



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

Unidad de Integración Curricular previo
a la obtención del título de Ingeniero
Agropecuario.

Título de la Unidad de Integración Curricular:

**“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE
MICROORGANISMOS EN ABSCESOS CUTÁNEOS EN OVINOS CRIADOS EN
LAS PROVINCIAS DE LOS RÍOS Y GUAYAS.”**

Autor:

Jair Stewart Calvache Ibalbo

Tutor de la Unidad Integradora Curricular:

Dra. Ana Ruth Álvarez Sánchez

Quevedo – Los Ríos – Ecuador

2020

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Jair Stewart Calvache Ibalbo**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Jair Stewart Calvache Ibalbo

C.I. 1724991987-7

AUTOR

CERTIFICADO DE CULMINACIÓN DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

La suscrita, **Dra. Ana Ruth Álvarez Sánchez**. Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el egresado **Jair Stewart Calvache Ibalbo**, realizó la Unidad de Integración Curricular: **“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE MICROORGANISMOS EN ABSCESOS CUTÁNEOS EN OVINOS CRIADOS EN LAS PROVINCIAS DE LOS RÍOS Y GUAYAS.”**, previo a la obtención del título de Ingeniera Agropecuaria, bajo mi dirección habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

Dra. Ana Ruth Álvarez Sánchez

DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

Dra. Ana Ruth Álvarez Sánchez, docente de la Facultad de Ciencias Pecuarias y como directora certifico que la unidad de integración curricular del estudiante Jair Stewart Calvache Ibalbo, titulada: “ **AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE MICROORGANISMOS EN ABSCESOS CUTÁNEOS EN OVINOS CRIADOS EN LAS PROVINCIAS DE LOS RIOS Y GUAYAS.**”, fue ingresado a la herramienta informática URKUND producto del análisis se obtuvo una similitud de un 8%, lo cual está considerado dentro de los parámetros aceptables que establecen el reglamento e instructivos de la unidad de integración curricular de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

URKUND	
Documento	Tesis Calvache.docx (D77193174)
Presentado	2020-07-26 12:52 (-05:00)
Presentado por	EMMA TORRES (etorres@uteq.edu.ec)
Recibido	etorres.uteq@analysis.urkund.com
Mensaje	Tesis Calvache Jair Mostrar el mensaje completo 8% de estas 15 páginas, se componen de texto presente en 6 fuentes.

Dra. Ana Ruth Álvarez Sánchez

DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO

FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Título:

**“AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE MICROORGANISMOS
EN ABSCESOS CUTÁNEOS EN OVINOS CRIADOS EN LAS PROVINCIAS DE LOS
RIOS Y GUAYAS.”**

Presentado a la Comisión Académica como requisito previo a la obtención del título de
Ingeniero Agropecuario.

Aprobado por:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

.....

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

.....

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

.....

**Quevedo – Los Ríos – Ecuador
2020**

AGRADECIMIENTO

Mis más sinceros agradecimientos:

Principalmente a Dios, porque con el todo lo que nos proponemos es posible, por haber derramado sus bendiciones las cuales me ayudaron para así lograr tan esperado objetivo.

A mis padres por contar con su apoyo y amor incondicional, porque gracias a sus consejos y al respaldo incesante que han tenido conmigo he podido lograr este objetivo tan anhelado.

A mi familia que siempre estuvo hay y de una u otra manera han sabido apoyarme y guiarme por el camino del bien.

A la Dra. Ana Ruth Álvarez Sánchez. Directora de la Unidad de Integración Curricular, a la Ing. Carla Torres, por su ayuda, aporte y colaboración científica en este trabajo de investigación.

A su vez expresó mis más sinceros agradecimientos al cuerpo de docentes de la FCP-UTEQ, por haber impartido los conocimientos científicos necesarios para la culminación de nuestra carrera profesional de Ingeniero Agropecuario.

JAIR CALVACHE IBALBO

DEDICATORIA

Principalmente a Dios, porque es el derramando bendiciones sobre mí, por ayudarme en todo momento, puse mi fe en ti y gracias a ti lo he logrado.

A mi familia que es por ellos que tengo deseos de luchar y seguir adelante, por todo el esfuerzo, dedicación y lo más importante el amor incondicional que recibí de ellos, me supieron guiar por el buen camino y por sus grandes consejos.

Este proyecto está dedicado a cada una de las personas que estuvieron conmigo apoyándome, aconsejándome y brindándome su apoyo para así poder culminar esta etapa universitaria.

A los docentes por sus conocimientos transmitidos sus enseñanzas, por inculcarme sus conocimientos útiles en el desarrollo estudiantil.

RESUMEN

El proyecto de Investigación se realizó con el objetivo de aislar y caracterizar microbiológicamente y molecularmente los microorganismos presentes en los abscesos cutáneos en ovinos criollos. La metodología empleada para la elaboración de este trabajo se basó en determinar el estado sanitario de los ovinos y sus criaderos mediante una encuesta, se realizó la toma de muestra de forma directa con una jeringa; la muestra se colocó en una solución estéril de glicerina al 30%. Las bacterias fueron aisladas microbiológicamente en un medio de cultivo LB Agar. La caracterización molecular se llevó a cabo mediante secuenciación de productos de PCR. El análisis de la secuencia se realizó en la base de datos GenBank ® mediante BLAST. El análisis sanitario de los criaderos de los ovinos determinó que, hay un índice medianamente alto de afectaciones de la piel siendo una de ellas los abscesos cutáneos. El aislamiento microbiológico indicó, la presencia de una cepa de bacteria gram negativa de tipo bacilo. El análisis molecular mediante secuenciación de productos de PCR demostró que la bacteria causante de los abscesos cutáneos en los ovinos criollos es *Bacillus sp* el cual, puede generar problemas de índole zoonótico. Este trabajo es de suma importancia porque se podrá aplicar el tratamiento correcto sin hacer uso indebido de los antibióticos, lo que beneficiará directamente a los productores en el conocimiento del manejo sanitario y profiláctico de los animales afectados, además, de evitar un foco de infección en la comunidad ovina con alcances zoonóticos.

Palabras claves: Bacterias, Ovejas, PCR, Secuenciación, Zoonosis

ABSTRACT

The Research project was carried out with the aim of isolating and characterizing microbiologically and molecularly the microorganisms present in the skin abscesses in native sheep. The methodology used for the preparation of this work was based on determining the health status of the sheep and their farms through a survey, the sample was taken directly with a syringe; The sample was placed in a sterile 30% glycerin solution. Bacteria were microbiologically isolated in LB Agar culture medium. Molecular characterization was carried out by sequencing of PCR products. Sequence analysis was performed in the GenBank ® database using BLAST. The sanitary analysis of sheep farms determined that there is a fairly high index of skin affectations, one of them being skin lesions. Microbiological isolation indicated the presence of a highly negative bacillus-type bacterial strain. Molecular analysis by sequencing of PCR products showed that the bacterium that causes skin abscesses in creole sheep is *Bacillus* sp, which can cause problems of a zoonotic nature. This work is of utmost importance because the correct treatment can be applied without undue use of antibiotics, which will directly benefit producers in the knowledge of the sanitary and prophylactic management of affected animals, in addition to avoiding a focus of infection in the sheep community with zoonotic ranges.

Key words: Bacteria, Sheep, PCR, Sequencing, Zoonosis

TABLA DE CONTENIDO

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	ii
CERTIFICADO DE CULMINACIÓN DE L UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR	iii
DEDICATORIA	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
CÓDIGO DUBLIN	xiii
Introducción	1
CAPÍTULO I	3
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	3
1.1. Problema de investigación	4
1.1.1. Planteamiento del problema	4
1.1.2. Formulación de problema	4
1.1.3. Sistematización del problema	4
1.2. Objetivos	5
1.2.1. Objetivo general	5
1.2.2. Objetivos específicos	5
1.3. Justificación	5
CAPÍTULO II	6
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	6
2.1. Marco conceptual	7
2.2. Marco referencial	8
2.2.1. Antecedentes históricos	8
2.2.2. Importancia de los ovinos	8
2.2.3. Importancia Económica	8
2.2.4. Zonas de producción ovina	9
2.2.5. Producción mundial de carne ovina	9
2.2.6. Producción mundial de lana ovina	10
2.2.7. Características generales de los ovinos	10
2.2.8. Características nutricionales de la carne ovina	11
2.2.9. Razas de ovinos	11
2.2.9.1. Criolla	12
2.2.9.2. Black Belly	12

2.2.9.3. Pelibuey.....	13
2.2.10. Bacterias que causan enfermedades cutáneas.....	13
2.2.10.1. Staphylococcus aureus.....	13
2.2.10.2. Staphylococcus pyogenes.....	13
2.2.10.3. Clostridium perfringens.....	14
CAPÍTULO III.....	15
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	15
3.1. Localización y metodología.....	16
3.2. Tipo de investigación.....	16
3.2.1. De laboratorio.....	16
3.2.2. Método analítico.....	16
3.2.3. Método Descriptivo.....	16
3.2.4. Método de observación.....	16
3.2.5. Método deductivo.....	17
3.3. Fuentes de recopilación de información.....	17
3.4. Instrumentos de investigación.....	18
3.4.1. Variable a estudiar.....	18
3.5. Recursos humanos y materiales.....	21
3.5.1. Materiales y equipos.....	21
3.5.1.1. Material biológico.....	21
3.5.1.2. Materiales de laboratorio.....	21
3.5.1.3. Reactivos.....	22
CAPÍTULO IV.....	24
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
4.1. Estado Sanitario de los ovinos y sus criaderos en las provincias de Los Ríos y Guayas.....	25
4.2. Análisis molecular de microorganismos presentes en los abscesos cutáneos de ovinos.28	
CAPÍTULO V.....	33
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	33
5.1. Conclusiones.....	34
5.2. Recomendaciones.....	34
CAPÍTULO VI.....	36
BIBLIOGRAFIA.....	36
CAPÍTULO VII.....	43
ANEXOS.....	43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Condiciones agroclimáticas del cantón Quevedo, 2018..... 16

CÓDIGO DUBLIN

Título:	“Aislamiento y caracterización molecular de microorganismos en abscesos cutáneos en ovinos criados en las provincias de los Ríos y Guayas.”
Autor:	Jair Stewart Calvache Ibalbo.

