



Resumen

La leche es un alimento esencial en la nutrición humana y animal, cuyo valor biológico y económico se ve comprometido por enfermedades como la mastitis bovina, una de las principales causas de pérdidas económicas en la producción láctea. Este estudio evaluó la presencia de mastitis en vacas en ordeño bajo un sistema de manejo semintensivo, mediante un enfoque microbiológico y molecular. Se analizaron 100 vacas, con sintomatologías de mastitis clínica y subclínica. El aislamiento de *Staphylococcus aureus* se realizó utilizando *Agar Baird-Parker*, tinción de Gram y prueba de catalasa. La confirmación molecular se efectuó mediante PCR dirigida a los genes *nucA* y *femB*. El 92,5 % de los aislamientos correspondieron a cocos Gram positivos, descartándose contaminación por bacilos Gram negativos y sugiriendo una etiología específica de mastitis. La amplificación del gen *femB* produjo bandas específicas (650 pb), lo que confirmó la presencia de *Staphylococcus aureus*, mientras que el gen *nucA* presentó resultados inespecíficos, lo que evidenció la necesidad de optimizar las condiciones de la PCR para mejorar la especificidad en la detección, además de implementar métodos de control, como la prueba de California, para detectar de manera temprana y controlar la propagación de *Staphylococcus aureus*, lo que beneficiaría la producción lechera.

Palabras clave

Mastitis bovina; *Staphylococcus aureus*; seguridad alimentaria.

Abstract

Milk is an essential food for human and animal nutrition, whose biological and economic value is compromised by diseases such as bovine mastitis, one of the main causes of economic losses in dairy production. This study evaluated the presence of mastitis in milking cows under a semi-intensive management system using a microbiological and molecular approach. One hundred cows with symptoms of clinical and subclinical mastitis were analyzed. *Staphylococcus aureus* was isolated using Baird-Parker agar, Gram staining, and catalase testing. Molecular confirmation was performed by PCR targeting the *nucA* and *femB* genes. Ninety-two point five percent of the isolates corresponded to Gram-positive cocci, ruling out contamination by Gram-negative bacilli and suggesting a specific etiology of mastitis. Amplification of the *femB* gene produced specific bands (650 bp), confirming the presence of *Staphylococcus aureus*, while the *nucA* gene presented nonspecific results, highlighting the need to optimize PCR conditions to improve detection specificity, in addition to implementing control methods, such as the California test, to detect early and control the spread of *Staphylococcus aureus*, which would benefit dairy production.

Keywords

Bovine mastitis; *Staphylococcus aureus*; food safety.

Direcciones

¹ Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Los Ríos, Ecuador. Email: doris.moncayo2015@uteq.edu.ec; abatista@uteq.edu.ec; mespinozaa3@uteq.edu.ec;

Autor para la correspondencia

Doris Jannela Moncayo Vera. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Los Ríos, Ecuador. Email: doris.moncayo2015@uteq.edu.ec

Como citar

MONCAYO VERA, Doris Jannela, BATISTA CASACO, Aimé Rosario and ESPINOZA ARANA, Marina Alexandra, 2025. Análisis microbiológico y molecular en procesos de mastitis en vacas lecheras. Revista Amazónica. Ciencia y Tecnología. 2025. Vol. 10, no. 2, p. 15–21. DOI 10.59410/RACYT-v10n02ep04-0179.

Editores Académicos

Segundo Valle-Ramírez
Willan Orlando Caicedo Quinche
Ligia Araceli Solís Lucas

Editorial

Editorial de la Universidad Estatal
Amazónica 2025

Copyright:

Derechos de autor 2025 UEA | Revista Amazónica Ciencia y Tecnología
Esta obra está bajo una licencia internacional Creative Commons Atribución 4.0.
Los autores del artículo autorizan a la RACYT a que este artículo se distribuya y sea compartido bajo las condiciones de la Licencia Creative Commons 4.0 (CC-BY 4.0)

1. Introducción

A nivel mundial, la ganadería bovina representa el 40 % de la producción agrícola, por lo que es fundamental para la seguridad alimentaria de aproximadamente 1300 millones de personas. Además, proporciona oportunidades económicas a las familias campesinas a través de la generación de empleo y la reducción de la pobreza (FAO, 2018). Sin embargo, la prevalencia de mastitis en la población

bovina ha aumentado en un 70 %, asociada principalmente a la falta de condiciones higiénicas adecuadas en los procesos de producción (Vayas Castillo, 2021).

