

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI



FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

**“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE PROBLEMAS
RESPIRATORIOS EN CUYES DEL CANTÓN LATACUNGA”**

Proyecto de investigación presentado previo a la obtención del Título
de Médica Veterinaria.

Autora:

Ayala Heredia Karla Aracelly

Tutora:

Herrera Yunga Vanessa del Rosario

LATACUNGA – ECUADOR

Agosto 2024

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Ayala Heredia Karla Aracelly con cédula de ciudadanía No. 1727988337, declaro ser autora del presente Proyecto de Investigación “**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE PROBLEMAS RESPIRATORIOS EN CUYES DEL CANTÓN LATACUNGA**”, siendo la Médica Veterinaria Zootecnista, Mtr. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Tutora del presente trabajo; y, eximo expresamente a la Universidad Técnica de Cotopaxi y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además, certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Latacunga, 13 de agosto del 2024



Karla Aracelly Ayala Heredia
C.C: 1727988337
ESTUDIANTE

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparecen a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebran de una parte **AYALA HEREDIA KARLA ARACELLY**, identificada con cédula de ciudadanía **1727988337** de estado civil soltera, a quien en lo sucesivo se denominará **LA CEDENTE**; y, de otra parte, la Doctora Idalia Eleonora Pacheco Tigselema, en calidad de Rectora, y por tanto representante legal de la Universidad Técnica de Cotopaxi, con domicilio en la Av. Simón Rodríguez, Barrio El Ejido, Sector San Felipe, a quien en lo sucesivo se le denominará **LA CESIONARIA** en los términos contenidos en las cláusulas siguientes:

ANTECEDENTES: CLÁUSULA PRIMERA. - **LA CEDENTE** es una persona natural estudiante de la carrera de Medicina Veterinaria, titular de los derechos patrimoniales y morales sobre el trabajo de grado “**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE PROBLEMAS RESPIRATORIOS EN CUYES DEL CANTÓN LATACUNGA**”, la cual se encuentra elaborada según los requerimientos académicos propios de la Facultad; y, las características que a continuación se detallan:

Historial Académico

Inicio de la carrera: Mayo - Septiembre 2020

Finalización de la carrera: Abril – Agosto 2024

Aprobación en Consejo Directivo: 29 de febrero del 2024

Tutora: MVZ. Vanessa del Rosario Herrera Yunga, Mtr.

Tema: “**IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE PROBLEMAS RESPIRATORIOS EN CUYES DEL CANTÓN LATACUNGA**”

CLÁUSULA SEGUNDA. - **LA CESIONARIA** es una persona jurídica de derecho público creada por ley, cuya actividad principal está encaminada a la educación superior formando profesionales de tercer y cuarto nivel normada por la legislación ecuatoriana la misma que establece como requisito obligatorio para publicación de trabajos de investigación de grado en su repositorio institucional, hacerlo en formato digital de la presente investigación.

CLÁUSULA TERCERA. - Por el presente contrato, **LA CEDENTE** autoriza a **LA CESIONARIA** a explotar el trabajo de grado en forma exclusiva dentro del territorio de la República del Ecuador.

CLÁUSULA CUARTA. - **OBJETO DEL CONTRATO:** Por el presente contrato **LA CEDENTE**, transfiere definitivamente a **LA CESIONARIA** y en forma exclusiva los siguientes derechos patrimoniales; pudiendo a partir de la firma del contrato, realizar, autorizar o prohibir:

- a) La reproducción parcial del trabajo de grado por medio de su fijación en el soporte informático conocido como repositorio institucional que se ajuste a ese fin.
- b) La publicación del trabajo de grado.
- c) La traducción, adaptación, arreglo u otra transformación del trabajo de grado con fines académicos y de consulta.
- d) La importación al territorio nacional de copias del trabajo de grado hechas sin autorización del titular del derecho por cualquier medio incluyendo mediante transmisión.

Cualquier otra forma de utilización del trabajo de grado que no está contemplada en la ley como excepción al derecho patrimonial.

CLÁUSULA QUINTA. - El presente contrato se lo realiza a título gratuito por lo que **LA CESIONARIA** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **LA CEDENTE** declara que no existe obligación pendiente a su favor.

CLÁUSULA SEXTA. - El presente contrato tendrá una duración indefinida, contados a partir de la firma del presente instrumento por ambas partes.

CLÁUSULA SÉPTIMA. - CLÁUSULA DE EXCLUSIVIDAD. - Por medio del presente contrato, se cede en favor de **LA CESIONARIA** el derecho a explotar la obra en forma exclusiva, dentro del marco establecido en la cláusula cuarta, lo que implica que ninguna otra persona incluyendo **LA CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA. - LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS. - **LA CESIONARIA** podrá licenciar la investigación a terceras personas siempre que cuente con el consentimiento de **LA CEDENTE** en forma escrita.

CLÁUSULA NOVENA. - El incumplimiento de la obligación asumida por las partes en la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

CLÁUSULA DÉCIMA. - En todo lo no previsto por las partes en el presente contrato, ambas se someten a lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, Código Civil y demás del sistema jurídico que resulten aplicables.

CLÁUSULA UNDÉCIMA. - Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad. El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 13 días del mes de agosto del 2024.



Karla Aracelly Ayala Heredia

LA CEDENTE

Dra. Idalia Pacheco Tigselema, Ph.D.

LA CESIONARIA

AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad de Tutora del Proyecto de Investigación sobre el título:

“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE PROBLEMAS RESPIRATORIOS EN CUYES DEL CANTÓN LATACUNGA”, de Ayala Heredia Karla Aracelly, de la carrera de Medicina Veterinaria, considero que el presente trabajo investigativo es merecedor del Aval de aprobación al cumplir las normas, técnicas y formatos previstos, así como también ha incorporado las observaciones y recomendaciones propuestas en la Pre-defensa.

Latacunga, 13 de agosto del 2024



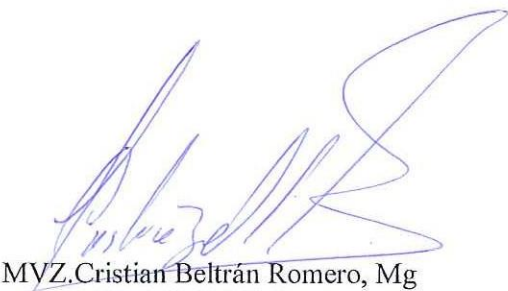
MVZ. Vanessa Herrera Yunga, Mtr.
C.C: 1103758999
DOCENTE TUTORA

AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

En calidad del tribunal de lectores, aprobamos el presente Informe de Investigación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Cotopaxi; y, por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; por cuanto, la postulante: Ayala Heredia Karla Aracelly , con el título del Proyecto de Investigación: **“IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE PROBLEMAS RESPIRATORIOS EN CUYES DEL CANTÓN LATACUNGA”** ha considerado las recomendaciones emitidas oportunamente y reúne los méritos suficientes para ser sometido al acto de sustentación del trabajo de titulación.

Por lo antes expuesto, se autoriza grabar los archivos correspondientes en un CD, según la normativa institucional.

Latacunga, 13 de agosto del 2024



MVZ. Cristian Beltrán Romero, Mg
CC: 0501942940
LECTOR 1 (PRESIDENTE)



Dra. Elsa Janeth Molina Molina, Mg
CC: 0502409634
LECTOR 2 (MIEMBRO)



Dra. Patricia Marcela Andrade Aulestia, Mg
CC: 0502237555
LECTOR 3 (MIEMBRO)

AGRADECIMIENTO

Quiero expresar mi agradecimiento a Dios, quien ha sido mi guía en este desafiante camino hacia la culminación de mi carrera. Su luz me ha brindado la fortaleza necesaria para superar los obstáculos. A mis padres, Carlos y Liliana, les debo un profundo reconocimiento por su apoyo incondicional. Su amor y dedicación me han impulsado a alcanzar mis metas y a no rendirme ante las dificultades.

A mi Tutora académica Vanessa Herrera quien fue una guía durante la elaboración de esta investigación y una gran mentora, su apoyo a sido fundamental porque me ayudo a definir el enfoque de mi trabajo.

A todos quienes formaron parte de esta investigación y hicieron posible este logro en mi vida académica.

Karla Aracelly Ayala Heredia

DEDICATORIA

Este proyecto e investigación están dedicados con mucho cariño a mis padres, abuelos, y hermanas, quienes son pilares fundamentales en mi vida. Su apoyo incondicional, amor y esfuerzo han sido esenciales para que pueda culminar mi carrera académica. Gracias a ellos, he tenido la oportunidad de formarme como profesional y alcanzar mis metas. Su dedicación y sacrificio son la base de mis logros, y siempre llevaré su legado en mi corazón.

A mis abuelos, José y Clara, agradezco su amor y su presencia en los momentos difíciles. Su sabiduría ha sido un refugio en mis momentos de mas difíciles durante mi travesía académica.

A mis hermanas, Emily y Lily, gracias por llenar mi vida de alegría y ser una fuente constante de motivación.

Finalmente, recuerdo a mi estrella en el cielo, quien siempre me inspira y me da fuerzas para seguir adelante. Su memoria vive en mí y me impulsa a luchar por mis sueños.

