



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA  
SEDE QUITO  
CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**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 previo a la obtención del título de:  
INGENIERAS EN BIOTECNOLOGÍA**

**AUTORAS:**

MÉLLANY SAMANTA OROZCO CHUQUÍN

DAYANA CAROLINA SANTANA JARAMILLO

**TUTOR:** NANCY FABIOLA BONIFÁZ GARCÍA

**Quito-Ecuador**

**2022**

## CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Nosotras, Méllany Samanta Orozco Chuquín con documento de identificación N° 100373025-4 y Dayana Carolina Santana Jaramillo con documento de identificación N° 172733899-6; manifestamos que:

Somos las autoras 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.

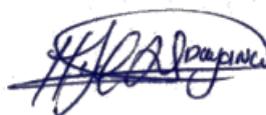
Quito, 25 de julio del año 2022

Atentamente,



-----  
Méllany Samanta Orozco Chuquín

CI: 100373025-4



-----  
Dayana Carolina Santana Jaramillo

CI:172733899-6

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

Nosotras, Méllany Samanta Orozco Chuquín con documento de identificación No.100373025-4 y Dayana Carolina Santana Jaramillo con documento de identificación No.172733899-6 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: **“GRADO DE MASTITIS BOVINA Y SU CORRELACIÓN CON EL CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS DIFERENCIADAS Y EL AGENTE ETIOLÓGICO CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD”**, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingenieras en Biotecnología, 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.

Quito, 25 de julio del año 2022

Atentamente,

-----  
Méllany Samanta Orozco Chuquín

-----  
Dayana Carolina Santana Jaramillo

CI: 100373025-4

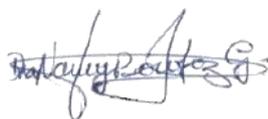
CI:1727338996

## 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: **“GRADO DE MASTITIS BOVINA Y SU CORRELACIÓN CON EL CONTEO DE CÉLULAS SOMÁTICAS DIFERENCIADAS Y EL AGENTE ETIOLÓGICO CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD”**, realizado por Méllany Samanta Orozco Chuquín con documento de identificación N° 100373025-4 y por Dayana Carolina Santana Jaramillo con documento de identificación N° 172733899-6 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.

Quito, 25 de julio del año 2022

Atentamente,



-----  
Dra. Nancy Bonifaz García, MSc

CI:0602085110

## **DEDICATORIA**

**Méllany Samanta Orozco Chuquín**

A Dios todo poderoso que me ha permitido llegar hasta aquí.

A mi abuelita Pepita Cueva que con gran sabiduría y amor infinito fue la guía de mi caminar;  
a mi madre Amparito Chuquín quien me brindo su amor, paciencia y apoyo incondicional en  
cada instante; a mi hermano Sebastián Orozco que me otorgo aliento en momentos difíciles y  
a la luz de mis ojos Leonardo Salguero.

Sin ustedes nada de esto sería posible, muchas gracias.

**Dayana Carolina Santana Jaramillo**

A mi madre Rosa Jaramillo sin su apoyo y sus enseñanzas no hubiera logrado mis objetivos,  
no existen palabras para expresar el amor que siento hacia aquella persona maravillosa.

Muchas gracias por todo.

## **AGRADECIMIENTOS**

De manera especial agradecemos al equipo técnico del Laboratorio de Calidad de Leche de Universidad Politécnica Salesiana - extensión Cayambe, por permitirnos usar las instalaciones para el desarrollo de nuestro trabajo de investigación, en especial a la MSc. Paola Simbaña por su paciencia y apoyo absoluto.

Al MSc. Eloy De La Cruz por su ayuda técnica invaluable, dándonos soporte y esclarecimiento en cada paso de la investigación.

Al grupo de investigación NUKUI WAKAN y a nuestra tutora Dra. Nancy Bonifaz por ser nuestra guía, brindándonos su apoyo en el desarrollo de esta investigación.

Al Ing. Santiago Gordillo coordinador del área de Vinculación con la Sociedad de la empresa Transnacional Nestlé, por concedernos trabajar con las fincas lecheras que brindan servicio a esta empresa.

A nuestras compañeras del proyecto Andrea López y Erika Mendoza por su ayuda en nuestra investigación.

## RESUMEN

La mastitis bovina es una enfermedad de la glándula mamaria ocasionada por diversos factores en el hato lechero, generando grandes pérdidas económicas. El objetivo de este estudio fue correlacionar el grado de mastitis bovina con el conteo de células somáticas diferenciales (CCSD) y el agente etiológico causante de la enfermedad; con el propósito de estandarizar una serie de análisis, que permita tanto a pequeños - medianos productores y fincas ganaderas, determinar con precisión la aparición de esta patología, para tomar medidas adecuadas, evitando sufrimiento animal, propagación de la enfermedad y pérdidas económicas. Con un total de 365 muestras analizadas provenientes de cuatro zonas de la Sierra norte del Ecuador (Pichincha e Imbabura) divididas en 16 pequeños - medianos productores y 10 fincas ganaderas se determinó que la mayoría de los casos estudiados poseen algún grado de mastitis (Trazas de 200.000-400.000 células/mL a Grado 2 de 1.200.000 a 5.000.000 células/mL) establecidos en el cuadrante C (> 65 - >200.000 células/mL) y con una presencia significativa del patógeno más frecuente en este estudio *Staphylococcus aureus* causante de la mayoría de los casos de mastitis bovina subclínica y clínica.

**Palabras clave:** Mastitis bovina, células somáticas diferenciales, agente etiológico.

## **ABSTRACT**

Bovine mastitis is a disease of the mammary gland caused by several factors in the dairy herd, generating great economic losses. The objective of this study was to correlate the degree of bovine mastitis with the differential somatic cell count (DSCC) and the etiological agent causing the disease; with the purpose of standardizing a series of analyses, which will allow small-medium producers and cattle farms to accurately determine the occurrence of this pathology, in order to take appropriate measures, avoiding animal suffering, spread of the disease and economic losses. With a total of 365 samples analyzed from four zones of the North Sierra of Ecuador (Pichincha and Imbabura) divided into 16 small-medium producers and 10 cattle farms, it was determined that most of the cases studied have some degree of mastitis (Traces of 200,000-400,000 cells/mL to Grade 2 from 1,200,000 - 5,000,000 cells/mL) established in quadrant C (> 65 - >200,000 cells/mL) and with a significant presence of the most frequent pathogen in this study, *Staphylococcus aureus*, which causes most of the cases of subclinical and clinical bovine mastitis.

**Key words:** bovine mastitis, differential somatic cells, etiologic agent.

# ÍNDICE DE CONTENIDO

I.	INTRODUCCIÓN .....	1
II.	FUNDAMENTO TEÓRICO .....	3
	Mastitis .....	3
2.1	Definición y Características .....	3
2.1.1	Definición .....	3
2.1.2	Características .....	3
2.2	Factores causantes de la Mastitis .....	4
2.2.1	Ambiente .....	4
2.2.2	Estado nutricional del bovino: .....	4
2.2.3	Factores genéticos.....	4
2.2.4	Factores infecciosos .....	5
2.2.5	Factores fisiológicos.....	5
2.3	Sistema inmunológico del bovino .....	6
2.4	Agentes causantes de la Mastitis .....	7
2.4.1	<i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
2.4.2	<i>Streptococcus agalactiae</i> .....	7
2.4.3	<i>Streptococcus uberis</i> .....	7
2.4.4	<i>Escherichia coli</i> .....	8
2.4.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	8
2.4.6	<i>Candida sp.</i> .....	8
2.5	Tipos de Mastitis.....	9
2.5.1	Mastitis subclínica .....	9
2.5.2	Mastitis clínica .....	9
2.6	Diagnóstico de Mastitis bovina.....	10
2.6.1	California Mastitis Test (CMT) .....	10
2.6.2	Conteo automatizado de Células Somáticas (CCS).....	11
2.7	Identificación del agente etiológico .....	12
2.7.1	Medios de Cultivos .....	12
2.7.2	Pruebas de Identificación Bacteriana.....	13

2.7.2.1	Características microscópicas .....	13
2.7.2.2	Pruebas Bioquímicas.....	13
□	Pruebas de Coagulasa.....	14
□	Prueba de Catalasa .....	14
□	Prueba de Citrato .....	14
III.	<b>MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>16</b>
3.1	Preanálisis de Muestras.....	16
3.2	Ubicación de las áreas de estudio.....	16
	<b>FASE DE CAMPO .....</b>	<b>16</b>
3.3	Prueba de Campo.....	16
3.4	Toma de muestras.....	17
	<b>FASE DE LABORATORIO .....</b>	<b>17</b>
3.5	Análisis de CCS y CCSD .....	17
3.6	Análisis Microbiológico .....	17
3.6.1	Preparación de medios de cultivos.....	17
3.6.2	Identificación de agentes etiológicos causantes de la enfermedad .....	18
3.7	Análisis estadístico .....	19
IV.	<b>RESULTADOS Y DISCUSIONES .....</b>	<b>20</b>
4.1	Grado de mastitis bovina según la prueba de CMT.....	20
4.1.1	Pequeños y medianos productores de centros de acopio.....	20
4.1.2	Fincas ganaderas .....	21
4.1.2.1	Imbabura- Urcuquí.....	21
4.1.2.2	Pichincha- Machachi.....	21
4.1.2.3	Pichincha - Calacalí.....	22
4.2	Contaje de células somáticas diferenciales (CCDS) .....	23
4.2.1	Pequeños y medianos productores de centros de acopio.....	23
4.2.2	Fincas ganaderas .....	25
4.2.2.1	Imbabura- Urcuquí.....	25
4.2.2.2	Pichincha- Machachi.....	27
4.2.2.3	Pichincha- Calacalí.....	29
4.3	Relación de vacas enfermas por cada finca.....	31
4.3.1	Relación en pequeños y medianos productores de centros de acopio.....	31

