



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE: QUITO
CARRERA DE INGENIERIA AGROPECUARIA**

**DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD SANITARIA DE LA LECHE BOVINA
PROVENIENTE DE HACIENDAS GANADERAS DE LA ZONA NORTE DE
PICHINCHA.**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de:
INGENIERO/INGENIERA AGROPECUARIO**

AUTORES:

JUAN DAVID GOMEZ BARRIOS

TANIA MICHELLE PONCE MUÑOZ

TUTORA: NANCY FABIOLA BONIFAZ GARCÍA

Quito-Ecuador

2024

CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotros, Juan David Gomez Barrios con documento de identificación N° 1759809534 y Tania Michelle Ponce Muñoz con documento de identificación N° 172148202-2 manifestamos que:

Somos los autores y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cayambe, 26 de enero del año 2024

Atentamente,

David Gomez

Juan David Gomez Barrios
1759809534



Tania Michelle Ponce Muñoz
172148202-2

CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

Nosotros, Juan David Gomez Barrios con documento de identificación No. 1759809534 y Tania Michelle Ponce Muñoz con documento de identificación No. 172148202-2, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autores del Trabajo experimental: **DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD SANITARIA DE LA LECHE BOVINA PROVENIENTE DE HACIENDAS GANADERAS DE LA ZONA NORTE DE PICHINCHA**, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingenieros agropecuarios, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribimos este documento en el momento que hacemos la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cayambe, 26 de enero del año 2024

Atentamente,



Juan David Gomez Barrios
1759809534



Tania Michelle Ponce Muñoz
172148202-2

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Nancy Fabiola Bonifaz García con documento de identificación N° 0602085110, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **DETERMINACIÓN DE LA CALIDAD SANITARIA DE LA LECHE BOVINA PROVENIENTE DE HACIENDAS GANADERAS DE LA ZONA NORTE DE PICHINCHA**, realizado por Juan David Gomez Barrios con documento de identificación N° 1759809534 y por Tania Michelle Ponce Muñoz con documento de identificación N° 172148202-2, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cayambe, 26 de enero del año 2024

Atentamente,

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Dra Nancy Bonifaz G.", is written over a horizontal dashed line.

Nancy Fabiola Bonifaz García

N° 0602085110

DEDICATORIA

Juan David Gomez Barrios

Agradezco a Dios por darme la fuerza y la perseverancia para culminar mis estudios, a mis padres Sergio Gómez y Claudia Barrios por el apoyo incondicional, el ejemplo de superación y enseñarme todos los valores necesarios para cumplir con mis obligaciones y ser una persona íntegra y responsable en todos los ámbitos de mi vida profesional.

Tania Ponce Muñoz

Doy gracias a Dios por concederme la fuerza y los conocimientos necesarios permitiéndome realizar uno de mis propósitos. A mi madre Verónica Muñoz quien es y ha sido padre y madre para mí, quien me enseñó que cada momento es valioso, demostrándome que no se necesita depender de alguien para salir adelante, quien paso por momentos difíciles y jamás se dio por vencida, enseñándome a ser fuerte e independiente para ser quien soy hoy en día.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Universidad Politécnica Salesiana y a todos los docentes que conforman la carrera de Ingeniería Agropecuaria por habernos inculcado los conocimientos necesarios a nivel profesional como personal, Al director de carrera de Ingeniería Agropecuaria Ing. Janss Beltrán por su paciencia, dedicación y apoyo a lo largo de la carrera y de manera especial a la Dra. Nancy Bonifaz nuestra tutora que por su dedicación, confianza y apoyo logramos finalizar el estudio de investigación.

Agradecimiento al grupo de investigación NUKUI WAKAN y al Laboratorio de Calidad de Leche UPS Extensión - Cayambe por permitirnos el uso de las instalaciones, equipos y reactivos necesarios, en especial a la Ing. Elena Aquino y a la Ing. Elsa Echeverría que nos ayudaron con el desarrollo y análisis de nuestro trabajo de investigación.

A los propietarios de las haciendas ganaderas quienes nos proporcionaron las muestras de leche para el análisis y desarrollo de nuestra investigación, al personal de ordeño que nos ayudaron a la recolecta de muestras y a nuestro amigo y colega Adrián LLumiyinga por el apoyo recibido en campo.

RESUMEN.

La mastitis bovina es una enfermedad que se presenta a nivel mundial, asociada a grandes pérdidas económicas en los hatos ganaderos productores de leche, siendo el cantón Cayambe una de las principales zonas productoras de leche del Ecuador, tanto pequeños, medianos y grandes unidades productivas, se ven afectadas por esta patología, por lo cual, el objetivo de esta investigación fue determinar la calidad sanitaria de la leche proveniente de tres haciendas ganaderas. El estudio se realizó mediante la toma de 205 muestras de leche provenientes de tres haciendas ganaderas, las mismas que fueron analizadas para el CCS y CCSD, prueba de campo CMT y la identificación del agente etiológico, eligiendo aquellas muestras $>$ a 700.000 células/mL para la prueba de campo CMT y de las mismas la identificación del agente etiológico. Se comprobó que la incidencia de la enfermedad en la mayoría de los casos posee al menos un grado de mastitis, de los cuales el 26,83% se ubican en el cuadrante C positivo para mastitis subclínica y el 22,93% en el cuadrante D positivo para casos crónicos o en remoción. Además, entre los microorganismos Gram positivos con mayor presencia en la zona de estudio es el *Streptococcus agalactiae* seguido de *Staphylococcus aureus* y entre los microorganismos Gram negativos la *E.coli* y *Klebsiella*, por lo tanto, es fundamental un diagnóstico oportuno mediante pruebas de campo y análisis de laboratorio para la detección temprana de la enfermedad y así evitar pérdidas económicas a causa de la alteración físico-química del producto, descarte de leche y animales.

Palabras claves: mastitis, CMT, CCSD, agentes patógenos.

ABSTRACT.

Bovine mastitis is a disease that occurs worldwide, associated with large economic losses in dairy herds, being the Cayambe canton one of the main milk producing areas of Ecuador, both small, medium and large productive units are affected by this pathology, therefore, the objective of this research was to determine the sanitary quality of milk from three cattle ranches. The study was carried out by taking 205 milk samples from three cattle farms, which were analysed for CCS and CCSD, CMT field test and identification of the aetiological agent, choosing those samples $> 700,000$ cells/mL for the CMT field test and identifying the aetiological agent. It was found that the incidence of the disease in most cases has at least one degree of mastitis, of which 26.83% are located in quadrant C positive for subclinical mastitis and 22.93% in quadrant D positive for chronic cases or in clearance. In addition, among the Gram positive microorganisms with the highest presence in the study area is *Streptococcus agalactiae* followed by *Staphylococcus aureus* and among the gram negative microorganisms *E.coli* and *Klebsiella*, therefore, it is essential a timely diagnosis through field tests and laboratory analysis for early detection of the disease and thus avoid economic losses.

Keywords: mastitis, CMT, CCSD, pathogens.

ÍNDICE DE CONTENIDO.

1	INTRODUCCIÓN	14
2	MARCO TEÓRICO.	16
2.1	Mastitis	16
2.1.1	Mastitis clínica	16
2.1.2	Mastitis subclínica.....	16
2.2	Diagnóstico de Mastitis	17
2.2.1	Conteo de Células Somáticas (CCS y CCSD).....	17
2.2.2	California Mastitis Test (CMT).....	17
2.3	Aislamiento del agente etiológico	18
2.3.1	Medios de Cultivos.....	18
2.3.2	Agentes causantes de la Mastitis	19
2.3.2.1	<i>Staphylococcus aureus</i>	19
2.3.2.2	<i>Streptococcus agalactiae</i>	19
2.3.2.3	<i>Streptococcus uberis</i>	19
2.3.2.4	<i>Klebsiella</i>	20
2.3.2.5	<i>Escherichia coli</i>	20
3	MATERIALES Y METODOS.	21
3.1	Ubicación de las áreas de estudio	21
3.2	Calidad Sanitaria (análisis CCS y CCSD).....	22
3.2.1	Fase de campo	22
3.2.2	Fase de laboratorio	22
3.3	Determinación de mastitis mediante CMT	22
3.3.1	Fase de campo	22
3.3.2	Fase de laboratorio	23
3.3.2.1	Preparación de medios de cultivos	23
3.4	Análisis Estadístico.....	23
4	RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	24

4.1	Grado de mastitis bovina según el conteo de células somáticas y diferenciales.....	24
4.1.1	Hacienda 1.....	26
4.1.2	Hacienda 2.....	27
4.1.3	Hacienda 3.....	29
4.2	Grado de mastitis bovina determinado mediante prueba de campo CMT.....	30
4.2.1	Hacienda 1.....	31
4.2.2	Hacienda 2.....	32
4.2.3	Hacienda 3.....	33
4.3	Identificación del agente etiológico causante de la enfermedad.....	34
4.3.1	Hacienda 1.....	36
4.3.2	Hacienda 2.....	37
4.3.3	Hacienda 3.....	39
5	CONCLUSIONES	41
6	RECOMENDACIONES	42
7	ANEXOS	43
8	BIBLIOGRAFÍA	53

INDICE DE TABLAS.

Tabla 1 Grados de CMT correlacionados con el rango de CCS.....	18
Tabla 2 <i>Condiciones de esterilización para los medios de cultivos</i>	23
Tabla 3 Frecuencia de CCSD de tres Haciendas ganaderas	25
Tabla 4 Frecuencia de CCSD de la Hacienda 1.....	26
Tabla 5 Frecuencia de CCSD de la Hacienda 2.....	28
Tabla 6 Frecuencia de CCSD de la Hacienda. 3.	29
Tabla 7 Grado de mastitis bovina por cuarto mamario determinado mediante la prueba de campo CMT	31
Tabla 8 Grado de mastitis bovina por cuarto mamario determinado mediante la prueba de campo CMT	32
Tabla 9 Grado de mastitis bovina por cuarto mamario determinado mediante la prueba de campo CMT	34
Tabla 10 Agentes etiológicos causantes de mastitis bovina identificados en tres Haciendas ganaderas de la zona norte de Pichincha.....	35
Tabla 11 Agentes etiológicos causantes de mastitis bovina identificados en la Hacienda. 1 de la zona norte de Pichincha.....	36
Tabla 12 Agentes etiológicos causantes de mastitis bovina identificados en la Hacienda 2 de la zona norte de Pichincha.....	38
Tabla 13 Agentes etiológicos causantes de mastitis bovina identificados en la Hacienda 3 de la zona norte de Pichincha.....	39

INDICE DE FIGURAS.

Figura 1. Ubicación geográfica del Cantón Cayambe donde se realizó la presente investigación.....	21
Figura 2. Dispersión de datos analizados del CCDS de los cuatro cuadrantes para la identificación de mastitis.....	25
Figura 3. Dispersión de datos analizados de CCDS de los cuatro cuadrantes para la identificación de mastitis.....	27
Figura 4. Dispersión de datos analizados del CCDS de los cuatro cuadrantes para la identificación de mastitis.....	28
Figura 5. Dispersión de datos analizados del CCDS de los cuatro cuadrantes para la identificación de mastitis.....	30
Figura 6. Porcentaje de presencia de Agentes etiológicos en tres haciendas ganaderas	35
Figura 7. Porcentaje de presencia de Agentes etiológicos Hacienda 1.	37
Figura 8. Porcentaje de presencia de Agentes etiológicos Hacienda 2.	38
Figura 9. Porcentaje de presencia de Agentes etiológicos Hacienda 3.....	40

INDICE DE ANEXOS.

Anexo 1. Desinfección de la ubre previo a la toma de las muestras	43
Anexo 2. Toma de muestras 40 ml por vaca.....	43
Anexo 3. Conteo de células somáticas (CCS) y conteo de células somáticas diferenciales (CCSD) mediante citometría de flujo.....	44
Anexo 4. Preparación de medio de cultivo CHROMagar Mastitis (GP)	44
Anexo 5. Preparación de medio de cultivo CHROMagar Mastitis (GN).....	45
Anexo 6. Reacción del CMT - leche según el grado de mastitis subclínica	45
Anexo 7. Reacción del CMT - leche con un grado de mastitis subclínica.....	46
Anexo 8. Reacción del CMT – leche de bovinos sanos.....	46
Anexo 9. Interpretación de colonias sembradas en CHROMagar Mastitis (GP).....	47
Anexo 10. Interpretación de colonias sembradas en CHROMagar Mastitis (GN)	47
Anexo 11. Aislamiento del agente etiológico mediante un estriado simple en medios selectivos	48
Anexo 12. Identificación de microorganismos gram positivos por distintas coloraciones formadas en el CHROMagar (GP) específico para mastitis.....	48
Anexo 13. Identificación de microorganismos gram negativos por distintas coloraciones formadas en el CHROMagar (GN) específico para mastitis	49
Anexo 14. Informe de Resultados de CCS y CCDS Hcd. 1	50
Anexo 15. Informe de Resultados de CCS y CCDS Hcd. 2	51
Anexo 16. Informe de Resultados de CCS y CCDS Hcd. 3	52

1 INTRODUCCIÓN.

La leche de origen bovino es un alimento importante como fuente de nutrientes, proteínas, minerales y vitaminas beneficiosas para el organismo (Palma, 2021). La producción de leche en el Ecuador constituye una fuente importante de ingresos para los productores (Farinango, 2015). De acuerdo con datos proporcionados por el MAG (2020) en nuestro país se producen diariamente alrededor de 6,6 millones de litros de leche cruda. En Ecuador se estima que para el consumo humano e industrial se emplea alrededor del 75 % de la producción total de leche (González & Vidal del Rio, 2021). Los cantones Cayambe y Pedro Moncayo de la Provincia de Pichincha se encuentran entre los mayores productores de leche (Ballesteros & Valdivieso, 2018). En la zona rural de Cayambe, la producción lechera es una actividad principal en las haciendas ganaderas y pequeños productores (Almeida, 2015). A pesar de la importancia de la producción lechera, esta actividad no se encuentra exenta de problemas y uno de ellos está relacionado con la calidad sanitaria de la misma. Esta calidad está directamente vinculada con la presencia de mastitis.