Karla Aracelly Ayala Heredia

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES

TÍTULO: “IDENTIFICACIÓN DE BACTERIAS CAUSANTES DE PROBLEMAS RESPIRATORIOS EN CUYES DEL CANTÓN LATACUNGA”

Autora:

Karla Aracelly Ayala Heredia

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo identificar las bacterias causantes de problemas respiratorios en cuyes del cantón Latacunga a partir de la aplicación de un protocolo de aislamiento bacteriano y pruebas bioquímicas. Para lo cual se estudiaron 53 muestras provenientes de tráquea, pulmón y secreción nasal, ejecutando un análisis microbiológico de aislamiento de bacterias gram positivas, bacterias gram negativas para la identificación se realizaron pruebas bioquímicas. Los resultados evidenciaron la prevalencia de bacterias gram positivas y gram negativas en 21 muestras correspondientes a *Staphylococcus spp* (39,62%); *Klebsiella spp* 8 muestras (15,09%); *Streptococcus spp* 6 muestras (11,32%); *Proteus spp* 5 muestras (9,43%); *Pasteurella spp* 4 muestras (7,54%); con un total de 3 muestras las bacterias *Bacillus spp* y *E.coli spp* (5,66%); finalmente muestras las bacterias *Actinomyces spp*, *Trueperella spp* y *Citrobacter spp* (1,88%). En cuanto a la presencia de infecciones bacterianas mono infección fueron 18(33,96%) *Staphylococcus spp*; infección Mixta 14 (26,41%) *Staphylococcus spp* y *Klebsiella spp*; infección múltiple 21 (39,62%) *Staphylococcus spp* *Proteus spp*, *E.coli spp* su interacción sinérgica entre estos patógenos puede intensificar la severidad de las infecciones. Se destaca la prevalencia en gran mayoría de la bacteria gram positiva *Staphylococcus spp* en un 65,62% y la bacteria gram negativa *Klebsiella spp* con un 38,09% dentro de las cuales se les considera como agente oportunistas a *Citrobacter spp*, *Acynomices spp* con un 1,88%. Agentes propios del tracto digestivo, los cuales, al debilitarse el sistema inmunológico, pueden penetrarse en los tejidos y diseminarse en el tracto respiratorio.

Palabras clave: protocolo bacteriano, agente etiológico, aislamiento, pruebas bioquímicas

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI
FACULTY OF AGRICULTURAL
AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES

Theme: “IDENTIFICATION OF BACTERIA CAUSING RESPIRATORY PROBLEMS IN GUINEA PIGS IN LATACUNGA CANTON.”

Author:

Karla Aracelly Ayala Heredia

ABSTRACT

This research aimed to identify the bacteria that cause respiratory problems in guinea pigs in the Latacunga canton by applying a protocol of bacterial isolation and biochemical bacterial isolation and biochemical tests. For this purpose, 53 samples from the trachea, lung, and nasal secretion were studied, executing a microbiological analysis of isolation of gram-positive bacteria, gram-negative bacteria for the gram-negative bacteria for identification, and biochemical tests were carried out. Results showed the prevalence of gram-positive and gram-negative bacteria in 21 samples corresponding to Staphylococcus spp (39.62%); Klebsiella spp eight samples (15.09%); Streptococcus spp six samples (11.32%); Proteus spp five samples (9.43%); Pasteurella spp four samples (7.54%); with a total of 3 samples Bacillus spp. Bacillus spp and E.coli spp had three samples (5.66%); finally, samples Actinomyces spp, Trueperella spp, and Citrobacter spp (1.88%). As for the presence of mono-infection bacterial infections were 18(33,96%) Staphylococcus spp; mixed infections, 14 (26,41%) Staphylococcus spp and Klebsiella spp; multiple infections, 21 (39,62%) Staphylococcus spp Proteus spp, E. coli spp. Their synergistic interaction between these pathogens can intensify the severity of infections. Prevalence of gram-positive Staphylococcus spp in a large majority (65.62%). spp with 65.62% and the gram-negative bacteria Klebsiella spp with 38.09%. within which are considered opportunistic agents Citrobacter spp Acynomices spp with 1.88%. agents that may be present in the digestive tract and which, by reducing the immune system, can penetrate the digestive; the immune system can penetrate the tissues and spread to the respiratory tract.

Keywords: Bacterial Protocol, Aetiological Agent, Isolation, Biochemical Tests.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR	iii
AVAL DE LA TUTORA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	v
AVAL DE LOS LECTORES DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	vi
AGRADECIMIENTO	vii
DEDICATORIA	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT.....	x
1. INFORMACIÓN GENERAL.....	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	1
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.....	2
3.1 Directos:	2
3.2 Indirectos:.....	2
4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	2
5. OBJETIVOS	3
5.1 Objetivo General:	3
5.2 Objetivo Específicos:.....	3
6. ACTIVIDADES Y SISTEMAS DE TAREAS EN RELACIÓN CON LOS OBJETIVOS..	4
PLANTEADOS.	4
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA	5
7.1 Factores predisponentes a desarrollar enfermedades infecciosas.....	5
7.2 Agentes infecciosos de las enfermedades que afectan a los cuyes.....	5
7.3 Clasificación de bacterias gram positivas y gram negativas	6
7.3.1 Streptococcus pneumonia (bacteria gram positiva).....	6
7.3.2 Staphylococcus spp (bacteria gram positiva)	6

7.3.3 Actinomyces spp (bacteria gram positiva)	6
7.3.4 Trueperella spp (bacteria gram positiva)	7
7.3.5 Bacillus spp (bacteria gram positiva)	7
7.3.6 Escherichia coli (bacteria gram negativa)	7
7.3.7 Klebsiella pneumoniae (bacteria gram negativa)	8
7.3.8 Pasteurella spp (bacteria gram negativa)	8
7.3.9 Citrobacter spp (bacteria gram negativa).....	8
7.3.10 Proteus spp (bacteria gram negativa).....	9
7.5 Medio de transporte para bacterias gram positivas y gram negativas	9
7.6 Medios de cultivo para aislar bacterias gram positivas:	9
7.7 Medios de cultivo para aislar bacterias gram negativas:	10
7.8 Pruebas bioquímicas bacterianas	10
7.9 Tinción (GRAM)	12
8. VALIDACIÓN DE LA HIPÓTESIS	13
8.1 Hipótesis Alternativa (H1).....	13
9. METODOLOGÍA	13
9.1 Tipo de investigación.....	13
9.1.2 Método.....	14
9.1.3 Descripción de la zona de estudio	14
9.1.4 Población, tamaño y recolección de la muestra.....	14
9.2 Protocolo para aislar bacterias gram negativas	15
9.2.1 Pre-enriquecimiento en medio no selectivo.....	15
9.2.2 Enriquecimiento selectivo	15
9.2.3 Aislamiento en medio general (MacConkey).....	15
9.2.4 Segunda purificación Agar MacConey.....	15
9.2.5 Medio selectivo Agar MacConkey segunda purificación a Agar bismuto	16
9.3 Pruebas bioquímicas empleadas para bacterias gram negativas.....	16

9.4	Protocolo para aislar bacterias gram positivas.....	18
9.4.1	Pre-enriquecimiento.....	18
9.4.2	Enriquecimiento.....	18
9.4.3	Medio General (Agar nutritivo).....	18
9.4.4	Medio Enriquecido (Agar Sangre)	18
9.5	Pruebas bioquímicas empleadas para bacterias gram positivas.....	19
10.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN:	20
11.	IMPACTOS	25
12.	CONCLUSIONES	25
13.	RECOMENDACIONES.....	26
14.	BIBLIOGRAFÍA	26

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Actividades y sistema de tareas con relación a los objetivos planteados.	4
Tabla 2	Interpretación de resultados Urea	12
Tabla 3	Número de muestras recolectadas y aislamiento bacteriano proveniente de secreciones nasales, órganos: pulmón - tráquea en cuyes de la Parroquia Eloy Alfaro y San Buenaventura.	14
Tabla 4	Bacterias gram positivas encontrados en relación con los órganos y secreciones nasales muestreadas.....	20
Tabla 5	Agentes etiológicos gram negativos encontrados en relación con los órganos y secreciones nasales muestreadas.....	20
Tabla 6	Porcentaje bacterias encontradas en mono-mixta e infección múltiple de acuerdo a los resultados encontrados.....	22
Tabla 7	Bacterias gram positivas que crecieron en Agar sangre	23

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto:

“Identificación de bacterias causantes de problemas respiratorios en el Cantón Latacunga.”

Fecha de inicio: Octubre del 2023

Fecha de finalización: Agosto del 2024

Lugar de ejecución:

Provincia Cotopaxi, Cantón Latacunga en las parroquias Eloy Alfaro -barrio Patutan y San Buenaventura barrio Laigua Chico.

Facultad que auspicia:

Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Carrera que auspicia:

Carrera de Medicina Veterinaria.

Proyecto de investigación vinculado:

Salud y Bienestar en Animales de Producción y Compañía del Cantón Latacunga.

Equipo de Trabajo:

-Ayala Heredia Karla Aracelly.

-MVZ. Herrera Yunga Vanessa. Mtr.

Área de Conocimiento:

Veterinaria

SUB ÁREA:

64 Veterinaria

Línea de investigación:

Producción y Biotecnología animal.

Sub líneas de investigación de la Carrera:

Microbiología, parasitología, inmunología y Sanidad Animal.

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

En el Ecuador, la producción de cuyes está vinculado al desarrollo social; los criaderos de traspatio están a cargo de personas entre 51 y 60 años en un 25,9% que no desarrollan actividades de mucho esfuerzo, mientras que un 16% de productores tienen entre 31 y 40 años. Es necesario indicar que un 9,7% de los productores son personas jóvenes de entre 21 y 30 años, siendo estos quienes a corto plazo pueden mantener explotaciones con diferentes innovaciones tecnológicas (1). Llegando a constituir un alimento de alto valor biológico, el

cual contribuye con la seguridad y soberanía alimentaria de la población rural de escasos recursos económicos de Ecuador. La mayor demanda de cuyes está localizada principalmente en las provincias de la región Andina (Tungurahua, Azuay, Cotopaxi, Pichincha, Chimborazo e Imbabura) (2).

A lo largo de los años, el manejo de las producciones caviolas en el Ecuador sigue en desarrollo, esto es, dietas alimenticias adecuadas, sistemas de crianza moderna bajo índice de natalidad y alta mortalidad; sin embargo, la ejecución de estas medidas importantes en muchos galpones es muy pobre (3). En consecuencia, las enfermedades gastrointestinales y respiratorias causadas por bacterias u otros microorganismos son comunes desde el destete de los cuyes hasta su etapa reproductiva, lo que resulta en significativas pérdidas económicas para la industria de la crianza de estos animales. Estas afecciones impactan negativamente la productividad y la rentabilidad de los criadores (4). Es por esta razón que se considera un tema de estudio importante, comprender la incidencia y el desarrollo de estos microorganismos patógenos para implementar un diagnóstico más preciso, medidas preventivas y de control más efectivas.