4.3.2	Relación en Fincas ganaderas.....	32
4.4	Análisis de presencia de agentes etiológicos.....	33
4.4.1	Pequeños y medianos productores.....	33
4.4.2	Fincas ganaderas .....	35
4.4.2.1	Imbabura- Urcuquí.....	35
4.4.2.2	Pichincha- Machachi.....	36
4.4.2.3	Pichincha- Calacalí.....	37
4.5	Correlación del grado de mastitis con CCSD y el agente etiológico .....	38
4.5.1	Pequeños y medianos productores de centros de acopio.....	38
4.5.2	Fincas ganaderas .....	39
4.5.2.1	Imbabura – Urcuquí .....	39
4.5.2.2	Pichincha – Machachi .....	41
4.5.2.3	Pichincha – Calacalí.....	44
V.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	46
5.1	Conclusiones.....	46
5.2	Recomendaciones.....	48
	BIBLIOGRAFÍA .....	49
	ANEXOS .....	55

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b> Grados de CMT correlacionados con el rango de CCS .....	11
<b>Tabla 2</b> Distribución de fincas analizadas por zona de la Sierra Norte del Ecuador.....	16
<b>Tabla 3</b> Condiciones de Esterilización para los medios de cultivos.....	18
<b>Tabla 4</b> Frecuencia del grado de mastitis bovina en los pequeños y medianos productores de centros de acopio .....	20
<b>Tabla 5</b> Frecuencia del grado de mastitis bovina en fincas ganaderas (Imbabura – Urcuquí) 21	
<b>Tabla 6</b> Frecuencia del grado de mastitis bovina en fincas ganaderas (Pichincha - Machachi) .....	22
<b>Tabla 7</b> Frecuencia del grado de mastitis bovina en fincas ganaderas (Pichincha - Calacalí) 23	
<b>Tabla 8</b> Frecuencia de CCSD de los pequeños y medianos productores de centros de acopio .....	24
<b>Tabla 9</b> Análisis de varianza del CCDS de los pequeños y medianos productores de centros de acopio .....	25
<b>Tabla 10</b> Frecuencia de CCSD de fincas ganaderas (Imbabura - Urcuquí).....	26
<b>Tabla 11</b> Análisis de varianza del CCDS de fincas ganaderas (Imbabura - Urcuquí).....	27
<b>Tabla 12</b> Frecuencia de CCSD de fincas ganaderas (Pichincha - Machachi) .....	27
<b>Tabla 13</b> Análisis de varianza del CCDS de fincas ganaderas (Pichincha - Machachi) .....	28
<b>Tabla 14</b> Frecuencia de CCSD de los medianos productores (Pichincha - Calacalí).....	29
<b>Tabla 15</b> Análisis de varianza del CCDS de fincas ganaderas (Pichincha – Calacalí) .....	30
<b>Tabla 16</b> Relación de Vacas enfermas por bidón en pequeños y medianos productores de centros de acopio .....	32
<b>Tabla 17</b> Relación de Vacas enfermas por bidón en fincas ganaderas .....	33
<b>Tabla 18</b> Correlación del grado de mastitis con CCSD y el agente etiológico en pequeños y medianos productores de centros de acopio .....	39
<b>Tabla 19</b> Correlación del grado de mastitis bovina con CCSD y el agente etiológico de fincas ganaderas (Imbabura – Urcuquí).....	41
<b>Tabla 20</b> Correlación del grado de mastitis con CCSD y el agente etiológico de fincas ganaderas (Pichincha, Machachi).....	43
<b>Tabla 21</b> Correlación del grado de mastitis con CCSD y el agente etiológico de fincas ganaderas (Pichincha – Calacalí) .....	45

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> Disposición de los casos analizados de CCDS de los cuatro cuadrantes establecidos de los pequeños y medianos productores de centros de acopio.....	24
<b>Figura 2</b> Disposición de los casos analizados de CCDS de los cuatro cuadrantes establecidos de fincas ganaderas (Imbabura – Urcuquí).....	26
<b>Figura 3</b> Disposición de los casos analizados de CCDS de los cuatro cuadrantes establecidos de fincas ganaderas (Pichincha - Machachi) .....	28
<b>Figura 4</b> Disposición de los casos analizados de CCDS de los cuatro cuadrantes establecidos de fincas ganaderas (Pichincha – Calacalí) .....	30
<b>Figura 5</b> Porcentaje de presencia de Agentes etiológicos en pequeños y medianos productores de centros de acopio .....	34
<b>Figura 6</b> Porcentaje de presencia de Agentes etiológicos en fincas ganaderas (Imbabura – Urcuquí).....	36
<b>Figura 7</b> Porcentaje de presencia de Agentes etiológicos en fincas ganaderas (Pichincha – Machachi).....	37
<b>Figura 8</b> Porcentaje de presencia de Agentes etiológicos en fincas ganaderas (Pichincha - Calacalí).....	38

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1</b> Vaca con mastitis clínica.....	55
<b>Anexo 2</b> Toma de muestras bovino a bovino .....	55
<b>Anexo 3</b> Conteo de células somáticas diferenciales (CCSD) mediante citometría de flujo, en el equipo FOSSOMATIC 7DC.....	56
<b>Anexo 4</b> Preparación de medio de cultivo CHROMagar Mastitis (GP) .....	56
<b>Anexo 5</b> Preparación de medio de cultivo CHROMagar Mastitis (GN).....	57
<b>Anexo 6</b> Interpretación de colonias sembradas en CHROMagar Mastitis (GP) .....	57
<b>Anexo 7</b> Interpretación de colonias sembradas en CHROMagar Mastitis (GN) .....	58
<b>Anexo 8</b> Aislamiento de cepas no identificadas mediante un estriado compuesto en medios selectivos.....	58
<b>Anexo 9</b> Vista microscópica (100x) de tinciones gram .....	59
<b>Anexo 10</b> Prueba de catalasa para la diferenciación de géneros en bacterias gram positivas .	60
<b>Anexo 11</b> Prueba de coagulasa para la diferenciación de géneros en bacterias gram positivas .....	60
<b>Anexo 12</b> Prueba de citrato para confirmar la presencia de Klebsiella .....	61
<b>Anexo 13</b> Reacción del CMT - leche con algún grado de mastitis subclínica.....	61
<b>Anexo 14</b> Reacción del CMT - leche con un grado de mastitis clínica.....	62
<b>Anexo 15</b> Reacción del CMT - leche de bovinos sanos.....	62
<b>Anexo 16</b> Informe de Resultados de CCS y CCDS.....	63
<b>Anexo 17</b> Análisis estadístico en el programa SPSS de la Zona Norte (Imbabura- Urcuqui) 64	
<b>Anexo 18</b> Identificación de microorganismos gram positivos por distintas coloraciones formadas en el CHROMagar (GP) específico para mastitis .....	64
<b>Anexo 19</b> Identificación de Staphylococcus aureus por su coloración en el CHROMagar (GP) específico para mastitis.....	65
<b>Anexo 20</b> Análisis microbiológicos de casos negativos .....	65
<b>Anexo 21</b> Identificación de microorganismos gram negativos por distintas coloraciones formadas en el CHROMagar (GN) específico para mastitis.....	66

## I. INTRODUCCIÓN

En Ecuador la disponibilidad de leche cruda es alrededor 6,648,786 de litros por día de un total de 996.503 vacas ordeñadas, siendo para consumo humano e industrial aproximadamente 75% de la producción (González & Vidal del Río, 2021). Hasta el año 2020 la producción de leche en la región Sierra fue de 4.8 millones de litros, que representa el 77.2% de la producción total, seguido de la Costa con el 17.9% y la Amazonía con el 4.8% (Márquez, 2021).

En relación al promedio de litros de leche por vaca producida, se destaca la región Sierra con un rendimiento de 7.7 litros/vaca, debido a la gran cantidad de ganado lechero presente y a los pastos cultivados y naturales que sirven para su alimentación, posteriormente la Amazonía ocupa el segundo lugar con 5.4 litros/vaca y la Costa en el tercer lugar con 3.8 litros/vaca (Márquez, 2021).

No obstante, estos números son afectados por la mastitis bovina que es considerada de alta incidencia a nivel mundial siendo una de las patologías más relevantes y que genera mayores costos en la industria láctea, no solo por las pérdidas que ocasiona, sino por las dificultades para el control de la misma (Mendoza et al., 2017), en donde, se estima que entre el 15% y el 20% de las vacas de un rodeo lechero están afectadas por alguna forma de mastitis en uno o más cuartos (Mera et al., 2017). En la mayoría de los casos la enfermedad cursa de manera subclínica en donde los animales afectados no presentan ningún tipo de sintomatología, pasando desapercibidos. Sin embargo, su efecto se ve reflejado en los bajos niveles de producción y en leches que presentan malas condiciones, tanto sanitarias como organolépticas, incluso pueden presentar limitaciones para su uso en la obtención de productos derivados como el queso (Mendoza et al., 2017).

Según el Reglamento para Vigilancia y Control de la Inocuidad de Leche Cruda, Capítulo V, Artículo 24 “Las industrias lácteas, deben realizar todas las pruebas que ejecuta la Agencia con respecto a parámetros de inocuidad para recibir la leche cruda antes de su procesamiento los cuales son contemplados en la Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 9 Leche Cruda. Requisitos” garantizando que toda la leche que ingrese a ésta sea apta para procesamiento y posterior consumo humano (Agrocalidad, 2021).