El término mastitis se deriva de las palabras griegas “mastos” (pechos) e “itis” (inflamación) (Farinango, 2015). La mastitis bovina es una patología de la glándula mamaria provocada por diferentes factores en el hato lechero (Mera et al., 2017; Orozco & Santana, 2022). En la actualidad la mastitis es una de las patologías que causa gran impacto en la producción animal (Quispe, 2022). Esta problemática produce pérdidas económicas para los ganaderos (Almeida, 2015). Las pérdidas económicas se deben principalmente al incremento de los costos de producción por el uso de medicamentos y de servicios profesionales veterinarios, descartes prematuros de animales que presentan esta enfermedad (Ballesteros & Valdivieso, 2018), así como disminución en la producción de la leche y descarte de este producto por problemas de residuos de antibióticos (Fonseca, 2015). Se reportan de manera general pérdidas principalmente por una disminución del 4% al 30% en la producción lechera (Moriano et al., 2020). La mastitis se presenta como una inflamación de la glándula mamaria y sus tejidos secretores y puede ser ocasionada por lesiones físicas o microorganismos patógenos (Chasi, 2015; Bonifaz & Colango, 2016; Quispe, 2022). Esta inflamación puede provocar una reducción del volumen de leche, altera su composición, su sabor y eleva la carga bacteriana normal (Almeida, 2015). Existen varios métodos comúnmente empleados en investigación para determinar la presencia de mastitis clínica y subclínica, la prueba de campo california mastitis test (CMT), también, pruebas de laboratorio más específicas las cuales utilizan tecnología avanzada como es la citometría de flujo para el conteo de células somáticas

y diferenciales. Además, análisis microbiológicos, empleando medios de cultivo específicos para la identificación del agente etiológico que causa la enfermedad (Orozco & Santana, 2022). La prevalencia de mastitis en haciendas ganaderas del cantón Cayambe y Pedro Moncayo, genera preocupación entre los productores debido a que los microorganismos patógenos responsables de alterar la salud en la glándula mamaria, cambian continuamente su dinámica ecológica, debido a las diferentes mutaciones que sufren los agentes etiológicos (Bonifaz et al., 2023).

En el Cantón Cayambe se han realizado estudios para determinar la prevalencia e incidencia de mastitis bovina en fincas ganaderas de varias comunidades como Paquiestancia (Conlago, 2013), Muyurco (Chasi, 2015), El Chaupi (Fonseca, 2015), a estos se suman estudios realizados en el centro de acopio de Pulisa (Farinango, 2015). En este mismo cantón se ha estudiado sobre la prevalencia de la mastitis bovina, así como identificación de los agentes etiológicos y la resistencia de éstos microorganismos a diferentes familias de antibióticos en cinco centros de acopio y 3 fincas ganaderas (Ballesteros & Valdivieso, 2018). También se ha investigado sobre el grado de mastitis bovina y su correlación con el conteo de células somáticas diferenciadas en fincas de pequeños y medianos productores de las comunidades de San Pedro, Cariacu y Pulisa (Orozco & Santana, 2022). Sin embargo, se desconoce de estudios realizados en la actualidad sobre la prevalencia e incidencia de mastitis bovina en haciendas ganaderas de la zona norte de Pichincha.

En este contexto se planteó la presente investigación cuyos objetivos fueron; realizar la identificación de la calidad sanitaria de la leche bovina en haciendas ganaderas mediante el análisis de conteo de células somáticas diferenciales, analizar el grado de mastitis bovina mediante la prueba de campo California Mastitis Test (CMT) y, además, se realizó la determinación del grado de mastitis bovina mediante el aislamiento del agente etiológico causante de la enfermedad.

2 MARCO TEÓRICO.

2.1 Mastitis.

El termino mastitis hace referencia a la inflamación que se genera en la glándula mamaria, a causa de microorganismos patógenos que han ingresado en la ubre o debido a alguna lesión física (Chasi, 2015). La mastitis se caracteriza por presentar alteraciones químicas, físicas y en la mayoría de casos bacteriológicas de la leche, lo cual repercute en la calidad del producto lácteo, presentando cambios de color, coágulos y un elevado número de leucocitos (Farinango, 2015). Esta patología causa una fuerte disminución en la producción lechera y afecta la economía de los productores, debido a que existe una baja en el precio de la leche por deficiencias en la calidad (Fonseca, 2015). Según el grado de inflamación la mastitis puede clasificarse en clínica y subclínica (Quispe, 2022).

2.1.1 Mastitis clínica.

La mastitis clínica se manifiesta principalmente con la presencia de coágulos en la leche y se puede observar a la ubre inflamada, enrojecida, dura y caliente, según la severidad la mastitis clínica puede clasificarse en aguda, subaguda y per aguda (Almeida, 2015). La producción láctea cambia en su composición organoléptica, bacteriológica y físico-químicas y la severidad depende en gran parte del tipo de microorganismo presente que está causando la infección (Farinango, 2015)

2.1.2 Mastitis subclínica.

La mastitis subclínica a diferencia de la mastitis clínica, es sutil, no se observan signos de infección ni algún tipo de anomalías en la leche, pero presenta cambios en la composición de la misma como lo son el número de células somáticas, concentración de iones y pH (Almeida, 2015). La mastitis subclínica va acompañada de una notable disminución en la producción de la secreción láctea, un elevado número en el conteo de células somáticas y alta presencia de bacterias, es necesario aplicar técnicas en laboratorio para detectar la infección e inflamación, como el cultivo bacteriológico y el conteo de células somáticas diferenciales (Bonifaz & Colango, 2016).

2.2 Diagnóstico de Mastitis.

2.2.1 Conteo de Células Somáticas (CCS y CCSD).

El concepto de células somáticas hace referencia a las células blancas las cuales son propias del organismo y ayudan a la defensa de la glándula mamaria bovina contra organismos patógenos (Hernandez & Bedolla, 2008). Además, las células somáticas son un indicador de gran importancia que nos permite establecer en qué estado de salud se encuentra la glándula mamaria y poder determinar así la calidad sanitaria la leche (Contero et al., 2021). El conteo diferencial de células somáticas (CCSD) refiere a la proporción que combina leucocitos, polimorfonucleares (PMN), macrófagos y linfocitos, un método de identificación es mediante la tecnología FOOSS, el cual determina conteo de células somáticas (CCS) y CCSD simultáneamente (Schwarz, 2017). Para realizar una determinación estimada del intervalo de las células somáticas se puede emplear la prueba de campo California Mastitis Test (CMT) (Orozco & Santana, 2022). El diagnóstico de CMT ha sido utilizado durante décadas y actualmente sigue siendo la prueba más empleada a nivel de campo para poder diagnosticar la mastitis bovina (Bonifaz & Colango, 2016).

2.2.2 California Mastitis Test (CMT).

El fundamento de la prueba CMT es la capacidad que posee el reactivo Lauril Sulfato de Sodio de formar un gel en presencia de ADN celular lo cual se transforma en un recuento celular indirecto de células somáticas (Farinango, 2015). Es recomendable realizar la prueba CMT habitualmente ya que de esta manera el productor puede tener un mejor manejo y control sobre el hato ganadero para combatir la enfermedad y prevenir posibles pérdidas económicas (Bonifaz & Colango, 2016). Para realizar una correcta interpretación de los resultados de la prueba de CMT existen 5 grados en los cuales podemos determinar la mastitis bovina: negativo, trazas, grado 1, grado 2 y grado 3 (Orozco & Santana, 2022).

Tabla 1

Grados de CMT correlacionados con el rango de CCS.

GRADO	RANGO DE CÉLULAS SOMÁTICAS	INTERPRETACIÓN
N (NEGATIVO)	0 – 200.000	Cuarto Sano
T (TRAZAS)	200.000 – 400.000	Posible infección (subclínica)
GRADO 1	400.000 – 1.200.000	Mastitis subclínica
GRADO 2	1.200.000 – 5.000.000	Mastitis
GRADO 3	Más de 5.000.000	Mastitis grave

Fuente: (Cuéllar, 2020)

2.3 Aislamiento del agente etiológico.

2.3.1 Medios de Cultivos.

En la etiología de la mastitis se puede evidenciar una de las principales causas de la patología, la cual es de origen infeccioso y son diversos los agentes productores de mastitis (Almeida, 2015). Los principales patógenos identificados como agentes promotores de la enfermedad son: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Klebsiella sp*, y *Escherichia coli* (Conlago, 2013; Ballesteros & Valdivieso, 2018). Para la identificación del agente etiológico existen diferentes pruebas que podemos emplear, una de ellas es en un medio de cultivo cromogénico, el cual al entrar en contacto con un microorganismo específico después de sufrir un proceso de hidrólisis libera un colorante que se fija en las colonias microbianas y las diferencia por su color, lo cual es muy útil en comparación con otros medios de cultivo convencionales debido a que ofrece un diagnóstico más rápido y reduce el uso de pruebas serológicas y bioquímicas (Orozco & Santana, 2022).

2.3.2 Agentes causantes de la Mastitis.

(Bonifaz & Colango, 2016) manifiesta que los microorganismos patógenos causantes de la enfermedad provocan graves inconvenientes a los ganaderos, ocasionando una disminución en la producción y calidad lechera, perjudicando su composición química, física y bacteriológica. Los microorganismos patógenos causantes de esta enfermedad continuamente cambian su genética por las mutaciones que experimentan los agentes etiológicos (Conlago, 2013). Los microorganismos presentan diferentes características metabólicas según el género o la especie (Galarza & Molina, 2018).

2.3.2.1 *Staphylococcus aureus.*

Penetra en la zona del pezón en la glándula mamaria, ocasionando mastitis subclínica y clínica (Orozco & Santana, 2022). la eficacia del tratamiento para este patógeno es desalentadora debido a que incrementa su población y daña el tejido glandular (Conlago, 2013; Chasi, 2015; Almeida, 2015).

2.3.2.2 *Streptococcus agalactiae.*

No es una bacteria activamente invasiva en el tejido mamario, sino que se adhiere al epitelio de las cisternas mamarias y a los grandes conductos mamarios (Chasi, 2015). Los productos de desecho producidos por este crecimiento y multiplicación bacteriana provocan la fuga de suero y proteínas polimorfonucleares (PMN), que provocan la formación de coágulos de fibrina que bloquean los conductos mamarios e impiden así el drenaje de la leche (Fernandez et al., 2012)

2.3.2.3 *Streptococcus uberis.*

Es un patógeno ambiental que causa una proporción significativa de mastitis clínica bovina a nivel mundial y está involucrado en casos de mastitis clínica y subclínica durante los períodos tempranos y secos de la lactancia, representando del 12% al 14% de las mastitis clínicas durante la lactancia (Bedolla & Ponce, 2008; Chasi, 2015; Orozco & Santana, 2022).

2.3.2.4 *Klebsiella*.

Es una bacteria Gram negativa que es responsable de causar infecciones intramamarias, ocasionando principalmente mastitis clínica. Su presencia en la glándula mamaria se caracteriza por recuentos de células somáticas persistentemente altos, tasas más altas de sacrificio de vacas y desecación voluntaria de las vacas (Fuenzalid, 2020).

2.3.2.5 *Escherichia coli*.

Pertenece a la familia de los coliformes y es un patógeno medioambiental cuya existencia se debe a la deficiencia higiénica y probablemente a una contaminación fecal (Chasi, 2015; Lucas & Vargas, 2023). La gravedad de la mastitis causada por esta bacteria provoca infecciones del tracto urinario, septicemia, diarrea, y meningitis en animales y humanos (Conlago, 2013).

3 MATERIALES Y METODOS.

3.1 Ubicación de las áreas de estudio.

El presente estudio se ejecutó en la zona norte de Pichincha en tres haciendas ganaderas del cantón Cayambe (coordenadas 0°02'38" N 78°09'22" O), el cual se encuentra a una altura de 2.830 m.s.n.m y cuenta con una temperatura promedio de 8 °C a 20 °C ideal para la actividad ganadera de leche. Se recolectaron 200 muestras de leche provenientes de tres haciendas ganaderas.