Palabras claves:	Bacterias	Ovejas	PCR	Secuenciación	Zoonosis
Fecha de publicación:					
Editorial:	UTEQ, 2020				
Resumen:	<p>El proyecto de Investigación se realizó con el objetivo de aislar y caracterizar microbiológicamente y molecularmente los microorganismos presentes en los abscesos cutáneos en ovinos criollos. La metodología empleada para la elaboración de este trabajo se basó en determinar el estado sanitario de los ovinos y sus criaderos mediante una encuesta, se realizó la toma de muestra de forma directa con una jeringa; la muestra se colocó en una solución estéril de glicerina al 30%. Las bacterias fueron aisladas microbiológicamente en un medio de cultivo LB Agar. La caracterización molecular se llevó a cabo mediante secuenciación de productos de PCR. EL análisis de la secuencia se realizó en la base de datos GenBank ® mediante BLAST. El análisis sanitario de los criaderos de los ovinos determinó que, hay un índice medianamente alto de afectaciones de la piel siendo una de ellas los asbcesos cutáneos. El aislamiento microbiológico indicó, la presencia de una cepa de bacteria gran negativa de tipo bacilo. El análisis molecular mediante secuenciación de productos de PCR demostró que la bacteria causante de los abscesos cutáneos en los ovinos criollos es <i>Bacillus sp</i> el cual, puede generar problemas de índole zoonótico. Este trabajo es de suma importancia porque se podrá aplicar el tratamiento correcto sin hacer uso indebido de los antibióticos, lo que beneficiará directamente a los productores en el conocimiento del manejo sanitario y profiláctico de los animales afectados, además, de evitar un foco de infección en la comunidad ovina con alcances zoonóticos.</p> <p>Palabras claves: Bacterias, Ovejas, PCR, Secuenciación, Zoonosis</p>				

<p>Abstract:</p>	<p>The Research project was carried out with the aim of isolating and characterizing microbiologically and molecularly the microorganisms present in the skin abscesses in native sheep. The methodology used for the preparation of this work was based on determining the health status of the sheep and their farms through a survey, the sample was taken directly with a syringe; The sample was placed in a sterile 30% glycerin solution. Bacteria were microbiologically isolated in LB Agar culture medium. Molecular characterization was carried out by sequencing of PCR products. Sequence analysis was performed in the GenBank ® database using BLAST. The sanitary analysis of sheep farms determined that there is a fairly high index of skin affectations, one of them being skin lesions. Microbiological isolation indicated the presence of a highly negative bacillus-type bacterial strain. Molecular analysis by sequencing of PCR products showed that the bacterium that causes skin abscesses in creole sheep is Bacillus sp, which can cause problems of a zoonotic nature. This work is of utmost importance because the correct treatment can be applied without undue use of antibiotics, which will directly benefit producers in the knowledge of the sanitary and prophylactic management of affected animals, in addition to avoiding a focus of infection in the sheep community with zoonotic ranges.</p> <p>Key words: Bacteria, Sheep, PCR, Sequencing, Zoonosis</p>
<p>Descripción:</p>	<p>65 hojas</p>
<p>URI:</p>	

Introducción

Los ovinos se consideran una fuente alternativa para el consumo de carne debido a varios factores nutricionales que contienen tales como proteínas de alto valor biológico y micronutrientes importantes para la alimentación humana(1). En Ecuador, la crianza de ovejas se da mayormente en la región sierra por los páramos existentes en esta zona, y por la existencia de especies nativas que son aptas para el pastoreo, las cuales son de gran importancia tanto social como económica ya que esta actividad genera a los campesinos alimento, vestimentas y además proveen ingresos por la venta de materia prima generada por los ovinos. El 80% de los ovinos son de tipo criollo, los mismos que se encuentran en manos de los pequeños productores (2). Aunque en regiones de clima tropical (costa) se están criando razas especializadas en la producción de carne como: Pelibuey, Catahdin, Blacbelly y Colombo Africana razas que no tienen lana y en lugar de ella, poseen pelo (3). Respecto a esto último otra actividad económica relacionada con los ovinos es la producción de lana la cual, se industrializa para crear hilos ampliamente utilizados en la industria textil orientadas básicamente a prendas de origen artesanal (4).

A pesar de su gran importancia, los ovinos se han visto afectados por la presencia de patógenos como bacterias, hongos, parásitos y virus provocando infecciones tanto internas como externas, infecciones, que pueden ocasionar gran daño a la salud animal como del ser humano (Zoonosis) (5). Las infecciones externas, como los abscesos cutáneos, representan un serio problema para los productores de ovinos debido a que dañan de forma directa la calidad de la carne y lana del animal, ocasionando grandes pérdidas económicas.

Otras de las afectaciones que provocan abscesos cutáneos en los ovinos es la ectima ocasionada por las bacterias *Streptococos* y *Estafilococo*, enfermedad altamente contagiosa que puede transmitirse tanto en los ovinos como en los seres humanos. (6) también está la causada por la familia de las bacterias *Corynebacterias* y *Propionibacterias* conocida como "lana sisal"(7) , además una afectación causada por la bacteria *Dermatophilus congolensis* la cual, además de afectar a los ovinos también se puede transmitir a los bovinos y a los seres humanos(8);(9). Otra afectación cutánea en los ovinos es ocasionada por la mosca *Lucilia cuprina* la cual, ovoposita sus huevecillos en heridas que se encuentren abiertas

causándoles una miasis la cual, afecta directamente a la piel y lana de las ovejas, provocando pérdidas económicas para los productores al dañar la lana y en algunos casos, provoca la muerte de las ovinos (10).

Para el control de las enfermedades cutáneas se utiliza comúnmente antibióticos los cuales, al emplearse de una forma desmedida, generan resistencia a los microorganismos necesitando cada vez dosis más fuertes o antibióticos de nueva generación para poder contrarrestar así las afecciones, afectando de una forma indirecta a los humanos que al consumir carne con una gran cantidad de antibióticos perjudicaría a su salud (11).

Es por ello, que el presente trabajo permitirá aislar y caracterizar microorganismos presentes en abscesos cutáneos de ovinos existentes en la provincia de Los Ríos y Guayas, Ecuador. Este trabajo es inédito porque permitirá monitorear si los microorganismos presentes en los abscesos encontrados en los animales afectados implican un riesgo para la población ovina en la zona y a su vez, pongan en riesgo a la salud humana.

CAPÍTULO I

CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación

1.1.1. Planteamiento del problema

Los abscesos cutáneos en los ovinos criollos causan un problema grave en la piel, afectando la carne y lana de los animales; esto perjudica directamente a los productores a la hora de comercializar estos productos ocasionándole pérdidas económicas; además, los microorganismos presentes en estos abscesos cutáneos también pueden afectar al ser humano si se expone al contacto directo con ellos (Zoonosis), a su vez el uso desmedido de antibióticos generaría inconvenientes a la salud animal y a la humana.

Diagnostico

Los abscesos cutáneos en los ovinos criollos se originan debido a un manejo inadecuado de las instalaciones y falta de higiene, esto provoca un foco de infección al proliferar diferentes microorganismos patógenos causantes de enfermedades graves para el ovino.

Pronostico

Si no realizamos la caracterización oportuna de los microorganismos que ocasionan los abscesos cutáneos en ovinos criollos en la zona de los Ríos y Guayas, Ecuador, se medicaría de una forma incorrecta creando resistencia y esto puede ocasionar un foco de infección a mayor escala en la comunidad ovina.

1.1.2. Formulación de problema

Al encontrar microorganismos en los abscesos cutáneos en los ovinos entonces se espera descartar que estos microorganismos sean patógenos y afecten tanto a la salud animal como humana (Microorganismos Zoonóticos).

1.1.3. Sistematización del problema

¿Con que frecuencia se presentan infecciones de abscesos cutáneos en ovinos?

¿Qué tipo de microorganismos se encuentran presentes en los abscesos cutáneos de ovinos?

¿Los microorganismos presentes en los abscesos de ovinos criollos son patógenos zoonóticos?

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

Aislar y caracterizar molecularmente los microorganismos presentes en abscesos cutáneos en ovinos.

1.2.2. Objetivos específicos

*Determinar el estado sanitario de los ovinos y sus criaderos en las provincias de Los Ríos y Guayas.

*Aislar microorganismos de abscesos cutáneos en la fase aguda.

*Caracterizar microbiológica y molecularmente a los microorganismos presentes en abscesos cutáneos agudos.

1.3. Justificación

La carne ovina es un alimento de un gran valor nutricional, la cual, se ve afectada por la presencia de microorganismos los cuales, pueden ocasionar abscesos cutáneos dañando así la calidad de lana para la industria textil y de la carne destinada para el consumo humano o bien, implica un costo de producción más elevado por el proceso que se debe realizar para eliminar el agente patógeno.