Para un diagnóstico rápido en casos de sospecha de la enfermedad se utiliza la prueba simple California Mastitis Test (CMT) considerada cualitativa, misma que se realiza en campo y ayuda a detectar la mastitis subclínica (Morales, 2021); sin embargo el conteo de células somáticas brinda resultados seguros debido a que es una técnica cuantitativa, que nos ayuda a conocer si la leche que obtenemos de la glándula mamaria es de buena calidad, así mismo, conoceremos el estado de salud de esta al obtener un número elevado de células somáticas (Ruíz & Sandoval, 2018); la determinación del agente etiológico mediante su aislamiento e identificación a través de pruebas microbiológicas que nos confirman que agente es y por ende que tratamiento se utiliza para discernir la enfermedad.

Por ello, conociendo la importancia que tiene el diagnóstico de esta patología en los bovinos, los objetivos de esta investigación fueron: Identificar el grado de mastitis bovina mediante la prueba de campo California Mastitis Test (CMT); determinar el tipo de células somáticas diferenciales (CCSD); caracterizar los agentes etiológicos causantes de la enfermedad; y finalmente, correlacionar el grado de mastitis bovina con el CCSD con el agente etiológico para determinar el grado de severidad de esta patología. Por lo tanto, en esta investigación se acepta la hipótesis alternativa, que afirma que existe una correlación entre CCS y CCSD.

## **II. FUNDAMENTO TEÓRICO**

### **Mastitis**

#### **2.1 Definición y Características**

##### **2.1.1 Definición**

El termino mastitis se deriva del griego *mastos*, que significa *pechos*, e *itis* que se refiere a inflamación (Quevedo, 2018), es una patología de la glándula mamaria y sus tejidos secretores, que produce malestar y estrés en el animal reduciendo la producción del volumen de leche, por ende, alterando su composición e incluso su sabor, además de elevar su carga bacteriana normal (Gasque, 2015; González & Vidal del Río, 2021).

Es el resultado de la interacción entre varios factores de manejo y el medio, que determinan que aumente la exposición a los microorganismos causales, disminuya la resistencia natural de la vaca hacia la enfermedad y se favorezca el paso de los microorganismos a través del canal del pezón para acceder al epitelio secretor de la glándula mamaria (Calvinho, 2017).

##### **2.1.2 Características**

La mastitis es una enfermedad que causa grandes pérdidas económicas debido a que provoca la disminución de la secreción láctea, deterioro de la calidad de la leche, costos elevados en el tratamiento por ende, descarte temprano del animal (Calvinho, 2017; Sánchez et al., 2018).

Considerada una enfermedad compleja gracias a la interacción de varios factores: el animal, el medio ambiente, los microorganismos y el hombre con un papel decisivo (Ruiz et al., 2016).

Es una reacción inflamatoria ocurre como consecuencia de la respuesta de los tejidos a lesiones traumáticas (Anexo 1), a sustancias irritantes o la presencia de agentes infecciosos que sus toxinas que han logrado colonizar el tejido secretor (Calderón & Rodríguez, 2008).

## **2.2 Factores causantes de la Mastitis**

### **2.2.1 Ambiente:**

No solo actúa como un factor individual sino como el conjunto de los procesos naturales que ayudan a aparecer y desarrollar diferentes patologías, entre estas la variación de la temperatura y altitud afecta directamente a todo tipo de animal en producción y éste es exigido al máximo, para cumplir con los índices productivos que se le establecen; una vaca de alta producción de leche puede desarrollar insuficiencia cardíaca crónica por la exigencia del piso altitudinal y el sobre esfuerzo en la producción lechera (Aguilar & Álvarez, 2019).

### **2.2.2 Estado nutricional del bovino:**

Su vinculación con la alta producción de leche hace que sea el factor causante más importante puesto que, en muchos casos estos animales al tener una glándula mamaria con capacidades fisiológicas altas para producir leche se encuentran más condicionados a sufrir cualquier trauma o lesión en la ubre y en otros casos porque las exigencias nutricionales en esos animales de alta producción no siempre se pueden cumplir, dando como resultado que este balance energético negativo genere agravamiento en el estado depresivo peripartal (Rojas, 2017).

### **2.2.3 Factores genéticos:**

La susceptibilidad a la mastitis es mayor en algunas vacas que otras, esto se debe a las características heredables de la conformación de la ubre (Ballesteros & Valdivieso, 2018). Como ejemplo, el gen de Lactoferrina bovina (bLTF) que si no se expresa, no produce la proteína a la que se le atribuye múltiples funciones biológicas, incluyendo actividades bactericidas y bacteriostáticas, respuesta anti y

proinflamatorias e inducción de proliferación y maduración de células B y T ante la mastitis u otras enfermedades (Guzman, 2015).

#### **2.2.4 Factores infecciosos:**

La mastitis es causada por microorganismos que penetran la ubre a través del conducto del pezón; dentro de los agentes etiológicos causantes de mastitis se encuentran diferentes bacterias, como *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Pasteurella sp*, *Staphylococcus aureus*, *Nocardia asteroides*; *Mycoplasma bovis*, *Leptospira sp*, *Klebsiella sp*, *Fusobacterium sp* hongos y levaduras, *Aspergillus fumigatus*, *Candida sp.*, *Criptococcus neoformans*, *Trichosporon sp* y algas, *Prototheca* (Rojas, 2017).

#### **2.2.5 Factores fisiológicos:**

**Edad:** Las vacas longevas, con varios partos, pueden presentar conductos galactóforos abiertos que facilitan el ingreso de bacterias al sistema conductor-alveolar que las predisponen a la mastitis (Guzman, 2015).

**Enfermedades Sistémicas:** Las vacas productoras se encuentran expuestas a una infinidad de patologías durante su etapa productiva; a mayor producción de leche más posibilidades de desajustes metabólicos. Entre las enfermedades a destacar están el mal de altura y enfermedades sistémicas principalmente cardíacas, respiratorias y digestivas (Aguilar & Álvarez, 2019).

### **2.3 Sistema inmunológico del bovino**

El sistema inmune juega un rol importante para la prevención de infecciones mamarias, según Shokouhi, (2021) la glándula mamaria utiliza una red de factores físicos, celulares y humorales para proteger a la vaca frente a los diferentes grupos de patógenos que provocan la mastitis. Las células somáticas son leucocitos que viajan a los alveolos mamarios, con el propósito de generar una respuesta a la señal antigénica que se produce, para contrarrestar la infección (Aguilar & Álvarez, 2019). Las células somáticas de la leche son principalmente, neutrófilos polimorfonucleares, macrófagos y linfocitos (Schwarz, 2017). Estos tres tipos de células juegan diferentes roles en la respuesta inmune a la mastitis y su proporción en la leche varía según el estado de infección de la glándula mamaria (Damm, et al., 2017).

Las células con mayor predominancia en la glándula mamaria bovina sana son los macrófagos (Pereyra et al., 2014), mismos que, reconocen a patógenos invasores de la mastitis junto con las células epiteliales e inician la respuesta inmunitaria, generando una producción masiva de polimorfonucleares (PMN) (Oyola & Urrea, 2021). El rol que juegan los PMN es clave en la defensa de la glándula mamaria, ya que mediante fagocitosis y muerte celular logran la eliminación de distintos microorganismos, al mismo tiempo producen agentes oxidantes con capacidad bactericidas por lo que constituye en la primera barrera de defensa celular (Pereyra et al., 2014; Aguilar & Álvarez, 2019). Si el agente causal de la infección sobrevive la infiltración de PMN es reemplazada por los linfocitos T, linfocitos B y monocitos (Quiroga, 2018), este tipo de células pueden reconocer diversas estructuras antigénicas según Engler, (2018) mediante los receptores de membrana.

## **2.4 Agentes causantes de la Mastitis**

### **2.4.1 *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* es la causa más frecuente de mastitis en animales lecheros (Hoque et al., 2018), ocasionando mastitis subclínica y clínica (Jiménez et al., 2020); produce muchas enzimas/toxinas que a menudo puede resistir la fagocitosis (tiene Proteína A en su superficie), resistente al sistema inmunológico. Debido a que es un patógeno intracelular facultativo puede vivir dentro de las células fagocíticas, *S. aureus* puede sobrevivir un tiempo limitado en el medio ambiente (Aguilar & Álvarez, 2019). Además, la eficacia del tratamiento contra este microorganismo suele ser decepcionante, ya que, esta bacteria presenta resistencia al menos a un antibiótico, lo cual complica el manejo de este patógeno (Hoque et al., 2018).

### **2.4.2 *Streptococcus agalactiae***

*Streptococcus agalactiae* es una de las bacterias causantes de mastitis que únicamente crece y multiplica en la ubre; sin embargo, puede sobrevivir por breves períodos de tiempo en las manos, objetos de ordeño y la piel de los pezones, lo que lleva a que se propague de vaca a vaca durante el ordeño (Tsegaye et al., 2019). *S. agalactiae* bloquea los conductos debido a la inflamación que se produce, lo que lleva a la disminución considerable de la producción de leche, generando aumento del recuento de células somáticas (Aguilar & Álvarez, 2019; Silva, 2021).

### **2.4.3 *Streptococcus uberis***

*Streptococcus uberis* es el principal patógeno estreptocócico ambiental responsable de mastitis (Fessia et al., 2018); la infección por *S. uberis* generalmente causa mastitis subclínica (~95,0%), aunque también puede ser responsable de una fracción considerable de los casos

clínicos (Aguilar & Álvarez, 2019); este microorganismo es capaz de sobrevivir y multiplicarse dentro y fuera de la ubre (Silva, 2021).

#### **2.4.4 *Escherichia coli***

*E. coli* es una bacteria anaerobia facultativa clasificada dentro de las coliformes (Tatés, 2018), es el agente causal más importante alrededor del parto y durante la lactancia temprana; está típicamente asociado con mastitis clínica aguda, aunque usualmente son periodos cortos o transitorios (González, 2019). La severidad de la mastitis por esta bacteria se determina principalmente por factores de vaca asociados con los elementos de inmunidad innata orquestados en la inducción y el progreso de la respuesta inflamatoria más que por la patogenicidad del agente etiológico (Aguilar & Álvarez, 2019).

