

Título del Proyecto de Investigación
al que corresponde el Reporte Técnico:

**“PREVALENCIA Y SENSIBILIDAD DE MICROORGANISMOS EN
PROBLEMAS DE METRITIS EN VACAS FRESCAS EN UN LOTE
COMERCIAL”**

Tipo de financiamiento

Sin financiamiento

Fecha de Inicio: 01/ 09/2018
Fecha de Término: 30/10/2019

Tipo de Reporte

Parcial

Final

Autor (es) del reporte técnico:

M en C. JOSEFA IMELDA RAMOS GUEVARA

TÍTULO DEL REPORTE TÉCNICO

Resumen del reporte técnico en español (máximo 250 palabras)

El propósito de este trabajo es actualizar y divulgar los conocimientos existentes sobre los microorganismos presentes en problemas intrauterinos del hato comercial donde se realizó el mismo y verificar si existe algún problema de resistencia antimicrobiana que pueda estar afectando la salud de los animales. En la investigación se utilizaron 12 vacas Holstein en el periodo conocido como vaca fresca o recién paridas, después de tomarles la temperatura y presentaran un resultado mayor a 39.5 utilizando hisopos se tomaba una muestra del tracto reproductivo, se procedió a sembrar la muestra en agar sangre y mc conkey, después de 24 horas se efectuó la identificación morfológica de la bacteria por medio de tinción y microscopio igualmente se realizaron pruebas bioquímicas, hidrolisis, catalasa o tinción Zielh- Neelsen según sea el caso.

Como resultado las bacterias identificadas fueron *Corynebacterium*, *Shigella sonnei*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella ozaenae*, *Yersenia enterocolitica*, *Staphylococcus saprophyticus* las cuales son parte de la flora bacteriana del tracto reproductivo de la hembra.

Gran parte de la unidad animal utilizada presento una resistencia a los antibióticos bastante preocupante desde el punto de vista económico, médico y de salud pública.

Palabras clave: Microorganismos, Resistencia, Antimicrobiano, Hidrolisis, Catalasa.

Resumen del reporte técnico en inglés (máximo 250 palabras):

The purpose of this work is to update and disseminate existing knowledge about microorganisms present in intrauterine problems of the commercial herd where it was carried out and to verify if there is any problem of antimicrobial resistance that may be affecting the health of the animals. In the research, 12 Holstein cows were used in the period known as fresh cow, after taking the temperature and presenting a result higher than 39.5 using swabs a sample was taken from the reproductive tract, the sample was sown on blood agar and mcconkey, after 24 hours, the morphological identification of the bacteria was made by means of staining and microscopy, as well as biochemical tests, hydrolysis, catalase or Zielh-Neelsen staining, depending on the case.

As a result, the identified bacteria were *Corynebacterium*, *Shigella sonnei*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella ozaenae*, *Yersenia enterocolitica*, *Staphylococcus saprophyticus* which are part of the bacterial flora of the reproductive tract of the female.

Much of the animal unit used showed resistance to antibiotics quite worrying from the economic, medical, and public health point of view.

Palabras clave: Microorganismos, Resistencia, Antimicrobiano, Hidrolisis, Catalasa.

Usuarios potenciales (del proyecto de investigación)
Lechería Escobar S.A de C.V

Reconocimientos

A la lechería Escobar, M.V.Z Alejandra Arvizu, Sr. Julio Jacobo, estudiantes que colaboraron con este proyecto, Irving Raúl Parga Domínguez y Cristina Fernanda Becerra Hernández.

1. **Introducción** El objetivo principal del manejo de la reproducción, es lograr que las vacas se preñen en el momento óptimo y en un intervalo económicamente rentable después del parto. Sin embargo, la función uterina a menudo se ve comprometida después del parto a causa de contaminación bacteriana en el lumen uterino. (Sheldon et al. 2006).

Después del parto se presentan algunas patologías que retrasan la involución uterina y afectan el intervalo del parto al primer servicio.

Alrededor del 95 por ciento de las vacas desarrollan una infección uterina durante los primeros días postparto, sin embargo, la mayoría elimina las infecciones mediante sus mecanismos de defensa. (Hernández, C. 2012) Estas alteraciones reproductivas, incluyendo metritis y endometritis, en el ganado lechero, influyen en grandes pérdidas económicas puesto que afectan en la efectividad productiva y en la reproducción de las mismas, altos costos de mantenimiento, medicamentos, entre otros factores. (González, et al. 2007). La magnitud de las consecuencias varía de acuerdo con el grado de infección que presenta el animal y en qué tiempo comienza el tratamiento.

