Aisladas De Animales. Clsi.
- CLSI. (2020). Performance Standards For Antimicrobial Disk And Dilution Susceptibility Tests For Bacteria Isolated From Animals, 5th Edition. Clsi *VET01S* Ed5:2020.
- CLSI. (2022). M100-Ed32:2022 Estándares De Desempeño Para Pruebas De Susceptibilidad Antimicrobiana. *Clsi*, 32 Edición.

- Contero, R., Aquino, E., Simbaña, P. E., Gallardo, C., & Bueno, R. (2019). Estudio En El Ecuador De La Curva De Calibración Para El Conteo Total De Bacterias Por Citometria De Flujo De Leche Cruda Bovina. *La Granja: Revista De Ciencias De La Vida*, 1(29), pp. 97-104.
- Contero, R., Requelme, N., Cachipuendo, C., & Acurio, D. (2021). Calidad De La Leche Cruda Y Sistema De Pago Por Calidad En El Ecuador. *La Granja: Revista De Ciencias De La Vida*, 3(1), pp. 31-43.
- Corbellini, C. (2012). *La Mastitis Bovina Y Su Impacto Sobre La Calidad De Leche*. Proyecto Lechero . Argentina: Inta Pergamino.
- Cristina, S., & Francesc., G. (2009). Antibióticos Betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 27(2), pp. 116-129.
- Cruz C., A., Estepa, C., Hernández L., J., & Sanabria V., J. (2017). Identificación De Bacterias Causantes Demastitis Bovinay Su Resistencia Ante Algunos Antibacterianos. *Revista U.D.C.A. Actualidad & Divulgación Científica*, 10(1), pp. 81-91.
- Cruz Cruz, E. M., & Sánchez Domínguez, E. (2010). Cálculo De Propiedades Moleculares De 5 Cefalosporinas: Cefradina, Cefalexina, Cefadroxilo, Cefprozilo Y Ceftobiprole. *Medisur*, 8(5), pp. 17-25.
- Cuenca, F. (2015). *Encironmental Protection And Agricultural Food Production Assessment Of Storage, Quality, And Value Chains Parameters In Southern Ecuador Milk Production*. Thesis Of Master.
- Derdak, R., Quinteiro, J., Sakoui, S., Addoum, B., Rodríguez, J., Méndez , M., El Khalfi, B. (2021). Isolation And Identification Of Dominant Bacteria From Raw Donkey Milk Produced In A Region Of Morocco By Qiime 2 And Evaluation Of Their Antibacterial Activity. *The Scientific World Journal*.
- Devriese, L., Damme, L., & Fameree. (1972). Methicillin (Cloxacillin) Resistant Staphylococcus Aureus Isolates From Bovine Mastitis Cases. *Received For Publication*.

- Domínguez, M. (2018). Incidenci De Mastitis Bovina Subclinica Y Clinica En Dos Épocas (Invierno-Verano), En El Noroccidente De Pichincha-Nanegalito.
- Echeverri, J., Gustavo, V., López, A., Evanoft, A., Cataño, W., Gómez, J., & Arboleda, A. (2020). Efficacy Of The Association Oxitetraciline-Isometamidium On The Control Of Bovina Anaplasmosis And Tripanosomosis. *Rev. Ces: Medicina Veterinaria Y Zootecnia*, 15(2), pp. 49-63.
- Esparza, G., Ariza, B., Bedoya, A. M., Bustos, I., Ramires, C., Cadena, E., Villegas, M. (2013). Estrategias Para La Implementación Y Reporte De Los Puntos De Corte Clsi Vigentes Y Pruebas Fenotípicas Confirmatorias Para Blee Y Carbapenemasas En Bacilos Gram Negativos En Laboratorios Clínicos De Colombi. *Scielo*, 2(17).
- Espín, S. M. (04 De Octubre De 2021). Aislamiento, Identificación Y Caracterización De Microorganismos De Interés Industrial Y Ambiental Para Crear Un Cepario De La Facultad De Ingenieria Y Ciencias Aplicadas (Fica) De La Universidad Internacional Sek. Quito, Pichincha, Ecuador.
- Espinoza, M. M. (2013). Determinación De La Prevalencia De Mastitis Mediante La Prueba De California Mastitis Test E Identificación Y Antibiograma Del Agente Causañ En Ganaderia Lecheras Del Cantón Chao Provincia De Napo. Quito, Ecuador: Universidad Central Del Ecuador, Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia.
- Eucast. (2022). Antimicrobial Wild Type Distributions Of Microorganisms. Eucast.
- Fao. (2017). Panorama De La Seguiridad Alimentaria Y Nutricional. Retrieved From Fao; Ops.: [Http://Www.Fao.Org/3/A-I6747s.Pdf](http://Www.Fao.Org/3/A-I6747s.Pdf).
- Fernandez, F. F. (2021). Detección De Escherichia Coli En Carne Picada De Res Y Cerdo Comercializada En Los Mecados De Milagro, Guayas. Milagro, Guayas, Ecuador.
- Ferreira, S., Fraqueza, M., Queiroz, J., Domingues, F., & Oleastro, M. (2013). Genetic Diversity, Antibiotic Resistance. *Int. J. Food Microbial*, 162(1), pp. 82-88.