#### **2.4.5 *Pseudomonas aeruginosa***

Las pseudomonas producen la exotoxina A (*tox A*) y la exoenzima S (*exo S*), generando una alta tasa de mortalidad en bovinos (Banerjee et al., 2017) por lo que se recomienda el sacrificio de animales infectados para eliminar la infección del rebaño; la *Pseudomona* es resistente a los antibióticos haciendo que el tratamiento no sea eficaz (Banerjee et al., 2017).

#### **2.4.6 *Candida sp.***

Tanto los hongos como las levaduras están ampliamente distribuidos en la naturaleza debido a ello pueden ser considerados agentes causales de la mastitis bovina, produciendo una alteración inflamatoria en la ubre (Yusef, 2017), *Candida sp.* es el patógeno más frecuente implicado en la mastitis micótica de las vacas, se manifiesta en casos clínicos donde la evolución es lenta (Du et al., 2018), las infecciones por este microorganismo es muy baja.

## **2.5 Tipos de Mastitis**

### **2.5.1 Mastitis subclínica**

La mastitis subclínica hace referencia que, a pesar de la existencia de infección en la ubre, no existen cambios externos visibles que manifiesten la condición patológica en el animal, en donde no evoluciona sin signos inflamatorios externos (Morales, 2021) pero el conteo de células somáticas es elevado y es indicativo de una respuesta inflamatoria, también está acompañado de un elevado número de microorganismo en la muestra de leche provocando una disminución en la producción lechera, así como alteraciones en la composición de la misma (Gonçalves et al., 2018).

La mastitis subclínica es la más difícil de detectar y tratar, la vaca se presenta normal y la leche aparenta no tener cambios organolépticos, por lo que, se le considera que es la enfermedad que más pérdidas genera a la producción lechera (González & Vidal del Río, 2021).

### **2.5.2 Mastitis clínica**

La mastitis clínica es una patología donde el ganadero ya puede observar fácilmente los síntomas, ya que, son más evidentes en este grado de la enfermedad diagnosticándose al observar la leche de color anormal, viscosidad o consistencia con presencia de grumos, con o sin signos de calor, dolor o enrojecimiento en la ubre (Ferronato et al., 2018).

El cuarto afectado se inflama, hay dolor, edema, presencia de coágulos, grumos y se torna amarilla o rojiza por la presencia de pus o sangre (González & Vidal del Río, 2021); en casos severos hay aumento de la temperatura y del pulso, decaimiento, pérdida de apetito del bovino, ocasionando una baja de la producción de leche (Calderón & Rodríguez, 2008).

## 2.6 Diagnóstico de Mastitis bovina

### 2.6.1 California Mastitis Test (CMT)

California Mastitis Test es una prueba simple que ayuda a detectar la mastitis subclínica. Es de carácter cualitativo indicando un recuento elevado o bajo de células somáticas en donde, todo resultado por encima de una reacción vestigial se considera sospechoso (Morales, 2021). Cuando el conteo es alto, las células somáticas de la sangre se dirigen hacia la leche como respuesta hacia la infección, en cuanto sea más grave la infección mayor será el número de células somáticas, estimándose que si se supera a los 200. 000 células/mL asegura las condiciones anormales en la ubre (Ayala et al., 2016).

Para realizar esta prueba se necesita del reactivo CMT el cual, es un detergente (alquilauril sulfonato de sodio) que causa la liberación del ADN de los leucocitos presentes en la ubre, convirtiéndose en combinación con los agentes proteicos de la leche en un complejo gelatinoso (Morales, 2021).

Los resultados de CMT pueden ser interpretados en 5 grados los cuales se los describe:

- **Grado negativo:** En donde la mezcla permanece en estado líquido y homogéneo; en el momento de agitar la paleta se mueve la mezcla sin dificultades (Ballesteros & Valdivieso, 2018).
- **Grado trazas:** Existe algo de engrosamiento de la mezcla en donde, se visualiza ligeros puntos y se observa una viscosidad tenue (Ayala et al., 2016).
- **Grado uno (Ligeramente Positivo):** La mezcla es espesa pero, no hay una formación de gel en el centro de la paleta y la viscosidad observada tiende a persistir; la mezcla se cae poco a poco cuando se gira la paleta (Farinango & Carrillo, 2019).
- **Grado dos (Positivo):** El gel se formará en el centro de la paleta durante el movimiento giratorio, acumulándose en la parte inferior de la paleta cuando el movimiento se

interrumpe. Cuando se vierte la mezcla la masa gelatinosa cae y puede dejar un poco de líquido en el pocillo (Sánchez et al., 2018).

- **Grado tres (Muy Positivo):** El gel se formará en el centro de la paleta y se pega en el fondo del pocillo, pero no a un lado. Cuando se vierte la mezcla, se cae sin dejar líquido detrás (Ayala et al., 2016).

Por ello, a mayor presencia de células somáticas se libera una mayor concentración de ADN y mayor será el grado de gelificación, permitiendo determinar la respuesta inflamatoria con base a la viscosidad del gel que se forma al mezclar el reactivo CMT con la misma cantidad de leche en una paleta con cuatro pocillos independientes, evaluando cada cuarto por separado (Morales, 2021).

**Tabla 1**

*Grados de CMT correlacionados con el rango de CCS*

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

Fuente: (Cuéllar, 2020)

### **2.6.2 Conteo automatizado de Células Somáticas (CCS)**

El CCS, así como la composición de las células cambian evidentemente cuando la vaca entra en un estado de mastitis, por lo que, se busca un método para la detección de CCS. Según Schwarz, (2017) se ha desarrollado un método patentado para la detección simultánea de células somáticas, incorporando un nuevo parámetro que es un recuento diferencial de células somáticas. En las primeras etapas de la infección el recuento de neutrófilos aumenta más rápido

que el CCS total (Schwarz et al., 2011); por lo tanto, las vacas con un CCS bajo y un CCSD alto son propensas a desarrollar mastitis subclínica. Por otro lado, las vacas afectadas por mastitis crónicas tienen una alta proporción de macrófagos, indicando un CCSD bajo (Bobbo et al., 2020).

Bobbo et al., (2019) demostraron que el recuento diferencial de células somáticas (CCSD), es la proporción de neutrófilos más linfocitos a CCS total. El uso combinado de estas dos técnicas brinda un diagnóstico certero (Damm et al., 2017).

El nuevo parámetro considera cuatro cuadrantes en el equipo para la identificación de las diferentes células somáticas, donde se combinó a linfocitos y PMN en un grupo por dos razones: en primer lugar y más importante, solo dos de las tres poblaciones de células que se encuentran en la leche mostraron variaciones claras según el CCS y, por lo tanto, el estado de salud real de la glándula mamaria. Las proporciones de macrófagos disminuyeron mientras que, las de PMN aumentaron a medida que incrementaba el CCS. Sin embargo, se encontraron linfocitos en proporciones consistentemente bajas en todo el rango de CCS (Schwarz, 2017).

## **2.7 Identificación del agente etiológico**

### **2.7.1 Medios de Cultivos**

Los medios de cultivo cromogénicos se desarrollan para identificar los patógenos según el color específico de las colonias microbianas. El sustrato cromogénico al entrar en contacto con un microorganismo específico tras sufrir una hidrólisis libera un colorante que se fija en las colonias microbianas, diferenciándolas por su color. En comparación con los medios de cultivo convencionales, los medios cromogénicos ofrecen un diagnóstico rápido reduciendo el uso de pruebas bioquímicas y serológicas para identificar patógeno (Granja et al., 2021)

## **2.7.2 Pruebas de Identificación Bacteriana**

### **2.7.2.1 Características microscópicas**

El estudio microscópico en fresco y tras tinción revela la forma, la manera de agruparse, la estructura de las células y su tamaño (Linares et al., 2018). Las tinciones son el primer paso, y ocasionalmente el único, para la identificación bacteriana (Fernández et al., 2010).

La tinción gram es una tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en bacterias gram negativas y bacterias gram positivas (Ramírez et al., 2018). Su fundamento consiste en las características de la pared celular de las bacterias; la pared celular de las bacterias gram negativas está constituida por una capa fina de peptidoglicano y una membrana celular externa, mientras que, las bacterias gram positivas poseen una pared celular gruesa constituida por peptidoglicano pero, no cuentan con membrana celular externa; tiñendo así de color violeta a las gram positivas y rosadas a las gram negativas (Llivicura, 2018).

### **2.7.2.2 Pruebas Bioquímicas**

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias objeto de identificación. Algunas de estas pruebas son técnicas rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas pocas horas (Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 2016). Otras pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 48h, a este grupo pertenecen la mayoría de las pruebas que detectan componentes metabólicos o aquellas que determinan la sensibilidad de un microorganismo a una sustancia dada tras cultivo en medios de identificación que contienen el sustrato a metabolizar (Ramírez et al., 2018). No obstante, algunas de estas pruebas pueden realizarse de forma rápida tras incubación de unas 2-6h en

general, se trata de reacciones enzimáticas cromogénicas o pruebas convencionales modificadas (Fernández et al., 2010).

- **Pruebas de Coagulasa**

Permite determinar la capacidad de coagular el plasma por la acción de la enzima coagulasa. Se utiliza para diferenciar *S. aureus* (coagulasa positiva) de otras especies de *Staphylococcus* (Fernández et al., 2010).

- **Prueba de Catalasa**

La catalasa es una enzima que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. La prueba se utiliza para comprobar la presencia de la enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen el citocromo oxidasa (Ramírez et al., 2018). La principal excepción son los estreptococos (*Streptococcus*), en donde originariamente, esta prueba era utilizada para diferenciar entre los siguientes géneros: *Streptococcus* (catalasa -) de *Micrococcus* (catalasa +) y/o *Staphylococcus* (catalasa +) (Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 2016).