La leche es un ambiente favorable para el crecimiento de microorganismos patógenos, que provienen de diversas fuentes en el entorno lechero. Por este motivo, es esencial seguir prácticas sanitarias rigurosas para garantizar tanto la seguridad alimentaria como la

calidad del producto final (Bonilla 1964; Valdivia Avila *et al.*, 2023). Además de las alteraciones de la leche, la mastitis puede provocar la pérdida de la función de la glándula mamaria, causando inflamación y daño tisular debido a la infección, lo que a su vez puede resultar en una reducción en la producción (Mera Andrade *et al.*, 2017).

La mastitis no solo afecta económicamente a los productores, sino que también constituye un riesgo para la salud pública, al ser una posible vía de transmisión zoonótica. Se ha demostrado que *Staphylococcus aureus* es capaz de causar enfermedad en los humanos (Adame-Gómez *et al.*, 2021; Ramírez-Sanmantín *et al.*, 2023). Partiendo de este entorno, el objetivo de este estudio consistió en abordar los procesos de mastitis en vacas lecheras desde un enfoque microbiológico y molecular, buscando impulsar el desarrollo de prácticas y tecnologías más eficientes, que no solo mejoren la salud animal, sino que también reduzcan la dependencia de tratamientos farmacológicos excesivos, con el fin de generar información clave que potencie la productividad y sostenibilidad del sector agrícola.

2. Materiales y métodos

2.1. Área de estudio

La investigación se realizó en el cantón San Miguel de los Bancos, 0° 01' 23" de latitud norte y 78° 53' 31" de longitud sur. La zona presenta un clima húmedo con 19,1 °C de temperatura media, 92,37 % de humedad relativa y 3833 mm de precipitación anual. Los análisis microbiológico y molecular se desarrollaron en el laboratorio de microbiología del Campus Experimental "La María", de la UTEQ, situado en el km 7,5 de la Vía Quevedo-El Empalme, en la provincia de Los Ríos, Ecuador.

2.2. Selección de la muestra

El estudio se basó en un enfoque observacional retrospectivo, donde se incluyeron 100 vacas en ordeño, con sintomatologías de mastitis clínica y subclínica. Las vacas se distribuyeron en una finca con un sistema de manejo semintensivo.

2.2.1. Detección de mastitis

La presencia de mastitis subclínica se determinó mediante la prueba de California, aplicada antes del ordeño tras descartar los primeros chorros de leche. Se tomaron muestras de aproximadamente 2 ml de leche, a las que se les añadió una cantidad similar del reactivo utilizado en el California Mastitis Test (CMT), siguiendo el procedimiento descrito por Barnum y Newbould (1961).

2.2.2. Recolección de la muestra

Las muestras fueron recolectadas de la secreción láctea obtenida de cada uno de los cuartos mamarios de los animales. Para el proceso, se utilizaron tubos de Falcon estériles para almacenar las muestras, que se colocaron en un recipiente térmico a 10 °C y luego se transportaron al laboratorio de la UTEQ para su análisis y evaluación (Sánchez-Ceja *et al.*, 2018).

2.3. Análisis de laboratorio

2.3.1. Detección de mastitis

Se utilizó el *Agar Baird-Parker*, específico para *Staphylococcus aureus*, para observar las características morfológicas de las colonias, siguiendo los procedimientos establecidos por VALTEK S.A (2011).

2.3.2. Tinción de Gram

Para preparar el frotis bacteriano, se tomó una colonia con un asa de inoculación y se distribuyó sobre un portaobjetos. La muestra fue fijada por calor y luego se tiñó con cristal violeta durante 30 s, eliminando el exceso del colorante. Después, se aplicó lugol durante 1 min, se decoloró con etanol al 95 % por 20 s y se lavó con agua. Finalmente, se añadió safranina como colorante de contraste, se dejó actuar durante 1 min y se enjuagó. La observación se realizó bajo el microscopio con aumentos de 40 x y 100 x (Baiu, Al-Abdli, 2016).