El propósito de esta investigación es identificar los agentes bacterianos responsables de las enfermedades respiratorias en cobayos, utilizando protocolos bacteriológicos que incluyan pruebas bioquímicas para evaluar el comportamiento de estos patógenos. Con esto, se pretende generar información que permita prevenir y adoptar las medidas adecuadas frente a estas infecciones.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO

3.1 Directos:

Propietarios de criaderos caviolas de las parroquias Eloy Alfaro -barrio Patutan y San Buenaventura barrio Laigua Chico del Cantón Latacunga.

3.2 Indirectos:

Propietarios de criaderos de cuyes de la provincia de Cotopaxi.

4. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Los problemas sanitarios en la crianza de cuyes en Ecuador representan una preocupación significativa que impacta la producción y la salud de estos animales. Las enfermedades pueden ser de origen bacteriano, viral, parasitario u orgánico, y su prevalencia se ve favorecida por factores como cambios bruscos de temperatura, alta humedad, hacinamiento y condiciones de

higiene deficientes en los corrales. Estas circunstancias no solo propician la aparición de enfermedades, sino que también aumentan la mortalidad y disminuyen la productividad de los criaderos. (5) Al centrarse en las enfermedades respiratorias, se evidencia que estas pueden ser provocadas por varias bacterias, incluyendo *Streptococcus sp.*, *Bordetella sp.*, *Salmonella sp.*, *Klebsiella sp.* y *Pasteurella sp.*, y pueden manifestarse a través de síntomas como estornudos, secreción nasal o ocular, dificultad para respirar y letargo (6).

La falta de investigación sobre agentes bacterianos en animales de producción en Ecuador es un tema crítico que afecta tanto la salud animal como la salud pública. A pesar de la importancia de la producción animal, como en el caso de los cuyes, existe una escasez de estudios que analicen la prevalencia y el impacto de estos microorganismos en el país (7).

En 2015, Garcés reveló que la incidencia de bacterias patógenas en cuyes del Cantón Mocha alcanzó el 36%, lo que indica que la información general sobre la resistencia bacteriana y la identificación de patógenos en el entorno de producción sigue siendo escasa (7).

Esto restringe la capacidad de reacción ante brotes de enfermedades y complica la aplicación de medidas efectivas de control y prevención. Además, la ausencia de datos suficientes puede acarrear serias implicaciones para la salud pública, dado que los patógenos presentes en los animales pueden transmitirse a los seres humanos a través de la cadena alimentaria.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General:

Identificar las bacterias causantes de problemas respiratorios en cuyes provenientes de las granjas Procu y Herrera a partir de la aplicación del protocolo de aislamiento bacteriano y pruebas bioquímicas.

5.2 Objetivo Específicos:

- Estimar la frecuencia de bacterias causantes de problemas respiratorios a partir de muestras de secreción nasal y lesiones en órganos del tracto respiratorio, mediante la aplicación de protocolos de aislamiento para bacterias gram positivas y gram negativas.
- Determinar la frecuencia de los agentes bacterianos causantes de problemas respiratorios en infección mono, mixta y múltiple, de acuerdo con los resultados.
- Aplicar medios de cultivos generales para bacterias gram positivas y gram negativas.

6. ACTIVIDADES Y SISTEMAS DE TAREAS EN RELACIÓN CON LOS OBJETIVOS PLANTEADOS.

Tabla 1 Actividades y sistema de tareas con relación a los objetivos planteados.

Objetivo	Actividad	Resultado de la actividad	Medios de verificación
Estimar la frecuencia de bacterias causantes de problemas respiratorios a partir de muestras de secreción nasal y lesiones en órganos del tracto respiratorio, mediante la aplicación de protocolos de aislamiento para bacterias gram positivas y gram negativas.	Protocolo para la identificación de bacterias gram negativas y gram positivas mediante procedimientos microbiológicos.	Pruebas bioquímicas establecidas. Especies bacterianas identificadas. Bacterias aisladas y clasificadas según tinción de Gram.	Registro de muestras recolectadas. Fotografías de cultivos bacterianos.
Determinar la frecuencia de los agentes bacterianos causantes de problemas respiratorios en infección mono, mixta y múltiple, de acuerdo con los resultados.	Resultados de pruebas bioquímicas.	Muestras obtenidas y procesadas.	Tablas de resultados de pruebas bioquímicas.
Aplicar medios de cultivos generales para bacterias gram positivas y gram negativas.	Tinción Gram a las colonias aisladas con utilización de violeta de genciana, lugol, alcohol acetona, safranina.	Crecimiento bacteriano en medios selectivos	Lista de especies bacterianas identificadas

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1 Factores predisponentes a desarrollar enfermedades infecciosas

Factores Ambientales: La exposición a corrientes de aire frío y alta humedad puede aumentar el riesgo de infecciones respiratorias. Los cuyes son especialmente sensibles a estos factores, lo que puede llevar a enfermedades como neumonía (8).

La sobrepoblación en los corrales contribuye a la propagación de enfermedades, ya que facilita el contacto entre animales y el intercambio de patógenos (9).

Factores de Manejo: La falta de limpieza en las jaulas y el manejo inadecuado de los desechos pueden crear un entorno propicio para el crecimiento de bacterias y otros microorganismos patógenos (10).

Situaciones que generan estrés, como cambios bruscos de temperatura o manejo inadecuado, pueden debilitar el sistema inmunológico de los cuyes, haciéndolos más susceptibles a enfermedades respiratorias (10).

Factores Nutricionales: Una alimentación deficiente, que no proporcione los nutrientes necesarios, puede comprometer la salud general de los cuyes y aumentar su vulnerabilidad a infecciones (11).

7.2 Agentes infecciosos de las enfermedades que afectan a los cuyes

Chauca indica que, como cualquier otro animal, las cobayas no son resistentes a las enfermedades de carácter infeccioso (12).

Streptococcus spp. - Causante de infecciones respiratorias como neumonía y linfadenitis cervical (13).

Bordetella spp. - Asociado a lesiones respiratoria las más conocida bronconeumonía (13)

Salmonella spp. - Responsable de enfermedades entéricas y hepáticas (13).

E. coli - Agente infeccioso aislado de lesiones enterohepática (13).

Yersinia pseudotuberculosis - Causante de septicemia aguda y enteritis granulomatosa (13).

Staphylococcus spp. - Relacionado con linfadenitis cervical en cuyes (14).

Klebsiella spp. - Implicado en casos de linfadenitis cervical y afecciones respiratorias (15).

7.3 Clasificación de bacterias gram positivas y gram negativas

7.3.1 *Streptococcus pneumonia* (bacteria gram positiva)

Forma: *S. pneumoniae* se presenta como diplococos, lo que significa que las bacterias aparecen en pares. Su forma es ovalada con extremos lanceolados, lo que les da un aspecto distintivo. A veces, pueden observarse en cadenas cortas debido a su división en un solo plano.

Mecanismo de Patogenicidad : *S. pneumoniae* es un miembro normal de la flora del tracto respiratorio; la invasión produce neumonía (16).

7.3.2 *Staphylococcus spp* (bacteria gram positiva)

Forma: Es un género de bacterias que se presenta en forma de cocos, que son esféricos. Su tamaño varía entre 0.5 y 1.5 micrómetros de diámetro (17).

Proteínas de superficie que promueven la colonización de los tejidos del huésped. Toxinas que dañan los tejidos del huésped y causan síntomas de enfermedad (18).

Mecanismo de Patogenicidad : Jara indica que entre los principales síntomas que presentan los animales infectados de *Staphylococcus spp* conjuntivitis, mastitis, entre otros, lo cual se ve reflejado debido a un inadecuado manejo dentro de las instalaciones (19).

7.3.3 *Actinomyces spp* (bacteria gram positiva)

Forma: hifas ramificadas que se asemejan a los hongos y tienen un diámetro de aproximadamente 1 μm .

Mecanismo de Patogenicidad: Según Russo y Bajwa los agentes etiológicos de la actinomicosis son miembros de la flora oral normal y suelen estar presentes en los bronquios y en los tractos gastrointestinal y genital. Las infecciones causadas por *Actinomyces neuii* se han reconocido cada vez más. Casi todas las infecciones actinomicóticas son de naturaleza polimicrobiana. La ruptura de la barrera mucosa es el paso crítico para el desarrollo de la actinomicosis. Posteriormente, puede sobrevenir una infección local que, una vez establecida, si no se trata, se propaga de forma contigua ignorando los planos tisulares de una manera lenta y progresiva. Con el tiempo, pueden desarrollarse trayectos sinusales hacia la piel, los órganos adyacentes o el hueso. En raras ocasiones, se produce una diseminación hematogena distante. Los cuerpos extraños parecen facilitar la infección (20).

7.3.4 *Trueperella spp* (bacteria gram positiva)

Forma: Las bacterias de este género son bacilos (forma de bastón) que pueden presentar un aspecto pleomórfico, lo que significa que pueden variar en forma y tamaño.

Mecanismo de Patogenicidad: Jost y Billington mencionan a *Trueperella pyogenes* por ser un patógeno extracelular que se puede adherir a células epiteliales, aunque también puede invadirlas, a pesar de no ser capaz de replicarse en ellas. *T. pyogenes* es un microorganismo ubicuo que se puede encontrar en la piel, orofaringe y las vías respiratorias superiores, mucosa urogenital y gastrointestinal de los animales sin producir manifestaciones clínicas (21).

Risseti enunció que este agente puede contaminar los utensilios de la granja o ser vehiculado por moscas domésticas (como *Hydrotoea irritans*), que se comportarían como vectores mecánicos (22).