- **Prueba de Citrato**

Esta prueba sirve para determinar si un organismo es capaz de utilizar citrato como única fuente de carbono y compuestos amoniacales como única fuente de nitrógeno en su metabolismo, provocando una alcalinización del medio (Delgado, 2020). Entre las enterobacterias estas características se dan en los siguientes géneros: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter* y algunas especies de *Salmonella*, sin embargo, *Escherichia*, *Shigella*, *Salmonella typhi* y

*Salmonella paratyphi* son incapaces de crecer con esos nutrientes. Se cultiva el microorganismo en agar citrato de Simmons (Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 2016).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Preanálisis de Muestras

Para la determinación de Mastitis subclínica se realizó un muestreo para tamizar los casos positivos tomando una muestra de bidón bajo los protocolos LCL 001 (Laboratorio de calidad de Leche de la Universidad Politécnica Salesiana) y INT/CL/010 de Agrocalidad de distintos socios de los centros de acopio; primero se realizó la prueba de CMT, luego se analizó el conteo de células en el equipo FOSSOMATIC 7DC, determinando de esta manera CCSD. Las muestras fueron tomadas según el horario de recepción de leche de cada centro de acopio.

#### 3.2 Ubicación de las áreas de estudio

Luego del tamizaje se determinó los casos que presentan problemas de mastitis. La investigación se desarrolló en 26 unidades productivas de la Sierra Norte del Ecuador, agrupadas por pequeños - medianos productores y fincas ganaderas (Tabla 2).

**Tabla 2**

*Distribución de fincas analizadas por zona de la Sierra Norte del Ecuador*

	<b>Zona</b>	<b>Número de fincas</b>	<b>Número de bovinos</b>
<b>Pequeños y medianos productores</b>	Pichincha - San Pedro	4	17
	Pichincha - Cariacu	6	29
	Pichincha - Pulisa	6	35
<b>Fincas ganaderas</b>	Imbabura - Urcuquí	3	123
	Pichincha - Machachi	3	81
	Pichincha - Calacalí	4	80

Elaborado: (Las Autoras, 2022)

### FASE DE CAMPO

#### 3.3 Prueba de Campo

Previo a la toma de muestras se realizó la prueba de campo California Mastitis Test (CMT), para lo cual, se realizó un despunte donde se descartaron los dos primeros chorros de leche de los cuatro cuartos (Flores et al., 2020), posteriormente se recolectó 2 mL de leche por cada

cuarto en una paleta de CMT, se colocó 2 mL de reactivo CMT (proporcional a la cantidad de leche en los pocillos de la paleta) se homogenizó la mezcla con movimientos circulares durante 10 segundos (Home Care, C.A, 2019), finalmente se hizo la lectura de la graduación en base a la interpretación de la Tabla 1.

### **3.4 Toma de muestras**

Se realizó una segunda toma de muestras por vaca (Anexo 2). Este proceso se ejecutó según el protocolo establecido en el instructivo INT/CL/010 de Agrocalidad (Flores et al., 2020); con la desinfección adecuada para las ubres y se procedió a la toma de 2 muestras por cada bovino.

## **FASE DE LABORATORIO**

### **3.5 Análisis de CCS y CCSD**

Las muestras fueron llevadas al análisis del conteo de células somáticas (CCS) en conjunto con el conteo de células somáticas diferenciales (CCSD) por citometría de flujo en el equipo FOSSOMATIC 7DC (Anexo 3) en el laboratorio acreditado de Calidad de Leche de la UPS, según la ficha técnica del equipo descrita por Schwarz, (2017) para leche cruda bovina, se seleccionaron como positivas aquellas que superaron los 200.000 (células/mL) que nos indica la presencia de mastitis subclínica.

### **3.6 Análisis Microbiológico**

#### **3.6.1 Preparación de medios de cultivos**

Los medios de cultivos que se utilizaron fueron los CHROMagar™ Mastitis (GP) y CHROMagar™ Mastitis (GN) cuyo objetivo es el aislamiento y diferenciación de los principales patógenos gram (+) y gram (-) involucrados en infecciones de Mastitis.

Para la preparación de medio GP (Anexo 4) y GN (Anexo 5) se lo realizó según su manual en condiciones específicas según se muestra la Tabla 3.

**Tabla 3***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)

### 3.6.2 Identificación de agentes etiológicos causantes de la enfermedad

Las muestras de leche cruda se sembraron en medios específicos para mastitis, en la cámara de flujo con la técnica de hisopado simple en cajas bipetri. Posteriormente, se colocó los cultivos microbiológicos en una incubadora a condiciones óptimas para el crecimiento bacteriano (37°C) durante 24 horas, según lo establecido por la casa comercial CHROMagar, (2015).

Para los microorganismos que no fueron identificados correctamente mediante coloración en CHROMagar (Anexo 6 y 7) se realizó un aislamiento en medios selectivos con la ayuda del asa de siembra estéril desarrollando un estriado compuesto (Anexo 8), se consideró un tiempo de espera de 24 horas a una temperatura adecuada (37°C) (Cervantes et al., 2014), en donde se procedió a la identificación de cepas causantes de la enfermedad.

Se realizó la tinción Gram de las bacterias aisladas la cual, ayuda a diferenciar su morfología (Anexo 9).

Las pruebas bioquímicas de coagulasa y catalasa realizadas en placa permitieron dividir a estos aislados en *Staphylococcus* y *Streptococcus*, así como también la prueba del citrato confirma el crecimiento de *Klebsiella*.

Para estas pruebas bioquímicas se siguió los siguientes protocolos según Fernández et al., (2010):

- **Prueba de Catalasa:** Se colocó una colonia en un portaobjetos, después se añadió una gota del reactivo (solución de peróxido de hidrógeno al 30%) y finalmente se realizó la lectura durante 10-20 segundos. Para su interpretación de resultados si son positivos se formarán burbujas, pero si son negativos no habrá formación de burbujas o es de muy escasa producción tras 20 segundos (Anexo 10).
- **Prueba de Coagulasa:** Se colocó una gota de agua destilada sobre un portaobjetos, después se mezcló la colonia en la gota de agua y se agregó una gota de plasma reconstituido; se homogenizó con el asa y se inclinó el portaobjetos de un lado hacia el otro, observando la formación inmediata de un precipitado. Si es positivo habrá aglutinación visible en 10 segundos, y si es negativo no habrá aglutinación visible en 10 segundos (Anexo 11).
- **Prueba de Citrato:** Se sembró con un asa en la superficie del medio agar citrato Simmons y se incubó a 37 °C durante 24-48 horas. Si existe presencia de *Klebsiella* el medio se tonará de color azul y si permanece de color verde el medio no habrá crecimiento de la bacteria (Anexo 12).

### 3.7 Análisis estadístico

Para el desarrollo de la investigación se recolectó los siguientes datos por muestra: Grado de CMT, CCS, CCDS e identificación de microorganismo. Posteriormente, se ordenaron para su procesamiento y análisis según la zona en donde se recolectó la muestra, se los cuantificó mediante estadística descriptiva (medidas de tendencia central), representando los resultados en gráficos bidimensionales realizados en el programa estadístico Infostat y tablas donde se visualiza el parámetro que se evaluó (el número de muestra y su porcentaje); finalmente los datos fueron analizados mediante los softwares de Microsoft Excel y SPSS un programa estadístico para una evaluación correcta de ANOVA.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1 Grado de mastitis bovina según la prueba de CMT

#### 4.1.1 Pequeños y medianos productores de centros de acopio

La tabla 4, contempla que la mayoría de los casos están dentro del parámetro Negativo (-) 0-200.000 células/mL, según Miranda et al., (2019) el 50% de las muestras analizadas son negativas para la prueba de CMT, concordando con este estudio; mientras que, aproximadamente un medio de las muestras presenta mastitis subclínica, la cual engloba a los grados, de trazas (T) 200.000-400.000 células/mL, Grado 1 (+) 400.000-1.200.000 células/mL y Grado 2 (++) 1.200.000 a 5.000.000 células/mL (Anexo 13)., como lo señala Damm, et al., (2017), aunque, para este estudio se considerara al grado de trazas desde 150.000 células/mL tal como afirman Bayona & Echeverry, (2017); por último, se ha evidenciado que existe un bajo porcentaje de casos clínicos Grado 3 (+++) >5.000.000 células/mL (Espinosa & Mier, 2013).

**Tabla 4**

*Frecuencia del grado de mastitis bovina en los pequeños y medianos productores de centros de acopio*

Parámetro		Muestras	Porcentaje %
CCS (cel/mL × 10 <sup>3</sup> )	Grado de CMT		
0-200	Negativo (-)	35	47,30
200-400	Trazas (T)	18	24,32
400-1200	Grado 1 (+)	15	20,27
1200-5000	Grado 2 (++)	4	5,41
>5000	Grado 3 (+++)	2	2,70

Elaborado por: Las Autoras (2022)

## 4.1.2 Fincas ganaderas

### 4.1.2.1 Imbabura- Urcuquí

De las 123 muestras de leche analizadas mediante la prueba del CMT en campo, se evidenció que aproximadamente un medio de los bovinos tiene una infección subclínica de mastitis, considerando a las trazas (T) 200.000-400.000 células/mL, el grado 1 (+) 400.000-1.200.000 células/mL y grado 2 (++) 1.200.000 a 5.000.000 células/mL el cual, abarca a un cuarto de los casos señalados como mastíticos- crónicos (Bobbo et al., 2020); por otra parte, un porcentaje elevado de casos de esta zona, tienen un resultado negativo (-) 0-200.000 células/mL (Tabla 5), como lo afirma Jácome, (2022) en su investigación realizada en Imbabura; además se puede observar que algunos bovinos presentan mastitis crónica de grado 3 (+++) >5.000.000 células/mL (Damm, et al., 2017).