Abarcando el tema económico que es muy importante desde cualquier punto de vista coincidimos en que una metritis cuesta 200 dólares por caso si el productor tiene un rebaño de 500 vacas que paren durante el año, con una incidencia de 20% de metritis, los casos de esta enfermedad al año serán 100. Así, si se

multiplican los 100 casos por los 200 dólares de costo que tiene cada episodio, la pérdida total anual por concepto de metritis será de 20 mil dólares. Así, sucesivamente se pueden ir multiplicando costos individuales de un caso por el porcentaje de presentación de la enfermedad dentro del rebaño durante el año. El costo total de un caso de metritis es de US\$ 263 para vacas multíparas y de US\$ 172 para vacas primíparas. El principal ítem que explica el costo total es aquel que se relaciona con el uso de veterinarios y tratamientos, seguido por la leche de descarte e infertilidad, en el caso de vacas multíparas. (Meléndez, 2017).

El presente trabajo tuvo como principal objetivo identificar el tratamiento en problemas de metritis en la producción lechera donde se realizó el muestreo y así tomando en cuenta los resultados reelaborar el protocolo de antimicrobianos de amplio espectro pues el mal uso de estos provoca que algunas cepas generen cierta resistencia a las enfermedades de cualquier tipo.

En ganado lechero, la atención médica durante el puerperio es fundamental, ya que durante este periodo se diagnostican y se tratan distintas patologías uterinas con el propósito de que la vaca esté en condiciones óptimas para ser inseminada. (Hernández,C.,2012)

2. Planteamiento La metritis es consecuencia de las tantas enfermedades que ocurre después del parto, una de las principales causas es la inmunosupresión, en la cual podemos observar una susceptibilidad de la vaca para contraer una enfermedad infecciosa. (Dawod y Byeng, 2014). Mientras que la mayoría de las infecciones provocan inmunidad protectora,

la mayoría de los agentes patógenos exitosos han desarrollado algunos medios de eludir una respuesta inmune completamente efectiva, y algunos dan como resultado una enfermedad grave y persistente. (Janeway et al, 2001).

La metritis es una enfermedad sistémica aguda debida a la infección del útero con bacterias, ocasionado generalmente dentro de los 10 días posteriores al parto, con etiología multifactorial (Sheldon et al, 2006).

La vagina por ser la parte del tracto reproductivo más expuesta, posee mayor número de bacterias, entre las cuales se pueden encontrar Gram negativas y Gram positivas; sin embargo, durante la gestación y el parto, el cuello uterino y el útero no se encuentran totalmente estériles, por lo que se pueden aislar microorganismos oportunistas, que producen inflamación e infección (Sánchez et al. 2011).

Se caracteriza por los siguientes signos clínicos: un flujo uterino acuoso fétido de color marrón rojizo y, por lo general fiebre $> 39.5^{\circ} \text{C}$; en casos severos, también puede estar presente una disminución del rendimiento de la leche, signos de toxemia, falta de brillo, inapetencia o anorexia, ritmo cardíaco elevado y aparente deshidratación. (Sheldon et al, 2006).

El diagnóstico se basa en la evolución uterina mediante la palpación rectal, donde se revisa el grado de involución que presenta y las características de las secreciones. Además, es primordial la evaluación clínica general de la vaca, ya que las que presentan esta afección durante los primeros 10 días posparto llegan a presentar temperatura alta. Otra posibilidad para la evaluación de las

secreciones uterinas, es mediante la vaginoscopía, este método permite observar cérvix y secreciones presentes (Hernández, C., 2012).

Gran parte del ganado después de 2 semanas postparto experimentara una contaminación bacteriana, existen diversos factores que pueden desencadenar en el cuadro clínico de metritis. (Griffin *et al.*, 1974).

Como lo menciona Palmer (2007) la vagina, vestíbulo y el cérvix se encuentran comprometidos después del parto, esto en combinación con otros elementos crean las condiciones necesarias para la proliferación bacteriana, el ambiente idóneo para una proliferación de este tipo es el útero postparto, ya que este otorga las condiciones perfectas como lo son: ambiente templado, lleno de líquido y tejido necrótico.

La retención placentaria es sin duda alguna una de las secuelas más importantes que provocan la metritis esto se asocia a una disminución de la fertilidad (Iwersen y Drillich, 2015).

Cuando el parto se desarrolla en ambientes contaminados, suelo y establo en general, es más propenso que el tracto reproductivo de la hembra se contamine a causa del medio ambiente. (Cayul, 2003). Durante la involución uterina se eliminan secreciones naturales que pueden contribuir a que se generen infecciones postparto, como lo es la metritis, catalogada como una de las principales causas de problemas reproductivos. (Artavia, 2013).