2.3.3. Prueba de catalasa

Con un asa de inoculación, se transfirió una colonia bacteriana a un portaobjetos, sobre el que se aplicaron gotas de peróxido de hidrógeno al 3 %. La reacción fue evaluada observando la generación de burbujas de oxígeno. La aparición de estas burbujas indicó la presencia de actividad catalasa en la muestra (Wanger *et al.*, 2017).

2.4. Amplificación de genes *nucA*, *femB*

Para amplificar el gen *nucA*, se utilizaron los *primers* *nucA1* (5' GCG ATT GAT GGT GAT ACG GTT 3') y *nucA2* (5' AGC CAA GCC TTG ACG AAC TAA AGC 3'). El protocolo consistió en realizar 10 repeticiones iniciales con las siguientes condiciones: 94 °C por 40 s, 68 °C por 40 s y 72 °C por 1 min, seguido de 25 ciclos con 94 °C por 1 min, 58 °C por 1 min y 72 °C por 2 min, terminando con una extensión final a 72 °C por 10 min.

Para amplificar el gen *femB*, se emplearon los *primers* *FemB1* (5' TTA CAG AGT TAA CTG TTA CC 3') y *FemB2* (5' ATA CAA ATC CAG CAC, GCT CT 3'). El ciclo comenzó con una desnaturalización inicial a 94 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos a 94 °C por 45 s, 50 °C por 45 s, y 72 °C por 60 s, con una extensión final a 72 °C durante 5 min. La mezcla de reacción contenía 1X de buffer, 1,5 mM de MgCl₂, 1 U de Taq DNA

polimerasa, 10 nM de *primers forward* y *reverse*, 200 µM de dNTP's, menos de 1 µg de ADN de muestra, y agua molecular para completar un volumen de 25 µL. Se utilizaron controles positivos (*Staphylococcus aureus* ATCC 43300 y *Staphylococcus aureus* 29213) y control negativo (*Staphylococcus epidermidis* ATCC 35983). Los productos amplificados fueron separados en geles de agarosa al 1 % a 80 V, teñidos con bromuro de etidio (10 mg/mL), y visualizados usando un transiluminador Bio Rad (Hamdan-Partida *et al.*, 2015).

2.5. Identificación molecular de *Staphylococcus aureus*

Se centró la muestra mediante centrifugación del cultivo puro y luego se extrajo el ADN siguiendo procedimientos estándar, utilizando 100 mg del sedimento de leche. La concentración y pureza del ADN se evaluaron con un espectrofotómetro NanoDrop, mientras que su integridad se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %. Las condiciones para la PCR, empleando los *primers* NucA1/NucA2 y FemB1/FemB2 para la detección de *Staphylococcus aureus*, se presentan en la **Tabla 1**, con ajustes realizados conforme a la bibliografía y las recomendaciones del inserto de 2x Blastaq PCR Taq MasterMix. Los productos obtenidos de la PCR se analizaron mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1 % (Hamdan-Partida *et al.*, 2015).

Tabla 1 | Condiciones de PCR

Fragmento		Temperatura, °C	Tiempo, s
NucA	Desnaturalización inicial	94,0	180
	Descentralización	94,0	40
	Annealing	68,0	40
	Extensión	72,0	60
	Pasos (25 ciclos)		
	Desnaturalización	94,0	60
	Annealing	58,0	60
	Extensión	72,0	120
	Extensión final	72,0	300
	Pasos (30 ciclos)		
FemB	Desnaturalización inicial	94,0	300
	Desnaturalización	94,0	45
	Annealing	55,0 ± 6	15
	Extensión	72,0	15
	Extensión final	72,0	180