T. pyogenes produce una serie de productos extracelulares y proteínas expuestas a la superficie que contribuyen a la adherencia, colonización y daño al huésped: macromoléculas de la pared celular, neuraminidasas, proteínas de unión a la matriz extracelular, fimbrias, otras enzimas y biopelícula. La entrada de *T. pyogenes* en los tejidos más profundos requiere una agresión o un estrés de algún tipo, como una herida o una infección bacteriana primaria (23).

7.3.5 *Bacillus spp* (bacteria gram positiva)

Formas: Apariencia de vidrio esmerilado y bordes irregulares, con bordes cuadrados o cóncavos que forman cadenas largas con la apariencia de vara de bambú (24).

Mecanismo de Patogenicidad: Milàn describe a las endosporas de algunas cepas de *Bacillus* tienen la capacidad de soportar pH ácidos y descargas biliares en su paso a través del tracto gastrointestinal de los animales (25).

7.3.6 *Escherichia coli* (bacteria gram negativa)

Forma: Tiene forma de bacilo (bastón) corto y recto (26).

Mecanismo de Patogenicidad: La bacteria *Escherichia coli* se caracteriza por afectar directamente el tracto digestivo, llegando a adherirse a la pared intestinal por medio de fimbrias, las cuales están estructuradas por lecitinas, mismas que se encargan de combinarse con receptores de oligosacáridos presentes en la pared intestinal, encadenando de esta manera, una compleja patología, conocida como colibacilosis. Esta enfermedad se encuentra presente

en varias etapas de los cuyes, afectando en mayor medida a los cuyes lactantes, cuyes destinados a engorde y en menor medida a las reproductoras (26).

Torres y Tirira, mencionan que la presencia de esta enfermedad se debe principalmente a las malas condiciones higiénicas y a un inadecuado plan sanitario dentro de las explotaciones. Entre los principales síntomas que presentan los animales infectados se encuentran las diarreas, decaimiento, caquexia, fiebre, nódulos en los intestinos, entre otros (26).

7.3.7 *Klebsiella pneumoniae* (bacteria gram negativa)

Forma: Cocobacilo pleomórfico, pudiéndose observar formas cocoides y bacilos cortos o filamentosos, que se pueden encontrar aislados, agrupados en parejas o formando cadenas cortas.

Mecanismo de Patogenicidad: Su vía de entrada es: percutánea y mucosa. Jara menciona a esta bacteria se caracteriza principalmente por presentar problemas de tipo respiratorio, llegando a causar neumonía en los animales, demostrando además signos tales como disnea, secreción nasal, septicemia aguda, lesiones torácicas y abdominales; cabe mencionar además que durante la necropsia se puede observar en los pulmones la presencia de exudados mucopurulentos (27).

7.3.8 *Pasteurella spp* (bacteria gram negativa)

Forma: Se observa como cocobacilos (forma intermedia entre coco y bacilo) o bacilos cortos (28).

Mecanismo de Patogenicidad: En este sentido, los miembros del género son zoonóticos, ya que el hábitat principal del género *Pasteurella* es la cavidad oral y el tracto respiratorio de vertebrados, incluidos mamíferos y aves. En animales, las infecciones típicas asociadas con *P. multocida* son la septicemia hemorrágica en bovinos y búfalos, el cólera aviar en aves de corral, la rinitis atrófica en cerdos y el moqueo en conejos (29).

7.3.9 *Citrobacter spp* (bacteria gram negativa)

Forma: Es generalmente recta, aunque algunas especies pueden mostrar una ligera curvatura.

Mecanismo de Patogenicidad: Se presenta en el tracto intestinal de los animales. Según Jara Esta bacteria se presenta mayormente en cuyes reproductores, en diferentes sistemas de crianza (30).

7.3.10 *Proteus spp* (bacteria gram negativa)

Forma: Bacilos (bastones) cortos y rectos.

Mecanismo de Patogenicidad: Habita en el tracto intestinal, además de encontrarse en el suelo y agua. Jara lo determina como un patógeno oportunista que genera infecciones urinarias, llegando a impedir el desarrollo de los animales (31).

7.5 Medio de transporte para bacterias gram positivas y gram negativas

Los medios de transporte para microbiología, son un medio de cultivo para microbiología, capaz de mantener viva una muestra o cepa de microorganismos por un periodo de tiempo prolongado, manteniendo a los microorganismos vivos y sobre todo sin alterar su concentración y composición (32).

Medio de transporte Stuart: Es un medio de transporte no nutritivo diseñado para mantener la viabilidad de una variedad de microorganismos patógenos. También es importante manifestar que para transportar muestras que contienen *Neisseria gonorrhoeae*, *Haemophilus influenzae* y otros patógenos molestos, su tiempo de conservación generalmente entre 24 y 48 horas a temperatura ambiente (33).

7.6 Medios de cultivo para aislar bacterias gram positivas:

Caldo Trypticase Soya (TSB): Este medio nutritivo es ideal para el crecimiento de una amplia variedad de bacterias gram positivas. Contiene peptonas y extracto de soja, que proporcionan nutrientes esenciales (34).

Caldo Infusión Cerebro Corazón (CICC): Contiene extractos de cerebro y corazón, peptonas, dextrosa, cloruro de sodio y fosfato disódico. Esta combinación proporciona un ambiente rico en nutrientes, ideal para el crecimiento de bacterias exigentes (35).

Agar nutritivo: Puede ser enriquecido con otros componentes, como sangre ovina o humana, para favorecer el crecimiento de microorganismos más exigentes y permitir la observación de reacciones de hemólisis (36).

Agar Sangre: Este medio contiene sangre (generalmente de cordero o humano) la cual permite el crecimiento de bacterias gram positivas, además de facilitar la observación de hemólisis (destrucción de glóbulos rojos) (37).

7.7 Medios de cultivo para aislar bacterias gram negativas:

Caldo Lactosado: Este medio contiene lactosa como fuente de carbohidratos, extracto de carne y peptonas que aportan nitrógeno, vitaminas y minerales esenciales para el crecimiento de bacterias gram negativas (38).

Caldo Tetracionato: Proporcionan fuentes de carbono, nitrógeno, vitaminas y aminoácidos esenciales para el crecimiento bacteriano (39).

Agar MacConkey: Se utiliza principalmente en microbiología para el aislamiento y diferenciación de bacilos gram negativos, especialmente aquellos de la familia Enterobacteriaceae (40).

Agar Bismuto: Esencial para el aislamiento y detección de *Proteus spp*, *E.coli spp* por su capacidad para inhibir el crecimiento de otros microorganismos (41).

7.8 Pruebas bioquímicas bacterianas

Catalasa: Protector celular contra el estrés oxidativo.

Interpretación de los resultados: En contraste, si no se observan burbujas, esto indica que el organismo es catalasa negativa, lo que significa que no produce esta enzima y, por lo tanto, es más susceptible a los efectos dañinos del peróxido de hidrógeno (42).

TSI (Triple Sugar Iron): Evalúa la fermentación de glucosa, lactosa y sacarosa (43).

Interpretación de los resultados:

Superficie alcalina/profundidad ácida (pico rojo/fondo amarillo): El microorganismo solamente fermenta la glucosa.

Superficie ácida/Profundidad ácida (pico amarillo/fondo amarillo): El microorganismo fermenta glucosa, lactosa y/o sacarosa.

La presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo indican que el microorganismo produce gas la producción de H₂S (43).

SIM Medium: Diferencia bacilos entéricos por su producción de sulfuro, formación de indol y movilidad.

Interpretación de resultados:

Resultado negativo: crecimiento solamente en la línea de siembra.

Producción de SH₂: Resultado positivo: ennegrecimiento del medio de cultivo a lo largo de la línea de siembra o en todo el medio.

Resultado negativo: el medio permanece sin cambio de color.

Prueba de indol: Resultados positivos originan anillos de Liesegang de un color rojo o rojo-violeta en la superficie de la capa de alcohol en el cultivo (43).

MR-VP (Rojo de metilo-Voges Proskauer): Determina la capacidad de un microorganismo de fermentar la glucosa con producción de ácido por la vía ácido-mixta o con producción de un producto final neutro (acetoína) por la vía butanodiólica (43).

Interpretación de resultados:

Prueba del rojo de metilo -Voges Proskauer:

Resultado positivo: desarrollo de un color rojo en pocos minutos.

Resultado negativo: ausencia de color rojo (43).

LIA(Lisina Hierro Agar): Identifica enterobacterias, según su capacidad de fermentar glucosa, degradar lisina y generar H₂S.

Interpretación de los resultados:

Prueba positiva para decarboxilación de lisina: Indica que el microorganismo posee la enzima lisina descarboxilasa, que convierte la lisina en cadaverina, alcalinizando el medio (43).

KIA (Agar Hierro de Kligler): Diferencia enterobacterias, en base a la fermentación de hidratos de carbono y a la producción de ácido sulfhídrico.

Interpretación de los resultados:

Superficie alcalina/profundidad ácida (pico rojo/fondo amarillo): el microorganismo solamente fermenta la glucosa.

Superficie ácida/Profundidad ácida (pico amarillo/fondo amarillo): el microorganismo fermenta glucosa, y lactosa.

La presencia de burbujas o la ruptura del medio de cultivo indican que el microorganismo produce gas.

El ennegrecimiento del medio indica que el microorganismo produce ácido sulfhídrico (43).

Citrato de Simmons: Diferencia enterobacterias en base a la capacidad de usar citrato como única fuente de carbono y energía.

Interpretación de resultados:

Positivo: crecimiento bacteriano con un intenso color azul en el pico de flauta.

Negativo: ausencia de crecimiento y permanencia del color verde del medio de cultivo (43).

Bilis esculina: Utilizado para el aislamiento e identificación presuntiva de estreptococos.

Interpretación de los resultados:

Positivo: se observa un oscurecimiento o ennegrecimiento del medio de cultivo.

Negativo: ausencia de oscurecimiento del medio de cultivo (43).

Urea: Detecta la presencia de la enzima ureasa.