Por otro lado, el uso desmedido de antibióticos para eliminar estas afecciones ocasiona una resistencia y bioacumulación, afectando directamente al ser humano al momento de consumir la carne.

Es por ello, la importancia de conocer los agentes patógenos causantes de los abscesos cutáneos para así poder aplicar el tratamiento correcto sin hacer el uso indebido de los antibióticos. Esto beneficiará directamente a los productores en el conocimiento del manejo sanitario y profiláctico de los animales afectados, además, de evitar un foco de infección en la comunidad ovina.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco conceptual.

Abscesos cutáneos: De pus localizada, secundaria a necrosis de tejido por una infección previa, normalmente adyacente. Se manifiesta como un nódulo firme y doloroso(12).

ADN: El DNA es una doble hélice, entrelazada y sumamente larga que almacena información genética. Sus componentes se ordenan con una relación química específica, lo que determina la estructura tridimensional del DNA del cual derivan consecuencias funcionales(13).

Antibiótico: Compuesto químico que elimina o inhibe el crecimiento de microorganismos(14).

Bacterias: Las bacterias son microorganismos unicelulares, generalmente con un tamaño de 1-2 μm , que no pueden verse a simple vista(15).

Ovinos: Mamífero rumiante doméstico, como de un metro de altura, ligero, esbelto, con pelo corto, áspero y a menudo rojizo, cuernos huecos, grandes, esquinados, nudosos y vueltos hacia atrás, un mechón de pelos largos colgante de la mandíbula inferior y cola muy corta. Hembra de esta especie, algo más pequeña que el macho y a veces sin cuernos(16).

PCR: La reacción en cadena de la polimerasa, ya más conocida como PCR, es una técnica que permite replicar entre cientos de miles y millones de veces, en el transcurrir de pocas horas e in vitro, pequeñas cantidades de ADN(17).

Secuenciación: Secuenciar una molécula de ADN consiste en determinar en qué orden se disponen los cuatro nucleótidos (A, T, C y G) que componen la molécula(18).

Zoonosis:(del griego zoon: animal) son enfermedades infecciosas transmisibles desde animales vertebrados al ser humano bajo condiciones naturales. Los agentes infecciosos involucrados incluyen bacterias, virus, parásitos, hongos y rickettsias, entre otros. Estas infecciones, según su ciclo, pueden ser clasificadas como sinantrópicas cuando tienen un ciclo urbano o exoantrópicas, cuando el ciclo es selvático(19).

2.2. Marco referencial.

2.2.1. Antecedentes históricos.

Los ovinos , animales rumiantes que fueron domesticados entre el 8000 y 5000 A.C originarios de medio oriente específicamente de Egipto, Mesopotamia y Persia(20). Actualmente, la producción ovina ve en alza ya que tanto su lana como su carne son muy apetecidas por diferentes mercados a nivel mundial como lo es, el caso de China y la India(21).

2.2.2. Importancia de los ovinos.

El ganado ovino es una especie básica en la ganadería mundial, encontrándose distribuida por todos los continentes para el aprovechamiento de su carne, leche, lana, cuero y estiércol. Posee un numeroso censo que se ha estabilizado en los últimos decenios sobre los 1.100 millones de cabezas, con una muy ligera disminución, y repartido de forma desigual en las diferentes áreas(22).

Existe una diversidad de razas ovinas las cuales, son productoras especializadas en carne la cual, es una alternativa de gran importancia para la alimentación humana ya que, su carne contienen micronutrientes necesarios para una buena salud como también cuenta con ácidos grasos funcionales (1).

Entre todas las carnes de consumo humano como la bovina las carnes de aves esta tiene uno de los mayores comercios internacionales es por eso, que el 16% de la producción mundial es exportada por su gran calidad (23).

2.2.3. Importancia Económica.

La carne ovina tiene una gran cantidad de nutrientes beneficiosos para la alimentación humana tiende a un alza en su demanda en el país de México se estima un aproximado que su demanda en el consumo es de 85000 toneladas y de las cuales 40000 son importadas y esto da a notar que es una muy buena fuente para generar ingresos económicos para los pequeños y grandes productores de ovinos (24).

La oveja ha sido por largo tiempo una fuente de manufactura de carne, leche, lana y pieles en todo el mundo. Gracias a su ligereza, es pensada como una de las variedades características en la economía pecuaria, esto debido a que magnos rebaños pueden conservarse en una gran gama de ecosistemas a bajos costos, lo que les accede efectuar un papel significativo en economías locales como universales (25).

Asimismo, una de las características de las ovejas en el ámbito económico, productivo y comercial es que su lana es uno de los efectos de mayor categoría en la explotación ovina. Porque se trata de una fibra natural que se consigue mediante el esquilamiento, y se emplea para la fabricación de sacos, abrigas, mantas, suéteres y guantes en la industria textil(26).

2.2.4. Zonas de producción ovina.

Los principales países productores de ovinos son: China Continental que a pesar de su gran producción es el mayor importador de materia prima sacada de los ovinos y lo siguen Australia, Nueva Zelanda, Reino Unido y Turquía, los cuales representan el 42% de la producción mundial. El continente americano produce el 5% de la carne que se produce a nivel mundial y el país que lidera esta producción es Brasil (27).

En el Ecuador, las principales producciones de ovinos se establecen en las provincias de Chimborazo , Tungurahua , Bolívar y Cotopaxi siendo estas producciones en su gran mayoría para consumo interno y no para exportar(28).

2.2.5. Producción mundial de carne ovina.

La producción de carne de ovino ha tenido un crecimiento total, del 2004 al 2013, de 9.63%, pasando de 7.8 a 8.5 millones de toneladas en el período, aunque este crecimiento no ha sido constante, tal y como se visualiza en la gráfica siguiente.



Figura1. Histórico de la producción mundial de carne ovina. Fuente: FAO

China es el principal productor, con más de dos millones de toneladas de carne producidas, seguido, muy lejos, por Australia y Nueva Zelanda. México se ubica en la posición 31 a nivel mundial(29).

2.2.6. Producción mundial de lana ovina.

Como se aprecia en la gráfica siguiente, del 2004 al 2013, la producción mundial de lana ha tenido variaciones, pasando de 2.1 millones de toneladas en 2004 a 2.21 millones en el 2006, año en el cual, presenta un pico de producción, para caer a 2.0 en el 2010. La reducción total en la producción del 2004 al 2013 es de 1.49%.



Figura 2. Histórico de producción mundial de lana. Fuente: FAO

China, Australia y Nueva Zelanda son los principales productores de lana, de acuerdo con datos de la FAO (2013). Estos tres países tienen en conjunto, cerca del 50% de la producción mundial. México se posiciona en el lugar 48(29).

2.2.7. Características generales de los ovinos.

Su cuerpo está cubierto de un pelo espeso, rizado y suave denominado lana, con cuernos o sin ellos, orejas de tamaño medio. Sus extremidades son finas y acabadas en pezuñas.

-El macho recibe el nombre específico de carnero, los ejemplares de menos de un año de ambos sexos reciben el nombre de corderos.

-Características según el biotipo

- Para la producción de lana y piel los huesos están más desarrollados que en los otros.

- Para la producción de carne se aprecia el desarrollo de los tejidos musculares y grasa mientras que es muy escaso el porcentaje de esqueleto, piel y órganos internos.

- Para la producción de leche adquieren gran cantidad de los órganos internos para asimilar más alimento y producir leche en detrimento de la carne, leche, grasa y piel.

- Para la producción de leche adquieren gran cantidad de los órganos internos para asimilar más alimento y producir leche, carne, grasa y piel.

-Característica reproductiva

Poder fecundante 30 h

Tiempos de máximo de supervivencia 40 h.

Punto de fecundación Unión útero-tubaria 8 h.

Periodo fértil 15 h.

Especie: unípara(30).

2.2.8. Características nutricionales de la carne ovina.

Es un producto que, bajo un punto de vista tisular y comparativamente con otras especies, tiene un elevado contenido en grasa. Este contenido de grasa está especialmente influenciado por la edad-peso al sacrificio y sitúa a las canales del tipo ternasco en una situación intermedia entre los lechales (menos grasos) y los corderos semipesados (más grasos). El porcentaje total de grasa oscila entre el 12 y el 25 %, considerando todos los componentes grasos de la canal según su clasificación comercial por engrasamiento (31).

Además de tener riqueza de proteínas y enzimas que hay en la carne, encontramos una gran cantidad de hierro en las carnes roja, el cual se presenta, al doble en carnes de ganado vacuno y ovino, así como la absorción del mismo gracias a las proteínas pigmentadas (32).

2.2.9. Razas de ovinos.

Hay más de 450 razas de ovejas en todo el mundo ocupando los espacios más variados, desde las zonas de régimen desértico hasta las áreas tropicales húmedas. Algunas se especializan en la producción de carne, lana o leche, siendo las más utilizadas para el doble propósito las siguientes(33).

2.2.9.1. Criolla.

Descendiente de las ovejas de las razas Churra y Manchega originarias de España introducidas al país en época de la conquista. Es un animal pequeño, magro y produce un vellón muy liviano formado por una mezcla de pelos largos y gruesos con lanilla corta y fina, algo característico de los ovinos antiguos; en el país existe aproximadamente el 90% de ovinos criollos en su mayoría en estado puro y otras manadas en proceso de mestizaje (34).