Ubicación Geográfica del Cantón Cayambe

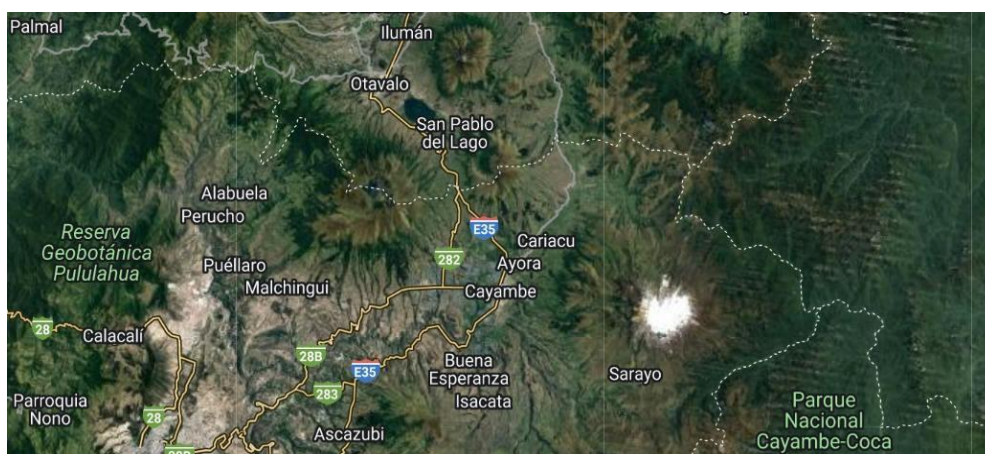


Figura 1. Ubicación geográfica del Cantón Cayambe donde se realizó la presente investigación.

Fuente: (Maps, 2024).

3.2 Calidad Sanitaria (análisis CCS y CCSD).

3.2.1 Fase de campo.

Para la recolección de las muestras se deben emplear frascos plásticos estériles de 40 ml identificados y codificados. La recolección se efectuó según el protocolo LCL-INS-01 del Instructivo de toma de muestras de leche del LCL (Laboratorio de Calidad de Leche) (Alvear et al., 2021).

Del número total de animales en producción, se tomó el 30% de muestra de leche, el número total de colecta fueron 205 muestras para el análisis de CCSD por citometría de flujo mediante el uso del equipo de FOSSOMATIC 7DC, estas fueron recolectadas en frascos plástico transparentes estériles de 40 mL con conservante bronopol que fueron almacenadas temporalmente en coolers, las muestras se tomaron en función de los objetivos planteados en la investigación (Ballesteros & Valdivieso, 2018).

3.2.2 Fase de laboratorio.

La muestra de leche recolectadas fue de 40 mL acorde al protocolo LCL 001 (Laboratorio de calidad de leche de la Universidad Politécnica Salesiana). Las muestras fueron analizadas en el equipo FOSSOMATIC 7DC por Citometría de flujo. Luego de este análisis, en el laboratorio se realizó el conteo de células somáticas diferenciadas (CSD), para esto se seleccionó como positivas a todas las muestras que superaron las 700.000 CSD/ml de acuerdo a la normativa vigente (INEN, 2012).

3.3 Determinación de mastitis mediante CMT.

3.3.1 Fase de campo.

La prueba CMT se aplicó en vacas de producción al momento del ordeño, se tomaron muestras de 2ml de leche de cada cuarto de la ubre y se añadió 2ml del reactivo en cada uno de los pozuelos de la paleta, una vez que la muestra fue homogenizada se procedió a leer los resultados y registramos los valores en las tablas de acuerdo al rango en asignado (negativo, trazas, G1, G2, G3) (Bonifaz & Colango, 2016).

3.3.2 Fase de laboratorio.

3.3.2.1 Preparación de medios de cultivos.

Según Orozco & Santana (2022), se siembran en los medios específicos para mastitis a través de una cámara de flujo laminar por hisopado estéril en cajas Petri. los medios de cultivos utilizados en el aislamiento del agente etiológico son CHROMagar™ Mastitis (GP) y CHROMagar™ Mastitis (GN) con la finalidad de determinar y aislar los patógenos principales Gram (+) y Gram (-) causantes de infecciones de mastitis. La preparación se realizó de acuerdo con el manual bajo determinadas condiciones como se muestra la Tabla 2 (Anexo5).

Tabla 2

Condiciones de esterilización para los medios de cultivos.

MEDIO	TIEMPO (MIN)	TEMPERATURA (°C)
CHROMagar™ Mastitis (GP)	5	110
CHROMagar™ Mastitis (GN)	15	121

Fuente: (CHROMagar, 2015)

Los cultivos microbiológicos se incuban a 37°C proporcionando así las óptimas condiciones para el crecimiento bacteriano durante 24 horas

3.4 Análisis Estadístico.

Se recogieron 205 muestras para el análisis de (CCS) y el (CCSD) de las cuales se seleccionaron 40 muestras para el análisis de CMT e identificación del agente etiológico causante de la infección. El procedimiento de los resultados obtenidos se utilizó un software estadístico **MINITAB**. Este programa permite realizar análisis de datos complejos y solventar dificultades del proceso de investigación, proporcionando tablas y gráficos de dispersión de donde se observan los parámetros evaluados que facilita la interpretación de los resultados. Finalmente se realizó tablas y gráficos de barras en el software Microsoft Excel para el porcentaje de incidencia del agente etiológico perteneciente a cada hacienda ganadera.

4 RESULTADOS Y DISCUSIONES.

4.1 Grado de mastitis bovina según el conteo de células somáticas y diferenciales.

La tabla 3, contempla los cuadrantes en los cuales se encuentran las 205 muestras totales de las tres haciendas ganaderas, observándose que el 38,54% se encuentra en el rango A (<65 - < 200.000 células/mL) y hace referencia a vacas saludables, lo cual se asemeja al estudio realizado por Orozco & Santana, (2022), en el cual se analizó el grado de mastitis bovina y su correlación con el conteo de células somáticas diferenciales, obteniendo valores de 34,57% y ubicándolos en el rango A como vacas sanas. Sin embargo, se observan valores que se sitúan en el cuadrante B (>65 - < 200.000 células/mL) que representa el 11,71% del total de las muestras y es un indicador de las vacas que presentan sensibilidad y que según el estudio realizado por Chasi, (2015), en el cual se determina el grado de mastitis bovina mediante la prueba de campo CMT y obtuvieron valores de 13,24% ubicados en el rango trazas (200.000-400.000 células somáticas), corroborando la importancia del CCS para la detección temprana de vacas sensibles a presentar los primeros síntomas de mastitis subclínica; además, en el cuadrante C (>65 - > 200.000 células/mL).

Se determinó una cantidad representativa del 26,83% del total de las haciendas evaluadas y son vacas que presentan mastitis subclínica (González & Vidal del Rio, 2021). Por lo tanto, el 22,93% son vacas con infección crónica o vacas en remoción de la enfermedad, ubicadas en el cuadrante D (<65 - > 200.000 células/mL), según Hernandez & Bedolla, (2008). Es común que en un hato que posee un recuento >500,000 tenga una baja del 7.5% en la producción debido a la mastitis subclínica y se asemeja a la situación actual de los productores de dos haciendas evaluadas, en las cuales reportaban bajas en su producción debido a la presencia de mastitis clínica y subclínica en sus hatos ganadero.

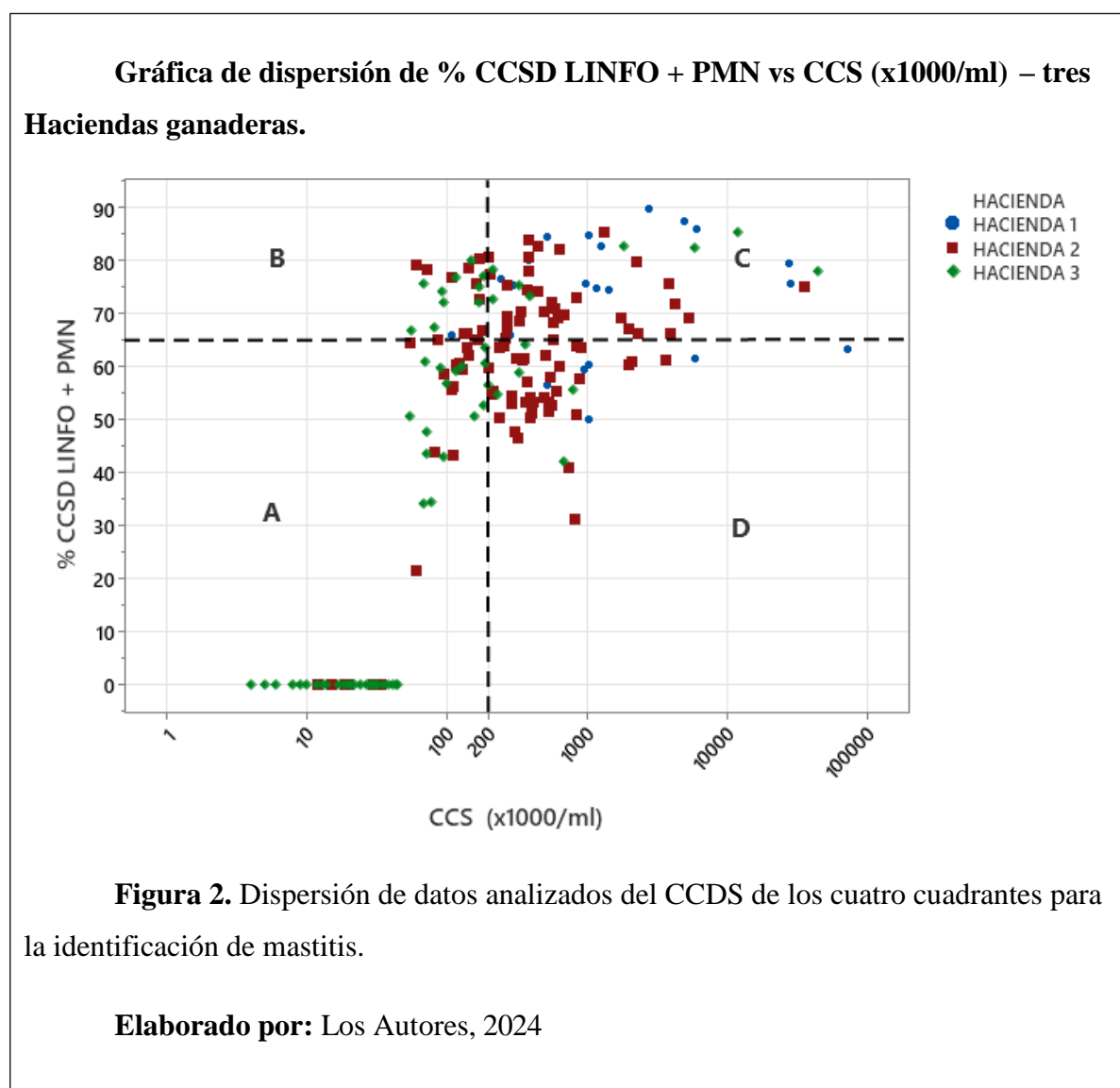
Bonifaz & Requelme, (2011) señalan la importancia de realizar la correcta limpieza de las ubres previo al ordeño y después del mismo, lo cual influye en la incidencia de mastitis clínica y subclínica y, por ende, en un alto conteo de células somáticas y diferenciales. Por lo tanto, se comprueba lo descrito por González & Vidal del Rio, (2021), en donde se estudió la mastitis bovina y su relación en la calidad de la leche asociado a las pérdidas económicas a nivel mundial, debido a la presencia de esta enfermedad la cual representa el 70% de los gastos totales para los productores de leche (Hernandez & Bedolla, 2008).

Tabla 3

Frecuencia de CCSD de tres Haciendas ganaderas

CUADRO DE MASTITIS				
Parámetro				
Cuadrante	CCSD LINFO + PMN – CCS (X1000/mL) %	N	Porcentaje	Referencia
A	<65 - < 200.000	79	38,54%	SALUDABLES
B	>65 - < 200.000	24	11,71%	SENSIBLES
C	>65 - > 200.000	55	26,83%	MASTITIS SUBCLÍNICA
D	<65 - > 200.000	47	22,93%	CRÓNICA - REMOCIÓN

Elaborado por: Los Autores, 2024



4.1.1 Hacienda 1.

La tabla 4, representa los valores obtenidos de la hacienda 1, los cuales son indicadores de un manejo inadecuado en la rutina del ordeño (Bonifaz & Requelme, 2011), se presentó un aumento considerable del 68,18% de vacas ubicadas en el cuadrante C ($>65 - > 200.000$ células/mL), lo cual se asemeja a los resultados obtenidos por Orozco & Santana, (2022), en fincas ganaderas, en donde reportaron un aumento con valores de 47,50% de vacas que presentan mastitis subclínica con un alto contenido de CCS, según Contero et al., (2021), los elementos que pueden incrementar el CCS son el número de lactaciones, los periodos de posparto, sin embargo, en la Hacienda 1 demuestra un manejo inadecuado al momento de realizar la desinfección de las ubres para proceder con el ordeño y se evidencia en los resultados obtenidos en el alto contenido de CCS y CCSD, con un aumento de vacas ubicadas en el cuadrante D ($<65 - > 200.000$ células/mL) que presentan mastitis crónica o en remoción en un 27,27% (Hernandez & Bedolla, 2008), la agrupación de los casos por cuadrantes se pueden observar en la figura 2.

Tabla 4

Frecuencia de CCSD de la Hacienda 1.

CUADRO DE MASTITIS (Hda. 1)				
	Parámetro			
Cuadrante	CCSD LINFO + PMN – CCS (X1000/mL) %	N	Porcentaje	Referencia
A	$<65 - < 200.000$	0	0,00%	SALUDABLES
B	$>65 - < 200.000$	1	4,55%	SENSIBLES
C	$>65 - > 200.000$	15	68,18%	MASTITIS SUBCLÍNICA
D	$<65 - > 200.000$	6	27,27%	CRÓNICA - REMOCIÓN

Elaborado por: Los Autores, 2024

Gráfica de dispersión de % CCSD LINFO + PMN vs CCS (x1000/ml) – Hda. 1.