Tabla 2 Interpretación de resultados Urea

Microrganismos	Reacción característica
<i>Salmonella typhimurium</i>	Ureasa (-): Ausencia de producción de amoníaco ni cambio de color
<i>Escherichia coli</i>	Ureasa (-): Ausencia de producción de amoníaco ni cambio de color
<i>Proteus mirabilis</i>	Ureasa (+): Producción de amoníaco con cambio de color a rosa/rosa pálido/cereza oscura.

Fuente. Rossi (43)

Manitol: Utilizado para el aislamiento y diferenciación de estafilococos a partir de diversas muestras.

Interpretación de los resultados: Microorganismos fermentadores de manitol: colonias de color amarillo rodeadas o no de un halo amarillo.

Microorganismos no fermentadores de manitol: colonias del color del medio, rojas rodeadas o no de halo rojizo-púrpura (43).

7.9 Tinción (GRAM)

Primer colorante Violeta de Genciana: Reactivos utilizados para realizar la coloración de Gram a los microorganismos a partir de diversas muestras y/o a partir de cultivos microbianos. Bacterias Gram positivas: se observan de color violáceo. Bacterias Gram negativas: se observan de color rosado-rojizo (43).

Segundo colorante Lugol: Solución acuosa de Yodo y de Potasio Yoduro mordiente es una sustancia que permite o mejora la coloración de una muestra biológica por parte de un colorante. Las bacterias Gram positivas aparecen teñidas de color violeta fuerte. Las bacterias gram negativas aparecen teñidas de color rosado (44).

Tercer colorante alcohol acetona: Se utiliza para ver la morfología celular bacteriana y para poder realizar una primera aproximación a la diferenciación bacteriana, definiéndose como bacterias grampositivas a las que logran un color morado, y bacterias gramnegativas a las que obtienen un color rosado y rojo (45).

Cuarto colorante Safranina: Colorante de contraste en las bacterias gram negativas que habían sido decoloradas, se tiñen por la fucsina o safranina dando un color rosado a fucsia, mientras que las bacterias Gram positivas no se afectan con la contra tinción permaneciendo azul o violeta (46).

8. VALIDACIÓN DE LA HIPÓTESIS

8.1 Hipótesis Alternativa (H1)

“La identificación de las bacterias causantes de problemas respiratorios se lleva a cabo mediante la aplicación de un protocolo específico diseñado para aislar tanto bacterias gram positivas como gram negativas. Este enfoque combina el uso de técnicas de cultivo microbiológico con pruebas bioquímicas especializadas”

Se valida la hipótesis alternativa, que permitió el aislamiento de diez tipos de bacterias, tanto grampositivas como gramnegativas. Las especies identificadas incluyen: *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Actinomyces spp.*, *Bacillus spp.*, *Trueperella spp*, *Pasteurella spp*, *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp.*, *E.coli spp*. Todas estas bacterias fueron identificadas gracias a la implementación de cultivos microbiológicos y pruebas bioquímicas especializadas, lo que respalda la efectividad del protocolo aplicado en el proceso de aislamiento e identificación bacteriana.

9. METODOLOGÍA

9.1 Tipo de investigación

No experimental: Fue de tipo no experimental, puesto que, se obtuvieron datos en base a los protocolos de aislamiento bacteriano empleados para bacterias gram positivas y bacterias gram negativas, realizadas en criaderos cavícolas sin intervenir en su fase de crecimiento, observando el agente causante sin modificarlo.

9.1.2 Método

Se aplicó el método deductivo.

9.1.3 Descripción de la zona de estudio

Fase de campo: Se ejecutó en las dos parroquias Eloy Alfaro (barrio Patutan) y San Buenaventura (barrio Laigua Chico).

Fase de laboratorio: El trabajo investigativo se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Clínica Veterinaria de la Universidad Técnica de Cotopaxi, ubicado en la ciudad de Latacunga en el campus Salache.

9.1.4 Población, tamaño y recolección de la muestra

En el criadero Pro cuy se extrajeron 8 muestras de secreción nasal posterior se almaceno en medios Stuart y en el criadero Herrera se extrajo 6 muestras en órganos con alteraciones pulmón-tráquea procedentes de cuyes postmortem que fueron guardadas en bolsas Ziploc debidamente etiquetadas y colocadas en una hielera a 4 °C.

Tabla 3 Número de muestras recolectadas y aislamiento bacteriano proveniente de secreciones nasales, órganos: pulmón - tráquea en cuyes de la Parroquia Eloy Alfaro y San Buenaventura.

Secreción nasal:	No. Muestras
Obtención de muestras por medios de transporte Stuart -hisopado nasal	8
Órganos con alteraciones:	6
Tráquea -pulmón	
Total:	14

Fuente. Directa

Unidades de estudio: A cada una de las muestras se les realizaron cultivos y pruebas bioquímicas bacterianas específicas, siguiendo el protocolo establecido. Se prepararon 53 aislados bacterianos para los diferentes cultivos.

9.2 Protocolo para aislar bacterias gram negativas

9.2.1 Pre-enriquecimiento en medio no selectivo

Se usó como medio Caldo lactosado (Difco) (43) siguiendo las instrucciones del fabricante, se preparó 150 ml de agua destilada añadiendo 1.95g del medio para disolver y hervir en frasco de cultivo para su esterilización en autoclave a 121 °C por 15 minutos, se deja enfriar y se coloca 9ml de la dilución en tubos de ensayo, para inocular la muestra obtenida de secreción nasal, como lesión de tráquea-pulmón para su inoculación de a 37°C ± 1 °C por 24h ± 2 horas.

9.2.2 Enriquecimiento selectivo

Se utilizo el medio Tetrionato Caldo Base (Difco) (43) se preparó 130 ml de agua destilada añadiendo 0.59g del medio en frasco de cultivo para luego llevar a ebullición y auto clavar a 121 °C durante 15 minutos, posterior la preparación se colocó 9ml de la dilución en tubos de ensayo y luego con el asa de siembra con un diámetro de 3mm se tomó un poco de muestra de Caldo Lactosado para la inoculación en Tetrionato Caldo Base (Difco ya mencionado antes para su posterior incubación a a 37°C ± 2 °C por 24 a 48 horas.

9.2.3 Aislamiento en medio general (MacConkey)

Con la utilizacion del Agar MacConkey (Oxoid) (43) según las instrucciones del fabricante se preparó 280ml de agua destilada y se agregó 14.56g del medio en un frasco de cultivo para luego llevar a ebullición y auto clavar a 121 °C durante 15 minutos, posterior la preparación en cajas Petri estériles con un espesor aproximadamente de 20ml,el medio se debe solidificar para proceder a sembrar las muestras salientes de Tetrionato Caldo Base (Difco) mediante la técnica de estría para incubar a 37°C ± 2°C por 24h.

9.2.4 Segunda purificación Agar MacConey

Resembrando las muestras de Agar MacConkey (Oxoid) (43) siguiendo las instrucciones del fabricante se preparó 280 ml de agua destilada y se agregó 14.56g del medio en un frasco de cultivo para luego llevar a ebullición y auto clavar a 121 °C durante 15 minutos, posterior preparación de 14 cajas Petri con un espesor aproximadamente de 20ml,el medio se debe solidificar para proceder a sembrar mediante la técnica de estría para incubar a 37°C ± 2°C por 24h.

9.2.5 Medio selectivo Agar MacConkey segunda purificación a Agar bismuto

Para la preparación del medio Agar Bismuto (Tm Media) (43) se disolvieron 11.51 g del polvo deshidratado en 220 ml de agua destilada en un frasco de cultivo. La mezcla se llevó a ebullición sin necesidad de autoclave y luego se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura adecuada para su manipulación.

Posteriormente, se vertieron aproximadamente 20 ml de la solución en cada una de las cajas de Petri estériles preparadas previamente. Se permitió que el medio se solidificara completamente en las placas.

Una vez solidificado el agar, se procedió a sembrar las muestras bacterianas utilizando la técnica de estriado en la superficie del medio. Finalmente, las placas inoculadas se incubaron a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 48 horas para permitir el crecimiento de las bacterias.

9.3 Pruebas bioquímicas empleadas para bacterias gram negativas

Prueba de Catalasa: En un portaobjetos se colocó con el asa de siembra contenida de una colonia aislada del microorganismo y se depositó una gota de agua oxigenada al 30%.

Agar TSI (Triple Sugar Iron Agar) (Criterion) (43): En 14 muestras se agregó 130ml de agua destilada y 8,45g del medio en un frasco de cultivo para llevar a ebullición agitando frecuentemente, distribuir en tubos 9ml de contenido en cada tubo y llevar a autoclave. Con una aguja de inoculación se punzo en el fondo y se hizo proceso de siembra en estría simple en la superficie en pico de flauta. Se incubo a 37°C durante 24h.

SIM Medium (Tm Media) (43): Se preparó en 130ml de agua destilada y se agregó 3,87g del medio en un frasco de cultivo para llevar a ebullición agitando frecuentemente, distribuir en tubos 9ml de contenido en cada tubo y llevar a autoclave. Con una aguja de inoculación se punzo en el fondo y se hizo proceso de siembra en estría simple en la superficie en pico de flauta. Se incubo a 37°C durante 24h.

Transcurridas 24 horas para verificar la producción de indol y sulfuro de hidrógeno, se procedió a realizar la prueba de indol añadiendo 6 gotas del reactivo en cada muestra.

MR-VP Medium (Tm Media) (43): Se preparó para las 28 muestras 251 ml de agua destilada y se agregó 4,2g del medio en un frasco de cultivo para llevar a ebullición agitando frecuentemente, distribuir 14 tubos para MR (gram -) y 14 tubos para VP (gram -) de contenido

en cada tubo agregar 9ml y llevar a autoclave. Por inoculación directa a partir del cultivo en estudio. Se incubo a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas. Pasadas las 48 hrs de incubación procedemos a realizar las pruebas bioquímicas:

Prueba del rojo de metilo MR (gram -): Añadir 5 gotas de una solución de rojo de metilo al 0.04% en los 14 tubos listos para MR (gram -)

Prueba del Voges Proskauer VP (gram -) (Werkmans): añadir 2% cloruro férrico FeCl_3 en 5ml de hidróxido de sodio NaOH al 10% poner la solución en un gotero agitar y aplicar 6 gotas en los 14 tubos listos para VP(gram -).