Imagen4. Ovino Criollo

2.2.9.2. Black Belly.

Por su presencia de celo continuo ya que al mes presenta celo, de su alto índice de Prolificidad intervalo entre parto es de 8 meses. El peso total al Nacimiento de 2 crías es de 2.25 Kg. Prolificidad (3 a 4 crías por parición);rápida ganancia de peso ,Carne magra (poca grasa) Resistente a enfermedades son bastantes rústicos



Imagen6. Ovino Black Belly

2.2.9.3. Pelibuey.

La Pelibuey tenía un peso adulto aproximado de 50 kg en los machos y entre 30 y 40 kg en las hembras los pesos al nacimiento oscilan entre 2.5 y 3.4 kg en partos simples, siendo menores en partos múltiples. Los pesos al destete están influenciados principalmente por la edad en la que este ocurre (generalmente entre los 60 y los 90 días) y van de los 11 a los 16 kg (35).

Las razas en el Ecuador son de tres tipos: en su mayoría criollas con el 96% del total de la población, le siguen las cruza con el 3% y puras con apenas 1%.(34).

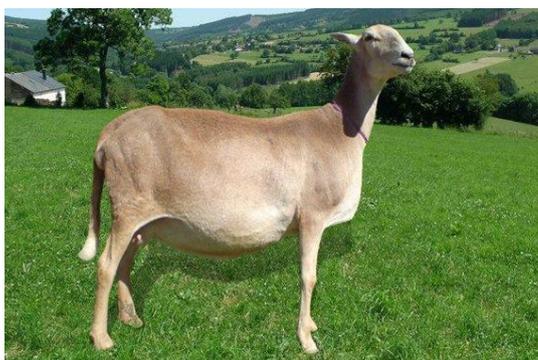


Imagen7. Ovino Pelibuey

2.2.10. Bacterias que causan enfermedades cutáneas.

2.2.10.1. *Staphylococcus aureus.*

Es un patógeno que causa una amplia gama de infecciones clínicas; es una de las principales causas de bacteriemia y endocarditis infecciosa, así como infecciones osteoarticulares, de piel y tejidos blandos(36).

2.2.10.2. *Staphylococcus pyogenes.*

Es uno de los patógenos bacterianos más importante agente causal más frecuente de faringitis agudas bacterianas, además infecciones cutáneas incluidas erisipela, impétigo, celulitis y cuadros sistémicos severos como fascitis necrosante, miositis y síndrome del shock tóxico; Este microorganismo es conocido por la gran cantidad de proteínas extracelulares que produce, factores de virulencia, que incrementan la patogenicidad del mismo, al desencadenar una respuesta inespecífica y exacerbada en el sistema inmunológico(37)

2.2.10.3. *Clostridium perfringens*.

Es un bacilo Gram positivo ,anaerobio facultativo responsable de una gran variedad de enfermedades en humanos y animales una de ellas es la de edemas en tejidos subcutáneos, se encuentra distribuido en el suelo, la virulencia de esta especie está determinada por la presencia de sus potentes exotoxinas(38)

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Localización y metodología.

La determinación de los microorganismos presentes en abscesos cutáneos se realizó en el Laboratorio de Biología y Microbiología del campus La María, ubicado en el km 7 ½ de la vía Quevedo – El Empalme. La cual, presenta las siguientes condiciones agroclimáticas.

Tabla 1. *Condiciones agroclimáticas del cantón Quevedo, 2019.*

Parámetros	Promedio
Temperatura promedio °C	25.47
Humedad relativa, %	85.84
Precipitación, anual. mm	2223.85
Heliofanía, horas luz /año	898.66
Zona ecológica	bh – T
Topografía	Ligeramente Ondulada

Fuente: Departamento Agro meteorológico del INIAP. Estación Experimental Tropical Pichilingue.

3.2. Tipo de investigación.

3.2.1. De laboratorio

Se realizó en el laboratorio bajo condiciones controladas donde se llevó a cabo la investigación para determinar el tipo de microorganismo presente en los abscesos cutáneos de los ovinos en el campus “La María”

Método de investigación.

3.2.2. Método analítico.

Esta investigación fue analítica porque se conoce el entorno, a fin de identificar los microorganismos presentes en los abscesos cutáneos en ovinos criollos mediante los objetivos planteados.

3.2.3. Método Descriptivo.

Mediante este tipo de investigación se logró describir el proceso, la recolección información y descripción de los datos.

3.2.4. Método de observación.

Este método tiene la facultad que permite describir y explicar los acontecimientos que surgirán en la investigación.

3.2.5. Método deductivo.

Se empleó este tipo de investigación, buscando darle solución partiendo de un problema, el mismo que nos permitió obtener una solución.

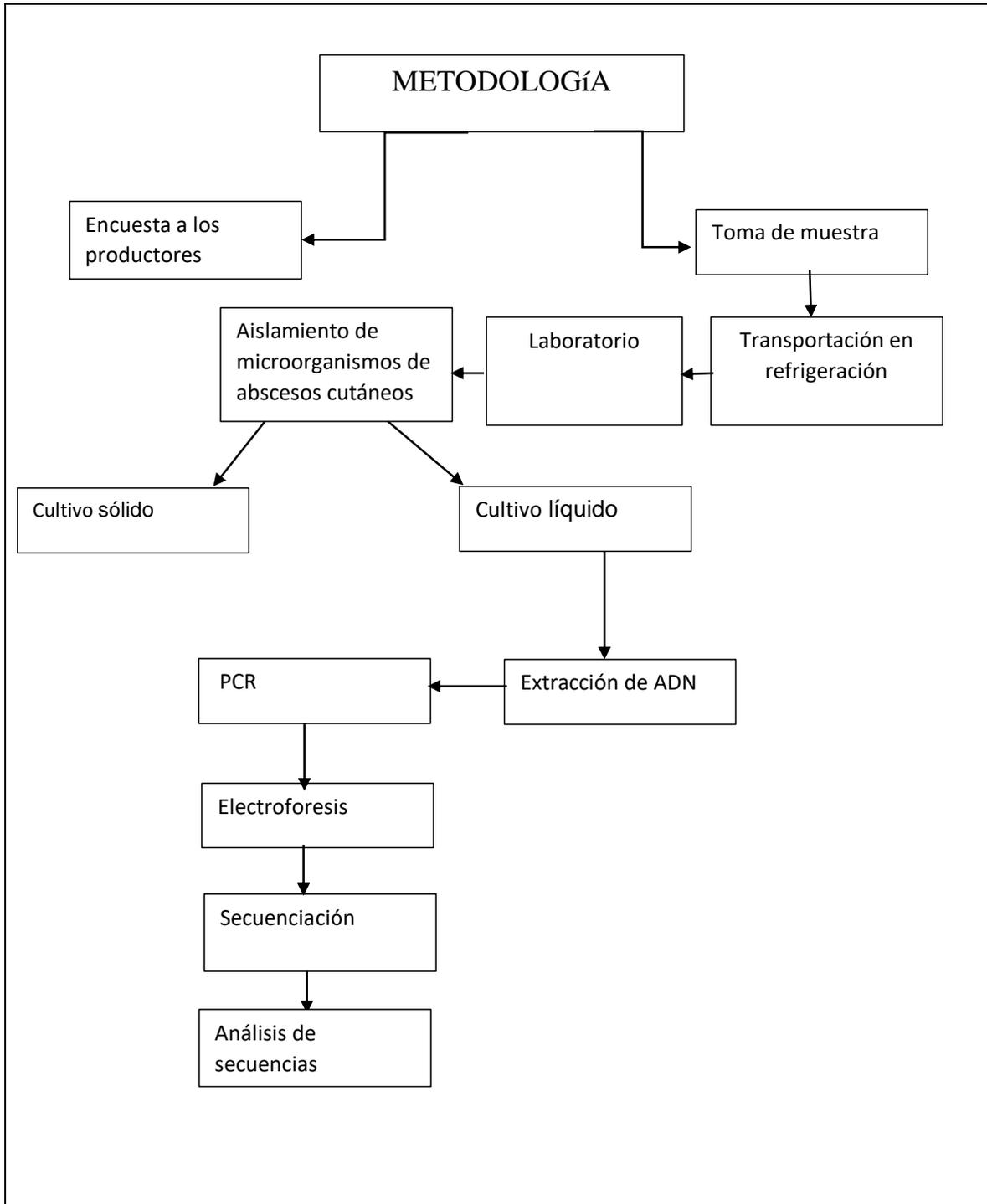
3.3. Fuentes de recopilación de información.

La información se la obtuvo de fuentes confiables del campo de estudio tales como revistas, internet, libros que serán soporte para la investigación planteada y cumplir con los objetivos propuestos.

3.4. Instrumentos de investigación.

3.4.1. Variable a estudiar.

El diseño que se realizó para esta investigación se muestra en el siguiente esquema.



Encuesta

Se realizaron 10 encuestas en las ciudades de Quevedo, Mocache pertenecientes a la provincia de los Ríos y El Empalme a la provincia del Guayas para determinar las condiciones sanitarias en las que se encuentran los ovinos en los criaderos mediante preguntas específicas sobre el manejo de la producción.

Toma de muestra

Al identificar un absceso cutáneo en los ovinos, se rasuró el área donde se encontraba el absceso cutáneo posteriormente, se limpió el área con suero fisiológico para así proceder a realizar la toma de muestra con una jeringa de 5cm de manera directa; el contenido se colocó en viales con una solución de glicerina estéril al 30%.