3. Resultados y discusión

3.1. Presencia de colonias de *Staphylococcus aureus* a través de medio moderadamente selectivo (Agar Baird-Parker).

En la **Figura 1** se aprecia una tonalidad violeta en la periferia de la célula, lo que evidencia una pared celular rica en peptidoglicano, característica distintiva de *Staphylococcus aureus* como bacteria Gram positiva. En agar sangre de carnero, se observaron

colonias de aspecto cremoso con hemólisis beta. La tinción de Gram reveló la presencia de cocos Gram positivos, con morfología típica del género *Staphylococcus*, similar a lo reportado por Sagbay Díaz *et al.* (2024), quienes investigaron bacterias aisladas de leche bovina de vacas con mastitis tratadas con compuestos derivados del ozono. Identificaron una alta frecuencia de cocos Gram positivos como agentes etiológicos: *Staphylococcus aureus* (29,09 %), *Staphylococcus coagulasa* negativos (11,75 %), *Streptococcus agalactiae* (0,60 %) y *Corynebacterium pyogenes* (0,12 %), lo que coincide con los hallazgos de Pasachova Garzón *et al.* (2019), quien también clasificó a *Staphylococcus aureus* como un coco Gram positivo, dispuesto en racimos, con hemólisis β y reacciones positivas a catalasa y coagulasa.

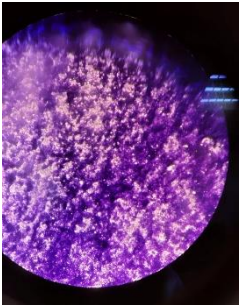


Figura 1 | Prueba de tinción de Gram para *Staphylococcus aureus*

La bacteria observada tiene la forma de cocos Gram positivos y se determinó que el 92,5 % de los aislamientos correspondían a cocos Gram positivos en racimos, catalasa positiva, oxidasa negativa y coagulasa positiva, lo que respalda la identificación de *Staphylococcus* spp. (**Figura 2**). La ausencia de bacilos Gram negativos en el cultivo descartó que la mastitis en las vacas estudiadas estuviera causada por contaminación fecal en el establo o por un manejo inadecuado de las muestras. Esto sugiere que los agentes patógenos involucrados están específicamente relacionados con la mastitis bovina (Calderón y Rodríguez, 2008).

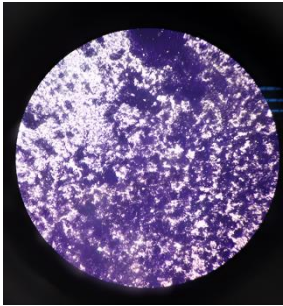


Figura 2 | *Staphylococcus aureus* mediante la prueba de tinción de Gram

La Figura 3, presentó una reacción catalasa positiva, caracterizada por la formación de burbujas en racimos de diferentes tamaños, de color gris, con un centro blanco en cada burbuja. Esta reacción permitió una clara diferenciación de las cepas coagulasa positivas.

En términos generales, según (VALTEK S.A 2011) la muestra inicial estuvo parcialmente inhibida debido a las altas concentraciones de litio, glicina y piruvato presentes en la composición del *Agar Baird Parker*. Además, se verificó que casi el 100 % de los estafilococos coagulasa positivos son capaces de reducir el telurito, formando colonias negras, a diferencia de otros estafilococos que no siempre presentan esta característica (Sagbay Díaz *et al.*, 2024).

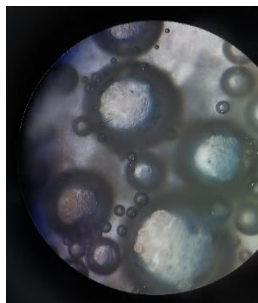


Figura 3 | Prueba de catalasa

De acuerdo con Restrepo *et al.* (2021) *Staphylococcus aureus* puede presentar una capacidad reduccional débil, especialmente en la leche de animales con mastitis (infección mamaria), creando un ambiente favorable para el crecimiento de microorganismos debido a su composición rica en nutrientes. La presencia de coagulasa positiva y actividad catalasa son características distintivas de *Staphylococcus aureus*, aunque es importante señalar que algunas variaciones en estas propiedades pueden ocurrir bajo diferentes condiciones de crecimiento en distintos tipos de muestras (Duquesne Alderete *et al.*, 2015).