La identificación de bacterias es de suma importancia identificar a las bacterias que se encuentran en la zona afectada por la metritis ya que alguna de estas pueda estar desarrollando la patogenia, algunas bacterias se consideran flora natural de la vagina.

La microbiología normal de la vagina está compuesta en su mayoría por bacterias y en una menor proporción por hongos, consiguiendo que las bacterias más comunes son las aerobias, entre ellas, las del grupo de los Staphylococcus, Streptococcus y Coliformes, asimismo, las anaerobias juegan un papel interesante en la microflora vaginal de la vaca. Entre las más señaladas se encuentran, las del género Lactobacillus, Fusobacterium y Peptostreptococcus; en un menor grado, se han aislado hongos del género Aspergillus y Penicillium (Boscan *et al.*, 2010).

En condiciones naturales, este ambiente es estable, protegiendo al huésped de microorganismos saprófitos patógenos o potencialmente patógenos. Es posible que algunas de las bacterias provengan de infecciones persistentes asociadas al último parto y que no fueron eliminadas dentro del proceso normal de desinfección del útero por parte del sistema inmunológico local (Méndez *et al.*, 2014).

El antibiograma por medio de difusión en agar es una prueba en la que se enfrenta la bacteria inoculada sobre la superficie de un medio de agar a una solución antibiótica absorbida en discos de papel de filtro.

En los medios de cultivo las bacterias se multiplican y es necesario esperar al menos 18-24 horas para visualizarlas. En términos generales todas las bacterias tienen unos requerimientos nutricionales imprescindibles para su crecimiento.

La probabilidad de éxito o fracaso terapéutico está estrechamente relacionado a la resistencia bacteriana causante de la infección, debido a esto, es sumamente importante en la medicina veterinaria realizar antibiogramas para poder establecer un manejo adecuado de los medicamentos. En general, se entiende por antibiograma el resultado de las pruebas de susceptibilidad *in vitro*

llevadas a cabo para conocer el comportamiento de un microorganismo frente a determinados antibióticos, cuyos resultados se expresan en términos de "sensibilidad" y "resistencia". Debemos de tomar en cuenta que no todas las bacterias tienen la misma sensibilidad a los distintos antibióticos (Nodarse, 2013).

El uso indiscriminado de los antibióticos a través de los años, ha causado la aparición de microorganismos resistentes, provocando que las técnicas terapéuticas no funcionen como lo esperado, teniendo como resultado hasta la muerte del animal.

2.1 Antecedentes Uno de los principios fundamentales del manejo de la reproducción, es lograr que las vacas se preñen en el momento óptimo y en un intervalo económicamente rentable después del parto. Sin embargo, la función uterina a menudo se ve comprometida después del parto a causa de contaminación bacteriana en el lumen uterino. (Sheldon et al. 2006).

Después del parto se presentan algunas patologías que retrasan la involución uterina y afectan el intervalo del parto al primer servicio. Alrededor del 95 por ciento de las vacas desarrollan una infección uterina durante los primeros días postparto, sin embargo, la mayoría elimina las infecciones mediante sus mecanismos de defensa. (Hernández, C. 2012) Estas alteraciones reproductivas, incluyendo metritis y endometritis, en el ganado lechero, influyen en grandes pérdidas económicas

2.1 Marco teórico La metritis es una enfermedad sistémica aguda debida a la infección del útero con bacterias, ocasionado generalmente dentro de los 10 días posteriores al parto, con etiología multifactorial (Sheldon et al, 2006).

La vagina por ser la parte del tracto reproductivo más expuesta posee mayor número de bacterias, entre las cuales se pueden encontrar Gram negativas y Gram positivas; sin embargo, durante la gestación y el parto, el cuello uterino y el útero no se encuentran totalmente estériles, por lo que se pueden aislar microorganismos oportunistas, que producen inflamación e infección (Sánchez et al. 2011).

Se caracteriza por los siguientes signos clínicos: un flujo uterino acuoso fétido de color marrón rojizo y, por lo general fiebre > 39.5 ° C; en casos severos, también puede estar presente una disminución del rendimiento de la leche, signos de toxemia, falta de brillo, inapetencia o anorexia, ritmo cardíaco elevado y aparente deshidratación. (Sheldon et al, 2006).

El diagnóstico se basa en la evolución uterina mediante la palpación rectal, donde se revisa el grado de involución que presenta y las características de las secreciones. Además, es primordial la evaluación clínica general de la vaca, ya que las que presentan esta afección durante los primeros 10 días posparto llegan a presentar temperatura alta. Otra posibilidad para la evaluación de las secreciones uterinas, es mediante la vaginoscopía, este método permite observar cérvix y secreciones presentes (Hernández, C., 2012).