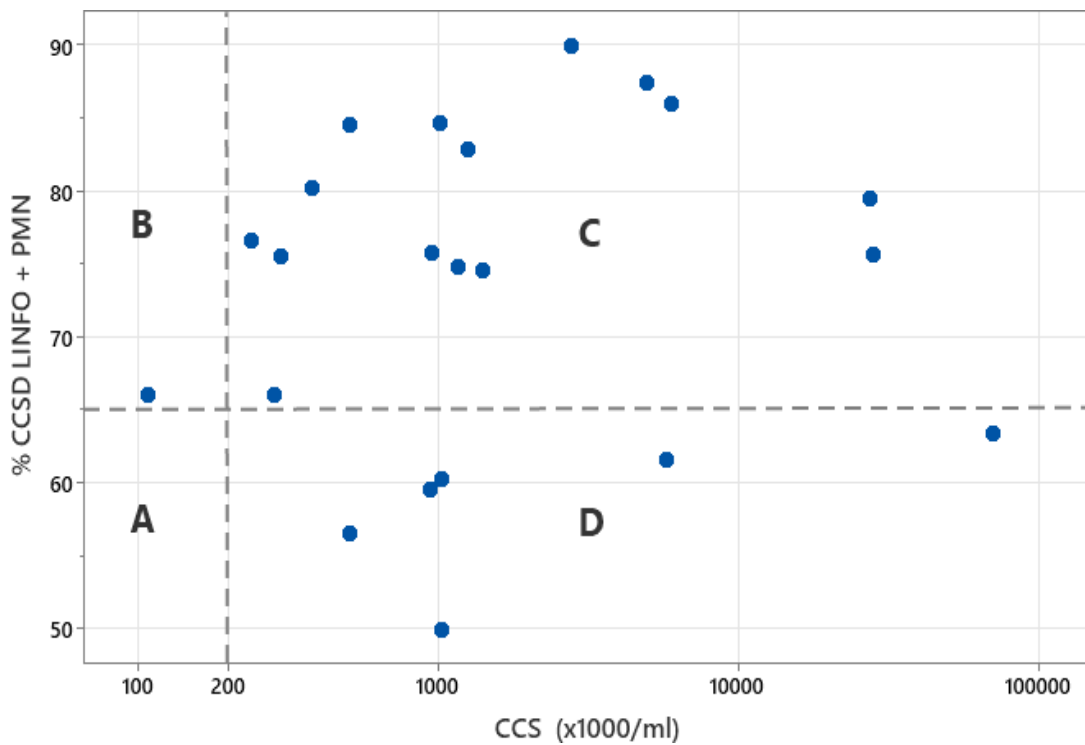


Figura 3. Dispersión de datos analizados de CCDS de los cuatro cuadrantes para la identificación de mastitis.

Elaborado por: Los Autores ,2024

4.1.2 Hacienda 2.

En la tabla 5, se sintetiza la agrupación de los casos en sus cuadrantes respectivos (Orozco & Santana, 2022), se puede observar en la figura 3, que la mayoría de los casos se encuentran ubicados en el cuadrante D (<65 - > 200.000 células/mL), catalogado por Hernandez & Bedolla, (2008), como vacas que presentan una infección crónica o en remoción de la enfermedad, en el cuadrante C (> 65 - >200.000 células/mL) se ubica un alto número de vacas que presentan mastitis subclínica, González & Vidal del Rio, (2021) afirman que esta clase de mastitis causa una reducción significativa de la producción láctea y el realizar el conteo de células somáticas en laboratorio es de gran importancia para detectar a tiempo. En el cuadrante

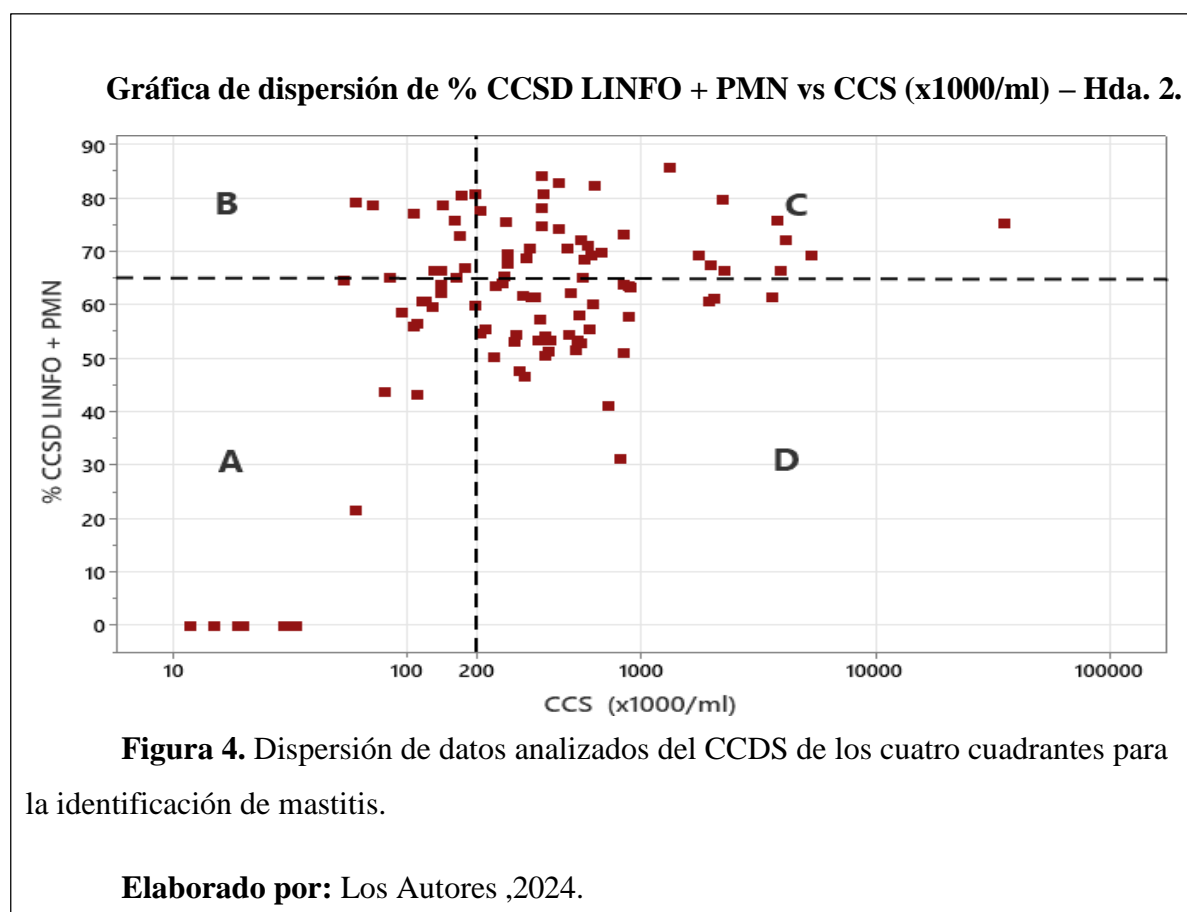
B (>65 - < 200.000 células/mL) según los análisis de Orozco & Santana, (2022) se pudo determinar que el bovino posee una infección debido al alto contenido de CCSD, aunque, su CCS sea <200.000 células/mL y se determinó que el 21,36% ubicado en el cuadrante A, son vacas sanas con mayor producción de leche (Ballesteros & Valdivieso, 2018).

Tabla 5

Frecuencia de CCSD de la Hacienda 2.

CUADRO DE MASTITIS (Hda. 2)				
Cuadrante	Parámetro CCSD LINFO + PMN – CCS (X1000/mL) %	N	Porcentaje	Referencia
A	<65 - < 200.000	22	21,36%	SALUDABLES
B	>65 - < 200.000	13	12,62%	SENSIBLES
C	>65 - > 200.000	32	31,07%	MASTITIS SUBCLÍNICA
D	<65 - > 200.000	36	34,95%	CRÓNICA - REMOCIÓN

Elaborado por: Los Autores, 2024



4.1.3 Hacienda 3.

La agrupación de los casos por cuadrantes se puede observar en la figura 4 y en la tabla 6, en donde se evidencia, el buen manejo sanitario e higiénico que posee esta Hacienda ganadera observándose que el 71,25% de las muestras pertenecen al cuadrante A (<65 - < 200.000 células/mL) y se ubican vacas saludables, lo cual corrobora la investigación realizada por Bonifaz & Requelme, (2011) en donde se estudian las buenas prácticas de ordeño y su incidencia en la calidad de la leche.

Los datos obtenidos en la agrupación del cuadrante C difieren a la investigación de Orozco & Santana, (2022) en fincas ganaderas, en donde se ubica en el cuadrante C (>65 - > 200.000 células/mL) un porcentaje de 47,50% de vacas con mastitis subclínica. Sin embargo, en el cuadrante D (<65 - > 200.000 células/mL) se obtuvo un porcentaje de 6,25% que representa vacas con infección crónica o en remoción (Hernandez & Bedolla, 2008).

La producción láctea en esta Hacienda es bastante alta y se determinó que la presencia de mastitis en los hatos ganaderos influye en la producción lechera lo cual genera pérdidas económicas para los productores, corroborando el estudio realizado por Gonzáles & Vidal del Rio, (2021), en donde se estudia el impacto económico ocasionado por la mastitis en la producción lechera mundial.

Tabla 6

Frecuencia de CCSD de la Hacienda. 3.

CUADRO DE MASTITIS (Hda. 3)				
Parámetro				
Cuadrante	CCSD LINFO + PMN – CCS (X1000/mL) %	N	Porcentaje	Referencia
A	<65 - < 200.000	57	71,25%	SALUDABLES
B	>65 - < 200.000	10	12,50%	SENSIBLES
C	>65 - > 200.000	8	10,00%	MASTITIS SUBCLÍNICA
D	<65 - > 200.000	5	6,25%	CRÓNICA - REMOCIÓN

Elaborado por: Los Autores, 2024

Gráfica de dispersión de % CCSD LINFO + PMN vs CCS (x1000/ml) – Hda. 3.

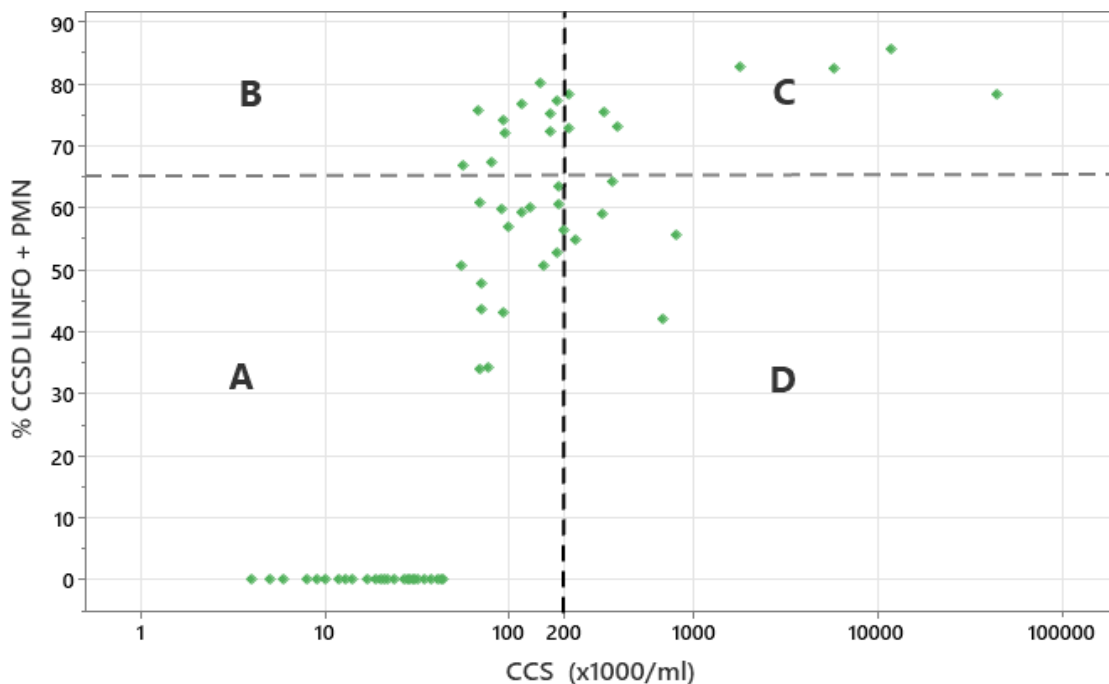


Figura 5. Dispersión de datos analizados del CCDS de los cuatro cuadrantes para la identificación de mastitis.

Elaborado por: Los Autores ,2024.

4.2 Grado de mastitis bovina determinado mediante prueba de campo CMT.

La prueba de campo CMT, se realizó con un total de 41 vacas, el criterio utilizado para escoger en específico esa cantidad de bovinos, se estableció mediante los resultados obtenidos en el análisis de laboratorio de CCS y CCSD (Orozco & Santana, 2022). La prueba CMT se realizó a vacas que presentaron un conteo elevado de CCS > 700.000 y se dividió de la siguiente manera: Hacienda 1: 22 vacas; Hacienda 2: 13 vacas; Hacienda 3: 6 vacas.