En la **Figura 4**, se observó un burbujeo intenso como resultado de la producción de oxígeno al agregar unas gotas de peróxido de hidrógeno sobre la bacteria. Este fenómeno permitió diferenciar las colonias aisladas, que compartían características macroscópicas similares en el medio en que crecieron (Castañeda-Vázquez *et al.* 2020). El intenso burbujeo indicó la actividad de la enzima catalasa, lo cual es un criterio fundamental en la identificación de diversos microorganismos, dependiendo de la morfología tanto macroscópica como microscópica de las colonias. Sin embargo, en el estudio de Torreglosa *et al.* (2022), se encontró que la prueba de catalasa fue negativa; al mezclar las bacterias con peróxido de hidrógeno, la enzima catalasa, que se encuentra en la mayoría de las bacterias aeróbicas y anaeróbicas que poseen citocromo oxidasa, no mostró actividad, lo que confirmó la presencia de *Staphylococcus aureus* en 12 muestras, que corresponden al 42 % de las muestras positivas a mastitis subclínica.



Figura 4 | *Staphylococcus aureus* mediante la producción de oxígeno

3.2. *Staphylococcus aureus* con la amplificación de los genes *nucA*, *femA* a través de técnica PCR.

La amplificación por PCR de dos genes marcadores específicos para *Staphylococcus aureus* en el fragmento FemB resultó en una única banda de aproximadamente 650 pb, lo que confirma que la muestra analizada corresponde al género *Staphylococcus* spp. Se obtuvo ADN de alta calidad para el proceso de amplificación y, tras la electroforesis horizontal, se observaron las bandas correspondientes a los fragmentos NucA (270 pb) y FemB (651 pb). En el fragmento NucA, se observaron bandas inespecíficas (**Figura 5**), mientras que en FemB se visualizó claramente una banda de aproximadamente 65 pb.

Se realizó una PCR *Staphylococcus aureus* amplificando los genes *nucA* y *femA*, con la técnica de PCR para estos dos genes marcadores específicos. El fragmento FemB mostró una sola banda de aproximadamente 650 pb, lo que confirma que la muestra pertenece al género *Staphylococcus* spp. En el fragmento NucA se observaron ampliaciones inespecíficas de alrededor de 50 pb y 150 pb, mientras que para FemB se visualizó una banda de aproximadamente 650 pb. Los resultados obtenidos fueron similares a los reportados por Gómez-Gamboa *et al.* (2016), quienes realizaron una PCR dirigida a los genes *nucA* (270 pb) y *femB* (651 pb) en aislamientos de *Staphylococcus aureus* provenientes de superficies hospitalarias. El carril 1 correspondió al marcador de peso molecular (PM), el carril 2 a la cepa control positivo, el carril 3 al control negativo y los carriles del 4 al 9 mostraron bandas correspondientes a cepas positivas para *nucA*. Las cepas positivas para *femB* se visualizaron en los carriles del 12 al 20.

Otros estudios, como el de Adame-Gómez *et al.* (2021), ratifican haber empleado los genes *nucA* y *FemA* para confirmar la presencia de *Staphylococcus aureus*, detectando tres muestras positivas para esta bacteria. Las cepas coagulasa positivas con presencia del gen *nucA* también contenían *femB*, mientras que aquellas coagulasas positivas sin *nucA* (67F y 527F) tampoco presentaron *femB*. Asimismo, las cepas coagulasa negativas con detección de *nucA* (12F y 287N) no mostraron amplificación del gen *femB*.