Gran parte del ganado después de 2 semanas postparto experimentara una contaminación bacteriana, existen diversos factores que pueden desencadenar en el cuadro clínico de metritis. (Griffin *et al.*, 1974).

3. Objetivos (general y específicos)

Objetivo general Las vacas recién paridas son propensas a presentar problemas de metritis.

Objetivo específico La metritis es una enfermedad común en vacas recién paridas y el tratamiento a veces no funciona efectivamente

4. **Metodología** El estudio se elaboró con 12 vacas de la raza holstein recién paridas, se encontraban en el corral de frescas con una temperatura mayor o igual a 39,5 grados centígrados y sin haber recibido ningún tratamiento farmacológico al momento de tomar la muestra, las vacas con problemas de endometritis o metritis también entraban en la selección (ver figura 1).

Las vacas recién paridas van al corral de frescas una vez que estuvieran inmovilizadas se les tomaba la temperatura vía rectal con un termómetro digital.

La técnica utilizada para la toma de muestras fue por medio de un hisopo (tiegland) introducido en el útero, el animal fue retenido y se procedió a limpiar el área perianal con una toalla desinfectante.

Una muestra mal tomada no solo puede resultar en la recolección fallida de microorganismos importantes.

El hisopo se insertó a través de la vagina en la luz del canal cervical, guiado por la palpación por el recto. La varilla interior del catéter se empujó hacia adelante para exponer el hisopo y se rotó cuatro veces contra la mucosa mientras se movía el hisopo hacia atrás y hacia delante, y luego se retiró dentro del catéter bajo guía rectal, a cada vaca se le tomo un hisopado para ser transportados al laboratorio para su siembra (ver figura 2).

Después de tomar la muestra se trasladó en un contenedor estéril al laboratorio de la empresa para realizar la siembra en agar sangre y agar MacConkey. Las indicaciones para cultivar la muestra fueron las siguientes. En la parte posterior y exterior de la caja, dividirla en dos secciones e identificar cada una con el número de la vaca a la cual se le tomo la muestra, una sección para cada muestra de una vaca, del hisopo con el asa de platino anteriormente flameada y fría, inocular una porción de la muestra haciendo estrías simples de lado a lado en la sección seleccionada sin cruzar los límites de esta. Incubar las cajas en forma invertida a 35 grados centígrados durante 24 horas, se realizó el mismo procedimiento con todas las muestras (ver figura 3).

El agar MacConkey es un medio solido que permite el crecimiento de bacilos gramnegativos fermentadores y no fermentadores de lactosa (Uremeneta *et al.* 2003). (Ver figura 4).

Una vez hecho este procedimiento trasladamos las muestras al laboratorio de microbiología del Instituto de Ciencias Biomédicas de la universidad Autónoma de Ciudad Juárez para resembrar las colonias resultantes del procedimiento anterior haciendo el mismo procedimiento, pero con la diferencia de utilizar un agar para cada muestra.

En este paso realizamos un cepario de todas las muestras que tomamos en la unidad de producción para posteriormente utilizar la tinción de gram para la identificación de las mismas (ver figura 5)

El estudio microscópico y la tinción revela la forma, la manera de agruparse, la estructura de las células y su tamaño. Las tinciones son el primer paso, y ocasionalmente el único, para la identificación bacteriana, clasifica a las bacterias

en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas y bacterias Gram positivas (Fernández *et al.*, 2010).

El método físico de fijación de muestra en laminilla con mayor utilización en microbiología es el calor seco, que consiste en exponer directamente la laminilla a la flama del mechero, con esto se logra detener los procesos vitales de las células y los microorganismos. Sin embargo, la sobreexposición, o la exposición en una zona incorrecta de la flama (zona fría, zona caliente y zona de fusión) repercutirá en el efecto deseado; es muy común provocar alteraciones morfológicas y destrucción celular (ver figura 6).

La tinción de Gram se basa en colocar como colorante primario cristal violeta, el cual tiene afinidad con el peptidoglicano de la pared bacteriana. Posteriormente, se coloca lugol, el cual sirve como mordiente e impide la salida del cristal violeta por la formación de un complejo cristal violeta yodo que satura los espacios del peptidoglicano de la pared bacteriana. En seguida, se coloca una mezcla de alcohol-acetona, la cual deshidrata la pared bacteriana y cierra los poros de la misma, también destruye la membrana externa de las bacterias Gram negativas debido a que ésta es soluble a la acción de solventes orgánicos, como la mezcla de alcohol acetona. Las bacterias Gram positivas, al contener una gran cantidad de peptidoglicano, retienen con mayor fuerza este complejo, mientras que las Gram negativas no lo pueden retener por tener menos cantidad de peptidoglicano. Por último, se coloca safranina, la cual funciona como un colorante secundario o de contratinción y sirve para teñir las bacterias que no pudieron retener el complejo cristal violeta-yodo, las bacterias Gram positivas se observan de color

azul oscuro a morado, mientras que las Gram negativas se observan de color rosa a rojo (López *et al.* 2014) (ver figura 7,8,9).