- Franco Meza, F. C. (2020). Prevalencia Y Perfil De Resistencia Antimicrobiana De Bacterias Causantes De Mastitis Aisladas En Leche Cruda Bovina En Un Establecimiento De La Localidad De Shoenweide Del Departamento De Presidente Hayes – Paraguay. Tesis. *Universidad Nacional De La Plata*.
- García Nancy, R. N. (2011). Buenas Prácticas De Ordeño Y La Calidad Higiénica De La Leche En El Ecuador. *La Granja*, 2(14), pp. 45-57.
- García, M., Gallego, A., Garcinuño, R., Fernández, P., & Durand, J. (2012). Matriz Solid Phase Dispersion Method For The Determination Of Macrolide Antibiotics In Sheep Is Milk. *Food Chemistry*, 134(1), pp. 553-558.
- García, S. (2021). Determinación De Estreptomicina En Leche De Vaca Mediante Un Aparato De Medición Electroquímica Por Voltametría Cíclica. Tesis *Universitat Politècnica De Valencia*., 16(2), pp. 188-194.
- Gelasikis, G., Mavrogianni, V., Petridis, I., Vasileiou, G., & Fthenakis, G. (2015). Mastitis In Sheep- The Last 10 Years And The Future Of Research. *Elsevier*, 181(1-2), pp. 136-146.
- Gómez , J., Vázquez, E., & Hernández, A. (2015). Los Betalactámicos En La Práctica Clínica. *Rev. Esp. Euimioter*, 28(1), pp. 1-9.
- Güler, L., Gündüz, K., & Hadimlin, H. (2005). Antimicrobial Susceptibility And Coagulase Gene Typin Of Staphylococcus Aureus Isolated From Bovina Clinical Mastitis Cases In Turkey. *J. Dairy Sci*. 6(10), pp. 1433.
- Guzñay, E. (2021). Dianóstico Microbiológico De La Mastitis Y Evaluación De Tres Alternativas De Tratamiento En El Criadero Jersey "El Puente" De Chimborazo. Riobamba, Chimborazo, Ecuador.
- Hamon, A., Bastidas, F., & Lefory, A. (2021). Betalactámicos. *Emc-Tratado De Medicina*, 25(2), pp. 1-7.
- Hernández, A., Acosta, P., Villagómez, A., Domínguez, B., & Zavaleta, C. (2013). Taller Para La Producción Del Reactivo De California. Retrieved From <https://www.uv.mx/veracruz/cienciaanimal/files/2013/11/Taller-Para-La-Produccion-Del-Reactivo-De-California.pdf> .

- Hillerton, J. E., & Berry, E. A. (2013). The Management And Treatment Of Environmental Streptococcal Mastitis. *Veterinary Clinics Of An Food Animal Practice*, 19, pp. 157-169.
- Inec. (2011). Encuesta De Superficie Y Producción Agropecuaria Continúa Espac. Instituto Nacional Ecuatoriano De Censos. Quito, Ecuador.
- Inec. (2017). Informe Del Sector Lácteo En Ecuador. Instituto Nacional Ecuatoriano De Censos. Quito, Ecuador.
- Insua , D. (Julio De 2008). Evaluación Epizootiológica De La Mastitis Bovina En Cuatro Vaquerias. *Redvet*, Ix(7), pp. 1-9.
- Islam, A., Akter, F., Gulzarul, M., & Uddin, B. (2018). Development Of Probiotic Milk Drinks Using Probiotic Strain Isolated From Local Yogurt. *Fundamental And Applied Agriculture*, 3(2), 446 - 445.
- Iso 16297 , I. (01 De June De 2013). Milk - Bacterial Count - Protocol For The Evaluation Of Alternative Methods.
- Jaramillo, J., Zuluaga, J., Olivera, M., & Herrera López, A. (2018). Microorganismos Aislados En Cultivo Bacteriológico De Muestras De Leche De Vacas Holstein Clínicamente Sanas. *Ces Medicina Veterinaria Y Zootecnia*, 13(1), pp.31-41.
- Joseph, J., & Kalyanikutty, S. (June De 2022). Ocurrence Of Multiple Drug - Resistant Shiga Toxigenic Escherichia Coli In Raw Milk Samples Collected From Retail Outlets In South India. *Journal Of Food Science And Technology*, 59, pp.2150 - 2159.
- Katzung, B. G. (2017). Chapter 47. Antimycobacterial Drugs. En McGraw-Hill, Basic & Clinical Pharmacology. 9 Edición.
- Kusumawaii, A. H., Gunarti, N. S., Arfania, M., Frianto, D., Ridwanuloh, D., & Mudrofah, O. S. (2020). Microbiological Quality Analysis Of Fermented And Uht Milk Samples Collected From Different Locations In Indonesia. *Bacterial Empire*, 3(4), 84-87.