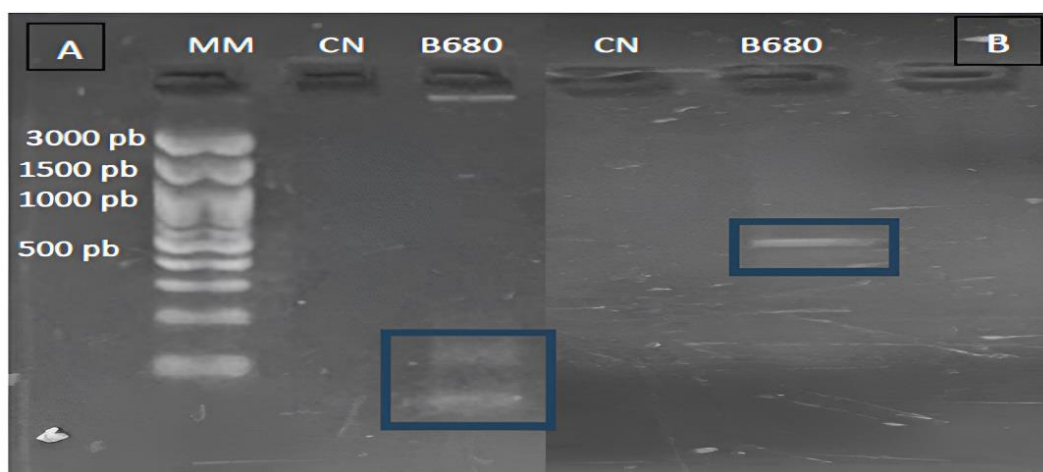


Figura 5 | *Staphylococcus aureus* mediante la producción de oxígeno. A) Ampliaciones de aproximadamente 50 y 150 pb (inespecíficos) para el fragmento NucA. B) Ampliación de alrededor de 650 pb para el fragmento FemB (MM=Marcador de peso molecular, CN= Control negativo)

Estos resultados son coincidentes con los datos registrados de Guzmán-Rodríguez *et al.* (2021), quienes concluyeron que no se identificaron cepas coagulasa negativas ni cepas coagulasa positivas distintas de *Staphylococcus aureus* que presentaran simultáneamente los genes *nucA* y *femB*. Por lo tanto, la presencia simultánea de estos dos genes se considera un marcador específico de esta bacteria.

4. Conclusiones

El *Staphylococcus aureus* es el principal agente etiológico de la mastitis bovina en producción semintensiva. Su persistencia se debe más a su capacidad de adaptarse al entorno mamario que a

problemas en el manejo externo. La detección a través del gen *femB* ha demostrado ser efectiva, mientras que las inconsistencias observadas con *nucA* ponen en manifiesto las limitaciones en la especificidad de la PCR, resaltando la necesidad de mejorar y estandarizar los protocolos de diagnóstico. Este estudio no solo proporciona evidencia sobre la prevalencia de *Staphylococcus aureus*, sino que también cuestiona la fiabilidad de las herramientas moleculares que se utilizan con frecuencia, lo que subraya la importancia de contar con diagnósticos precisos para controlar de manera efectiva esta enfermedad y mitigar su impacto en la producción de leche.

Agradecimientos

Deseamos expresar nuestro profundo agradecimiento a la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y al equipo del Laboratorio de Microbiología por su invaluable apoyo en la ejecución de este estudio. Su colaboración y asistencia fueron fundamentales para el progreso de esta investigación, brindándonos los recursos y el entorno adecuado para realizar los experimentos y análisis. Apreciamos especialmente su dedicación y profesionalismo, que fueron determinantes para alcanzar los objetivos planteados en este trabajo.

Contribuciones de los autores

Doris Jannela Moncayo Vera: Conceptualizó la información, recolectó los datos e interpretó los resultados obtenidos.

Aimé Rosario Batista Casaco: Realizó la revisión crítica del artículo, supervisó las metodologías empleadas y validó los resultados.

Marina Alexandra Espinoza Arana: Redactó y editó el manuscrito, asegurando la claridad y coherencia del texto.

Conflicto de intereses de los autores

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

5. Referencias

ADAME-GÓMEZ, Roberto, TORIBIO-JIMENEZ, Jeiry, CASTRO-ALARCÓN, Natividad, TALAVERA-

ALARCÓN, Karina, FLORES-GAVILAN, Jacqueline, PINEDA-RODRÍGUEZ, Sandra Alheli & RAMÍREZ-PERALTA, Arturo. 2021. Diversidad genética y factores de virulencia de cepas de *Staphylococcus*