Urea: Se disolvieron 7.25 g del medio Urea Base Agar (Condalab) (43) en 72 ml de agua destilada. A continuación, se esterilizó la mezcla en autoclave a 121°C durante 15 minutos y se dejó enfriar hasta alcanzar 50°C . Posteriormente, se añadieron 1.05 g de agar agar, mezclando bien la solución. Finalmente, se dispensó asépticamente en tubos estériles y se incubó a 37°C durante 24 horas.

LIA (Lysine iron agar) (Tm Media) (43):Se preparó para las 14 muestras 130ml de agua destilada y se agregó 4,49g del medio en un frasco de cultivo para llevar a ebullición agitando frecuentemente, distribuir en tubos 9ml de contenido en cada tubo y llevar a autoclave. Con una aguja de inoculación se punzo en el fondo y se hizo proceso de siembra en estría simple en la superficie en pico de flauta. Se incubo $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

Citrato de Simmons (Tm Media) (43):Se preparó para las 14 muestras 130ml de agua destilada y se agregó 3.14g del medio en un frasco de cultivo para llevar a ebullición agitando frecuentemente, distribuir en tubos 9ml en contenido en cada tubo y llevar a autoclave. Con una aguja de inoculación se punzo en el fondo y se hizo proceso de siembra en estría simple en la superficie en pico de flauta. Se incubo a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

KIA (Kligler Hierro Agar) (Tm Media) (43): Se preparó para las 14 muestras 130ml de agua destilada y se agregó 7.47g del medio en un frasco de cultivo para llevar a ebullición agitando frecuentemente, distribuir en tubos 9ml en cada tubo y llevar a autoclave. Con una aguja de inoculación se punzo en el fondo y se hizo proceso de siembra en estría simple en la superficie en pico de flauta. Se incubo a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 18-24 horas.

9.4 Protocolo para aislar bacterias gram positivas

9.4.1 Pre-enriquecimiento

En medio no selectivo como medio líquido se utilizó Caldo Tripticasa de Soya (CTS) (Difco) (43) siguiendo las instrucciones del fabricante, se preparó en 130ml de agua destilada añadiendo 3,9g del medio en un frasco de cultivo, se lleva a la plancha de calentamiento hasta mezclar bien, esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 minutos, se deja enfriar y se coloca 9ml de la dilución en tubos de ensayo, para inocular la muestra obtenida se trocea el órgano con la parte afectada de tráquea-pulmón y la colocamos en el caldo, en el caso de secreción nasal transferimos el hisopado nasal en medio Stuart a el caldo para su incubación 35°C ± 2°C por 24 a 48 horas.

9.4.2 Enriquecimiento

Se utilizó el caldo Cerebro Corazón Infusión(CICC) (Difco) (43) siguiendo las instrucciones del fabricante, se preparó en 130ml de agua destilada añadiendo 4,81g del medio en un frasco de cultivo, se lleva a la plancha de calentamiento hasta mezclar bien, esterilizar en autoclave a 121 °C por 15 minutos, se deja enfriar y se coloca 9ml de la dilución en tubos de ensayo, para inocular la muestra obtenida del órgano con la parte afectada de tráquea-pulmón y la colocamos en el caldo, en el caso de secreción nasal transferimos el hisopado nasal en medio Stuart a el caldo para su incubación de 35°C ± 2°C por 48 horas.

9.4.3 Medio General (Agar nutritivo)

Resembrando de las muestras de medio líquido Caldo Tripticasa y Cerebro Corazón Infusión(CICC) (Difco) ya mencionados pasamos a Brothen Agar nutritivo(Difco) (43) según las instrucciones del fabricante se preparó 280ml de agua destilada y se agregó 14.56g del medio en un frasco de cultivo, se lleva a la plancha de calentamiento hasta mezclar bien y llevando a ebullición por un minuto, autoclave a 121 °C por 15 minutos, posteriormente se coloca la preparación en 14 cajas Petri esterilizadas con un espesor de aproximadamente de 20ml y se procedió a sembrar mediante la técnica de estría para incubar a 35°C ± 2°C por 24 horas.

9.4.4 Medio Enriquecido (Agar Sangre)

Para la preparación del medio de cultivo Agar Nutritivo con Sangre, se combinó de manera homogénea el agar nutritivo con 10 ml de sangre extraída de un voluntario.

Posteriormente, se distribuyó la mezcla en 14 cajas de Petri estériles, vertiendo aproximadamente 20 ml en cada una. Se permitió que el medio se solidificara completamente en las placas. Una vez solidificado el agar, se procedió a sembrar las muestras bacterianas utilizando la técnica de estriado en la superficie del medio. Finalmente, las placas inoculadas se incubaron a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24-48 horas para permitir el crecimiento de las bacterias.

9.5 Pruebas bioquímicas empleadas para bacterias gram positivas

Catalasa: En un portaobjetos se colocó con el asa de siembra contenida de una colonia aislada del microorganismo y se depositó una gota de agua oxigenada al 30%.

Bilis esculina: Resembramos las muestras de agar sangre, en Agar bilis Esculina (Oxoid) (43) según las instrucciones del fabricante se usó 130ml de agua destilada y se agregó 5,78g del medio en un frasco de cultivo, se lleva a la plancha de calentamiento hasta ebullición para que se disuelva por autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos, posteriormente se coloca la preparación en 32 tubos esterilizados agregando 9ml del medio de cultivo y se procedió a sembrar mediante la técnica de estría para incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.

MR-VP (gram +) : Se aplicó MR-VP Medium (Tm Media) (43) En el cual se preparó 200 ml de agua destilada y se agregó 3.4g del medio en un frasco de cultivo para llevar a ebullición agitando frecuentemente, distribuir 14 tubos para MR (gram +) y 14 tubos para VP (gram +) en cada tubo agregar 9ml y llevar a autoclave.. Por inoculación directa a partir del cultivo en estudio. Se incubó a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.

Prueba del rojo de metilo MR (gram +): Añadir 5 gotas de una solución de rojo de metilo al 0.04% en los 14 tubos listos para MR (gram +)

Prueba del Voges Proskauer VP (gram +) (Werkmans): añadir 2% cloruro férrico FeCl_3 en 5ml de hidróxido de sodio NaOH al 10% poner la solución en un gotero agitar y aplicar 6 gotas en los 14 tubos listos para VP (gram +)

Manitol primera siembra: Resembramos las muestras de agar sangre, en Agar manitol (43) según las instrucciones del fabricante se usó 660 ml de agua destilada y se agregó 71.28 g del medio en un frasco de cultivo, se lleva a la plancha de calentamiento hasta ebullición para que se disuelva por autoclave a $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos, posteriormente se coloca la preparación en

32 cajas esterilizadas con un espesor de 20ml y se procedió a sembrar mediante la técnica de estría para incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.

Manitol segundo, tercera re siembra: Resembramos las muestras del primer pase en Agar manitol (43) según las instrucciones del fabricante se usó 660 ml de agua destilada y se agregó 71.28 g del medio en un frasco de cultivo, se lleva a la plancha de calentamiento hasta ebullición para que se disuelva por autoclave a 121°C por 15 minutos, posteriormente se coloca la preparación en 32 cajas esterilizadas con un espesor de 20ml y se procedió a sembrar mediante la técnica de estría para incubar a $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 48 horas.

10. RESULTADOS Y DISCUSIÓN:

Estimar la prevalencia de bacterias causantes de problemas respiratorios a partir de muestras de secreción nasal y lesiones en órganos del tracto respiratorio, mediante la aplicación de protocolos de aislamiento para bacterias gram positivas y gram negativas.

Tabla 4 Bacterias gram positivas encontrados en relación con los órganos y secreciones nasales muestreadas.

Bacterias gram +	Porcentaje %
Secreción nasal-tráquea y pulmón	
<i>Staphylococcus spp</i>	65,62%
<i>Streptococcus spp</i>	18,75%
<i>Actinomyces spp</i>	3,12%
<i>Bacillus spp</i>	9,37%
<i>Trueperella spp</i>	3,12%

Fuente. Directa.

En la tabla se observa las bacterias gram positivas aisladas, destacando *Staphylococcus spp*, con un 65.62%, seguido por *Streptococcus spp*. con un 18.75%. En menor proporción se encuentran *Bacillus spp*. con un 9.37%, y finalmente, *Actinomyces spp*. y *Trueperella spp.*, lo que equivale a un 3.12%. Estos resultados indican una predominancia significativa de *Staphylococcus spp*.

Tabla 5 Agentes etiológicos gram negativos encontrados en relación con los órganos y secreciones nasales muestreadas.

Bacterias gram -	Porcentaje %
Secreción nasal-tráquea y pulmón	
<i>Pasteurella spp</i>	19,04%
<i>Proteus spp</i>	23,80%
<i>Klebsiella spp</i>	38,09%
<i>Citrobacter spp</i>	4,76%
<i>E.coli spp</i>	14,28%

Fuente. Directa

Según se muestra en la tabla de aislamiento de bacterias gram negativas. Dentro de este conjunto, *Klebsiella spp.* es el agente bacteriano equivalente al 38.09%. Le siguen en orden de frecuencias *Proteus spp* (23.80%), *Pasteurella spp* (19.04%) y *E. coli spp* (14.28%). Por último, *Citrobacter spp.* presenta la menor frecuencia con solo 1 muestra, que corresponde al 4.76%. Estos datos sugieren que *Klebsiella spp.* es el patógeno gram negativo más comúnmente aislado en esta investigación.