- Laboratorio De Calidad De Leche. (2022). Universidad Politécnica Salesiana.
- Larrosa, M. N., Benito, N., Cantón, R., Canut, A., Cercenado, E., Fernández, F., Martínez, L. (2 De Febrero De 2020). Del Clsi Al Eucast, Una Transición Necesaria En Los Laboratorios Españoles. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiológicas Clínicas*, 38(2), pp. 79 - 83.
- Lennette, E., Spaulding, H., & Truant, J. (2015). Manual De Microbiología Clínica. Salvat, pp. 437-440.
- Lopez, N. M., & Pérez, N. K. (2019). Numeración De Bacterias Aerobias Mesófilas Viabiles Y Coliformes En Leche Cruda Acopiada Para El Programa Vaso De Leche En El Distrito De Chiclayo. Chiclayo, Lambayeque, Perú.
- Lucas, M., Marchetti, L., Rafaelli, P., & Castro, S. (2017). Perfiles De Resistencia Antimicrobiana De Staphylococcus Aureus Aislados A Partir De Leche De Vacas Ubicadas En Tambos De La Provincia De Buenos Aires. *Anuario De Investigacion Usal* 5(4), pp. 45.
- Madera, P. (2020). Determinación De Residualidad De Tetraciclinas En Leche De Fincas En El Resguardo San Andrés De Sotavento. Bogotá: Universidad Antonio Nariño.
- Magap. (2008). Decreto Ejecutivo No 1042. Reglamento Para Normar El Pago Por Calidad De La Leche Y Sanidad Animal. Acuerdo Ministerial 077.
- Maldonado, D., Santos, C., Quilapanta, A., & Mena, L. A. (2022). Diagnóstico De Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos Para El Control Y Tratamiento En Bovinos De Leche Holstein. *Dominio De Las Ciencias*, 8(1), pp. 773 - 790.
- Martínez, C., & Porras, A. (2021). Lectura Interpretada Del Antibiograma. Guíaabe, 6-18. Obtenido De Instituto De Higiene: <https://Higiene.Edu.Uy/Cefa/2008/Bactecefa36.Pdf>.

- Martínez, D. (2020). Resistencia Antibiótica De Staphylococcus Aureus En Vacas Con Mastitis En Tres Estratos Lecheros Del Cantón Mejía. Trabajo De Titulación, Previo A La Obtención Del Título De Ingeniera Agropecuaria. *ESPE*.
- Martínez, J. R., Gonzalo, C., Carriedo, J. A., & Primitivo, F. (2013). Effecto Of Freezing On Fossomatic Cell Counting In Ewq Milk. *J. Dairy Sci.4 (1)*, pp. 2583-2587.
- Martínez, P. (2015). Evaluación De Dos Dosis De Ozono En El Tratamiento De Mastitis Bovina. Quito, Ecuador: Universidad Central Del Ecuador, Facultad De Medicina Veterinaria Y Zootecnia.
- Masi, C., Gemechu, G., & Tafesse, M. (2021). Isolation, Screening, Characterization, And Identification Of Alkaline Protease-Producing Bacteria From Leather Industry Effluent. *Annals Of Microbiology*, 71(1), pp. 1 - 11.
- Maymo. (2018). Laboratorio Maymo S.A. Obtenido De Neomicina.
- Mbuk, E., Kwaga, J., Bale, J., Boro, L., & Umoh, J. (2016). Coliform Organisms Associated With Milk Of Cows With Mastitis And Ther Sensitivity To Commonly Available Antibiotics In Kaduna Satate, Nigeria. *Journal Of Veterunary Medicine And Animal Health*, 7(12), pp. 228-236.
- Mera, R., Espinoza, M., Rojas, R., Ortiz, P., González, R., & Falcón, V. (2017). Mastitis Bovina Y Su RepercusioIn En La Calidad De La Leche. *Redvet: Revista Electrónica De Veterinaria*, 18(11), pp. 1-16.
- Miranda, M. (2018). Determinación De Patógenos Frecuentes Con Su Perfil De Sensibilidad De La Mastitis Subclínica Presentada En Cuatro Establos Lecheros De Lurín. Lurín, Lima, Peru: Universidad Cientifica Del Sur.
- Mohamed, N., & Dawod., R. (2016). A Study On Bacterial And Fungal Causes Of Subclinical Mastitis In Dairy Cows. *Egypt. J. Chem Environ Health*, 2(2) pp. 34.
- Molineri, I., Neder, V., & Calvino, L. (2018). Tendencias De Resistencia A Los Antimicrobianos De Staphylococcus Aureus Aislados De Infecciones

Intramamarias Bovinas Desde 1990 Hasta La Actualidad En Argentina. *Animal Health Report* (12).