Transporte de la muestra

Las muestras recolectadas, se colocaron en hieleras en una cama de hielo para transportarse al laboratorio de Biología y Microbiología del campus La María.

Cultivo Microbiano

Para aislar microbiológicamente las bacterias presentes en abscesos cutáneos de los ovinos, se utilizó el medio de cultivo estéril (Fisher BioReagents Microbiology Media: LB Agar, Miller Powder) a una temperatura de 37°C por 24 horas.

Caracterización Morfológica

Se realizó observando la textura, estructura y color del microorganismo a estudiar. Además, se realizó una tinción de gram.

Caracterización Molecular

La caracterización molecular de las bacterias obtenidas de los abscesos cutáneos de los ovinos se realizó por medio de secuenciación de productos de PCR, para ello, se realizó extracciones de ADN.

Extracción de ADN

El método de extracción de ADN que se empleó fue por medio de un kit comercial (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit) el cual, consiste en:

A partir de un cultivo fresco de bacterias (3 mL) con una densidad de 2×10^9 se resuspendió en 180 µL de buffer de digestión genómica PureLink®. Para la lisis, se le agregó 20 µL de proteinasa K, homogenizando por medio de vortex (Genie, SKU:SI-0236) las muestras se incubaron a 55 °C por 2 hrs en un termoblock (Gemmyco, DB-00) con agitación ocasional. Se agregó 20 µL de RNasa y se homogenizó; posteriormente, se usó 200 µL de unión / lisis genómica PureLink® y se mezcló por vórtex; se le adiciono 200 µL de etanol al 100%. El

alisado se pasó por una columna de PureLink y se centrifugo (HETTICH, MIKRO 200) a 10.000 RPM durante un minuto, se aplicó 500 µL de Buffer de lavado y se centrifugó a 10.000 RPM. Para los lavados, se le agregó 500 µL de Wash Buffer 2 preparado con etanol; para la elución del ADN, se aplicó 50 µL de PureLink Genomic Elution Buffer a la columna en un tubo de microcentrífuga estéril de 1.5 mL y se dejó incubar durante 5 minutos, finalmente, se centrifugó para rescatar la mayor cantidad de ADN. El ADN se conservó a -20 °C hasta su posterior uso.(39).

PCR

El ADN extraído de las bacterias correspondientes a los abscesos cutáneos de los ovinos, se utilizó como molde para la reacción de cadena de la polimerasa (PCR) donde se utilizó los primers 16S del ARN ribosomal bacteriano 27F Forward 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG -3 'y 515 R Reverse 5' TTACCGCGGCKGCTGGCAC-

Tabla2.Condiciones de PCR

Nombre	Secuencia	Tamaño pb	Tm °C	Referencia
27F5'	5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3	500	55	[17]
515 R	5' TTACCGCGGCKGCTGGCAC-3	n/a		[18]

Condiciones de PCR

Paso	Temperatura	Tiempo
Desnaturalización	95°C	4 minutos
Ciclos PCR	95°C	1 minuto
35 ciclos	55°C	30 segundos
	72°C	1 minuto
Extensión final	72°C	10 minutos
Final	4°C	Forever

Electroforesis

Para la electroforesis, se utilizó un gel de agarosa al 1% con un voltaje de 100V por una hora. Se utilizó BrEt en concentración de 0.5g/mL, el gel de agarosa se visualizó utilizando en un transiluminador de luz UV cleaver scientific modelo duoview y posteriormente, se fotografió con una cámara Canon T6.

Purificación de los productos de PCR

Los productos de PCR se purificaron por medio del Kit comercial Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up Start Up Kits siguiendo las indicaciones del fabricante.

Secuenciación

La secuenciación de los productos de PCR para identificar el tipo de bacterias presente en los accesos cutáneos de los ovinos criollos se realizó mediante el servicio de la empresa Macrogen Inc. (Korea) donde ellos utilizan secuenciadores AppliedBiosystems 3730XL de alto rendimiento y última generación.

Análisis de las secuencias

La determinación de la secuencia exacta de los productos de PCR obtenida permitió la comparación y análisis de las secuencias nucleotídicas con aquellas secuencias de bacterias depositadas en la base de datos GenBank ® utilizando el programa informático de alineamientos de secuencias BLAST.

3.5. Recursos humanos y materiales.

Para realizar esta investigación se precisa de recursos humanos de la encargada del laboratorio de biología y microbiología la Ing. Carla Torres, la guía del docente tutor y del autor.

3.5.1. Materiales y equipos.

3.5.1.1. Material biológico.

El material biológico que se utilizó fueron las muestras obtenidas (pus) de los abscesos presentes en los ovinos.

3.5.1.2. Materiales de laboratorio.

- Plancha de calentamiento con agitador magnético.
- Matraz Erlenmeyer de 250 mL.
- Gotero.
- Bureta graduada y accesorios.
- Gradilla.

- Tubos de ensayo con tapones de rosca; longitud de 160 mm y diámetro de 16 mm.
- Probeta
- Porta tubos.
- Ultra congelador
- Incubadoras
- Balanza
- Cámara de electroforesis
- Transimulador
- Micropipetas
- Microcentrífuga
- Cámara fotográfica
- Cajas petris
- Viales (volumen, marca)
- Microscopio (marca, modelo)
- Vortex
- Baño maría
- Termociclador

3.5.1.3. Reactivos.

- Glicerina al 30%
- Agar
- Agua destilada.
- ProteinasaK
- Primers 16S
- Etanol
- Agarosa
- Bromuro
- Marcador de peso molecular 1kb
- Buffer de carga
- TAE 1X
- Polimerasa

- Kit de extracción de ADN (Invitrogen)
- Kit de PCR(thermo scientific)
- Kit de purificación de productos de PCR (thermo scientific)
- Con que hizo la tinción de Gram

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Estado Sanitario de los ovinos y sus criaderos en las provincias de Los Ríos y Guayas

Para determinar el estado sanitario de los ovinos en criaderos se realizó por medio de encuestas aplicadas a 9 sitios correspondientes a Quevedo, El Empalme Y Mocache. Se analizaron un total de 123 animales obteniendo que, la mayor incidencia de enfermedad en las ovejas son las enfermedades ocasionadas por paracitos (41%), gastrointestinales (31%) y los problemas en la piel con un (28%) (Grafico1). Por otra parte, el análisis sanitario indico que, la época lluviosa es donde se presentan la mayor cantidad de patologías en los ovinos esto posiblemente a la humedad existente. Los tratamientos utilizados para combatir estas afecciones son los antibióticos y productor de origen químico.

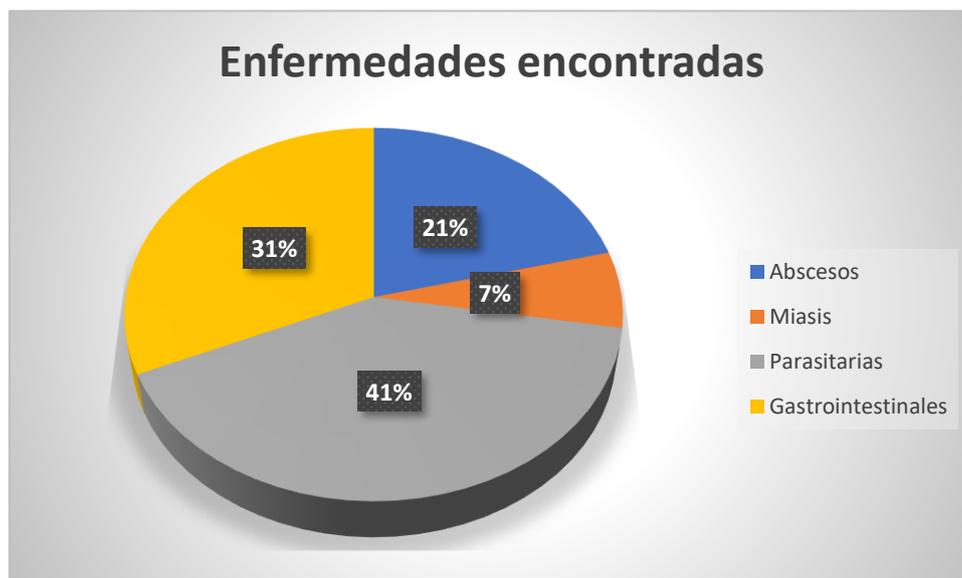


Figura 3. Enfermedades encontradas en las provincias de los Ríos y Guayas

Aislamiento microbiológico.

Para determinar las bacterias presentes en los accesos cutáneos de los ovinos, se realizó un aislamiento microbiológico encontrando un solo tipo de cepa bacteriana observando sus características morfológicas las cuales, fueron consistente en todos los aislamientos microbiológicos (Tabla3). La tinción de gran, revelo que, la cepa obtenida es una gran + (figura3).

Tabla3. Características morfológicas y microbiológicas de las bacterias aisladas de los abscesos cutáneos en los ovinos.