El siguiente paso es observar con el microscopio las laminillas para poder determinar el tipo de bacteria que estamos observando, la forma de las bacterias al microscopio está determinada por la rigidez de su pared celular. Básicamente, se diferencian según su forma en cocos (esféricas u ovaladas) o bacilos (cilíndrica o de bastones; rectos o curvos). Si el plano de división es único, podemos encontrar diplococos o cocos en cadena (microorganismos del género *Streptococcus*). Si los planos de división son muchos, los cocos pueden agruparse en tétradas o en racimos (*Staphylococcus*). Los bacilos pueden ser muy cortos (cocobacilos) o muy largos (Pérez y Mota, 2006).

En relación con la terapéutica para el tratamiento de infecciones, es una práctica común que estas infecciones se traten de una manera empírica, es decir, utilizan una amplia gama de productos farmacéuticos sin conocer su eficacia previamente, siendo los más utilizados los de amplio espectro.

En el presente estudio se utilizó la técnica de Kirby-Bauer, la cual nos permite identificar una estimación cualitativa de la sensibilidad de los antibióticos, este método consiste en aplicar discos de papel impregnados con el fármaco que se va a utilizar, estos discos se colocan sobre la superficie de placas de agar, en las que se ha inoculado el microorganismo. El medio de cultivo más frecuentemente utilizado es el Müller-Hinton, que permite el crecimiento de casi todas las bacterias. (Díaz, R. 1995). Luego de 24 horas de incubación, se procede a medir el tamaño del halo de inhibición de crecimiento, que esto representa la actividad y eficacia del fármaco contra la cepa en cuestión. (Cayul, 2003)

Los antibióticos incluidos en la prueba de sensibilidad estaban contenidos en los sensidiscos y correspondieron a:

Del grupo de las quinolonas: **Levofloxacino, Moxifloxacina.**

De los aminoglucósidos: **Gentamicina Tetraciclina**

De los betalactámicos: **Penicilina, Ampicilina, Dicloxacilina.**

De las cefalosporinas: **Cefuroxima, Cefotaxima**

De las fluoroquinolonas: **Ciprofloxacino.**

De los nitrofuranos: **Nitrofurantoina**

5. Instituciones, organismos o empresas de los sectores social, público o productivo participantes (Si aplica)
6. Resultados Después de recolectar trece muestras los resultados de la identificación de las cepas nos dieron los siguiente datos: cinco bacterias son gram +, seis gram – y dos *Staphylococcus*, para obtener esta información se realizaron tinciones e identificación en el microscopio. El siguiente paso en la identificación fueron las pruebas bioquímicas en el cuadro uno se resume la información

Las pruebas bioquímicas nos dieron como resultado las siguientes bacterias: *Corynebacterium*, *Shigella sonnei*, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella ozaenae*, *Yersenia enterocolitica*, *Staphylococcus saprophyticus*. El siguiente paso en el estudio fue realizar los antibiogramas para poder saber con exactitud la sensibilidad de las bacterias identificadas anteriormente. La información esta resumida en el siguiente cuadro número

Muestra Prueba	CIT	LIA	TSI	SIM	MIO	PHE	URE	RM-VP
8042	-	-	Gas - Sul - Lac - Glu +	S - I - M -	M - I - O -	-	-	+ -
7972	-	-	Gas - Sul - Lac + Glu -	S - I - M -	M - I - O -	-	-	+ -
7237	-	-	Gas - Sul + Lac + Glu -	S - I - M -	M - I - O -	-	-	+ -
8040	-	-	Gas - Sul - Lac - Glu +	S - I - M -	M - I - O -	-	+	+ -
8096	-	-	Gas - Sul - Lac + Glu +	S - I - M -	M - I - O -	-	-	+ -
8082	-	-	Gas - Sul - Lac + Glu +	S - I - M -	M - I - O +	-	-	+ -

Cuadro .- Resultados de las pruebas bioquímicas

La lectura de los resultados arrojados en los antibiogramas se realizó midiendo en milímetros los diámetros de halos de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor de los sensidiscos mediante una regla milimétrica. Los resultados se interpretaron como sensibles y resistentes.