- Mora, M., Vargas, B., Romero, J., & Camacho, J. (2015). Factores De Riesgo Para La Incidencia De Mastitis Clínica En Ganado Lechero De Costa Rica. *Agronomía Costarricense*, pp. 77-89.
- Nam, H., Lim, S., Kang, H., Kim, J., Moon, J., Jang, K., Jung, S. (2009). Prevalence And Antimicrobial Susceptibility Of Gram-Negative Bacteria Isolated From Bovine Mastitis Between 2003 And 2008 In Korea. *American Dairy Science Association*.
- National Mastitis Council, N. (2017). *Laboratory Handbook On Bovine Mastitis*. Nmc, 3 (1), pp. 7-12.
- Neogen, C. (2019). Peptone Water, For The Cultivation Of Non-Fastidious Microorganisms, Indole Testing And As A Basal, Medium For Carbohydrate Fermentation Studies. *Acumedia* 24 (2).
- Neder, V., Gianre, V., & Clavinho, L. (2016). Suceptibilidad A Antibióticos De *Staphylococcus Aureus* Aislados De Mastitis Bovina En Lecherías De La Cuenca Central De Argentina. *Redvet*, 17(9).
- Nibret, M., Yilikal, A., Kelay, B., & Abebayehu, T. (2011). Antimicrobial Susceptibility Of Mastitis Pathogens From Smallholder Dairy Herds In And Around Gondar, Ethiopia. *Journal Of Animal And Veterinary Advances*, 10(12), pp. 1616-1622.
- Palavecino, E. (2002). Recomendaciones Del National Committee For Clinical Laboratory Standards Para El Estudio De Susceptibilidad En Microorganismos Fastidiosos Y En Microorganismos Que Presentan Mecanismos De Resistencia Difíciles De Detectar. *Rev. Chilena De Infectología*, 19(2).
- Pantoja, L., Silva, E., Lara, P., Jiménez, R. (2022). Actividad antifúngica y características de promoción de crecimiento vegetal de *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* sp. degradador de hidrocarburos aislados de suelo contaminados. *Acta Biol Colomb*. 27(3), pp. 32

- Pedraza, C. (2011). Efecto De La Mastitis Clínica Sobre La Producción De Leche (Vol. Tomo 51). Chile: Agricultura Técnica.
- Pengov, A., & Ceru, S. (2003). Antimicrobial Drug Susceptibility Of Staphylococcus Aureus Strains Isolated From Bovine And Ovine Mammary Glands. *Journal Of Dairy Sci.*
- Pérez, & Ganoza, E. M. (2017). Frequency And Antimicrobial Susceptibility Of Bacteria Causing Mastitis In A Dairy Farm In Trujillo, Peru. *Rev Inv Vet Perú*, 28(4), pp. 994-1001.
- Pineda, A. A. (2016). Determinación De Los Microorganismos Asociados A Mastitis Subclínica Y Resistencia Antibiótica En Un Grupo De Vacas Del Norte De Antioquia En El 2016. Trabajo De Grado. Universidad Lasallista.
- Prados, A. P., Monfrinotti, A., Paes, J., & Hallu, R. (2017). Farmacocinética De La Cefalexina Administrada Por Vía Oral Conjuntamente Con Enalapril En Caninos Adultos. *Revista Veterinaria*, 28(2), pp. 99-102.
- Quilapanta, A. (2021). Diagnóstico De Mastitis Subclínica Mediante Tres Métodos Para El Control Y Tratamiento En Vacas Holstein.
- Quispe, C. S. (Enero De 2015). Criterios De Interpretación Para California Mastitis Test En El Diagnóstico De Mastitis Subclínica En Bovinos. *Scielo Perú*, 26(1).
- Ravahatra, Z., Randriatsarafara, F., Milasoanjara, R., Ranaivosoa, M., Rakotavao, A., & Rasamindrakotroka, A. (2019). Assessment Of The Coagulase Test In The Identification Of Staphylococcus Aureus Strains. *Journal Of Biotechnology And Biomedicine*, 2(3), pp. 105-111.
- Raygosa, J. B. (2017). Determinación De Agentes Patógenos Que Provocan Mastitis Bovina En Establos Lecheros De Baja California. Tesis. Mexico, URL: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-11242018000400754](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-11242018000400754).