Aislamiento	Color de bacteria	Textura	Forma	Borde de la colonia	Elevación de la colonia	Reacción de gram
M1	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M2	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M3	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M4	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M5	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M6	Amarillo Blanquinoso	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M7	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M8	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M9	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M10	Amarillo Blanquinoso	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M11	Amarillo Blanquinoso	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M12	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M13	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M14	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M15	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M16	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+
M17	Blanco	Creмоса	Irregular	Redondeado	Plana	+

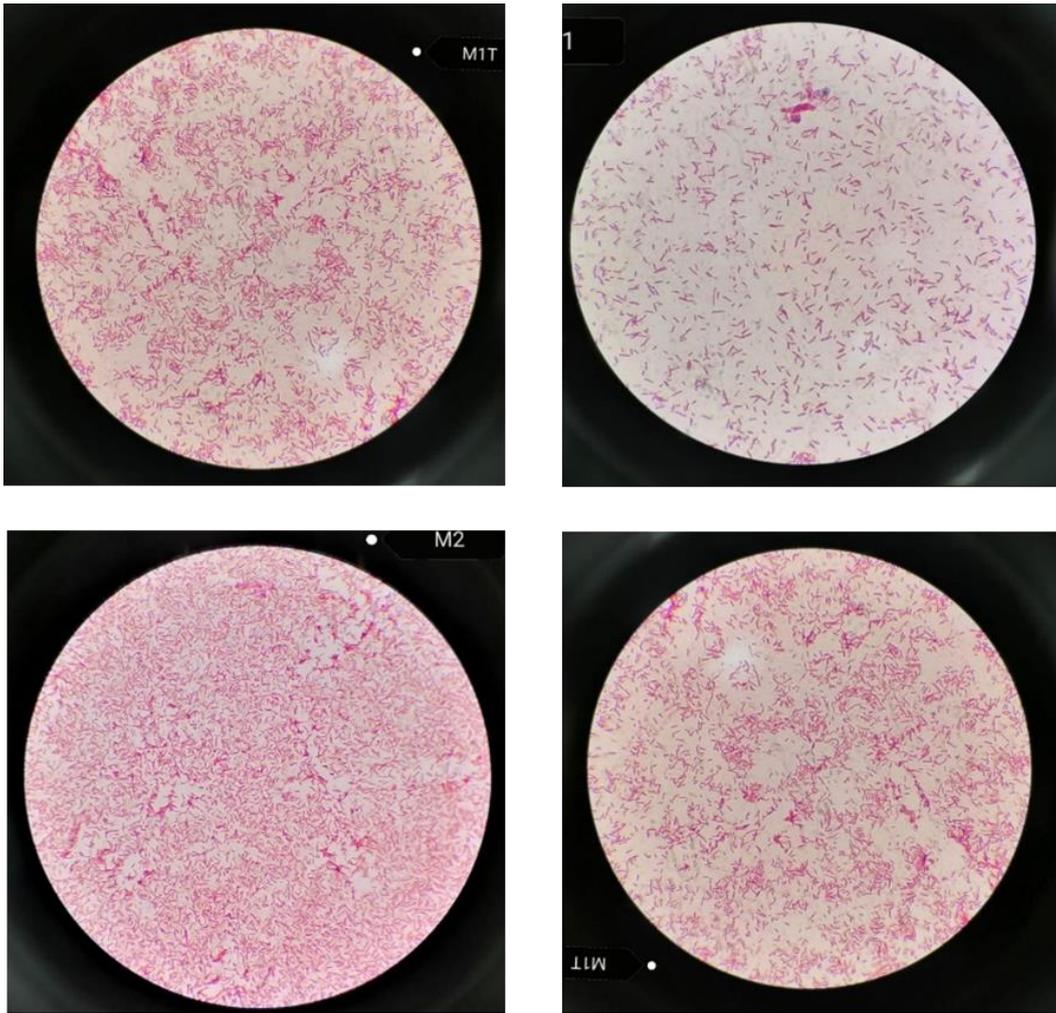


Figura3. Tinción gran de las colonias aisladas de los accesos cutáneos en los ovinos criollos.

4.2. Análisis molecular de microorganismos presentes en los abscesos cutáneos de ovinos.

Extracción de ADN.

Los resultados de la extracción de ADN determinaron que, las muestras extraídas contaban con buena calidad y cantidad de ADN esto se reflejó con las lecturas de A260/A230 y A260/A280 (Tabla 4).

Tabla4. Lectura de la extracción de ADN

MUESTRAS	A260/A230	A260/A280	ng/ μ L	Volumen Total (μ L)	Concentración total ng/100 μ L
M1	1.81	1.85	85	100	8500
M2	1.88	1.80	75	100	7500
M3	1.77	1.79	50	100	5000
M4	1.83	1.81	90	100	9000
M5	1.79	1.79	60	100	6000
M6	1.89	1.91	95	100	9500
M7	1.80	1.80	75	100	7500
M8	1.83	1.87	80	100	8000
M9	1.79	1.88	70	100	7000
M10	1.82	1.88	90	100	9000
M11	1.80	1.87	80	100	8000
M12	1.83	1.91	95	100	9500
M13	1.76	1.80	60	100	6000
M14	1.77	1.89	75	100	7500
M15	1.79	1.86	75	100	7500
M16	1.83	1.91	90	100	9000
M17	1.76	1.79	60	100	6000

PCR.

En el resultado de la PCR se observó una banda de aproximadamente 500pb. La calidad de la banda al igual que, el control negativo nos indicó que las reacciones y condiciones que se manejaron de la PCR fueron las adecuadas (Figura4).

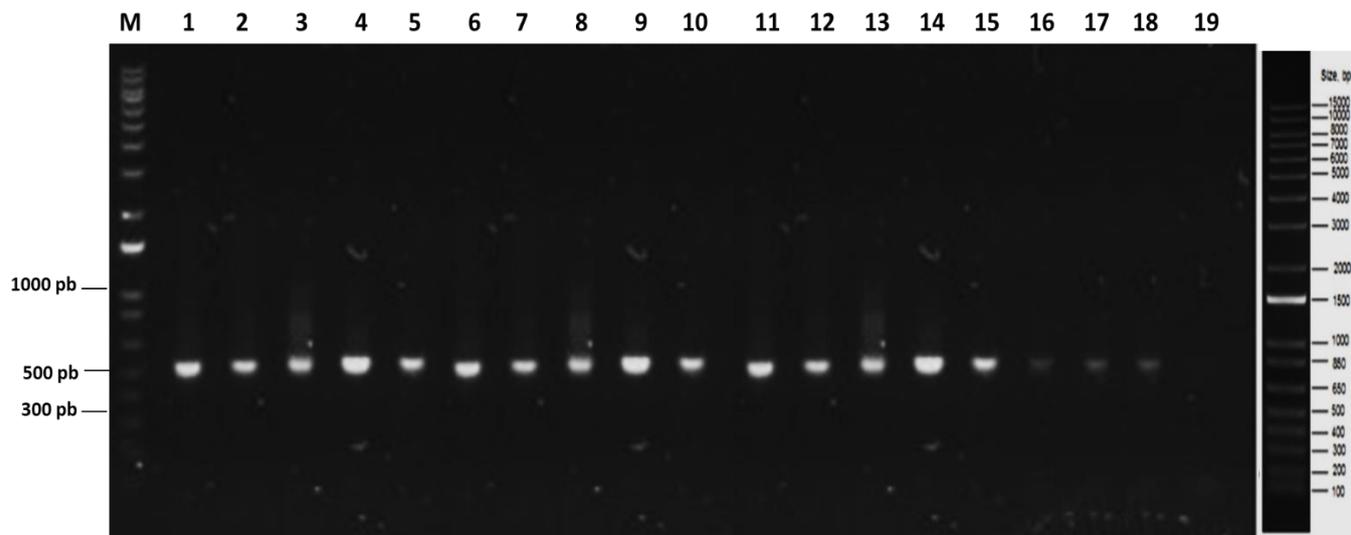


Figura4. PCR de las bacterias aisladas de los ovinos en un gel de agarosa al 1% donde: M=marcador de peso molecular 1kb de Thermofisher Scientific. 1al 17 = PCR con primers 16S. 18 = control positivo, 19= control negativo.

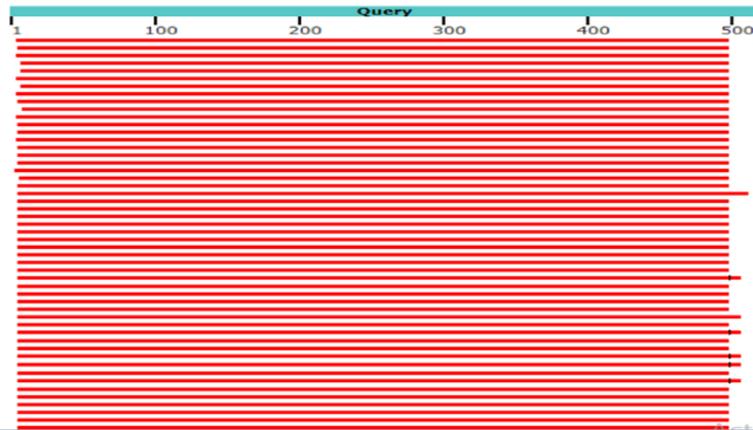
Secuenciación

Las secuencias fueron de buena calidad, limpias y claras que permitieron que la secuenciación sea óptima para el análisis de las muestras como se muestra en la figura 3, el resultado que se obtuvo después de alinear las secuencias nos indicó que la bacteria causante de los abscesos es *Bacillus sp* (Figuras 5 y 6).



Figura 5. a) Secuencia de una muestra de producto de PCR con 16S de bacterias aisladas de accesos de ovino b) calidad de la secuencia.