4.2.1 Hacienda 1.

En la tabla 7, se expresan los resultados de la prueba de campo CMT realizadas en 22 vacas, el análisis se realizó por cada cuarto mamario; anterior izquierdo (AI), anterior derecho (AD), posterior izquierdo (PI), posterior derecho (PD). En los resultados obtenidos se evidenció lo descrito por Cuéllar, (2020) donde establece los parámetros relacionados al contenido de células somáticas con el grado de mastitis determinado mediante CMT. Sin embargo, los resultados se expresaron por cada cuarto mamario y se demostró en la Hacienda 1, la mastitis en los grados 1 (+) y 2 (++) tiene una mayor influencia en todos los cuartos mamarios, representando el 32,95% y 20,46% respectivamente, por lo tanto, se asemeja al estudio realizado por Chasi, (2015), en donde se determinó que la mayor parte de los cuartos mamarios analizados por CMT, se encuentran afectados con mastitis subclínica grado 1(+) y 2 (++) . Además, se evidenció la presencia de mastitis grado 3(+++) en un 20,45% en promedio de todos los cuartos, lo cual se asemeja a los resultados obtenidos por Orozco & Santana, (2022), en donde, se obtuvo un valor de 22,50% de vacas que presentan mastitis de grado 3(+++) determinado mediante CMT en fincas ganaderas de Pichincha.

Tabla 7

Grado de mastitis bovina por cuarto mamario determinado mediante la prueba de campo CMT.

GRADO DE MASTITIS MEDIANTE CMT Hda. 1.						
CCS	Parámetro	Porcentaje%				
	Grado de CMT	AI	AD	PI	PD	Promedio %
0-200	Negativo (-)	13,64	13,64	18,18	13,64	14,77
200-400	Trazas (T)	13,64	4,55	22,73	4,55	11,37
400-1200	Grado 1 (+)	36,36	27,27	22,73	45,45	32,95
1200-5000	Grado 2 (++)	22,73	22,73	22,73	13,64	20,46
>5000	Grado 3 (+++)	13,64	31,82	13,64	22,73	20,45

Elaborado por: Los Autores, 2024

4.2.2 Hacienda 2.

La tabla 8 expresa los resultados obtenidos de 13 vacas a las cuales se les realizó la prueba de campo CMT por cada cuarto mamario, y se determinó que el grado 2 (++) , el cual se considera como mastitis subclínica, está presente en mayor proporción de todos los cuartos, representando el 51,92% en promedio y ese valor se asemeja a la investigación realizada por Conlago, (2013), en donde se determinó la prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante CMT, obteniendo valores del 48% de vacas afectadas por mastitis subclínica en la comunidad de Paquiestancia. Sin embargo, los cuartos mamaros que presentan mastitis en el grado trazas (T) representan el 5,77% y difiere del estudio realizado por Almeida, (2015), el cual analiza la prevalencia de mastitis mediante CMT y obtiene que el grado trazas (T) representa el 22,3% de los cuartos afectados. Además, se determinó que el 17,31% de cuartos mamaros está afectado por mastitis de grado 1(+) y el 23,07% son cuartos afectados por mastitis de grado 2(++). Los valores obtenidos difieren de Orozco & Santana, (2022), en los análisis de CMT realizados a fincas ganaderas, obteniendo como resultados el 26,25% en grado 1(+) y el 8,64% en grado 2(++). de mastitis.

Tabla 8

Grado de mastitis bovina por cuarto mamario determinado mediante la prueba de campo CMT.

GRADO DE MASTITIS MEDIANTE CMT Hda. 2.						
CCS	Parámetro	Porcentaje%				
	Grado de CMT	AI	AD	PI	PD	Promedio %
0-200	Negativo (-)	0,0	0,0	7,69	0,0	7,69
200-400	Trazas (T)	7,69	7,69	0,0	7,69	5,77
400-1200	Grado 1 (+)	15,38	23,08	15,38	15,38	17,31
1200-5000	Grado 2 (++)	46,15	46,15	61,54	53,85	51,92
>5000	Grado 3 (+++)	30,77	23,08	15,38	23,08	23,07

Elaborado por: Los Autores, 2024

4.2.3 Hacienda 3.

Los resultados de la prueba de campo CMT realizada a 6 bovinos de la Hacienda 3 se presentan en la tabla 9, se evidenció las buenas prácticas de ordeño realizadas, las cuales son de gran importancia en la calidad de la leche (Bonifaz & Requelme, 2011). Se determinó que el 29,16% de cuartos mamarios se encuentra en grado negativo (-) de mastitis y el 20,83% son cuartos en grado trazas (T) y presentan sensibilidad a contraer mastitis, se asemeja a los resultados obtenidos en el estudio realizado por Almeida, (2015), acerca de la prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba CMT, en donde obtuvo valores de 30,3% para grado negativo (-) y 20,3% en grado trazas (T) en la comunidad de San Pablo Urco, Cayambe. Sin embargo, el grado 1 (+) se encuentra presente en los cuartos mamarios con igual porcentaje al grado trazas (T).

Los grados 2(++) y 3(+++) tienen una disminución significativa en los porcentajes de presencia de la enfermedad en todos los cuartos mamarios representando el 16,66% de cuartos infectados con mastitis grado 2 (++) y el 12,5% en grado 3 (+++), lo cual difiere de los resultados obtenidos por Fonseca, (2015), en el estudio realizado sobre la prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de CMT en la comunidad el Chaupi- Cayambe, reportando en el grado 2(++) de mastitis el 38,64% de incidencia en todos los cuartos mamarios, sin embargo, los resultados obtenidos en el grado 3(++) de mastitis se asemejan a los resultados obtenidos por Farinango, (2015) en el investigación realizada en Pulisa- Cayambe, en donde se estableció que la incidencia de mastitis grado 3 (+++) determinada mediante CMT en todos los cuartos mamarios es de 6,82%.

Tabla 9

Grado de mastitis bovina por cuarto mamario determinado mediante la prueba de campo CMT.

GRADO DE MASTITIS MEDIANTE CMT Hda. 3.						
CCS	Parámetro	Porcentaje%				
	Grado de CMT	AI	AD	PI	PD	Promedio %
0-200	Negativo (-)	33,33	33,33	33,33	16,67	29,16
200-400	Trazas (T)	16,67	16,67	33,33	16,67	20,83
400-1200	Grado 1 (+)	16,67	16,67	16,67	33,33	20,83
1200-5000	Grado 2 (++)	0,00	16,67	16,67	33,33	16,66
>5000	Grado 3 (+++)	33,33	16,67	0	0	12,5

Elaborado por: Los Autores, 2024

4.3 Identificación del agente etiológico causante de la enfermedad.

Con una siembra total de 40 muestras en los medios cromogénicos Gram positivo y Gram negativo para la identificación específica de bacterias presentes en la leche, se identificó la presencia de tres microorganismos Gram positivos y dos microorganismos Gram negativos, lo cual se asemeja a la investigación realizada por (Bonifaz et al., 2023), en donde se realizó la determinación molecular del agente etiológico de mastitis bovina y se obtuvo la presencia de dos microorganismos Gram negativos en muestras provenientes de unidades productoras andinas.

En la tabla 10 y figura 5 se sintetizan los resultados obtenidos de las tres Haciendas ganaderas y se determinó que la bacteria con mayor predominancia en la zona ganadera al norte de la provincia de Pichincha es *Streptococcus agalactiae* con una presencia del 55,7% y difiere del estudio realizado por Orozco & Santana, (2022) en fincas ganaderas de Pichincha-Machachi, en donde se obtuvo la presencia de *Streptococcus agalactiae* en un 14,61%. Además, se determinó la presencia de *Staphylococcus aureus* en un 21,3% y es semejante a los resultados obtenidos por Conlago, (2013) de la investigación realizada en la comunidad de Paquiestancia del Cantón Cayambe, donde se determinó la presencia de *Staphylococcus aureus* en un 22%. Además, se identificó la presencia de *Streptococcus uberis* en un 13,1% y de dos bacterias Gram negativas; *Klebsiella* (1,6%) y *Escherichia coli* (11,6%), lo cual se asemeja a los resultados obtenidos por Orozco & Santana, (2022) en fincas ganaderas de

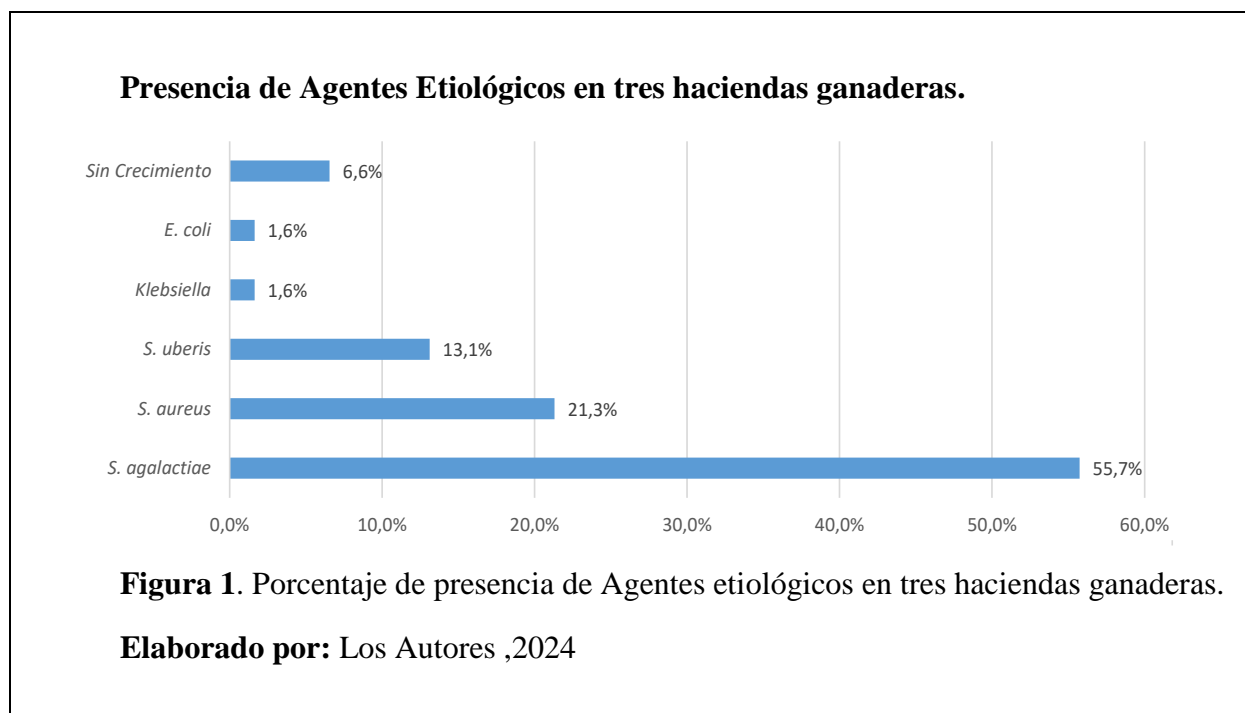
Imbabura-Urcuquí, en donde se determinó que la bacteria con menor presencia es *Klebsiella* en un 0,91% seguido de *Escherichia coli* con un 2,73%, sin embargo, dentro de la misma investigación realizada por Orozco & Santana, (2022) los resultados obtenidos en fincas ganaderas de Pichincha-Machachi, se determinó la presencia de *Streptococcus uberis* en un 19,63%.

Tabla 10

Agentes etiológicos causantes de mastitis bovina identificados en tres Haciendas ganaderas de la zona norte de Pichincha.