Discusión:

Se identifico agentes oportunistas gram positivos y gram negativos poco comunes en las infecciones del tracto respiratorio en el cuy, como es el caso de *Actinomyces. spp* (3,12%) gram positiva. Russo y Bajwa en su estudio acerca de la actinomicosis indican que este agente es miembro de la flora oral y suelen estar presentes en los bronquios y tracto gastrointestinal, la ruptura de la barrera mucosa es el paso crítico para su desarrollo (20). En nuestra investigación, se puede describir la prevalencia de este agente como un patógeno oportunista, ya que se localiza en la barrera mucosa y este puede diseminarse rápidamente a los demás órganos.

Pacheco menciona en su estudio sobre la frecuencia de agentes bacterianos asociados a mortalidad en cuyes de centros de crianza familiar-comercial en Canchis, Cusco a *Citrobacter spp* como un agente bacteriano en cuyes reproductores de crianza familiar-comercial; además, es uno de los agentes implicados en cuadros de mortalidad en cuyes neonatos a partir de animales afectados. Por otra parte, *Pasteurella sp* son comensales de la mucosa orofaríngea y tracto gastrointestinal (6). Es importante mencionar que *Pasteurella spp.* es un agente característico del tracto respiratorio, y por ende lo identificamos en muestras de tráquea y pulmón.

Otro estudio realizado en 2017 por Morales en cuyes clínicamente sanos de crianzas familiar-comercial en una granja del distrito de Manchay, Lima. evaluó la presencia de patógenos oportunistas y determinó la presencia de *E. coli spp* en un 13.3%; como un agente bacteriano en la microbiota normal este puede actuar en cualquier evento de estrés que inmunosuprima al cuy generando condiciones favorables a desarrollar enfermedades (47). En relación con nuestra investigación se identificó en la clasificación de gram negativas a *E.coli spp* en un 14,28% teniendo relación con nuestra investigación.

Determinar la prevalencia de los agentes bacterianos causantes de problemas respiratorios en infección mono, mixta y múltiple, de acuerdo con los resultados.

Tabla 6 Porcentaje bacterias encontradas en mono-mixta e infección múltiple de acuerdo a los resultados encontrados.

Tipo de infección	mono	mixta	múltiple
Numero de infecciones por aislamiento bacteriano	18	14	21
Bacterias encontradas en secreción nasal pulmón y tráquea	<i>Staphylococcus spp</i> 33,96%	<i>Staphylococcus spp</i> y <i>Klebsiella spp</i> 26,41%	<i>Staphylococcus spp</i> , <i>Proteus spp</i> y <i>E. coli spp</i> 39,62%

Fuente. Directa

Como se muestra en la tabla, con un total 53 aislamientos bacterianos, se identificaron 18 casos de mono infección, lo que representa el 33.96%, siendo *Staphylococcus spp.* el agente causante. En cuanto a las infecciones mixtas, se registraron 14 casos (26.41%) en los que se hallaron *Staphylococcus spp.* como *Klebsiella spp.*. Por último, las infecciones múltiples fueron las más frecuentes, con 21 casos (39.62%), donde se identificaron *Staphylococcus spp.*, *Proteus spp.* y *E. coli spp.* Estos resultados destacan la variedad de infecciones bacterianas presentes en el estudio, con una notable predominancia de infección múltiple en los diferentes tipos de infecciones.

Discusión:

Villalobos en su investigación realizada el 2017 presentó a *E. coli spp* con un porcentaje de 40,84%, determinando que su presencia podría deberse principalmente a una contaminación por medio del ambiente, o a su vez, a un problema del sistema inmunológico del animal,

efectuado por partos con altos índices de tamaño de camada, por lo cual pueden llegar a colonizar en la mucosa de los intestinos y así llegar a los ganglios linfáticos hasta desarrollarse en sangre y otros lugares extraintestinales (48).

Coincide con nuestro resultado ya que *E.coli spp* al estar presente en el ambiente puede asociarse *Staphylococcus spp* y *Prototus spp* en un 39,62% llegando a formar parte la microbiota intestinal la piel, la boca, el tracto respiratorio y mucosas.

Según Flores las bronconeumonías en los cuyes también pueden ser producidas en el parénquima pulmonar al asociarse los agentes infecciosos como: *Staphylococcus spp* produciendo consolidación marcada en los lóbulos afectados y *Klebsiella pneumoniae* al causar bronconeumonía necrotizante. *Staphylococcus spp* afecta de manera sistémica produciendo bronconeumonía. fibrinopurulenta (49).

En nuestra investigación se acciona la presencia de una infección mixta por la intervención de los agentes bacterianos *Staphylococcus spp* y *Klebsiella spp* en órganos pulmón- tráquea y secreciones nasales.

Aplicar medios de cultivos generales para bacterias gram positivas y gram negativas

Tabla 7 Bacterias gram positivas que crecieron en Agar sangre

Agar Sangre
Bacterias Gram positivas
<i>Staphylococcus spp</i>
<i>Streptococcus spp</i>
<i>Actinomyces spp</i>
<i>Bacillus spp</i>
<i>Trueperella spp</i>
Fuente: Directa

La tabla muestra las bacterias gram positivas que se identificaron en la utilización del medio de cultivo general Agar sangre las cuales fueron: *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Actinomyces spp*, *Bacillus spp*, *Trueperella spp*.

Tabla 8 Bacterias gram negativas que crecieron en Agar MacConkey

Agar MacConkey
Bacterias gram negativas
<i>Pasteurella spp</i>
<i>Proteus spp</i>
<i>Klebsiella spp</i>
<i>Citrobacter spp</i>
<i>E.coli spp</i>

Fuente: Directa

Como indica la tabla las bacterias gram negativas que se identificaron en la utilización del medio de cultivo general Agar MacConkey: *Pasteurella spp*, *Proteus spp*, *Klebsiella spp*, *Citrobacter spp*, *E.coli spp*.

Discusión:

En el presente estudio, la utilización del agar sangre como medio de cultivo general permitió la identificación de diversas bacterias gram positivas, incluyendo *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Bacillus spp.* y *Trueperella spp.* Russell también describen una similitud en el crecimiento bacteriano de agentes *Staphylococcus aureus* en placas de agar suplementadas con diferentes tipos de sangre de origen animal y humana, e igual manifestación del *Streptococcus pyogenes*, incluso en cepas de origen clínico (50).

Por otra parte el uso del agar MacConkey como medio general para el aislamiento de bacterias gram negativas permitió identificar la presencia de *Pasteurella spp.*, *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.* y *Escherichia coli*.

Jacob, abordó la detección de posibles bacterias con un espectro extendido utilizando agar MacConkey, centrándose en la apariencia o ausencia de colonias encapsuladas de color rosa pálido. En este contexto, observó que hubo crecimiento de *Klebsiella pneumoniae* y *E.coli spp* lo que indica que el medio fue efectivo para el aislamiento de esta especie gram negativas en particular (51).

Asimismo, los resultados de nuestro estudio sugieren que el agar MacConkey es un medio altamente eficaz para el aislamiento de bacterias gram negativas. En particular, logramos identificar especies significativas como *Klebsiella spp.* y *Escherichia coli spp.* en las muestras analizadas.

11. IMPACTOS

Impacto técnico: La estandarización de protocolos para el aislamiento de bacterias en cuyes facilitara la recopilación sistemática de datos epidemiológicos, lo que proporcionara a los investigadores y autoridades una visión más integral sobre la carga de enfermedades bacterianas en la población cavícola del país.

Impacto social: Este trabajo está dirigido a productores cavícolas que deciden incrementar la producción de carne de cuy, teniendo en cuenta todos los factores relacionados con el bienestar animal y la salud de los animales.

La adopción de buenas prácticas de gestión no solo genera una reducción en cuanto a mortalidad, al minimizar el riesgo de enfermedades bacterianas, sino que también brinda beneficios económicos significativos.

12. CONCLUSIONES

- Se evidencio una mayor frecuencia de bacterias grampositivas en comparación con las bacterias gramnegativas, destacando la dominancia de *Staphylococcus spp.* y *Klebsiella spp.* Es importante mencionar la presencia de *Citrobacter spp.*, *Actinomyces spp.* y *Escherichia coli spp.*, al ser considerados agentes oportunistas se presentaron en nuestras muestras debido a su capacidad para colonizar diferentes tejidos y áreas del cuerpo, incluidas las vías respiratorias.
- La frecuencia concurrente de *Staphylococcus spp.*, *Proteus spp.* y *Escherichia coli* en el 39,63% de los casos, clasificados como infecciones múltiples. Indica que la interacción sinérgica entre estos patógenos puede intensificar en su mayoría la severidad de las infecciones.
- El uso del medio de cultivo Agar sangre facilitó la identificación de diversas bacterias gram positivas, incluyendo *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Actinomyces spp.*, *Bacillus spp.*, *Trueperella spp.* y *Pasteurella spp.* Por otro lado, el medio general Agar MacConkey, elaborado específicamente para bacterias gram negativas, permitió detectar las presencia de: *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.* y *Escherichia coli* en muestras recolectadas de tráquea, pulmón y secreciones nasales.

13. RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con el aislamiento bacteriano debido a la alta cantidad de bacterias encontradas en varias muestras, incluyendo cocos, bacilos gram positivos y gram negativos en cada protocolo realizado.
- Se sugiere utilizar medios selectivos y técnicas de microscopía, junto con pruebas bioquímicas específicas, para caracterizar de manera más completa las especies bacterianas.
- Es necesario promover programas que informen sobre el efecto de las enfermedades infecciosas en las granjas de cuyes, con el objetivo de erradicar su propagación, ya que diferentes tipos de bacterias pueden ser consideradas zoonóticas.