- aureus* aisladas de la piel de ubre bovina. *Revista Mexicana De Ciencias Pecuarias*. 1 July 2021. Vol. 12, no. 3, p. 665–680. DOI 10.22319/rmcp.v12i3.5646. Available from: <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/5646>.
- BAIU, Saleh & AL-ABDLI, Nadia E. 2016. Inducible Clindamycin Resistance in Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. *American Journal of Infectious Diseases and Microbiology*. 2016. Vol. 4, no. 1, p. 25–27. DOI 10.12691/ajidm-4-1-5. Available from: <https://pubs.sciepub.com/ajidm/4/1/5>
- BARNUMT, D & NEWBOULDT, F. 1961. The use of the california mastitis test for the detection of bovine mastitis. *The Canadian Veterinary Journal*. March 1961. Vol. 2, no. 3, p. 83–90. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC1585631/>.
- BONILLA ARENAS, Jaime. 1964. La importancia de la leche y algunas recomendaciones, para el mejoramiento del ganado lechero. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*. Online. 1964. Vol. 27, no. 127, p. 1082–1085. Available from: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/remez/article/view/67386/62135>.
- CALDERON, Alfonso & RODRÍGUEZ, Virginia. 2008. 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*. Online. November 2008. Vol. 21, no. 4, p. 582–589. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccp/v21n4/v21n4a06.pdf>.
- CASTAÑEDA-VÁZQUEZ, Hugo, PADILLA-RAMÍREZ, Francisco, CASTAÑEDA-VÁZQUEZ, Martha, CAMACHO-PALAFOX, Jose & SALAS-CASTAÑEDA, Erika. 2020. Variación genética de *Staphylococcus aureus* causante de mastitis en vacas lecheras en Jalisco. *Abanico Veterinario*. 2020. Vol. 10, p. 1–15. DOI 10.21929/abavet2020.21. Available from: <https://abanicoacademico.mx/revistasabanico/index.php/abanico-veterinario/article/view/270>.
- DUQUESNE ALDERETE, Amilcar, CASTRO SÁNCHEZ, Niria, MONZOTE LÓPEZ, Alexis, PAREDES, Issax, RODRÍGUEZ, Fructuoso, MÁRQUEZ, Juan Manuel, & TURCIOS LIMA, Luis Augusto. 2015. Isolation Characterization of Community *Staphylococcus Aureus* in Purulent Samples. *Revista Cubana de Medicina General Integral*. 2015. Vol. 31, no. 3, p. 295–307. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21252015000300004.
- GÓMEZ-GAMBOA, Liliana, NÚÑEZ-CHACÍN, Daniela, PEROZO-MENA, Armindo, BERMÚDEZ-GONZÁLEZ, José & MARÍN, Milagros. 2016. *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple a los antibióticos (MDR) en un Hospital de Maracaibo-Venezuela. *Kasmera*. June 2016. Vol. 44, no. 1, p. 53. Available from: <https://ve.scielo.org/pdf/km/v44n1/art08.pdf>.
- GUZMÁN-RODRÍGUEZ, Jaqueline Julia, SALINAS-PÉREZ, Estefanía, LEÓN-GALVÁN, Fabiola, BARBOZA-CORONA, José Eleazar, VALENCIA-POSADAS, Mauricio, ÁVILA-RAMOS, Fidel, HERNÁNDEZ-MARÍN, José Antonio, RAMÍREZ-SAENZ, Diana & GUTIÉRREZ-CHÁVEZ, Abner Josué. 2021. Relación entre la resistencia a antibióticos y la producción de biofilm de aislados de *Staphylococcus aureus* provenientes de mastitis bovina. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. Vol. 12, no. 4, p. 1117–1132. DOI 10.22319/rmcp.v12i4.5645. Available from: <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/5645>.
- HAMDAN-PARTIDA, Aida, GONZÁLEZ GARCÍA, Samuel & BUSTOS-MARTÍNEZ, Jaime. 2015. Identificación de *Staphylococcus aureus* utilizando como marcadores los genes *nucA* y *femB*. *Ciencias Clínicas*. July 2015. Vol. 16, no. 2, p. 37–41. DOI 10.1016/j.cc.2016.02.002. Available from: <https://www.elsevier.es/es-revista-ciencias-clinicas-399-articulo-identificacion-staphylococcus-aureus-utilizando-como-S166513831600015X>.
- MERA ANDRADE, R, MUÑOZ ESPINOZA, M, ARTIEDA ROJAS, J, ORTÍZ TIRADO, P, GONZÁLEZ SALAS, R & VEGA FALCÓN, V. 2017. Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. *Revista Electrónica de Veterinaria*. Online. November 2017. Vol. 18, no. 11, p. 1–16. Available from: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653574004.pdf>.
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO). 2018. El papel de la FAO en la producción animal 2018. Available from: <https://www.fao.org/animal-production/es/>.
- PASACHOVA GARZÓN, J, RAMIREZ MARTINEZ, S & MUÑOZ MOLINA, L. 2019. *Staphylococcus aureus*: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular. *Nova*. Online. 2019. Vol. 17, no. 32, p. 25–38. Available from: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702019000200025.
- RAMÍREZ-SANMANTÍN, Natacha, RODRIGO-SAA, Luis, LOBO-RIVERO, Evelyn, PÉREZ-CASTILLO, Anisleidy & PERCEDO-ABREU, María Irian. 2023.