**Tabla 5**

*Frecuencia del grado de mastitis bovina en fincas ganaderas (Imbabura – Urcuquí)*

<b>Parámetro</b>		<b>Muestras</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>CCS</b> (cel/mL × 10 <sup>3</sup> )	<b>Grado de CMT</b>		
0-200	Negativo (-)	52	42,28
200-400	Trazas (T)	16	13,01
400-1200	Grado 1 (+)	25	20,33
1200-5000	Grado 2 (++)	19	15,45
>5000	Grado 3 (+++)	11	8,94

Elaborado por: Las Autoras (2022)

### 4.1.2.2 Pichincha- Machachi

En la tabla 6, se puede observar que más de tres cuartos de los casos son positivos para mastitis, incluyendo trazas (T) 200.000-400.000 células/mL, Grado 1 (+) 400.000-1.200.000 células/mL, Grado 2 (++) 1.200.000 a 5.000.000 células/mL y un pequeño porcentaje de bovinos presentan mastitis crónica de grado 3 (+++) >5.000.000 células/mL (Anexo 14), estos

datos pueden ser comparados con la investigación realizada por Avellán et al., (2019), en Imbabura y Pichincha, donde el porcentaje de bovinos enfermos es del 74,41%, de la misma forma podemos observar que en la Amazonía ecuatoriana se reporta el 79,66% de casos positivos mediante la prueba de CMT (Espinosa & Mier, 2013); por lo tanto, menos de un cuarto de los casos analizados en este estudio se reportaron como negativos (-) 0-200.000 células/mL (Anexo 15), es decir que los animales están sanos (Bobbo et al., 2020).

**Tabla 6**

*Frecuencia del grado de mastitis bovina en fincas ganaderas (Pichincha - Machachi)*

<b>Parámetro</b>		<b>Muestras</b>	<b>Porcentaje %</b>
<b>CCS</b> (cel/mL × 10 <sup>3</sup> )	<b>Grado de CMT</b>		
0-200	Negativo (-)	17	21,25
200-400	Trazas (T)	22	27,50
400-1200	Grado 1 (+)	21	26,25
1200-5000	Grado 2 (++)	16	20,00
>5000	Grado 3 (+++)	4	5,00

Elaborado por: (Las Autoras, 2022)

#### **4.1.2.3 Pichincha - Calacalí**

En la tabla 7, se logra visualizar que más de la mitad de los casos evaluados en esta zona poseen una mastitis subclínica y clínica dependiendo del grado en el que se encuentren el animal (Miranda et al., 2019), mientras que los casos negativos (-) 0 - 200.000 células/mL, se encontraron en un menor porcentaje, según Domínguez, (2018), en el Noroccidente de Pichincha- Calacalí el porcentaje de bovinos sanos es del 50%, sin embargo, estos porcentajes pueden variar dependiendo de las estaciones (clima), del sistema de ordeño, entre otros factores

(Aguilar & Álvear, 2019), infiriendo de esta manera que la comparación de estos estudios tiene una buena relación.

**Tabla 7**

*Frecuencia del grado de mastitis bovina en fincas ganaderas (Pichincha - Calacalí)*

<b>Parámetro</b>		<b>Muestras</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>CCS</b> (cel/mL × 10 <sup>3</sup> )	<b>Grado de CMT</b>		<b>%</b>
0-200	Negativo (-)	36	44,44
200-400	Trazas (S)	17	20,99
400-1200	Grado 1 (+)	20	24,69
1200-5000	Grado 2 (++)	7	8,64
>5000	Grado 3 (+++)	1	1,23

Elaborado por: (Las Autoras, 2022)

## 4.2 Contaje de células somáticas diferenciales (CCDS)

### 4.2.1 Pequeños y medianos productores de centros de acopio

La agrupación de los casos (Anexo 16) en los cuatro cuadrantes se resume en la tabla 8, siguiendo las especificaciones de Damm, et al., (2017), observando mayor proporción de casos en el cuadrante C (> 65 - >200.000 células/mL) como se puede evidenciar en la figura 1, con un porcentaje elevado de polimorfonucleares (PMN) según Bobbo et al., (2020) la infección es de una mastitis subclínica; seguido de una proporción significativa de casos ubicados en el cuadrante A (<65 - < 200.000 células/mL) indicando bovinos sanos debido a los conteos bajos de CCS y CCSD (Schwarz, 2017); por otro lado, menos de un cuarto de casos están en el cuadrante B (>65 - < 200.000 células/mL) según los análisis de Damm, et al., (2017), por lo que, se deduce que el bovino posee una infección gracias al CCSD elevado, aunque, su CCS sea menor o igual a 200.000 células/mL, corroborando los resultados de esta investigación; en el cuadrante D (< 65 - >200.000 células/mL) se obtiene pocos casos como se observa en la figura 1, explicado en la investigación realizada por Halasa & Kirkeby, (2020) en donde se dice

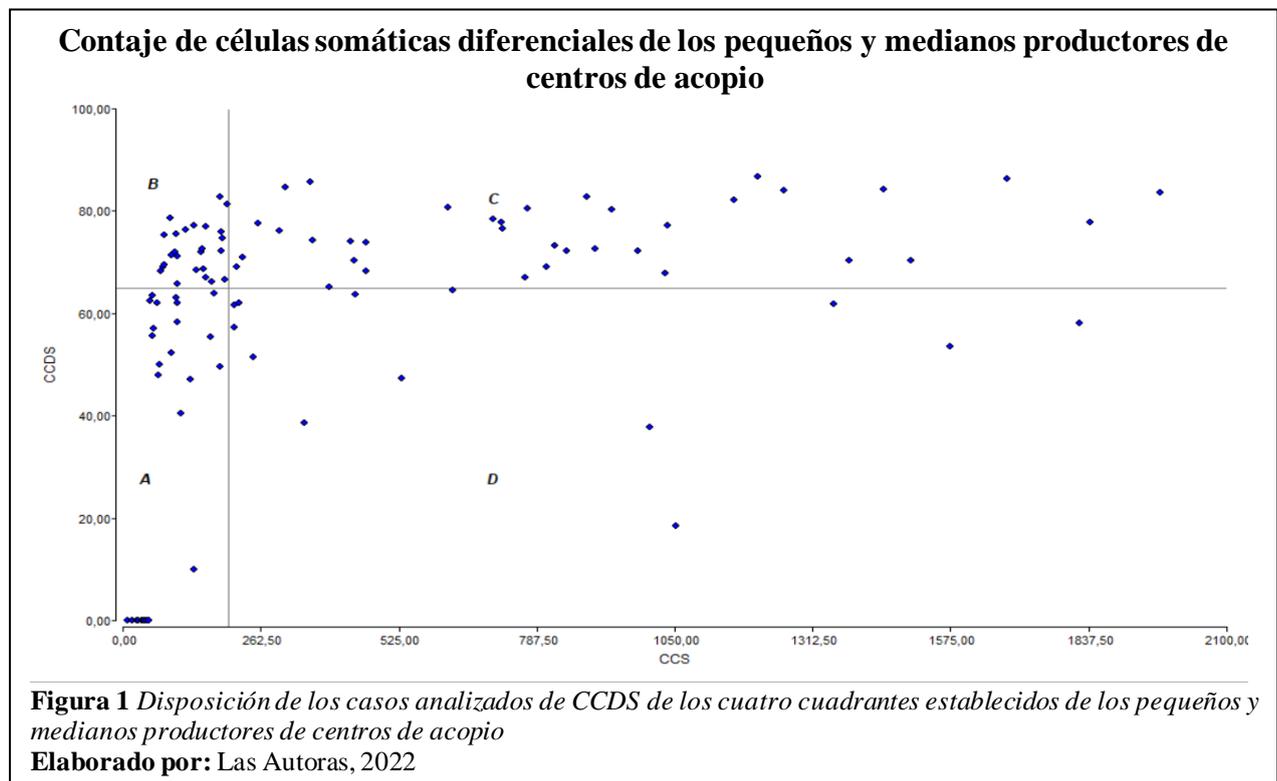
que los bovinos ubicados dentro de este rango se encuentran con un proceso de inflamación en curso.

**Tabla 8**

*Frecuencia de CCSD de los pequeños y medianos productores de centros de acopio*

Cuadrante	Rango PMN	N	Porcentaje %
A	<65 - < 200.000	28	34,57
B	>65 - < 200.000	14	17,28
C	> 65 - >200.000	33	40,74
D	< 65 - >200.000	6	7,41

Elaborado por: Las Autoras, 2022



Los resultados del análisis de varianza que se visualiza en la tabla 9, determinó un p-valor <0,05, concluyendo que, la hipótesis nula (Ho) es inverosímil Ochoa et al., (2020), aceptando la hipótesis alternativa (Ha), mediante lo cual podemos afirmar que existe correlación entre las CCS y CCSD; corroborando con los datos del análisis estadístico de regresión para pequeños

productores, revelando que existe una correlación débil, basándose en la escala de rangos de Hernández et al., (2018).