Halos de inhibición en agar Muller Hinton, la letra P es penicilina

<i>Porcentaje de resistencia de los patógenos evaluados a diferentes antibióticos</i>				
	<i>Resistentes</i>	<i>Total</i>	<i>%</i>	
<i>PENICILINA</i>	<i>10</i>	<i>13</i>	<i>76.9%</i>	<i>a</i>
<i>AMPICILINA</i>	<i>5</i>	<i>13</i>	<i>38.5%</i>	<i>b</i>
<i>GENTAMICINA</i>	<i>1</i>	<i>13</i>	<i>7.7%</i>	<i>c</i>
<i>TETRACICLINA</i>	<i>0</i>	<i>13</i>	<i>0.0%</i>	<i>c</i>
<i>DICLOXACILINA</i>	<i>10</i>	<i>13</i>	<i>76.9%</i>	<i>a</i>
<i>CIPROFLOXACINO</i>	<i>0</i>	<i>13</i>	<i>0.0%</i>	<i>c</i>
<i>LEVOFLOXACIN</i>	<i>0</i>	<i>13</i>	<i>0.0%</i>	<i>c</i>
<i>CEFUROXIME</i>	<i>4</i>	<i>13</i>	<i>30.8%</i>	<i>b</i>
<i>MOXIFLOXACINA</i>	<i>0</i>	<i>13</i>	<i>0.0%</i>	<i>c</i>
<i>CEFOTAXIME</i>	<i>3</i>	<i>13</i>	<i>23.1%</i>	<i>b</i>
<i>NITROFURANTOINA</i>	<i>0</i>	<i>13</i>	<i>0.0%</i>	<i>c</i>

Información correspondiente al antibiograma, como los datos lo indican, la penicilina es un fármaco que presenta una sensibilidad casi nula, clasificándola con la letra **a** lo cual indica que el antibiótico ya presenta una resistencia considerable.

En resumen, los resultados encontrados demuestran que los tratamientos utilizados en el lote comercial son ineficaces para contrarrestar las patologías antes descritas. Sabemos que la penicilina es un antibiótico ampliamente usado en el tratamiento de la metritis sin embargo los resultados del análisis nos indican que este fármaco es altamente resistente y es de alto riesgo seguir utilizándolo.

7. Productos generados

Incluir aquí los productos generados con el proyecto, tales como: artículos de investigación, capítulos de libros, libros, memorias de congreso, patentes, formación de recursos humanos, etcétera.

Se integrará en los anexos las evidencias.

8. Conclusiones Los resultados encontrados sugieren que la principal causa de resistencia antimicrobiana en las vacas lecheras de la explotación es causada al mal uso de los antibióticos, la mala dosificación y el uso indiscriminado del mismo antibiótico. Sugerimos una reevaluación de los protocolos de medicación utilizados en la explotación para evitar un problema más serio en un futuro así mismo una actualización de los medicamentos.

Los antibióticos betalactámicos son ampliamente utilizados en la medicina veterinaria pero su eficacia ha ido disminuyendo con el paso de los años debido a distintos factores, Según un estudio de susceptibilidad realizado por Borie *et al.* (2004) demostró valores elevados de resistencia frente a antimicrobianos betalactámicos.

Vignoli y Seija (2006) nos indican cuales son las principales formas de resistencia antibiótica estas pueden ser natural (intrínseca) o adquirida. La resistencia natural es propia de cada familia, especie o grupo bacteriano. La resistencia adquirida es variable y es adquirida por una cepa de una especie bacteriana. Así, cepas de *Escherichia coli* resistentes a la ampicilina. La resistencia adquirida es la que puede llevar a un fracaso terapéutico cuando se utiliza un antibiótico supuestamente activo sobre el germen que produce la infección.

Los altos porcentajes de resistencia ante aquellos antimicrobianos que durante décadas fueron eficaces y a un bajo costo, como es el caso de los ya mencionados betalactámicos, se debe al uso indiscriminado e inadecuado por parte del personal encargado del área, sin una vigilancia plenamente médica. (Cayul, 2003)

9. Mecanismos de transferencia. (Si aplica)

10. Contribución e impacto del proyecto. Este trabajo se realizó por petición del gerente de producción de la empresa lechera, el impacto fue muy importante ya que, a partir de este estudio, quedo de manifiesto que el antibiótico que se estaba utilizando en los problemas de metritis, ya estaba manifestando una severa resistencia ante las bacterias causantes de este padecimiento, por lo tanto se realizo el cambio de antibiótico y resulto en una eficiencia en la resolución de los casos.