- Rodríguez, A. (2019). Contribución Al Diseño De Un Sistema De Liberación Modificada De Oxitetraciclina, *Productos Farmacéuticos Inyectables De Uso Veterinario*. Tomo 51, pp. 298-305.
- Sah B. N. P., C. (2018). Antioxidative And Antibacterial Peptides Derived From Bovine Milk Proteins. *Crit Rev Food Sci Nutr.*, 5(58), pp. 726-740.
- San Martín, B., Cornejo, J., Lapierre, L., & Burgos, J. (2021). Factores Que Determinan La Elección De Un Antibacteriano Frente A Un Determinado Proceso Infeccioso. *In Manual De Buenas Prácticas En El Uso De Antimicrobianos En Salmonicultura Chilena*. 4(1), pp. 145.
- Sánchez, D. P., & Gutiérrez, N. (2015). Frecuencia Y Susceptibilidad Antimicrobiana Del Estafilococo Coagulasa Negativo Aislado De Mastitis Bovina En Fincas Lecheras Del Tolima, Colombia. *Rev. Med. Vet* (30), pp. 83-93.
- Sánchez, L. S. (2014). Prevalencia De Mastitis Bovina Mediante La Prueba De California Mastitis Test Con Identificación Del Agente Etiológico, En El Centro De Acopio De Leche De La Comunidad El Chaupi, Cayambe-Ecuador, 2014. Tesis Previa A La Obtención Del Título De: Ingeniera Agropecuaria . Pichincha: *Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito*.
- Sánchez, P., P., G., & Posada, A. (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).
- Schabauer, A., Zutz, C., Lung, B., Wagner, M., & Rychli, K. (2018). Gentisaldehyde And Its Derivate 2,3- Dihydroxubenzaldehyde Show Antimicrobial Activities Against Bovine Mastitis Staphylococcus Aureus. *Frontiers In Veterinary Science*, 5 (1), pp. 148.
- Shealy, N., Yoo, W., Byndloss, M. (2021), Resistencia a la colonización: la guerra metabólica como estrategia contra las Enterobacteriaceae patógenas. *Opinión actual en microbiología.*, 64 (1), pp. 82-90.
- Shokouhi, V. (2021). Mastitis Bovina En La Encrucijada. *Bovino*, pp. 1-26.

- Suarez, V., Martínez, G., Bertonil, E., Salatin, O., & Ashur, M. (2019). Prevalencia Y Etiología De Las Mastitis Bovinas En La Cuenca Lechera Del Valle De Lerma (Salta). *Rev. Med. Vet.*, 1(100), pp. 0-6.
- Tille, P. M. (2017). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. En P. M. Tille, *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology (Vol. Fourteenth Edition)*. Elsevier.
- Tille, P. M. (2017). *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Tortora, F. (2016). *Introducción A La Microbiología*, 10 Ma Edición. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- Trevizan, S. (2019). Resistência Aos Antimicrobianos E Virulência De E. Coli Isoladas De Mastite Bovina Com Diferentes Níveis De Gravidade Clínica. Botucatu, São Paulo, Brasil: Universidade Estadual Paulista Júlio De Mesquita Filho.
- Umpiérrez, A., Ernst, D., Fernández, M., Oliver, M., Casaux, M., Caffarena, R., Zunino, P. (2021). Virulence Genes Of Escherichia Coli In Diarrheic And Healthy Claves. *Revista Argentina De Microbiología*, 53 (1), pp. 34-38.
- Usp, S. U. (2008). Microbial Enumeration Tests, Harmonized Method. Microbiological Examination Of Nonsterile Products, *Usp* 31(62), pp. 20.
- Vásquez, N., J., F., & L., G. (2018). Tasa De Incidencia De Mastitis Clínica Y Susceptibilidad Antibiótica De Patógenos Productores De Mastitis En Gano Lechero Del Norte De Antioquia, Colombia. *Rev. Med. Veterinario* 36 (1), pp. 35.
- Vázquez, M., Martínez, C., Talavera, R., Valdez, A., & Ordoñez, V. (2015). Detección De Los Genes Meca, Mecr1 Y Mecí En Cepas De Staphylococcus Aureus Resistentes A Meticilina De Origen Bovino Aisladas En Unidades De Producción Lechera Familiar, México. *Archivos De Medicina Veterinaria*, 47(2), pp. 1-10.
- Velásquez, S., Higuera, L., Parra, J., Rodríguez, J., García, F., & Patiño, R. (2020). Perfil De Resistencia Antimicrobiana En Aislamientos De Staphylococcus

Spp. Obtenidos De Leche Bovina En Colombia. *Revista Argentina De Microbiología*, 2(52), pp. 121-130.

- Vicente, D., & Trallero, E. (2010). Tetraciclinas, Sulfamidas Y Metronidazol. *Enfermedades Infecciosas Y Microbiología Clínica*, 28(2), 122-130.
- Villalba, M., & Lopez, S. (2017). Comparison Of National And Imported 500-Mg Cephalexin In Paraguay. *Rev. Fac. Cienc. Salud Udes*, 4(2), pp. 85-89.
- Wenjing, W., Yu, F., Zong, Z. (2019). Characterization of a strain representing a new Enterobacter species, Enterobacter chengduensis sp. nov. *Antonie van Leeuwenhoek*. 112(1), pp. 419-500. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10482-018-1180-z>.
- Winston, Q. (2018). Recuento De Celulas Somaticas (Rsc), Como Indicador De La Resistencia De La Mastitis Bovina. *Revista Ciencia, Tecnología E Innovación.*, 17(16).
- Wu, Y., Jiang, S., & Fu, Z. (May De 2020). Employment Of Teicoplanin-Coated Magnetic Particles For Quantifying Gram-Positive Bacteria Via Catalase-Catalyzed Hydrolysis Reaction Of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Elsevier*, 211(1).
- Yildirim, T., Sadati, F., Kocaman, B., & Siriken, B. (2019). Staphylococcus Aureus And Staphylococcal Enterotoxin Detection In Raw Milk And Cheese Origin Coagulase Positive Isolates. *International Journal Of Sciences Letters*, 1(1), pp. 30-41.
- Zhu, L., Cao, X., Xu, Q., Su, J., Li, X., & Zhou, W. (2018). Evaluation Of The Antibacterial Activity Of Tilmicosin- Snl Against Streptococcus Agalactiae: In Vitro And In Vivo Studies. *International Journal Of Nanomedicina*, 13 (1), pp. 4747-4755.