**Tabla 9**

*Análisis de varianza del CCDS de los pequeños y medianos productores de centros de acopio*

<b>Estadística de regresión</b>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,22
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,05
<b>Análisis de varianza</b>	
GL regresión	1
GL residuos	92
P-valor	<u>0,0380</u>

Elaborado por: Las Autoras, 2022

#### **4.2.2 Fincas ganaderas**

##### **4.2.2.1 Imbabura- Urcuquí**

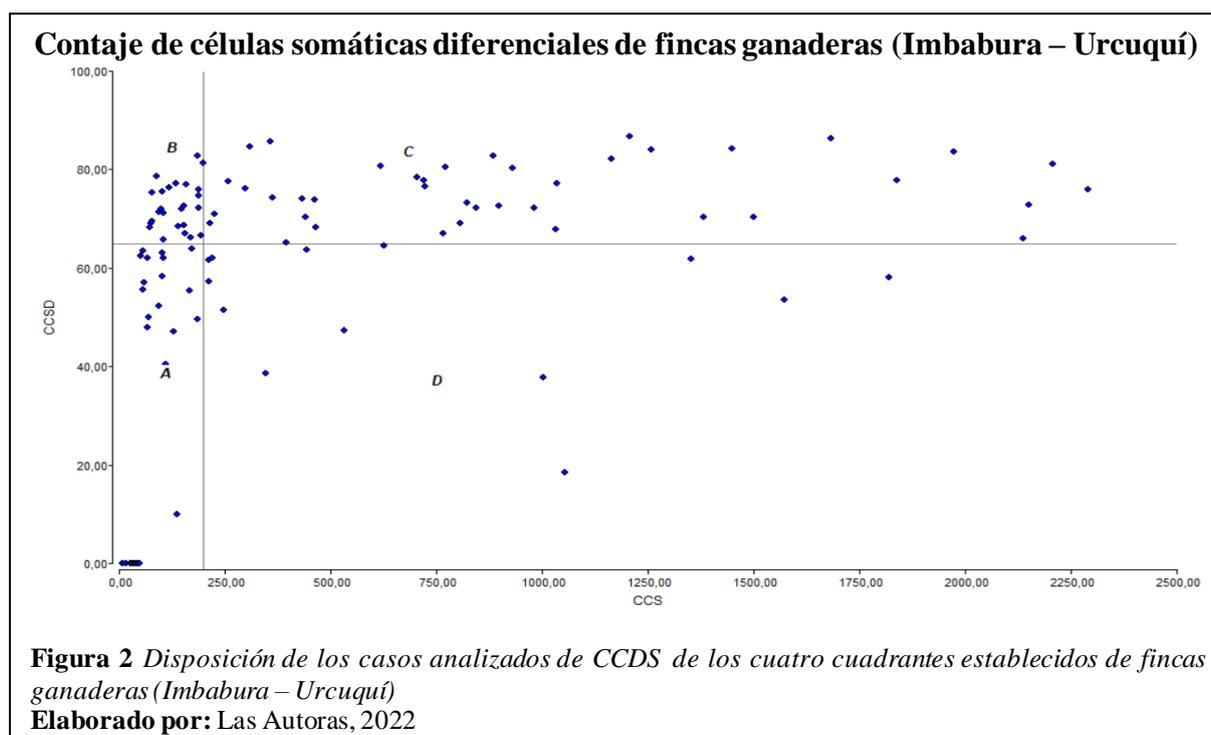
En la tabla 10, se resume la agrupación de los casos en sus respectivos cuadrantes (Damm, et al., 2017), se puede observar en la figura 2 que la mayor parte de los casos se encuentran en el cuadrante C (> 65 - >200.000 células/mL), catalogado por Bobbo et al., (2020) como vacas mastíticas; por otro lado, el cuadrante A (<65 - < 200.000 células/mL) perteneciente a las vacas sanas (Stocco et al., 2020), tienen un porcentaje elevado de casos; seguido por el cuadrante B (>65 - < 200.000 células/mL) estos animales tienen una mastitis subclínica debido a sus PMN elevados (Zecconi et al., 2019), caracterizados como sensibles ya que están en un rango menor a 200.000 células/mL (Bobbo et al., 2020); por último, una cantidad baja de casos se encuentran el cuadrante D (< 65 - >200.000 células/mL), considerados en algunos de los casos como infección crónica de mastitis (Damm, et al., 2017; Bobbo et al., 2020).

**Tabla 10**

*Frecuencia de CCSD de fincas ganaderas (Imbabura - Urcuquí)*

Cuadrante	Rango	N	Porcentaje %
A	<65 - < 200.000	30	24,59
B	>65 - < 200.000	25	20,49
C	> 65 - >200.000	52	42,62
D	< 65 - >200.000	15	12,30

Elaborado por: Las Autoras, 2022



Mediante el análisis de varianza realizado en Microsoft Excel y comprobado en el programa estadístico SPSS (Anexo 17) se estableció un p- valor < 0,05 afirmando una correlación entre la variable independiente (CCS) y la variable dependiente (CCSD), aceptando de esta manera la hipótesis alternativa (Ha); confirmando con los datos del análisis estadístico de regresión para la zona Norte, revelando que existe una correlación débil en la escala de rangos de (Hernández et al., 2018), sin llegar a ser una relación considerable.

**Tabla 11***Análisis de varianza del CCDS de fincas ganaderas (Imbabura - Urcuquí)*

<b>Estadística de regresión</b>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,15
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,02
<b>Análisis de varianza</b>	
GL regresión	1
GL residuos	119
P-valor	0,001

Elaborado por: Las Autoras, 2022

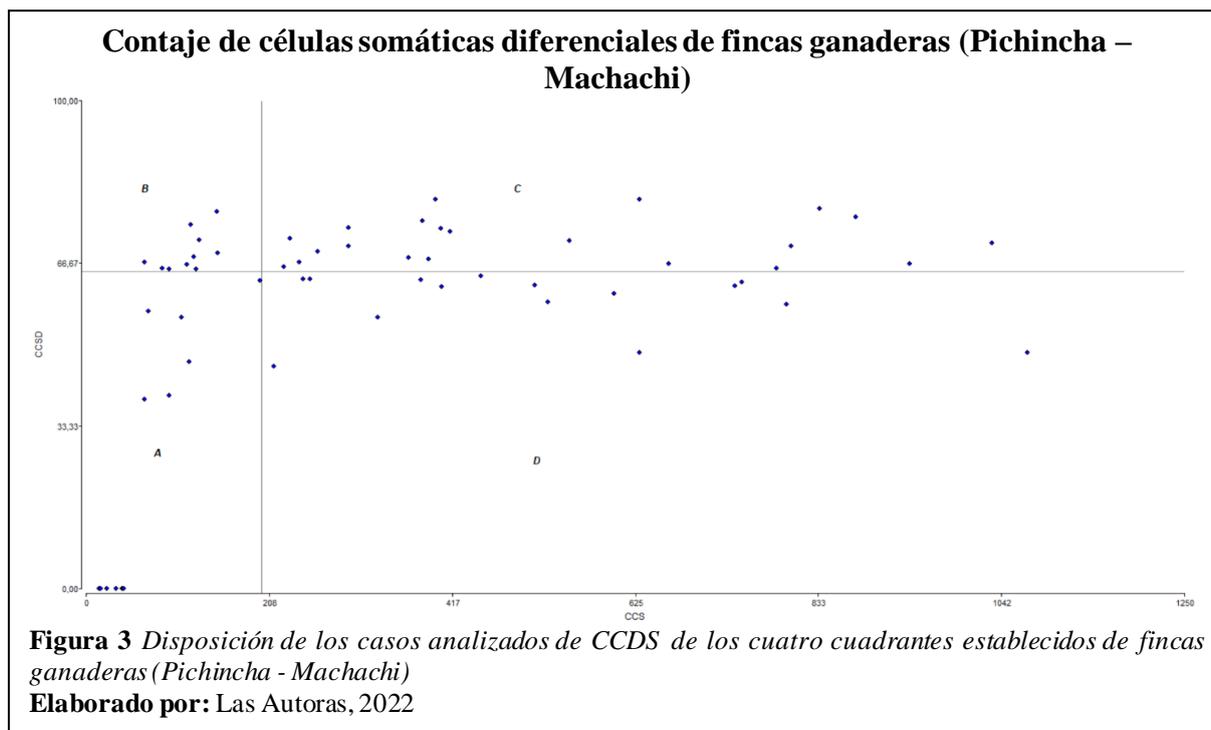
**4.2.2.2 Pichincha- Machachi**

La agrupación de los casos por cuadrantes se puede observar en la figura 3, explicado en la tabla 12; donde se observa que, cerca de un medio de los casos se encuentran en el cuadrante C (> 65 - >200.000 células/mL), clasificadas como vacas mastíticas (Bobbo et al., 2020); con una diferencia significativa le siguen los casos ubicados en los cuadrantes A (<65 - < 200.000 células/mL) y B (>65 - < 200.000 células/mL), categorizados como bovinos sanos y sensibles respectivamente, debido a que no sobrepasan las 200.000 células/mL (Uribe, 2016); por otro lado, menos de un cuarto de casos analizados están ubicados en el cuadrante D (< 65 - >200.000 células/mL), indicando que, aunque tenga un bajo porcentaje de PMN, existe un alto conteo de células somáticas (Zecconi et al., 2019), identificándose como vacas con infección crónica (Hernández & Bedolla, 2008).

**Tabla 12***Frecuencia de CCSD de fincas ganaderas (Pichincha - Machachi)*

Cuadrante	Rango	N	Porcentaje %
A	<65 - < 200.000	13	16,25
B	>65 - < 200.000	11	13,75
C	> 65 - >200.000	38	47,50
D	< 65 - >200.000	18	22,50

Elaborado por: Las Autoras, 2022



Para la zona sur de Pichincha el análisis de varianza refleja un p-valor < 0,05, por ende, se acepta la hipótesis alternativa afirmando que existe correlación entre la variable independiente (CCS) y la variable dependiente (CCSD), donde los datos de esta zona estudiada poseen una correlación moderada según lo propuesto por (Hernández et al., 2018).