11. Impacto económico, social y/o ambiental en la región El impacto económico se reflejo en la misma empresa lechera en donde se realizó el trabajo, puesto que, al realizar el cambio de antibiótico, la resolución de los casos fue mas eficiente y por lo tanto el gasto en este tipo de medicamento se redujo y los animales enviados a rastro por las consecuencias de la metritis en la parte reproductiva se redujeron también considerablemente.

12. Referencias (bibliografía)

Sheldon, M., G.S., Lewis, S., Leblanc, y R.O., Gilbert. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*. 65: 1517

González, M., Ríos, R., y Mattar, S. (2007, Septiembre 4). Prevalencia de bacterias asociadas a la infertilidad infecciosa en bovinos de Montería, Colombia. *MVZ Cordoba*, 12 (2): 1029.

Hernández, J.. (2012). Fisiología clínica de la reproducción de bovinos lecheros. México. pp. 79-80

Dawod, A., y R. M., Byeng. 2014. Effect of puerperal metritis on Holstein cows productive, reproductive variables and culling rates. American Journal of Animal and Veterinary Sciencies. 9(3):162-169.

Janeway Jr CA, Travers P, Walport M, y Shlomchik MJ. Infectious agents and how they cause disease. In: Immunobiology: the immune system in health and disease. New York: Garland Publishing, 2001. p. 382–8.

Sheldon, M., G.S., Lewis, S.,Leblanc, y R.O., Gilbert. 2006. Defining postpartum uterine disease in cattle. Theriogenology. 65: 1516-1530.

Palmer, W.C. 2007. Metritis postparto en vacas lecheras. Taurus. 9 (36): 20-37.

Iwersen, M., y M., Drillich. 2015. Retained fetal membranes in dairy cows. Livestock. 20(3)

Cayul, R., A.A. (2003). Estudio de resistencia a antimicrobianos de uso frecuente en medicina veterinaria, de patógenos bacterianos asilados de metritis bovina en rebaños lecheros de la décima región. (Tesis de licenciatura), Universidad Austral de Chile.

Artavia, N., E. A. (2013). Identificación de microorganismos patógenos intrauterino y su sensibilidad a los antibióticos en vacas con problemas reproductivos post puerperio en finca pasajinak, Tecpán Chimaltenango. (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Nodarse, H.C. 2013. Lectura interpretada del antibiograma. Revista Cubana de Medicina Militar. 42(3); 502-506.

De la Fuente, S.N.M., J.M.P. Villarreal, L.M.A. Díaz, y P.P.A., García., 2015. Evaluación de la actividad de los agentes antimicrobianos ante el desafío de la resistencia bacteriana. Rev Mex Cienc Farm. 46(2).

Sánchez, M., C., González, R., Castañeda, A., Pulido, y H. Guaqueta. 2011. Evaluación citológica y microbiológica de lavados uterinos en bovinos con problemas reproductivos. Rev. MVZ Córdoba 16(3): 2711- 2720.

Fernández, O.A., F.C., García, N.J.A., Sáez, y R.S., Valdezate. 2010. Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Procedimientos en Microbiología Clínica.

Boscan, O.J., N.S., Zambrano, J., Nava, y M.G., Portillo. 2010. Perfil de la flora bacteriana vaginal. Un riesgo potencial para la reproducción de vacas criollo limonero. Revista Científica. 20(3): 227-234.

Méndez, L.C.D., O.A., Góngora, y L.A.L., Gómez. 2014. Aislamiento e identificación de la flora bacteriana uterina en vacas donantes de embriones. ORINOQUIA. 18(1).

López., J.E.L., D.M., Hernández, C.C.A., Colin, P.S., Ortega. G.G., y Ceron, C.R., Franco. 2014. Las tinciones básicas en el laboratorio de microbiología. Investigación en Discapacidad.3 (1): 10-18.

Pérez, M., y M., Mota. 2006. Temas de Bacteriología y Virología Médica.

Urmeneta, B.A., V., Aragón, J.A., Bengoechea, R., Díaz, C., Gamazo, I., García. A., Irigoyen, J., Leiva, L.I., Goñi, T., Marrodan, G., Martínez de Tejada, M.C., Oteiza, I., Romero, M., Rubio, J., Velasco y A., Vitas. 2003. Manual Práctico de Microbiología.

Díaz, R., Gamazo, C., y Lopez-Goñi, I. (1995). Manual práctico de microbiología. Barcelona: Masson.

Koneman, E.W., 1992. *Diagnostico microbiológico: texto y atlas a color*, Argentina. Editorial Médica Panamericana.