## ANEXOS.

### Anexo 1 *lugar del experimento.*

Mapa del Recinto San Pedro, en la parroquia San Miguel de los Bancos donde se ubica la Cooperativa Agropecuaria “La Colina”, provincia de Pichincha.



**Fuente:** (Google maps, 2022)

Mapa del Laboratorio General de la Facultad de Ciencias Agropecuaria Recursos Naturales y del Ambiente, de la Universidad Estatal de Bolívar.



**Fuente:** (Google maps, 2022)

Anexo 2 Base de datos.

<i>S. aureus</i> #	Código	Penicilina			Cefalexina			Cloxacilina			Oxitetraciclina			Gentamicina			Neomicina			Estreptomicina		
		30	10	5	30	10	5	10	5	1	30	10	5	30	10	5	30	10	5	30	10	5
1	D001AI	26	12	6	20	9	4	24	12	4	17	9	4	21	14	5	25	14	7	29	10	5
2	D004AI	26	12	5	21	10	3	23	12	4	18	10	6	24	15	5	26	15	7	28	9	4
3	D004AD	27	13	7	22	11	3	22	11	5	16	8	5	23	14	4	27	14	7	29	7	4
4	EA001AI	23	11	5	17	8	3	20	10	4	15	7	5	25	17	7	26	15	8	27	11	5
5	EA002PI	21	10	5	16	7	4	19	9	2	16	9	7	28	19	7	26	14	6	29	10	5
6	EA003PD	24	11	5	17	8	4	20	10	4	19	10	6	24	18	6	27	14	7	26	12	6
7	EA004AI	23	10	6	16	7	3	18	9	2	20	8	4	27	19	8	29	14	7	27	13	7
8	EA004AD	24	13	7	15	6	3	19	10	4	21	9	5	26	18	7	29	14	4	28	14	7
9	EA005PI	23	11	5	16	7	4	20	10	4	15	7	3	24	17	5	27	14	5	27	15	7
10	EA009AI	23	11	5	15	7	4	19	9	3	14	5	3	22	16	4	27	13	6	28	15	6
11	EA010PI	24	12	6	17	7	4	18	9	3	18	6	5	26	18	7	25	12	5	27	14	5
12	AR010PI	24	13	6	15	6	3	20	10	4	20	12	7	23	17	6	26	12	5	29	13	7
13	AR018PI	20	10	5	17	6	3	21	10	3	19	10	6	28	19	5	25	12	7	27	15	7
14	ACH001AD	22	12	7	16	5	3	20	10	4	19	9	7	24	17	6	13	7	4	28	11	5
15	ACH002PD	21	10	5	17	7	3	20	10	5	18	9	4	27	19	8	23	14	7	29	10	5

<i>Escherichia coli</i> #	Código	Penicilina			Cefalexina			Cloxacilina			Oxitetraciclina			Gentamicina			Neomicina			Estreptomicina		
		30	10	5	30	10	5	10	5	1	30	10	5	30	10	5	30	10	5	30	10	5
1	D002PI	15	6	3	19	8	5	29	19	10	19	10	5	29	10	5	23	11	5	26	11	5
2	D003PI	13	5	2	18	9	4	26	16	6	26	15	9	27	11	6	25	12	6	29	14	7
3	EA006PI	14	5	2	21	10	5	27	17	7	21	11	3	27	12	6	24	10	5	27	11	5
4	AR001AI	13	6	3	20	11	4	26	16	8	23	13	4	28	14	7	26	13	4	27	12	6
5	AR001AD	13	6	3	20	10	4	25	17	9	17	9	2	28	12	6	26	12	5	26	15	6
6	AR002PD	13	6	3	20	10	5	27	16	8	18	8	2	29	12	5	22	11	6	29	15	6
7	AR0004PD	14	5	2	21	9	4	28	15	8	19	9	4	28	14	6	25	10	5	29	13	7
8	AR013PI	15	6	3	19	10	4	27	16	8	21	10	5	27	12	6	25	10	6	28	11	8