AGENTE ETIOLÓGICO	CANTIDAD	PORCENTAJE (%)
<i>S. agalactiae</i>	34	55,7
<i>S. aureus</i>	13	21,3
<i>S. uberis</i>	8	13,1
<i>Klebsiella</i>	1	1,6
<i>E. coli</i>	1	1,6
Sin Crecimiento	4	6,6

Elaborado por: Los Autores, 2024



4.3.1 Hacienda 1.

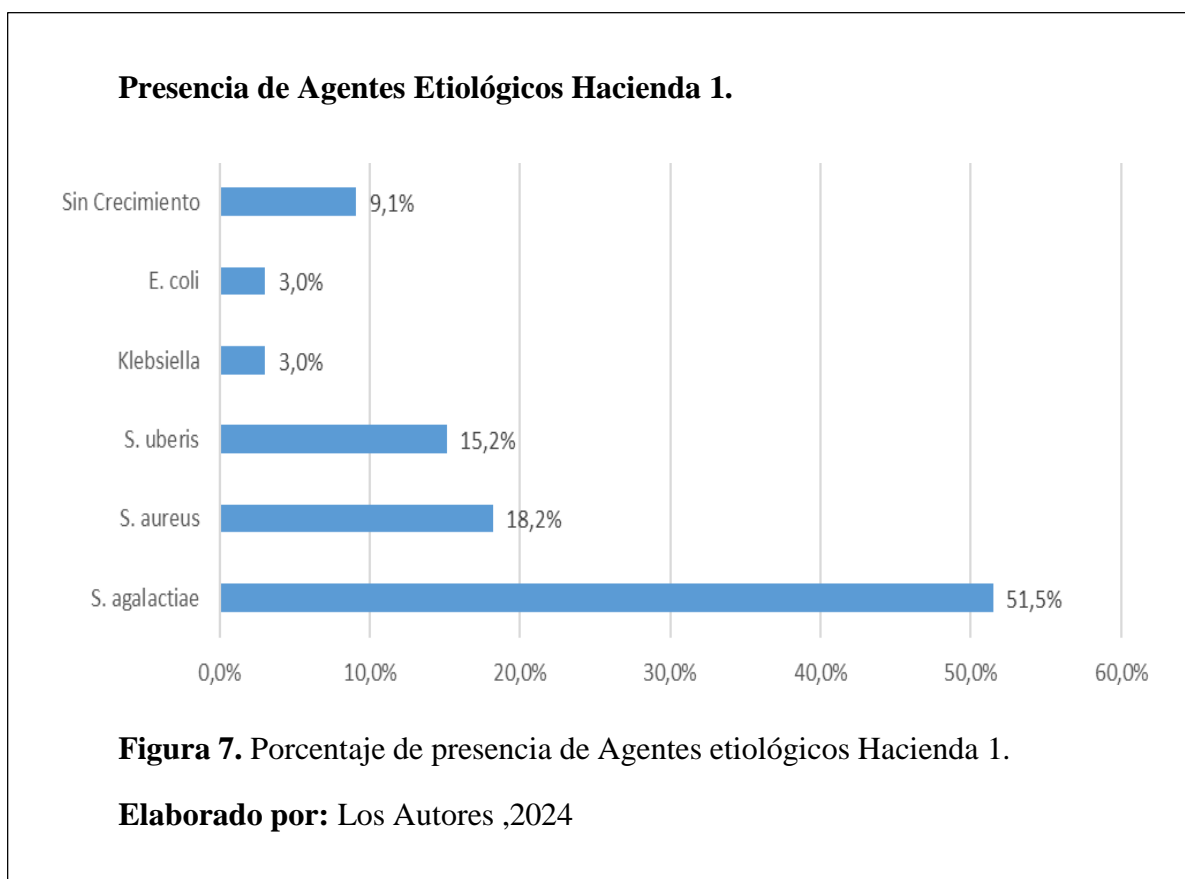
En la tabla 11 y figura 6 se presentan los microorganismos identificados en las muestras de leche de la Hacienda 1, se determinó la presencia de *Streptococcus agalactiae* que representa el 51,5%; *Staphylococcus aureus* en un 18,2%; *Streptococcus uberis* 15,2%; *Klebsiella* 3%; *Escherichia coli* 3%, el 9,1% representa las placas de agar cromogénico que no presentó crecimiento bacteriano. Los microorganismos identificados coinciden con la investigación realizada por Orozco & Santana, (2022) en donde se identificaron en haciendas ganaderas de Pichincha-Machachi bacterias gram positivas (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*) y microorganismos Gram negativos (*Klebsiella*; *Escherichia coli*) como agentes etiológicos causantes de mastitis. Además, en el porcentaje relacionado a la presencia de *Escherichia coli* se obtiene un valor similar a la investigación realizada por Almeida, (2015) realizada en centros de acopio de la comunidad de San Pablo Urco del Cantón Cayambe, en donde se obtuvo la presencia de *E.coli* en un 2,7%.

Tabla 11

Agentes etiológicos causantes de mastitis bovina identificados en la Hacienda. 1 de la zona norte de Pichincha.

AGENTE ETIOLÓGICO	CANTIDAD	PORCENTAJE (%)
<i>S. agalactiae</i>	17	51,5
<i>S. aureus</i>	6	18,2
<i>S. uberis</i>	5	15,2
<i>Klebsiella</i>	1	3,0
<i>E. coli</i>	1	3,0
Sin Crecimiento	3	9,1

Elaborado por: Los Autores ,2024.



4.3.2 Hacienda 2.

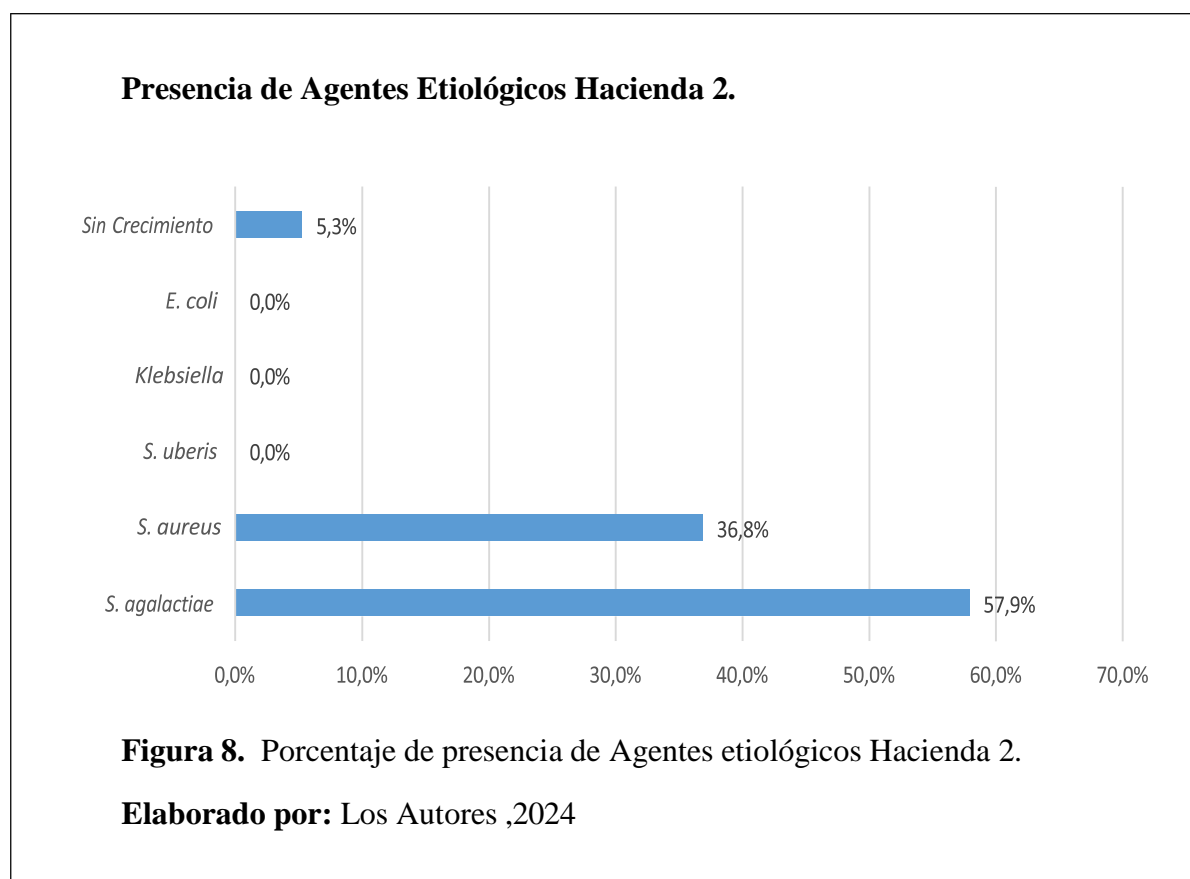
Los resultados sintetizados en la tabla 12 y figura 7, muestran la ausencia de bacterias gram negativas y la presencia de *Streptococcus agalactiae* en un 57,9% y difiere de la investigación realizada por Orozco & Santana, (2022), en fincas ganadera de Pichincha-Calacalí, en donde se identificó la presencia de *Klebsiella* en un 2,61% y *E. coli* en el 1,96% de las muestras totales. Sin embargo, hay una similitud en los resultados de la investigación realizada por (Bonifaz et al., 2023), en donde se realizó la determinación molecular del agente etiológico causante de mastitis, identificando a los microorganismos del grupo *Staphylococcus sp* y *Streptococcus sp* como los principales agentes etiológicos presentes en la enfermedad asociada a la mastitis bovina.

Tabla 12

Agentes etiológicos causantes de mastitis bovina identificados en la Hacienda 2 de la zona norte de Pichincha.

AGENTE ETIOLÓGICO	CANTIDAD	PORCENTAJE (%)
<i>S. agalactiae</i>	11	57,9
<i>S. aureus</i>	7	36,8
<i>S. uberis</i>	0	0,0
<i>Klebsiella</i>	0	0,0
<i>E. coli</i>	0	0,0
Sin Crecimiento	1	5,3

Elaborado por: Los Autores ,2024.



4.3.3 Hacienda 3.

La tabla 13 y figura 8 presenta los resultados obtenidos de 6 muestras analizadas, de lo cual se identificó la presencia de *Streptococcus agalactiae* en un 66,7% y *Streptococcus uberis* con un porcentaje del 33,3%. Además, se determinó la ausencia de bacterias Gram negativas y difiere de los resultados obtenidos en la investigación realizada por Conlago, (2013) en la comunidad de Paquiestancia del Cantón Cayambe, en donde se identificó la presencia de *E.coli* y la ausencia de *Streptococcus uberis*. Sin embargo, hay semejanza en los agentes etiológicos identificados por Orozco & Santana, (2022) es la investigación realizada en fincas ganaderas de Imbabura-Urcuquí, en donde se identificó la presencia de *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus uberis*.

Tabla 13

Agentes etiológicos causantes de mastitis bovina identificados en la Hacienda 3 de la zona norte de Pichincha.

AGENTE ETIOLÓGICO	CANTIDAD	PORCENTAJE (%)
<i>S. agalactiae</i>	6	66,7
<i>S. aureus</i>	0	0,0
<i>S. uberis</i>	3	33,3
<i>Klebsiella</i>	0	0,0
<i>E. coli</i>	0	0,0
Sin Crecimiento	0	0,0

Elaborado por: Los Autores ,2024.

Presencia de Agentes Etiológicos Hacienda 3.

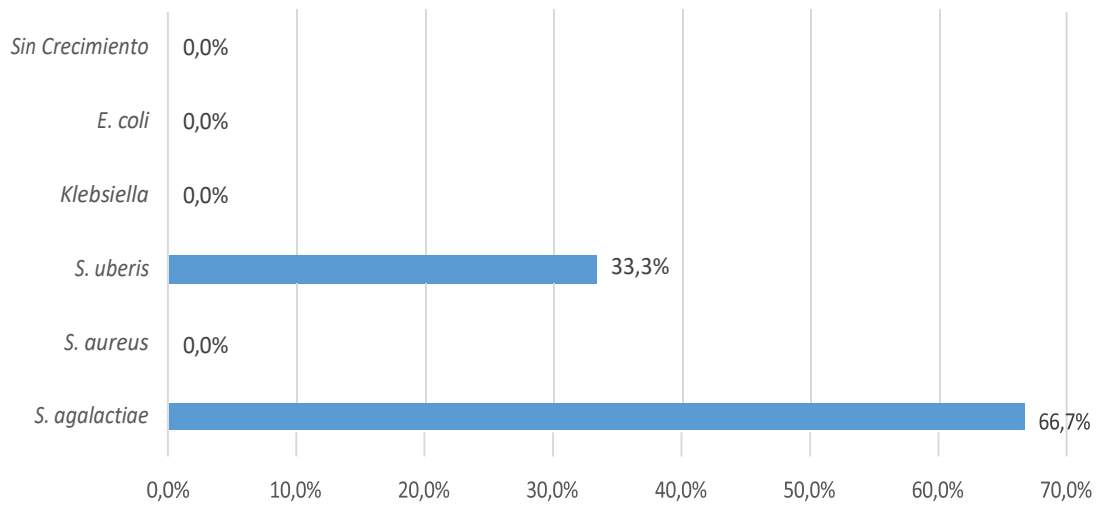


Figura 9. Porcentaje de presencia de Agentes etiológicos Hacienda 3.

Elaborado por: Los Autores ,2024

5 CONCLUSIONES.

El conteo de células somáticas y diferenciales mediante citometría de flujo demostró ser una herramienta esencial para la detección temprana de mastitis bovina, permitiendo realizar un diagnóstico más acertado del grado en el que se presenta la enfermedad, dividiendo por cuadrantes los casos registrados. De lo cual, en este estudio se encontró que los porcentajes más altos referentes al grado de mastitis se encuentran en el cuadrante C (>65 - > 200.000 células/mL) y D (<65 - > 200.000), concluyendo que la incidencia de mastitis subclínica y crónica en haciendas ganaderas sigue siendo un factor problema que se puede evitar a tiempo aplicando correctas prácticas de higiene en el ordeño y realizando un control preventivo de la enfermedad para evitar pérdidas económicas en los hatos ganaderos.

La prueba de campo CMT realizada en las tres haciendas ganaderas sirve para estimar el intervalo de células somáticas en donde se obtuvo que todos los cuartos mamarios presentan al menos un grado de mastitis, además se determinó que la hacienda 1 presentó un mayor porcentaje de infección en grado 1(+) y grado 2(++) y la hacienda 2 un alto porcentaje de presencia de mastitis en grado 2(++) y grado 3(+++), la hacienda 3 es la que presenta el menor grado de afectación en los cuartos mamarios y es de gran importancia respaldar la prueba realizada en campo con pruebas cuantitativas específicas en laboratorio.

La prueba microbiológica permitió detectar la presencia de cinco agentes etiológicos de la mastitis bovina, los cuales se dividieron en gram positivos que son: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis* y en agentes gram negativos: *Klebsiella sp* y *Escherichia coli*, evidenciándose que las bacterias con mayor incidencia de la zona estudiada son *Streptococcus agalactiae* seguido de *Staphylococcus aureus*.