Distribution of the top 271 Blast Hits on 100 subject sequences



	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Accession
✓	Bacillus mobilis strain 148 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	909	909	94%	0.0	100.00%	MK389421.1
✓	Bacillus thuringiensis strain S22Ba-195 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	907	907	94%	0.0	100.00%	HQ238618.1
✓	Bacillus toyonensis strain STM23 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	904	904	94%	0.0	99.80%	KY393017.1
✓	Bacillus tequilensis strain S521B-3 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	904	904	94%	0.0	100.00%	HQ238464.1
✓	Bacillus cereus strain G-1 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	904	904	94%	0.0	100.00%	FJ493041.1
✓	Arthrobacter sp. A5 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	904	904	94%	0.0	99.80%	EU882856.1
✓	Bacillus sp. cp-h12 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	904	904	94%	0.0	100.00%	EU584533.1
✓	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain 206317 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	902	902	94%	0.0	99.80%	MN538872.1
✓	Bacillus sp. (in: Bacteria) strain XA15-41 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	902	902	94%	0.0	99.80%	MH769066.1
✓	Bacillus sp. ZJHG05 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	902	902	94%	0.0	100.00%	KM114620.1
✓	Bacillus anthracis strain 2-Sj-2-2-26-M 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	902	902	94%	0.0	99.80%	KJ009486.1
✓	Bacillus sp. C10(2011) 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	902	902	94%	0.0	99.80%	HQ998860.1
✓	Bacillus sp. cp-h8 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	902	902	94%	0.0	99.80%	EU584532.1
✓	Bacillus toyonensis strain PK1-17B 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	900	900	94%	0.0	99.60%	MN428205.1
✓	Bacillus cereus strain A14 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	900	900	94%	0.0	99.80%	MG709163.1
✓	Bacillus cereus strain A6 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	900	900	94%	0.0	99.80%	MG709155.1
✓	Bacillus thuringiensis strain CH_microcosmos_2011_52_s4_sed_dir_G10 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	900	900	94%	0.0	99.80%	MG896972.1
✓	Bacillus thuringiensis strain L33 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	900	900	95%	0.0	99.60%	MG719560.1
✓	Bacillus sp. W8B-62 16S ribosomal RNA gene .partial sequence	900	900	94%	0.0	99.80%	HQ238684.1

Figura6. Alineación de secuencias por medio del programa informático Blast.

Mediante la realización del análisis de las secuencias se pudo determinar que el agente causal de los abscesos cutáneos en los ovinos tanto de las Provincias de Los Ríos y Guayas fue el *Bacillus sp* con un porcentaje de identidad genética del 100% (figura6). Estos resultados son de vital importancia ya que, los *Bacillus sp* son organismos patógenos de carácter zoonótico. En una investigación realizada por Guzmán et al., (40), nos dice que el *Bacillus anthracis* es el agente causal del ántrax cutáneo y que la bacteria antes mencionada es capaz de causar una enfermedad epidémica en humanos y otros mamíferos, afecta principalmente a animales herbívoros, domésticos y silvestres siendo el ser humano un hospedero accidental de este microorganismo contaminándose mediante el contacto directo con animales infectados o

ingiriendo carne contaminada, este problema se da comúnmente en países subdesarrollados por la falta de vacunación a los animales, esto se intensifica cuando las medidas profilácticas y de sanidad no son las adecuadas.

.

Gamietea, (41) menciona que, el ántrax generada por *Bacillus sp* es una importante enfermedad zoonótica, y que la (OMS) tiene un estimado de entre 20.000 y 100.000 contagios en humanos en todo el mundo anualmente, se puede contagiar de diferentes maneras cutánea, entérica o inhalatoria.

Los *Bacillus* no solo se asocian a infecciones cutáneas si no a la liberación de toxinas perjudiciales para el consumo humano, Cortez Sánchez (42) en su estudio indica que en *Bacillus cereus* es un patógeno productor de tox infecciones alimentarias las cuales son producidas al consumir alimentos contaminados por esta bacteria como pueden ser carnes, leche, quesos, Sánchez(43) nos indica en su investigación que el *Bacillu cereus* que es una bacteria genéticamente diversa, que afecta al ser humano al consumir el microorganismo y sus toxinas y nos recomienda aumentar la vigilancia en este patógeno y realizar estudios relevantes para aplicar medidas de control para disminuir intoxicaciones causadas por este patógeno.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

- En los diferentes sitios evaluados se determinó que las medidas de control sanitaria no cumplen con los protocolos establecidos para la crianza y producción de ovinos la cual puede crear un foco de infección de algún agente patógeno.
- El aislamiento de los microorganismos se realizó de forma exitosa obteniendo así muestras de buena calidad y confiables en los cuales se aisló una cepa a la cual se le realizó una tinción gram y se determinó que su morfología era de bacilos gram positivos.
- La caracterización molecular fue buena ya que pudimos determinar que la bacteria causante de los abscesos en los ovinos fue el *Bacillus sp* la cual ,puede ser zoonótica.

5.2. Recomendaciones.

- Llevar a cabo todas las normas de bioseguridad establecidas como son el uso de guantes y mascarillas para la manipulación de animales infectados ya que al ser una bacteria patógena puede causar afecciones al ser humano.
- La creación de un calendario de desinfección y limpieza en los criaderos de ovinos para así evitar la proliferación de algún agente patógeno que este en estado latente en algún sector del criadero.
- Colocar en estado de cuarentena a los animales que estén afectados por algún problema cutáneo para así evitar la proliferación de las bacterias de un animal a otro y que dejen esparcido el agente patógeno por los lugares donde se movilicen.

CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFIA

Bibliografía

1. Hervé M. Carne Ovina: Producción, características y oportunidades en lo que hoy demanda el consumidor nacional e internacional. Agrimundo [Internet]. 2013;23. Available from: <http://www.agrimundo.cl/wp-content/uploads/Carnes-Rojas-Informe-experto-HerveFinal.pdf>
2. WASHINGTON NAPOLEÓN MANOBANDA GUAQUIPANA. MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL TESIS DE GRADO MAESTRÍA EN PRODUCCIÓN ANIMAL “ CARACTERIZACIÓN FENOTÍPICA Y SISTEMAS DE LA PROVINCIA DE BOLÍVAR .” ESPE; 2015.
3. Del I, Cedillo A, Alexandra P, Morocho S, Silvana J, Lalangui IM. Informe del ganado ovino. 2015;
4. Mónica Delgado, Gallardo R. Lana Ecologica , Una Innovadora Idea Para. ESPE; 2014.
5. Jiménez RM de O. Revista Electrónica Nueva Época Veterinaria. Vol. 9. 2018.
6. Robles C, Peralta A, Lucía Alvarez ;, Agustín Martínez ; Brote atípico de ectima contagioso en ovinos Merino de la Patagonia Argentina. Rev med vet (B Aires) [Internet]. 2017;2017(1):5–10. Available from: https://inta.gob.ar/sites/default/files/687_-_brote_atipico_de_ectima_contagioso.pdf
7. Alejandro C. ÁREA PRODUCCIÓN ANIMAL Estudio de Conocimientos , Actitud y Prácticas (CAP) en Sanidad Animal Estudio de Conocimientos , Actitud y Prácticas (CAP) en Sanidad Animal. 2018;
8. Carlos Robles. Piel Y Del Vellon. 2010;5–8.
9. Macêdo JTSA, Riet-Correa F, Dantas AFM, Simões SVD. Doenças da pele em caprinos e ovinos no semi-árido brasileiro. Pesqui Vet Bras. 2008;28(12):633–42.
10. Windsor PA, Lomax S. Addressing welfare concerns in control of ovine cutaneous

- myiosis in sheep in Australia. *Small Rumin Res* [Internet]. 2013 Mar 1 [cited 2019 May 7];110(2–3):165–9. Available from:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0921448812004877>
11. Alós J-I. Resistencia bacteriana a los antibióticos: una crisis global. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2015 Dec 1 [cited 2019 May 23];33(10):692–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0213005X14003413>
 12. Saavedra Lozano J, Santos Sebastián M, González F, Hernández Sampelayo Matos T, Navarro Gómez M. Infecciones bacterianas de la piel y tejidos blandos. *Protoc la AEP Protoc Infectología* [Internet]. 2011;159–75. Available from:
<http://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/piel.pdf>
 13. Piro OE. Breve Historia Del ADN, su estructura y función. *Cienc Invest* [Internet]. 2014;64(3):25–50. Available from:
<http://www.nowtilus.com/descargas/NOWTILUSBHKUNGFRACTAMENTO.pdf>
 14. Figueras DC. Introducción a los Antibióticos [Internet]. 2016 [cited 2019 May 23]. Available from: <http://www.upiip.com/sites/upiip.com/files/Introducción a los antibióticos.Julio 2016.pdf>
 15. Media E, Negra P, Khatima I. *Bacter*. 2010;(1020):1–28. Available from:
<https://biologicalia.files.wordpress.com/2008/08/bacteria2010.pdf>
 16. Jainudeen M, Wahid H, Hafez E. Ovejas y Cabras. *Reprod e Inseminación Artif en Anim*. 2002;177.
 17. Santambrosio E. PCR (Polymerase chain reaction) Reacción en cadena de la polimerasa. *Univ Tecnológica Nac* [Internet]. 2011;1:19. Available from:
<http://www.frro.utn.edu.ar>
 18. Of E, Analysis G. Secuenciación del ADN. *Nature*. 2010;724(2009):719–24.
 19. Gooch JW. Zoonosis. *Encycl Dict Polym*. 2011;20(Supl 1):933–933.