Etiología de la Mastitis bovina en Zamora-Chinchipe, Ecuador. *Revista de Producción Animal*. Online. September 2023. Vol. 35, no. 2. Available from: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpa/v35n2/2224-7920-rpa-35-02-59.pdf>.

RESTREPO, Juan, ORTIZ, Luisa, CARDONA, Ximena & OLIVERA, Martha. 2012. Evaluación de la sensibilidad y especificidad del diagnóstico molecular del *Staphylococcus aureus* en leche de vacas afectadas por mastitis. *Biosalud*. Online. December 2012. Vol. 11, no. 2, p. 40–51. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/biosa/v11n2/v11n2a05.pdf>.

SAGBAY DÍAZ, Cristhian, RODRIGO SAA, Luis, GARNICA MARQUINA, Froilán Patricio, ESPADERO BERMEJO, Mónica Judith & PERIS RIBERA, Cristófol. 2024. Estudio microbiológico de la leche en cabras con mastitis subclínica en dos áreas geográficas de Ecuador. *Revista de Salud Animal*. Vol. 46, p. 1–10. Available from: <https://cu-id.com/2248/v46e10>.

SÁNCHEZ-CEJA, Mónica, ARCEO-MARTÍNEZ, María Teresa, SANDOVAL-FLORES, María Guadalupe, ALVA-MURILLO, Patricia Nayeli, JIMÉNEZ-MEJÍA, Rafael & LOEZA-LARA, Pedro Damián. 2018. Uso de nisina y quitosano para la inhibición de *Staphylococcus aureus* resistente a antibióticos y asociado a mastitis bovina. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias*. 1 October 2018. Vol. 9, no. 4, p. 792–810. DOI 10.22319/rmcp.v9i4.4468. Available from: <https://cienciaspecuarias.inifap.gob.mx/index.php/Pecuarias/article/view/4468>.

TORREGLOSA ANAYA, Francisco José, RUIZ CORREA, Cristina Margarita, BARRERA, Luis Ernesto, DEL VALLE MORENO, Ricardo Javier &

CHAVARRO TULCÁN, Ginette Isabel. 2022. Diseño de un microscopio de fluorescencia para conteo de células somáticas en ejemplares bovinos. *Revista Integra*. Online. 2022. Vol. 13, p. 37–55. Available from:

<https://revistas.sena.edu.co/index.php/int/article/view/5000>.

VALDIVIA AVILA, Aymara, RUBIO FRONTANILLS, Yasmery & CAMACHO CAMPOS, Conrado. 2023. Mastitis bovina un reto para la producción lechera. *Revista de Producción Animal*. Online. September 2023. Vol. 35, no. 2. Available from: <https://rpa.reduc.edu.co/index.php/rpa/article/view/e4538>.

VALTEK DIAGNOSTICS. 2011. Agar Baird-Parker. Available from: <https://valtek.cl/wp-content/uploads/2024/11/Agar-Baird-Parker-Valtek-1.pdf> [Accessed 25 March 2025].

VAYAS CASTILLO, Gabriela Margarita. 2021. Influencia económica de la mastitis en tres ganaderías de la provincia de Chimborazo período 2014-2016. (Tesis de pregrado). Repositorio Institucional: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Available from: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/14511/1/20T01370.pdf>.

WANGER, Audrey, CHAVEZ, Violeta, HUANG, Richard S.P., WAHED, Amer, ACTOR, Jeffrey K. and DASGUPTA, Amitava, 2017. Biochemical Tests and Staining Techniques for Microbial Identification. In: *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology*. Elsevier. p. 61–73. DOI B978-0-12-805351-5.00005-3. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/monograph/abs/pii/B9780128053515000053?via%3Dihub>.