<i>Klebsiella spp.</i> #	Código	Penicilina			Cefalexina			Cloxacilina			Oxitetraciclina			Gentamicina			Neomicina			Estreptomicina		
		30	10	5	30	10	5	10	5	1	30	10	5	30	10	5	30	10	5	30	10	5
1	EA006PD	13	7	4	13	5	3	10	7	4	20	13	6	29	12	6	23	10	5	30	11	5
2	EA007PI	12	6	3	12	5	3	10	8	4	26	14	8	29	11	5	24	9	4	32	14	7
3	EA008PI	13	7	4	13	5	4	11	7	3	25	14	7	30	13	6	26	10	5	35	17	8
4	EA012PD	17	6	3	15	5	3	17	8	6	24	14	6	27	12	7	25	11	6	30	13	6
5	EA013AI	17	8	4	14	6	3	17	8	5	20	14	8	30	13	6	23	12	7	32	11	5
6	EA014AD	12	7	5	12	6	3	11	6	3	25	16	6	29	12	6	25	10	5	32	12	6
7	AR014PD	12	6	3	13	5	2	11	6	3	23	15	7	29	11	5	26	13	5	34	11	5
8	AR015PI	14	8	4	13	6	3	10	7	3	23	15	7	29	12	8	24	12	6	32	10	6
9	AR016PD	17	7	3	15	7	4	11	7	4	21	15	6	30	14	6	27	11	5	29	12	6

<i>Staphylococcus</i> <i>spp.</i> #	Código	Penicilina			Cefalexina			Cloxacilina			Oxitetraciclina			Gentamicina			Neomicina			Estreptomicina		
		30	10	5	30	10	5	10	5	1	30	10	5	30	10	5	30	10	5	30	10	5
1	AR003PD	27	13	6	20	9	5	18	8	4	20	13	6	50	27	15	55	31	15	53	33	18
2	AR008PI	26	14	7	22	10	5	19	9	5	26	14	8	49	28	16	56	32	16	55	34	19
3	AR009PD	25	13	6	23	10	6	20	10	6	25	14	7	52	29	17	55	30	15	57	35	20
4	AR017PI	25	14	7	21	11	6	18	9	5	24	14	6	53	26	15	54	29	15	54	33	19
5	AR020PI	24	12	6	19	9	5	20	9	5	20	14	8	55	27	15	56	31	17	52	33	19
6	AR021AD	27	15	6	20	9	5	19	10	5	25	16	6	50	28	16	56	31	18	52	31	17
7	AR022PD	27	14	7	21	10	6	18	8	4	23	15	7	52	29	17	55	30	17	53	32	18
8	AR025PI	28	16	8	24	11	7	19	9	5	23	15	7	53	28	15	52	29	16	55	34	20

<i>Bacillus spp.</i> #	Código	Penicilina			Cefalexina			Cloxacilina			Oxitetraciclina			Gentamicina			Neomicina			Estreptomicina		
		30	10	5	30	10	5	10	5	1	30	10	5	30	10	5	30	10	5	30	10	5
1	D002PD	10	5	2	11	5	1	9	6	1	19	8	3	46	25	13	52	31	20	55	34	22
2	EA013AD	11	6	3	10	4	0	8	5	0	18	9	5	45	24	12	50	30	19	53	32	21
3	AR005AI	12	7	3	12	5	1	10	5	0	17	6	4	43	21	11	52	29	19	50	30	20
4	AR006AD	13	7	2	10	5	2	10	6	2	19	9	3	45	25	13	53	28	18	55	33	22
5	AR007AD	12	6	3	11	4	0	11	5	1	19	9	4	41	21	11	46	25	17	51	30	21
6	AR011PD	10	5	3	10	5	1	12	6	2	17	7	5	39	19	10	48	27	16	52	30	20
7	AR012AI	11	4	0	12	6	1	9	4	0	19	9	4	47	26	13	49	28	21	60	33	24
8	AR023AI	12	4	0	11	5	0	10	3	0	18	7	3	41	22	12	51	30	20	42	28	16
9	AR026PD	10	5	0	11	5	0	10	3	0	20	8	4	35	17	8	49	30	19	50	30	19

<i>Citrobacter</i> <i>spp.</i> #	Código	Penicilina			Cefalexina			Cloxacilina			Oxitetraciclina			Gentamicina			Neomicina			Estreptomicina		
		30	10	5	30	10	5	10	5	1	30	10	5	30	10	5	30	10	5	30	10	5
1	AR019PD	45	29	18	48	28	19	48	20	15	40	20	15	61	28	17	59	29	18	60	29	10
2	ACH001AD	58	37	19	59	40	20	49	22	16	54	32	16	60	29	18	60	30	19	61	22	11

Anexo 3 Resultados del análisis del CBT.



LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE

Información proporcionada por el cliente

Cliente: **Joao Mazón Velaz**  
 Contacto: **Joao Mazón Velaz**  
 Dirección: **Santo Domingo**  
 Teléfono: **099161725**  
 Fecha de colecta: **2022-02-11**  
 Correo electrónico: **joaomazonvelaz@gmail.com**

INFORME DE RESULTADOS

Cantidad de muestras: **CBT**      **E**  
 Muestras con observaciones: **E**  
 Fecha de recepción: **2022-02-11**  
 Fecha de análisis: **2022-02-14**  
 Fecha de emisión de resultados: **2022-02-16**  
 Descripción: **Leche cruda**  
 Lote: **22083**

Muestra	Código examinado	CBT (x1000ml)	Observaciones de las muestras
Filtro			
281334	Tanque DR-1	5.771	G
281335	Tanque DR-2	5.447	G
281336	Tanque DR-3	5.319	G
281331	Tanque lz-1	2.701	G
281332	Tanque lz-2	2.830	G
281333	Tanque lz-3	2.750	G
Método interno / referencia		LCL-PE-03 para CBT / Método referencia ISO 15287-IDF 161/2013	-
*Especificación de norma o reglamento		300*	-

Referencias y Observaciones

\*VMP = Valor máximo (Acuerdo Ministerial 304 MAG, 04 Septiembre 2013)

Señalética: (LCL) Laboratorio de Calidad de Leche, (CBT) Conteo bacteriano Total, (N) Apéndice

En Ser el cliente

El/los código/s de examinados se informaron proporcionado por el cliente.

Los resultados corresponden únicamente a los (muestra/s) entregado(s) por el cliente.

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin previa autorización escrita por parte del LCL.

El LCL no descargo de responsabilidad sobre la información proporcionada por el cliente, observaciones en los libros de ensayo o otras observaciones que pudieran afectar la validez de los resultados.

Muestra tomada por:

Cliente



LCL



LCL-005-01 Instructivo Toma de muestra - Ver Anexo

La temperatura aproximada de ingreso de la muestra(s) en

6.1

°C

Quim Pineda Córdova  
 Jefe de Laboratorio



Ing. Juan C. Fierro  
 Responsable Técnico

**Anexo 4** *Fotografías del proceso de la investigación.*



**Fot.1:** Testeo de las vacas.



**Fot. 2:** Leche con cambios visibles.



**Fot. 3:** reacción del CMT con leche mastítica.



**Fot. 4:** recolección de leche de los tanques de almacenamiento.



**Fot. 5:** Preparación de medios de cultivos.



**Fot. 6:** Preparación de medios de cultivo.



**Fot. 7:** Procesamiento de muestras de leche.



**Fot. 8:** Enriquecimiento de las muestras obtenidas.



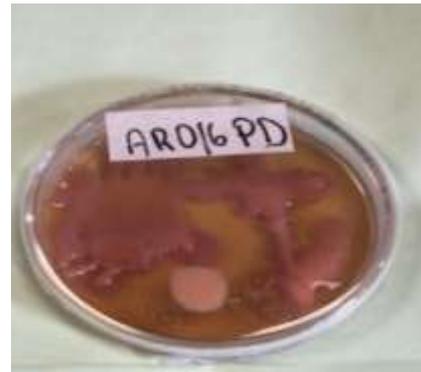
**Fot. 9:** Siembra de muestras enriquecidas



**Fot. 10:** Incubación de las muestras sembradas.



**Fot. 11:** Cultivos replicados en agar EMB



**Fot. 12:** Cultivos replicados en agar MacConkey



**Fot. 13:** cultivos replicados en agar Sal Manitol



**Fot. 14:** Medios utilizados en los Perfiles de identificación.



**Fot. 15:** Pruebas Bioquímicas



**Fot. 16:** Pruebas Bioquímicas



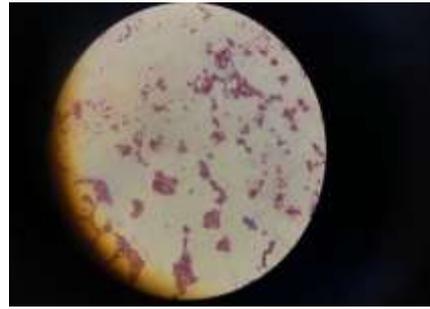
**Fot. 17:** Prueba de Coagulasa



**Fot. 18:** *Staphylococcus aureus*.



**Fot. 19:** Tinción de Gram



**Fot 20:** Tinción de bacilos G -



**Fot. 21:** Tinción de bacillus G +



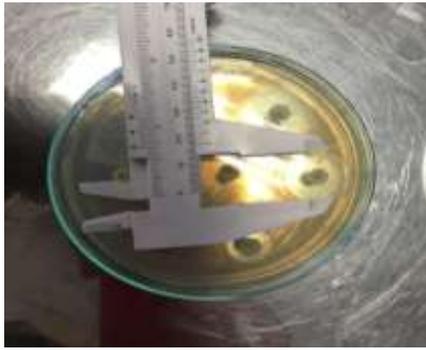
**Fot. 22:** Dilusión de los antibioticos.



**Fot. 23:** Actividad antimicrobiana.



**Fot. 24:** Incubación de la cajas de la actividad antimicrobiana.



**Fot. 25:** Resultados obtenidos de la actividad antimicrobiana.



**Fot. 26:** Actividad antimicrobiana de la CMI



**Fot. 27:** Almacenamiento de cepas bacterianas en crioviales



**Fot. 28:** Visita de los miembros del tribunal de la presente investigación.