14. BIBLIOGRAFÍA

1. Camacho J. Caracterización socioeconómica de los productores de cuyes de la Sierra Ecuatoriana. Congreso de la Asociación Uruguaya de Producción Animal. 2021 Diciembre; 29(ISSN-L 1022-1301).
2. Reyes F. Análisis del manejo, producción y comercialización del cuy (*Cavia porcellus* L.). Dominio de las ciencias. 2021 diciembre; 7(ISSN: 2477-8818).
3. Andrade P. repositorio utc. [Online].; 2013 [cited 2024 agosto 15. Available from: HYPERLINK "<https://repositorio.utc.edu.ec/server/api/core/bitstreams/5e99c5ee-71c0-4cb4-82f1-7f7d9eff3fcb/content>"
<https://repositorio.utc.edu.ec/server/api/core/bitstreams/5e99c5ee-71c0-4cb4-82f1-7f7d9eff3fcb/content> .
4. Argote FE ea. Caracterización de la explotación y manejo de cuyes (*Cavia porcellus*) en el municipio de Pasto Pasto, Nariño, Colombia: Rev Investigag Agrar Ambiente.; 2017.
5. Nairovit Y. dspace. [Online].; 2024 [cited 2024 julio 29. Available from: HYPERLINK "https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/29393/1/YuleyNairovit_PaltaRi vera.pdf"
https://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/29393/1/YuleyNairovit_PaltaRiv era.pdf .

6. Pacheco J. Frecuencia de agentes bacterianos asociados a mortalidad en cuyes de centros de crianza familiar-comercial en Canchis, Cusco. Scielo. 2021 junio; 32(ISSN 1609-9117).
7. Garces S. repositorio uta. [Online].; 2020 [cited 2024 julio 15. Available from: HYPERLINK
"https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/18369/1/Tesis%2036%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20364.pdf"
https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/18369/1/Tesis%2036%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20364.pdf .
8. Karlsruhe C. Veterinario Karlsruhe. [Online].; 2021 [cited 2024 julio 20. Available from: HYPERLINK "https://tierarzt-karlsruhe-durlach.de/es/enfermedades-respiratorias-en-cobayas-%E2%9D%A4%EF%B8%8F/" https://tierarzt-karlsruhe-durlach.de/es/enfermedades-respiratorias-en-cobayas-%E2%9D%A4%EF%B8%8F/ .
9. Guerrero D. sired. [Online].; 2015 [cited 2024 julio 20. Available from: HYPERLINK https://sired.udenar.edu.co/1788/1/90694.pdf
10. Muñoz F. repositorio inia. [Online].; 2019 [cited 2024 julio 20. Available from: HYPERLINK
"https://repositorio.inia.gob.pe/bitstream/20.500.12955/936/1/Huam%C3%A1n-Manual_de_Bioseguridad_y_Sanidad_en_cuyes.pdf"
11. Chauca L. FAO org. [Online].; 2001 [cited 2024 julio 20. Available from: HYPERLINK "https://www.fao.org/4/W6562S/w6562s00.htm
12. Chauca L. In Producción de cuyes (*Cavia porcellus*). Perú: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación; 2001.
13. Siuce J. Frecuencia de patógenos asociados a linfadenitis cervical en cuyes de centros de crianza familiar-comercial en Cusco, Perú. Scielo Peru. 2021 Febrero; 32(ISSN 1609-9117).
14. Venturo R. Pododermatitis ulcerativa severa infectada con *Staphylococcus aureus* y *Proteus spp* en un cuy (*Cavia porcellus*):reporte de caso. Scielo. 2021 Julio; 32(ISSN 1609-9117).
15. Killerby M. Identificación de los agentes bacterianos relacionados con mortalidad en cuyes. Salud Technol. 2020 septiembre; 2(2:9-16).
16. Albrecht T. Microbiología médica. Cuarta ed. S B, editor. Texas: Rama Médica de la Universidad de Texas.; 2009.
17. Jensen T. Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. Microbiol Rev. 1991 Dec; 733–751.

18. Butler J. Pneumococcal polysaccharide vaccine efficacy. An evaluation of current recommendations. *JAMA*. 1993 Oct; 1826-31(PMID: 8411526.).
19. Morales L. Frecuencia de agentes bacterianos asociados a mortalidad en cuyes de centros de crianza familiar-comercial en Canchis, Cusco. *Rev Inv Vet Perú*. 2021;(e20415).
20. Tajal R. Actinomycosis. In Schlossberg D, editor. *Clinical Infectious disease*.: Cambridge University Press; 2015.
21. Billington S. Arcanobacterium pyogenes: molecular pathogenesis of an animal opportunist. 2005 Dec;(87–102).
22. Magen R. PubMed. [Online].; 2015 [cited 2024 junio 12. Available from: HYPERLINK "https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25793626/" https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25793626/ .
23. Tiruvoor G. Wiley Online Library. [Online].; 2022 [cited 2024 junio 12. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781119650836.ch27> .
24. Realpe M. Especies del género Bacillus. *Biomèdica*. 2002 Junio; vol. 22(106-109).
25. Chávez F. Selección e identificación de aislados de Bacillus spp. del tracto digestivo de pollos de traspatio, con potencial probiótico. *Scielo*. 2017 Marzo;(ISSN 2078-8452).
26. Torres S TM. Repositorio PUCE. [Online].; 2017 [cited 2024 julio 1. Available from: <https://repositorio.puce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/9e5330f5-f7cc-4c15-94c0-0e738fd454ba/content> .
27. Tisoc A. Frecuencia de agentes bacterianos asociados a mortalidad en cuyes de centros de crianza familiar-comercial en Canchis, Cusco. *Rev Inv Vet Perú*. 2021;(32i3.20415).
28. Asher D. *Microbiología medica*. cuarta ed. S B, editor. Texas: Rama Mèdica de la Universidad de Texas; 2009.
29. Christensen H. *Microbiología mèdica molecular*. Academic Press. 2024; 6(1): p. 1637 - 1656.
30. Tisoc J. Frecuencia de agentes bacterianos asociados a mortalidad en cuyes de centros de crianza familiar-comercial en Canchis, Cusco. *Rev. investig. vet. Perú [online]*. 2021; vol.32(ISSN 1609-9117).
31. Pezo D. Frecuencia de agentes bacterianos asociados a mortalidad en cuyes de centros de crianza familiar-comercial en Canchis, Cusco. *Rev. investig. vet. Perú [online]*. 2021; vol.32, n.3,(ISSN 1609-9117).

32. mdmadmin. Md científica. [Online].; 2017 [cited 2024 julio 2. Available from: HYPERLINK "<https://mdmcientifica.com/medios-de-transporte-para-microbiologia/>".
33. BBV. [Online]. [cited 2024 Julio 16. Available from: HYPERLINK "https://argentina.agrofystatic.com/media/catalog/product/k/i/kit_medios_de_transporte_stuart_1.pdf".
34. Murray P. Britamia. [Online].; 2020 [cited 2024 julio 26. Available from: HYPERLINK "https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/613_inserto_es.pdf".
35. Merck. [Online].; 2020 [cited 2024 julio 27. Available from: https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/BHI-Brain-Heart-Infusion-broth,MDA_CHEM-110493?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.perplexity.ai%2F.
36. Fadin M. Britania lab. [Online].; 2020 [cited 2024 julio 27. Available from: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_60707641dee11.pdf.
37. Rodriguez J. seimc. [Online].; 2017 [cited 2024 julio 27. Available from: <https://seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia62.pdf>.
38. Adbaquim. [Online].; 2020 [cited 2024 julio 27. Available from: <https://adbaquim.com/productos/reactivos/caldo-lactosado/caldo-lactosado>.
39. merck. [Online].; 2020 [cited 2024 julio 28. Available from: https://www.merckmillipore.com/INTL/en/product/Tetrathionate-broth-base,MDA_CHEM-105285?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.perplexity.ai%2F
40. Microbiology. [Online].; 2020 [cited 2024 julio 28. Available from: <https://microbiologyinfo.com/macconkey-agar-composition-principle-uses-preparation-and-colony-morphology/>.
41. Studocu. [Online].; 2021 [cited 2024 julio 28. Available from: <https://www.studocu.com/latam/document/universidad-del-zulia/escuela-de-bioanalisis/agares-de-bacteriologia-clinica/14250174>.
42. labster. Pruebas bioquímicas. [Online].; 2023. Available from <https://theory.labster.com/es/biochemical-identification-bacteria/>.

43. Rosii A. BRITANIA LAB. [Online].; 2021 [cited 2024 Junio 12. Available from: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_6070971eb11bd.pdf .
44. PanReacApliChem. [Online]. [cited 2024 julio 20. Available from: https://www.itwreagents.com/download_file/ce_ivd_instructions/CEIVD21/es/CEIVD21_es.pdf .
45. Instrumentalia. [Online]. [cited 2024 julio 20. Available from <https://instrumentalia.com.co/Instrumentalia-Infirma/Enviar/alcohol-acetona-de-gram-cirumedics.html#:~:text=Se%20usa%20para%20poder%20referirse,un%20color%20rosado%20y%20rojo>.
46. Onelab. [Online]. [cited 2024 julio 20. Available from: <https://www.onelab.com.co/safranina-de-gram-cirumedics> .
47. Chuquizuta R. Identificación de agentes bacterianos aislados de gazapos. Redvet. 2017; Volumen 18(ISSN 1695-7504).
48. Villalobos M. Repositorio científica. [Online].; 2017 [cited 2024 julio 20. Available from: <https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/1070/TL-Villalobos%20M-Ext.pdf?sequence=4&isAllowed=y> .
49. Flores C. repositorio científica. [Online].; 2022 [cited 2024 julio 29. Available from: <https://repositorio.cientifica.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12805/2237/TL-Flores%20C-Ext.pdf?sequence=2&isAllowed=y> .
50. Russell F. Como medio de cultivo bacteriano, el agar sangre oveja citratada es una alternativa práctica al agar sangre humana citratada en los laboratorios de los países en desarrollo. Clin Microbiol. 2020 Septiembre; 51(PMID: 16954271).
51. Jacob M. Optimización de un protocolo de detección de posibles bacterias Escherichia coli β -lactamasas de espectro extendido en agar MacConkey para su uso en un programa de vigilancia global. ASM Jounals. 2020 agosto; 58(Clin Microbiol 58:10.1128/jcm.01039-