20. Fredy Arenas , Maria Camila Ceballos AMT. RUMIANTES MENORES: Origen y evolución de los ovinos [Internet]. 2012 [cited 2019 Apr 25]. Available from: <http://rumiantesmenores.blogspot.com/2012/04/origeny-evolucion-de-los-ovinos.html>
21. Bertamini EF, Bervejillo IAJ. Producción ovina: análisis y perspectivas [Internet]. 2015 [cited 2019 Apr 25]. Available from: [http://www.camaramercantil.com.uy/uploads/cms_news_docs/Cadena Ovina anuario OPYPA 2015 .pdf](http://www.camaramercantil.com.uy/uploads/cms_news_docs/Cadena_Ovina_anuario_OPYPA_2015.pdf)
22. Rodriguez Sanchez M. CURSO: PRODUCCIÓN Y BIENESTAR ANIMAL. PEQUEÑOS RUMIANTES CÓRDOBA, MARZO DE 2.010 MANUEL SÁNCHEZ RODRÍGUEZ DPTO. DE PRODUCCIÓN ANIMAL UNIV. DE CÓRDOBA. 2010.
23. Sociedade Brasileira de Zootecnia. Revista brasileira de zootecnia = Brazilian journal of animal science. [Internet]. 2008 [cited 2019 Apr 25]. Available from: <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=SCBR.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expression=mfn=025126>
24. Martínez González S, Humberto MC, Flores LAM, Jesús ZG, Efrén EMM, Rafael FM, et al. Análisis económico en la producción de ovinos en Nayarit, México. Abanico Vet [Internet]. 2011 Jul 3 [cited 2019 Apr 26];1(1):37–43. Available from: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=45596>
25. Navarro R, Bórquez F, Consultores B. Resultados y Lecciones en Producción de Leche y Queso de Oveja Latxa : Proyectos de Innovación en Región de Los Ríos y Región de Los Lagos : Pecuario/Ovinos. Libr Valorización [Internet]. 2011 [cited 2019 Jun 26]; Available from: <http://bibliotecadigital.fia.cl/handle/20.500.11944/1899>
26. Yelis Roa. 10 Características de las ovejas que te encantarán ¡Obsérvalas! [Internet]. 2017 [cited 2019 Apr 26]. Available from: <https://agronomaster.com/caracteristicas->

de-las-ovejas/

27. Hidalgo P. Cadena productiva ovino- caprina. *Minagricultura*. 2017;22.
28. Pazmiño López FB, Rubio Fraga DP. Diagnóstico de producción y comercialización de carne ovina en los principales centros de distribución de las provincias de Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo. 2012 [cited 2019 Apr 26]; Available from: <http://repositorio.espe.edu.ec:8080/handle/21000/8578>
29. SAGARPA. PLAN RECTOR SISTEMA PRODUCTO OVINOS (2015-2024) [Internet]. 2016 [cited 2019 Apr 26]. Available from: http://spo.uno.org.mx/wp-content/uploads/2016/05/plan_rector_ovinos2016.pdf.pdf
30. Raquel Orellana Peralta. Características generales de los ovinos [Internet]. 2010 [cited 2019 Apr 26]. Available from: <https://www.engormix.com/ovinos/foros/caracteristicas-generales-ovinos-t11753/>
31. Atención E, Ternasco AL, Aragón DE, Sañudo C. CARACTERÍSTICAS DE LA CARNE DE CORDERO CON [Internet]. [cited 2019 Apr 26]. Available from: https://www.aragon.es/estaticos/ImportFiles/12/docs/Areas/Seguridad_Agroalimentaria/Agencia_Aragonesa_Seguridad_Alimentaria/Dictámenes_informes/AASA/Caracteristicas/DOCUMENTO_ORIGINAL_CARACTERISTICAS_CARNE_CORDE RO.pdf
32. CORDEROFEST. Características nutricionales y organolépticas de la carne de ovino [Internet]. 2014 [cited 2019 Apr 26]. Available from: <http://spo.uno.org.mx/wp-content/uploads/informe2013/corderofest/caracteristicasorganolepticas.pdf>
33. Razas ovinas y sus características [Internet]. 2012 [cited 2019 Jul 10]. Available from: http://www7.uc.cl/sw_educ/prodanim/mamif/siii2.htm
34. Esther R, Verónica CRG. "CRECIMIENTO Y DESARROLLO DE OVINOS CORRIEDALE Tesis previa a la obtención del Título de Ingeniero Agropecuario AUTORAS [Internet]. 2012 [cited 2019 Apr 26]. Available from:

http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/2123/1/TESIS_OVINOS.pdf

35. Aguilar-Martínez CU, Berruecos-Villalobos JM, Espinoza-Gutiérrez B, Segura-Correa JC, Valencia-Méndez J, Roldán-Roldán A. Origin, history and current situation of pelibuey sheep in Mexico. *Trop Subtrop Agroecosystems*. 2017;20:429–39.
36. Tong SYC, Davis JS, Eichenberger E, Holland TL, Fowler VG. *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2015 Jul 1 [cited 2019 Jul 4];28(3):603–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26016486>
37. Galeano F, Gabriela Sanabria B, Dolores Lovera D, Bq Patricia Araújo D, Juan Irala J BD, Rosa Guillén D, et al. CASO CLÍNICO Caracterización molecular de caso fatal por *Streptococcus pyogenes* Molecular characterization of fatal cases by *Streptococcus pyogenes*. *Rev Inst Med Trop* [Internet]. 2015 [cited 2019 Jul 4];10(2):26–30. Available from: <http://dx.doi.org/10.18004/imt/201510226-30>
38. Pérez D, Lenin M, Rosadio R. Genotipificación y subtipificación de *Clostridium perfringens* aislados de crías de alpacas muertas por enterotoxemia. *Rev Investig Vet del Peru*. 2012;23(3):272–9.
39. Alvis-Arango AA. Evaluación de los métodos fenol-cloroformo y columnas de sílice para extracción de ADN a partir de tejido óseo. *Colomb Forense*. 2015;2(1):67.
40. Guzmán-Terán¹ C, Calderón-Rangel² A, Ella Soto-Gómez³. ANTRAX : ENFERMEDAD AÚN VIGENTE. 2017;55–68.
41. Gamietea IJ. Ganadería bovina en el área de influencia de la EEA INTA San Pedro. EEA San Pedro, INTA. 2019;1–13.
42. Diaz Ramirez M, Salgado Cruz M de la P. *Bacillus cereus* : alimentos, salud y biotecnología. 2018;10:3–9.

43. Sánchez J, Correa M, Castañeda-Sandoval LM. *Bacillus cereus* un patógeno importante en el control microbiológico de los alimentos. *Rev Fac Nac Salud Pública*. 2016;34(2).

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1. Actividades desarrolladas en la investigación.



Anexo2. Visita a criaderos



Anexo3. Visita a criaderos



Anexo4. Visita a criaderos



Anexo5. Encuesta a administradores



Anexo6.Encuesta a dueña



Anexo7.Identificacion de Abscesos



Anexo8.Preparacion del animal



Anexo9.Extraccion de muestra



Anexo10. Medio de cultivo LB Agar



Anexo11. Materiales de laboratorio



Anexo12. Siembra de Bacterias



Anexo13. Crecimiento de Bacterias



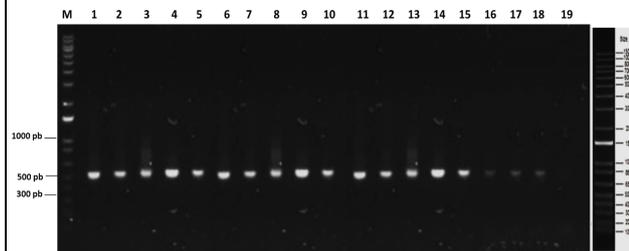
Anexo14.Extraccion de ADN



Anexo15.Extraccion de ADN



Anexo16.Realizacion de PCR



Anexo17.Resultado de PCR

Encuesta

La estrategia para demostrar el manejo sanitario de los criaderos de ovinos fue la siguiente.

Fecha: _____

Localización de lugar de producción: _____

Nombre del productor: _____

1.Cual es la cantidad de animales que tiene?

2.Cual es la raza preponderante que utiliza?

3.Con qué tipo de instalación cuenta en su producción?

Madera Cemento Mixta

4.Con qué tipo de producción cuenta?

Extensiva Intensiva Semi Intensiva

5.Como es el manejo de los desechos biológicos en la producción?

6.Qué método utiliza para la desinfección de las instalaciones?

7.Con qué frecuencia se realiza la desinfección de las instalaciones?

8.Ha notado afecciones cutáneas en ovinos o en otro animal de la granja?

9.Si de haber tenido animales con afecciones cutáneas con qué y cómo las trato?

10.Tenía conocimiento que el manejo inapropiado de antibióticos es perjudicial para los animales como para los humanos?

11.Los trabajadores que tienen contacto con los animales han padecido afecciones cutáneas en alguna ocasión?

Reporte de criaderos encuestados

Nombre de criaderos	Ubicación	Dueño (Encargado)	Número de animales	Abscesos presentes
Hcda. El Bosque	Quevedo La Maravilla	Daniel Manobanda	30	0
Laurita	El Empalme vía la Guaya	Laura Castro	25	5
Cedeño	El Empalme vía la Guaya	Leonardo Cedeño	28	0
La ponderosa	Mocache	Litardo Geovanny	8	0
La Maravilla	Quevedo sector Faita	Alberto Moreno	7	2
Campus La María	Mocache	UTEQ	6	2
Miguelito	Mocache	Julio Andrade	4	2
2 hermanos	Quevedo Gallo Giro	Marcos Romero	5	1
Gadiel	Mocache Anillo vial	Gabriel Limas	10	4
Total			123	16