6 RECOMENDACIONES.

Realizar pruebas de campo CMT, por lo general dos veces al mes para lograr un adecuado manejo y control del hato ganadero, sin embargo, si los resultados son positivos, se recomienda realizar un análisis cuantitativo como el conteo de células somáticas (CCS) y el conteo de células somáticas diferenciales (CCSD) para tener un diagnóstico más efectivo ante la enfermedad.

Ejecutar en las haciendas ganaderas la implementación adecuada de las buenas prácticas sanitarias al momento del ordeño mejorando la calidad productiva de la misma y previniendo así la propagación de la enfermedad al resto del ganado.

Sugerir a los ganaderos el análisis microbiológico para identificar el agente etiológico causante de la infección y el antibiograma para detectar la resistencia bacteriana y establecer un tratamiento adecuado en función de la incidencia de mastitis y así evitar pérdidas económicas debido a las alteraciones físicos - químicas del producto.

7 ANEXOS.

Desinfección de la ubre



Anexo 1. Desinfección de la ubre previo a la toma de las muestras.

Elaborado por: Los Autores (2024)

Toma de muestras en campo



Anexo 2. Toma de muestras 40 ml por vaca.

Elaborado por: Los Autores (2024)

Equipo FOSSOMATIC 7DC



Anexo 3. Conteo de células somáticas (CCS) y conteo de células somáticas diferenciales (CCSD) mediante citometría de flujo.

Elaborado por: Los Autores (2024)

Anexo 4.

Preparación de medio de cultivo CHROMagar Mastitis (GP).

Paso 1 Preparación de la mezcla	<ul style="list-style-type: none">- Dispensar lentamente 42,4 g de polvo en 1000 ml de agua purificada.- Añadir 8 ml de suplemento líquido en la mezcla.- Agitar hasta que el agar se haya espesado.- Autoclavar durante 5 min a 110 °C.
Pase 2 Dispensación del medio	<ul style="list-style-type: none">- Esterilizar las placas Petri mediante la cámara de flujo, luz ultravioleta.- Verter 20 ml de agar en las placas Petri.- Dejar solidificar y sellar con cinta Parafilm.
Paso 3 Almacenamiento	<ul style="list-style-type: none">- Almacenar en el refrigerador (2/8 °C)

Fuente: (CHROMagar, 2015)

Anexo 5.

Preparación de medio de cultivo CHROMagar Mastitis (GN).

Paso 1	-	Dispensar lentamente 33,2 g de polvo en 1000 ml de agua purificada.
Preparación de la mezcla	-	Agitar hasta que el agar se haya espesado.
	-	Calentar hasta la ebullición (100°C) agitando regularmente.
	-	Autoclavar durante 15 min a 121 °C.

Pase 2	-	Esterilizar las placas Petri mediante la cámara de flujo, luz ultravioleta.
Dispensación del medio	-	Verter 20 ml de agar en las placas Petri.
	-	Dejar solidificar y sellar con cinta Parafilm.

Paso 3	-	Almacenar en el refrigerador (2/8 °C)
---------------	---	---------------------------------------

Almacenamiento

Fuente: (CHROMagar, 2015)

Visualización del CMT en leche bovina según el grado de mastitis subclínica



Anexo 6. Reacción del CMT - leche según el grado de mastitis subclínica

Elaborado por: Los Autores (2024)

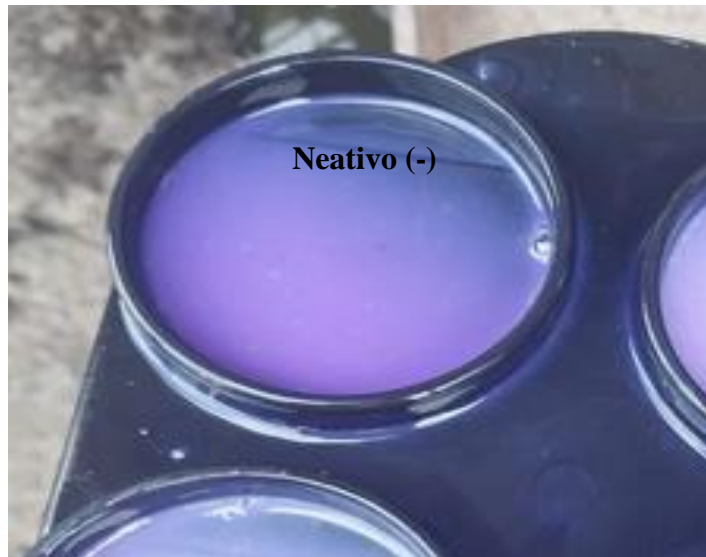
Visualización del CMT en leche bovina que posee un grado de mastitis subclínica (formación de coágulo).



Anexo 7. Reacción del CMT - leche con un grado de mastitis subclínica

Elaborado por: Los Autores (2024)

Visualización del CMT en leche de bovinos sanos.



Anexo 8. Reacción del CMT – leche de bovinos sanos.

Elaborado por: Los Autores (2024)

Anexo 9.

Interpretación de colonias sembradas en CHROMagar Mastitis (GP).

Microorganismos	Color que se tornan las colonias
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Azul turquesa
<i>Streptococcus uberis</i>	Azul metálico
<i>Staphylococcus aureus</i>	Rosa
Bacterias gram (-)	Inhibidas
Otros microorganismos	Varios

Fuente: (CHROMagar, 2015)

Anexo 10.

Interpretación de colonias sembradas en CHROMagar Mastitis (GN).

Microorganismos	Color que se tornan las colonias
<i>Escherichia coli</i>	Rosa oscuro a rojizo
<i>Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter</i>	Azul metálico (+/- halo rojizo)
<i>Proteus, Morganella, Providencia</i>	Halo marrón
<i>Pseudomonas</i>	Translúcidas (+/- pigmentación natural de crema a verde)
<i>Candida albicans</i>	Crema, colinas puntiformes
Bacterias gram (+)	Inhibidas

Fuente: (CHROMagar, 2015)

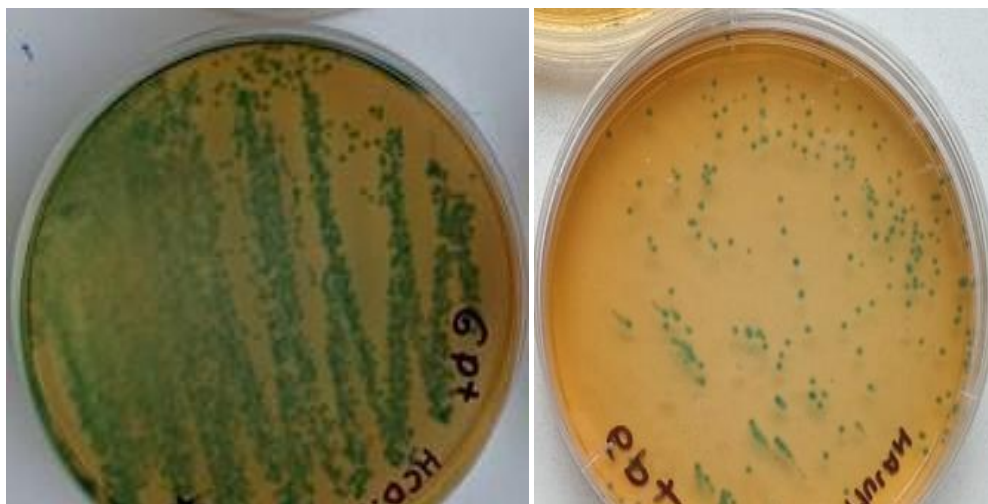
Aislamiento microbiológico a través del CHROMagar en medios selectivos.



Anexo 11. Aislamiento del agente etiológico mediante un estriado simple en medios selectivos.

Elaborado por: Los Autores (2024)

Identificación de microorganismos Gram positivos.

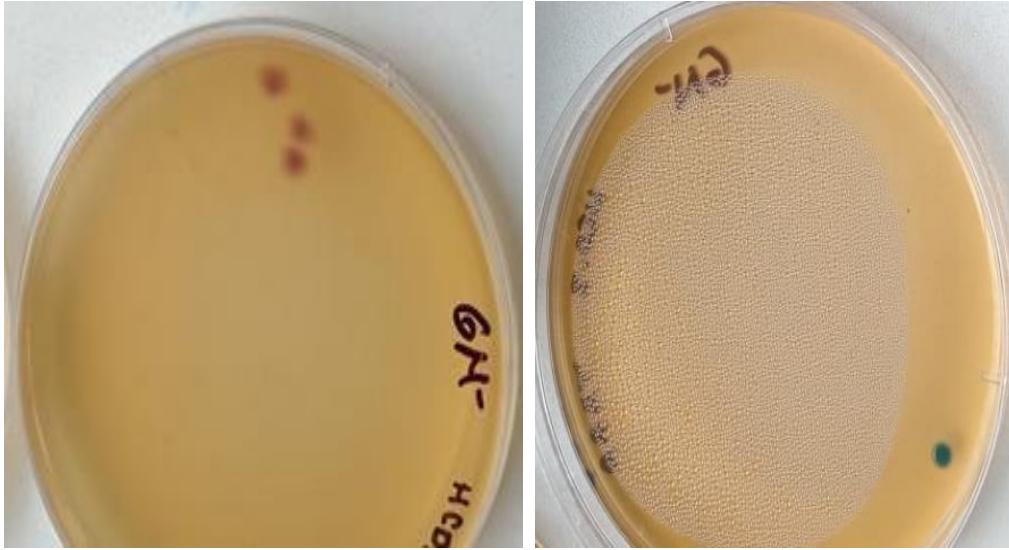


Colonias rosas: *S. aureus*; Colonias azules: *S. uberis*; Colonias turquesas: *S. agalactiae*.

Anexo 12. Identificación de microorganismos Gram positivos por distintas coloraciones formadas en el CHROMagar (GP) específico para mastitis.

Elaborado por: Los Autores (2024)

Identificación de microorganismos Gram negativos.




Colonias rojizas: *E. coli*; Colonias azules: *Klebsiella*.


Anexo 13. Identificación de microorganismos Gram negativos por distintas coloraciones formadas en el CHROMagar (GN) específico para mastitis.

Elaborado por: Los Autores (2024)

Informe de CCS y CCDS



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA
SALESIANA
ECUADOR



Página 1 de 4 LCL
SALESIANOS
DON BOSCO

LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE

Información proporcionada por el cliente

Cliente: Universidad Politécnica Salesiana
Dirección: Av. Natalia Jarrín N3-85 y 9 de Octubre
Contacto: Dra. Nancy Bonifaz
Teléfono: 02 3962800
Fecha de colecta: 22/11/2023

INFORME DE RESULTADOS

Cantidad de muestras: CCS 103

Muestras con observaciones: 103
Fecha de recepción: 23/11/2023
Fecha de análisis: 23/11/2023
Fecha de emisión de resultados: 24/11/2023
Descripción: Leche cruda
Lote: 23536

Muestra	Código examinado	CCS (x1000/ml)	% CCSD LINFO + PMN	% CCSD Macrofagos	Observaciones de las muestras
Filtro					
327763	M 1	162	75,60	24,40	G
327764	M 2	842	73,00	27,00	G
327765	M 3	843	63,80	36,20	G
327766	M 4	270	67,60	32,40	G
327767	M 5	895	63,50	36,50	G
327768	M 6	886	57,80	42,20	G
327769	M 7	592	71,00	29,00	G
327770	M 8	3.944	66,40	33,60	G
327771	M 9	4.176	72,00	28,00	G
327772	M 10	116	60,50	39,50	G
327773	M 11	35.496	75,10	24,90	G
327774	M 12	1.987	67,30	32,70	G
327775	M 13	5.361	69,10	30,90	G
327776	M 14	588	65,10	34,90	G
327777	M 15	412	53,20	46,80	G
327778	M 16	1.963	60,50	39,50	G
327779	M 17	205	77,40	22,60	G
327780	M 18	526	51,50	48,50	G
327781	M 19	61	79,20	20,80	G
327782	M 20	318	46,60	53,40	G
327783	M 21	3.627	61,40	38,60	G
327784	M 22	164	65,00	35,00	G
327785	M 23	32	0,00	100,00	G
327786	M 24	2.283	66,40	33,60	G
327787	M 25	140	66,30	33,70	G
327788	M 26	144	78,60	21,40	G
327789	M 27	81	43,80	56,20	G
327790	M 28	606	55,30	44,70	G
327791	M 29	306	47,70	52,30	G
327792	M 30	198	80,60	19,40	G

FF604-03
LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE


Revisión: 09

Total de páginas: 4


Anexo 15. Informe de Resultados de CCS y CCDS Hacienda. 2.