Koneman, E., Winn, W., Allen, S., Janda, W., Procop, G., Schreckenberger, P., & Woods, G.. (2008). *Diagnóstico microbiológico: Texto y Atlas en color*, 6th edición. Buenos Aires: Médica Panamericana.

Meléndez, P. 2017. El impacto económico de las enfermedades del ganado en el negocio lechero. El mercurio.

MacFaddin, J.F. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica* 3er edición. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana S.A.

Benavides, R.G., Hermida, A. M. (2008). Aislamiento e identificación de flora bacteriana nativa del suelo de los páramos cruz verde y guasca (tesis de grado licenciatura). Pontificia Universidad Javeriana, facultad de ciencias. Bogotá, D.C.

Borie, C., H., Agüero, M, A., Morales, J., Kruze, B., Leon, B., San Martin. 2004. Etiología de metritis bovina en rebaños lecheros de las regiones v y metropolitana (chile) y resistencia bacteriana frente a diferentes antimicrobianos. Avances en ciencias veterinarias. 19: 23-30.

Vignoli, R., V., Seija. 2006. Principales mecanismo de resistencia antibiótica. Temas de bacteriología y virología. 35: 649-662.

Murray, P., Rosenthal, K. & Pfaller, M. (2014). microbiología médica 7a edición. Barcelona, España.: Elsevier.

13. Anexos

a. Taxonomía de los Roles de Colaborador (con las actividades logradas)

Roles	Definición de los roles	Nombre de él(la) investigador(a)	Figura	Grado de contribución	Actividades logradas durante el proyecto	Tiempo promedio semanal (en horas) dedicado al proyecto
		M en Josefa Imelda Ramos		La contribución al proyecto fue	Se logro todo lo propuesto en el	

		Guevara		a la par de los estudiantes	proyecto y los resultados fueron en beneficio de la empresa	
--	--	---------	--	-----------------------------	---	--

i. Estudiantes participantes en el proyecto

Nombre de estudiante(s)	Matrícula	Tiempo promedio semanal (en horas) dedicado al proyecto	Actividades logradas en la ejecución del proyecto
Irving Raúl Parga Domínguez Cristina Fernanda Becerra Hernández	119147 124608	3 horas diarias por 30 días	Documento que genero la titulación de los dos estudiantes

CONSIDERACIONES:

- Los reportes deben estar escritos en español o en inglés.
- Se debe entregar en formato PDF acorde a este formato.
- El texto debe ser escrito en hoja tamaño carta a espacio y medio, y los márgenes deberán encontrarse al menos a una pulgada (2.54 cm). La totalidad del texto debe escribirse en minúsculas, utilizando las mayúsculas sólo al principio de las oraciones y para los títulos de capítulos.
- Se recomienda usar el tipo de letra Arial tamaño 10 o Times New Roman tamaño 12.
- Todas las páginas deben estar numeradas en secuencia comenzando desde la portada.
- La extensión total del texto es de un mínimo de 10 cuartillas y un máximo de 30 cuartillas, con un interlineado de espacio y medio.
- Integrar en la sección de anexos las tablas y gráficas.
- Las figuras, fotografías y tablas, serán insertadas en el cuerpo del texto y numeradas en forma consecutiva comenzando con 1 y de manera independiente de las tablas. El número y descripción de la figura, tabla, etc., deberá colocarse antes de la misma.

- Se recomienda evitar el uso de sombras y líneas punteadas que no permitan una legibilidad clara de imágenes.
- Las fórmulas y ecuaciones deben hacerse con un editor de ecuaciones como el disponible en el procesador de textos Word. Estarán centradas y separadas del texto. La numeración será consecutiva comenzando con el número 1. El número de la fórmula deberá encerrarse entre paréntesis y colocarse a la derecha de la fórmula lo más cercano posible al margen derecho.
- Las referencias bibliográficas en el texto deben ser en cualquier estilo reconocido como APA, MLA, ISO, etc.
- Los anexos se colocarán al final del documento después de la bibliografía, utilizando caracteres alfabéticos para distinguirlos: Anexo A, Anexo B, etc. La información contenida en los anexos es importante pero no indispensable para la comprensión del trabajo. Se recomienda colocar en los anexos mapas, fotografías, tablas, desarrollos matemáticos, diagramas, etc.
- La Taxonomía de los Roles de Colaborador, incluyendo la explicación de su llenado y las actividades a desarrollar, está disponible en los Términos de Referencia de los Proyectos Sin financiamiento, en el numeral 4.4.1 y en la tabla 1. Se debe integrar la tabla correspondiente en el apartado de los anexos y (en este caso sí deberá llevar los nombres de los investigadores propuestos en cada rol).