Elaborado por: Los Autores (2024)

Informe de CCS y CCDS



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA
SALESIANA
ECUADOR



Página 1 de 3 LCL
SALESIANOS
DON BOSCO

LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE

Información proporcionada por el cliente

Cliente: Universidad Politécnica Salesiana
Dirección: Av. Natalia Jarrín N3-85 y 9 de Octubre
Contacto: Dra. Nancy Bonifaz
Teléfono: 02 3962800
Fecha de colecta: 29/11/2023

INFORME DE RESULTADOS

Cantidad de muestras: CCS 80

Muestras con observaciones: 80

Fecha de recepción: 30/11/2023
Fecha de análisis: 30/11/2023
Fecha de emisión de resultados: 07/12/2023

Descripción: Leche cruda
Lote: 23542

Muestra	Código examinado	CCS (x1000/ml)	% CCSD LINFO + PMN	% CCSD Macrófagos	Observaciones de las muestras
Filtro					
327869	M 1	185	52,7	47,3	Y
327870	M 2	6	0	100	Y
327871	M 3	35	0	100	Y
327872	M 4	214	72,9	27,1	Y
327873	M 5	96	72,2	27,8	Y
327874	M 6	29	0	100	Y
327875	M 7	29	0	100	Y
327876	M 8	11.868	85,6	14,4	Y
327877	M 9	68	75,7	24,3	Y
327878	M 10	91	59,9	40,1	Y
327879	M 11	21	0	100	Y
327880	M 12	13	0	100	Y
327881	M 13	32	0	100	Y
327882	M 14	14	0	100	Y
327883	M 15	44	0	100	Y
327884	M 16	71	47,9	52,1	Y
327885	M 17	27	0	100	Y
327886	M 18	149	80,3	19,7	Y
327887	M 19	156	50,6	49,4	Y
327888	M 20	186	63,6	36,4	Y
327889	M 21	22	0	100	Y
327890	M 22	170	72,3	27,7	Y
327891	M 23	13	0	100	Y
327892	M 24	38	0	100	Y
327893	M 25	325	59	41	Y
327894	M 26	32	0	100	Y
327895	M 27	8	0	100	Y

EPG04-03

Revisión: 09

Total de páginas: 3

LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE

Anexo 16. Informe de Resultados de CCS y CCDS Hacienda. 3.

Elaborado por: Los Autores (2024)

8 BIBLIOGRAFÍA.

- Almeida, D. (2015). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test e identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche en la comunidad San Pablo Urco, Olmedo - Cayambe - Ecuador, 2014* [Tesis de grado- Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Alvear, D. C., Guerrero, J. D., Bonifaz, N. F., & Noriega, P. F. (2021). Calidad composicional y concentración de ácidos grasos omega-3 (alfa-linolénico) y omega-6 (linoleico) presentes en leche bovina de tres regiones naturales del Ecuador. *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 68(2), 150–169. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v68n2.98027>
- Ballesteros, J., & Valdivieso, A. (2018). *Estudio de la problemática epidemiológica de la mastitis bovina en el cantón Cayambe* [Trabajo de titulación-Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Bedolla, C., & Ponce, M. (2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, IX(4), 1–26.
- Bonifaz, N., & Colango, F. (2016). Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en paquiestancia, Ecuador. *La Granja*, 24(2), 43–52. <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.03>
- Bonifaz, N., Galarza, X., Fuertes, B., & Beltrán, J. (2023). Determinación molecular del agente etiológico de la mastitis bovina de muestras provenientes de unidades productoras andinas. *La Granja. Revista de Ciencias de La Vida*, 39(1), 1–13. [file:///D:/USER/Downloads/5172-Texto del artículo-51416-1-10-20231127.pdf](file:///D:/USER/Downloads/5172-Texto%20del%20artículo-51416-1-10-20231127.pdf)
- Bonifaz, N., & Requelme, N. (2011). Buenas prácticas de ordeño y la calidad higiénica de la leche en el Ecuador. *La Granja*, 14(2), 45–57.
- Chasi, E. (2015). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de California Mastitis Test e identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la comunidad de Muyurco, Cayambe - Ecuador, 2014* [Tesis de grado- Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>

- CHROMagar. (2015). *CHROMagar Mastitis(GP) y (GN)*, 33, 1–19.
- Conlago, L. (2013). *Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en la comunidad Paquiestancia, Cayambe - Ecuador, 2012* [Tesis de grado- Universidad politécnica salesiana]. <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.03>
- Contero, R., Requelme, N., Cachipuendo, C., & Acurio, D. (2021). Calidad de la leche cruda y sistema de pago por calidad en el Ecuador. *La Granja. Revista de Ciencias de La Vida*, 33(1), 31–43. <https://doi.org/10.17163/lgr.n33.2021.03>
- Cuéllar, J. (2020). Mastitis bovina: enfermedad mundial. *Veterinaria Digital*. <https://www.veterinariadigital.com/articulos/mastitis-bovina-enfermedad-mundial/>
- Farinango, A. (2015). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la comunidad de pulisa, Cayambe - Ecuador, 2014*. Tesis de grado-Universidad Politécnica Salesiana.
- Fernandez, O., Trujillo, J., Peña, J., Cerquera, J., & Granja, Y. (2012). Mastitis Bovina: Generalidades Y Métodos de diagnostico. *Revista Veterinaria REDVET*, 13(11), 1–11.
- Fonseca, L. (2015). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la comunidad el chaupi, Cayambe - Ecuador, 2014* [Tesis de grado- Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Fuenzalid, M. (2020). Resistencia antimicrobiana en patógenos causantes de mastitis : Klebsiella. *Extension University of Wisconsin-Madison*, 1–4.
- Galarza, X., & Molina, L. (2018). *Determinación molecular del agente etiológico de la mastitis bovina de muestras provenientes de Unidades Productoras Bovinas de los cantones Cayambe y Pedro Moncayo, Provincia de Pichincha* [Trabajo de titulación- Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16471>
- Gonzáles, R., & Vidal del Rio, M. (2021). Mastitis bovina y calidad de la leche, un desafío para la salud humana. *Universidad y Sociedad*, 13(1), 89–96.
- Hernandez, J., & Bedolla, J. (2008). Importancia del conteo de células somáticas en la calidad

- de la leche. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, IX(9), 1–34.
- INEN. (2012). Leche cruda. Requisitos. *Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN*, 1–7.
- Lucas, M., & Vargas, W. (2023). *Determinación de la calidad microbiológica de la leche comercializada en el cantón de Chone, año 2022*. Proyecto de titulación- Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.
- MAG. (2020). “Ecuador se nutre de Leche” y el sector lácteo se fortalece con apoyo del Gobierno Nacional. Ministerio de Agricultura y Ganadería. <https://www.agricultura.gob.ec/ecuador-se-nutre-de-leche-y-el-sector-lacteo-se-fortalece-con-apoyo-del-gobierno-nacional/#:~:text=En Ecuador se producen alrededor,litros diarios de leche cruda.>
- Maps, G. (2024). *Google Maps Cayambe*. <https://www.google.com/maps/place/Cayambe/@0.0367571,-78.168358,14z/data=!3m1!4b1!4m6!3m5!1s0x8e2a09029f3188a7:0x752d774d78e14c12!8m2!3d0.0425351!4d-78.1458804!16zL20vMDZicDFr?entry=ttu>
- Mera, R., Muñoz, M., Artieda, J., Ortíz, P., González, R., & Vega, V. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(11), 1–16.
- Moriano, C., Gómez, J., & Gómez-Urviola, N. (2020). Prevalencia de mastitis subclínica en bovinos criollos (*Bos taurus*) en el distrito de Pacobamba, Andahuaylas, Apurímac, Perú. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal AICA*, 15, 42–46.
- Orozco, M., & Santana, D. (2022). *Grado de mastitis bovina y su correlación con el conteo de células somáticas diferenciadas y el agente etiológico causante de la enfermedad*. Trabajo de titulación- Universidad Politécnica Salesiana.
- Palma, V. (2021). *Caracterización de producción y comercialización de leche bovina en Ecuador*. Componente práctico del examen complejo- Universidad Técnica de Babahoyo.
- Quispe, K. (2022). *Principales agentes bacterianos en la Mastitis Bovina*. Componente Práctico de examen complejo- Universidad técnica de Babahoyo.
- Schwarz, D. (2017). Differential Somatic Cell Count with the Fossomatic 7 DC-a novel parameter. *Foss*, 2–5.

- Almeida, D. (2015). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test e identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche en la comunidad San Pablo Urco, Olmedo - Cayambe - Ecuador, 2014* [Tesis de grado- Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Alvear, D. C., Guerrero, J. D., Bonifaz, N. F., & Noriega, P. F. (2021). Calidad composicional y concentración de ácidos grasos omega-3 (alfa-linolénico) y omega-6 (linoleico) presentes en leche bovina de tres regiones naturales del Ecuador. *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 68(2), 150–169. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v68n2.98027>
- Ballesteros, J., & Valdivieso, A. (2018). *Estudio de la problemática epidemiológica de la mastitis bovina en el cantón Cayambe* [Trabajo de titulación-Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Bedolla, C., & Ponce, M. (2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, IX(4), 1–26.
- Bonifaz, N., & Colango, F. (2016). Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en paquiestancia, Ecuador. *La Granja*, 24(2), 43–52. <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.03>
- Bonifaz, N., Galarza, X., Fuertes, B., & Beltrán, J. (2023). Determinación molecular del agente etiológico de la mastitis bovina de muestras provenientes de unidades productoras andinas. *La Granja. Revista de Ciencias de La Vida*, 39(1), 1–13. <file:///D:/USER/Downloads/5172-Texto del artículo-51416-1-10-20231127.pdf>
- Bonifaz, N., & Requelme, N. (2011). Buenas prácticas de ordeño y la calidad higiénica de la leche en el Ecuador. *La Granja*, 14(2), 45–57.
- Chasi, E. (2015). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de California Mastitis Test e identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la comunidad de Muyurco, Cayambe - Ecuador, 2014* [Tesis de grado- Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS->

- CHROMagar. (2015). *CHROMagar Mastitis(GP) y (GN)*, 33, 1–19.
- Conlago, L. (2013). *Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en la comunidad Paquiestancia, Cayambe - Ecuador, 2012* [Tesis de grado- Universidad politécnica salesiana]. <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.03>
- Contero, R., Requelme, N., Cachipuendo, C., & Acurio, D. (2021). Calidad de la leche cruda y sistema de pago por calidad en el Ecuador. *La Granja. Revista de Ciencias de La Vida*, 33(1), 31–43. <https://doi.org/10.17163/lgr.n33.2021.03>
- Cuéllar, J. (2020). Mastitis bovina: enfermedad mundial. *Veterinaria Digital*. <https://www.veterinariadigital.com/articulos/mastitis-bovina-enfermedad-mundial/>
- Farinango, A. (2015). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la comunidad de pulisa, Cayambe - Ecuador, 2014*. Tesis de grado-Universidad Politécnica Salesiana.
- Fernandez, O., Trujillo, J., Peña, J., Cerquera, J., & Granja, Y. (2012). Mastitis Bovina: Generalidades Y Métodos de diagnostico. *Revista Veterinaria REDVET*, 13(11), 1–11.
- Fonseca, L. (2015). *Prevalencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en el centro de acopio de leche de la comunidad el chaupi, Cayambe - Ecuador, 2014* [Tesis de grado- Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/5081/1/UPS-CYT00109.pdf>
- Fuenzalid, M. (2020). Resistencia antimicrobiana en patógenos causantes de mastitis : Klebsiella. *Extension University of Wisconsin-Madison*, 1–4.
- Galarza, X., & Molina, L. (2018). *Determinación molecular del agente etiológico de la mastitis bovina de muestras provenientes de Unidades Productoras Bovinas de los cantones Cayambe y Pedro Moncayo, Provincia de Pichincha* [Trabajo de titulación- Universidad Politécnica Salesiana]. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/16471>

- González, R., & Vidal del Rio, M. (2021). Mastitis bovina y calidad de la leche, un desafío para la salud humana. *Universidad y Sociedad*, 13(1), 89–96.
- Hernandez, J., & Bedolla, J. (2008). Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, IX(9), 1–34.
- INEN. (2012). Leche cruda. Requisitos. *Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN*, 1–7.
- Lucas, M., & Vargas, W. (2023). *Determinación de la calidad microbiológica de la leche comercializada en el cantón de Chone, año 2022*. Proyecto de titulación- Universidad Laica Eloy Alfaro de Manabí.
- MAG. (2020). “Ecuador se nutre de Leche” y el sector lácteo se fortalece con apoyo del Gobierno Nacional. Ministerio de Agricultura y Ganadería. <https://www.agricultura.gob.ec/ecuador-se-nutre-de-leche-y-el-sector-lacteo-se-fortalece-con-apoyo-del-gobierno-nacional/#:~:text=En Ecuador se producen alrededor,litros diarios de leche cruda.>
- Maps, G. (2024). *Google Maps Cayambe*. <https://www.google.com/maps/place/Cayambe/@0.0367571,-78.168358,14z/data=!3m1!4b1!4m6!3m5!1s0x8e2a09029f3188a7:0x752d774d78e14c12!8m2!3d0.0425351!4d-78.1458804!16zL20vMDZicDFr?entry=ttu>
- Mera, R., Muñoz, M., Artieda, J., Ortíz, P., González, R., & Vega, V. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(11), 1–16.
- Moriano, C., Gómez, J., & Gómez-Urviola, N. (2020). Prevalencia de mastitis subclínica en bovinos criollos (*Bos taurus*) en el distrito de Pacobamba, Andahuaylas, Apurímac, Perú. *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal AICA*, 15, 42–46.
- Orozco, M., & Santana, D. (2022). *Grado de mastitis bovina y su correlación con el conteo de células somáticas diferenciadas y el agente etiológico causante de la enfermedad*. Trabajo de titulación- Universidad Politécnica Salesiana.
- Palma, V. (2021). *Caracterización de producción y comercialización de leche bovina en Ecuador*. Componente práctico del examen complejo- Universidad Técnica de Babahoyo.

Quispe, K. (2022). *Principales agentes bacterianos en la Mastitis Bovina*. Componente Práctico de examen complejo- Universidad técnica de Babahoyo.

Schwarz, D. (2017). Differential Somatic Cell Count with the Fossomatic 7 DC-a novel parameter. *Foss*, 2–5.