**Tabla 13**

*Análisis de varianza del CCSD de fincas ganaderas (Pichincha - Machachi)*

<b>Estadística de regresión</b>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,34
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,11
<b>Análisis de varianza</b>	
GL regresión	1
GL residuos	78
P-valor	<u>0,004</u>

Elaborado por: Las Autoras, 2022

### 4.2.2.3 Pichincha- Calacalí

Para la zona del noroccidente los casos agrupados por cuadrantes se observan en la figura 4 y en la tabla 13, en donde el cuadrante A (<65 - < 200.000 células/mL) y C (> 65 - >200.000 células/mL), se llevan los porcentajes mayores, pero son considerados diferentes según Halasa & Kirkeby, (2020) las vacas del cuadrante C producen menos leche que las vacas del cuadrante A, corroborando que se encuentran en la etapa de la enfermedad elevada (Schwarz et al., 2020); mientras que en el cuadrante A los bovinos se le asigna como sanos y con mayor productividad de leche (Bobbo et al., 2020); para el cuadrante B (> 65 - < 200.000 células/ mL) posee un porcentaje por lo bajo de las 200.000 células/mL (Schwarz et al., 2020) y por último, en el cuadrante D (< 65 - >200.000 células/mL) existe un alto conteo de células somáticas (Zanini, 2020), pero un bajo porcentaje de PMN en donde existe una posible infección crónica.

**Tabla 14**

*Frecuencia de CCSD de los medianos productores (Pichincha - Calacalí)*

Cuadrante	Rango	N	Porcentaje %
A	<65 - < 200.000	32	39,51
B	>65 - < 200.000	9	11,11
C	> 65 - >200.000	31	38,27
D	< 65 - >200.000	9	11,11

Elaborado por: Las Autoras, 2022

**Contaje de células somáticas diferenciales de fincas ganaderas (Pichincha – Calacalí)**

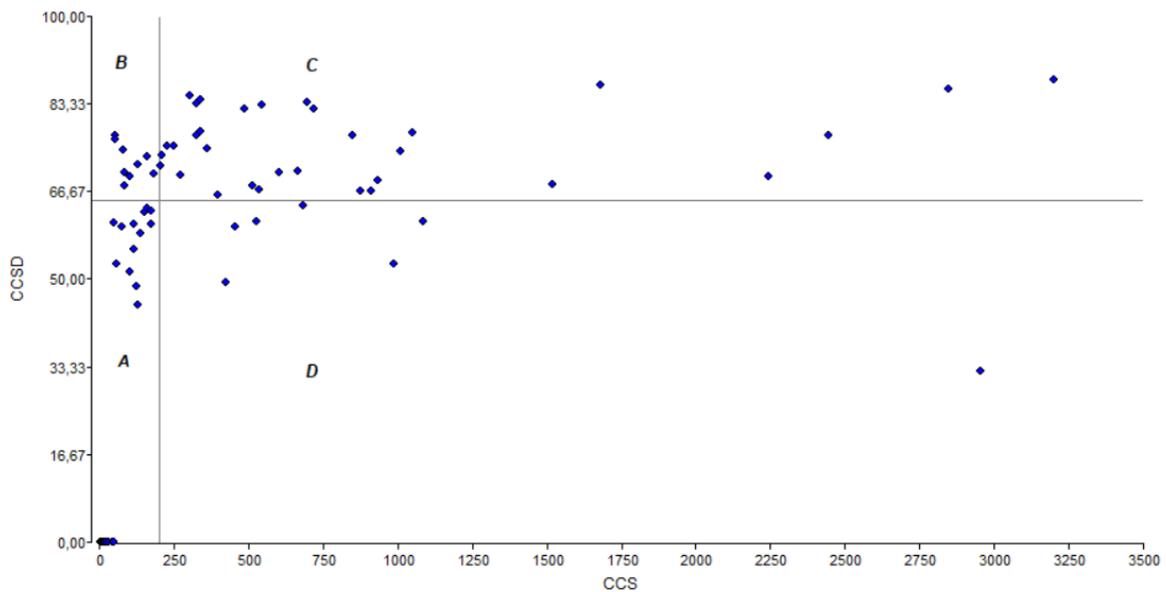


Figura 4 Disposición de los casos analizados de CCDS de los cuatro cuadrantes establecidos de fincas ganaderas (Pichincha – Calacalí)

Elaborado por: Las Autoras, 2022

Los resultados que arroja el análisis estadístico de regresión se observan en la tabla 15, donde se afirma que existe una correlación débil, sin embargo, se confirma que existe una dependencia entre las dos variables analizadas en el estudio (Hernández et al., 2018); comprobando con el análisis de variancia, el cual determino un p-valor <0,05, por lo cual se acepta la hipótesis alternativa (Ha) (García et al., 2019).

**Tabla 15**

*Análisis de varianza del CCDS de fincas ganaderas (Pichincha – Calacalí)*

<b>Estadística de regresión</b>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,29
Coefficiente de determinación R <sup>2</sup>	0,09
<b>Análisis de varianza</b>	
GL regresión	1
GL residuos	79
P-valor	<u>0,007</u>

Elaborado por: Las Autoras, 2022

### **4.3 Relación de vacas enfermas por cada finca**

#### **4.3.1 Relación en pequeños y medianos productores de centros de acopio**

En la tabla 16, podemos observar que se analizó CCS y CCSD por bidón y el porcentaje de vacas enfermas de 16 fincas comparando estos tres datos; en donde tres fincas tienen a todos sus bovinos en un grado de mastitis subclínica: grado 1 (+) de 400.000-1.200.000 células/mL, grado 2 (++) de 1.200.000 a 5.000.00 células/mL puesto que, el porcentaje es elevado de PMN según Bobbo et al., (2020), mientras que, cuatro fincas tienen más de la mitad de sus bovinos en algún grado de mastitis: trazas (T) de 200.000-400.000 células/mL, grado 1 (+) de 400.000-1.200.000 células/mL, grado 2 (++) de 1.200.000 a 5.000.000 células/mL y grado 3 (+++) de >5.000.000 células/mL (Cuéllar, 2020), esto se debe a los distintos factores que influyen en la enfermedad tales como la edad, número de partos y tiempo de lactancia (Aguilar & Álvarez, 2019) con respecto a las fincas que tienen la mitad de su ganado enfermo poseen un elevado CCS al igual que CCDS como lo relaciona Damm, et al., (2017), finalmente con las fincas que tienen menos de un cuarto de sus vacas enfermas coinciden en el grado 1 (+) de 400.000-1.200.000 células/mL indicando que se encuentran con un porcentaje de CCDS elevado según lo afirmado por Zecconi et al., (2019).

**Tabla 16**

*Relación de Vacas enfermas por bidón en pequeños y medianos productores de centros de acopio*

Código Finca	# Vacas	CCS por	CCSD Bidón		# Vacas enfermas	% de Vacas enfermas
		Bidón (cel/mL × 10 <sup>3</sup> )	%PMN	% Macrófagos		
1	5	826	80,6	19,4	2	40,0
2	7	804	79,3	20,7	6	85,7
3	3	810	89,8	10,2	3	100,0
4	5	463	84,1	15,9	2	40,0
5	7	296	75,10	24,90	5	71,4
6	5	411	81,40	18,60	4	80,0
7	1	6'890	90,20	9,80	1	100,0
8	6	403	79,80	20,20	2	33,3
9	4	991	83,90	16,10	2	50,0
10	6	1'298	82,30	17,70	5	83,3
11	2	1'654	90,5	9,5	2	100,0
12	11	632	83,5	16,5	3	27,3
13	6	1'619	91,5	8,5	3	50,0
14	6	693	86,5	13,5	4	66,7
15	7	2'483	89,9	10,1	4	57,1
16	3	855	90,9	9,1	1	33,3

Elaborado por: Las Autoras, 2022

#### 4.3.2 Relación en Fincas ganaderas

Se realiza una compilación de datos en la tabla 17, para desarrollar un análisis comparativo del CCS y CCSD en bidón, con el porcentaje de bovinos enfermos que se obtiene en cada finca ganadera, tomando en cuenta al grado de trazas (T) 200.000-400.000 células/mL como una infección sensible (Bobbo et al., 2020); se los divide por sectores ya que el factor climático juega un papel importante en esta enfermedad (Aguilar & Álvear, 2019). En la zona norte se puede verificar que en dos fincas más de la mitad de bovinos tienen algún grado de mastitis (T) 200.000-400.000 células/mL, grado 1 (+) 400.000 - 1.200.000 células/mL, grado 2 (++) 1.200.000 a 5.000.000 células/mL y grado 3 (+++) > 5.000.000 células/mL (Damm, et al., 2017), mientras que la primera finca muestra un grado elevado de infecciones debido a que

todos los animales están enfermos, convirtiéndose en prioridad principal, la enfermedad está relacionada con el porcentaje de PMN en bidón, ya que, mantiene una proporción elevada superando el punto de corte establecido (Bobbo et al., 2020); de igual manera en el sector sur de Pichincha (Machachi), se ven reflejados resultados elevados en el porcentaje de vacas enfermas, relacionados con las CCS y CCSD esto gracias a que superan el cut-off en los dos ejes (Schwarz, 2017); sin embargo, la Zona de Calacalí se consideran vacas mastíticas, aunque el CCS en comparación con las otras dos zonas establecidas es inferior y el porcentaje de CCSD es elevado determinando bovinos enfermos (Zecconi et al., 2019).

**Tabla 17**

*Relación de Vacas enfermas por bidón en fincas ganaderas*

Zona	Código Finca	# Vacas	CCS por Bidón (cel/mL × 10 <sup>3</sup> )	CCSD Bidón		# Vacas enfermas	% de Vacas enfermas
				%PMN	% Macrófagos		
Imbabura- Urcuqui	N-1	11	1'214	81,4	18,6	11	100
	N-2	101	1'134	79	21	75	74,3
	N-3	11	807	83,4	16,6	7	63,6
Pichincha- Machachi	S-1	47	962	76	24	38	80,9
	S-2	11	648	76,6	23,4	9	81,8
	S-3	23	1'032	78	22	17	73,9
Pichincha- Calacalí	NO-1	25	973	85,6	14,4	16	64
	NO-2	21	657	80	20	14	66,7
	NO-3	12	515	75,2	24,8	6	50
	NO-4	23	280	74,3	25,7	14	60,9

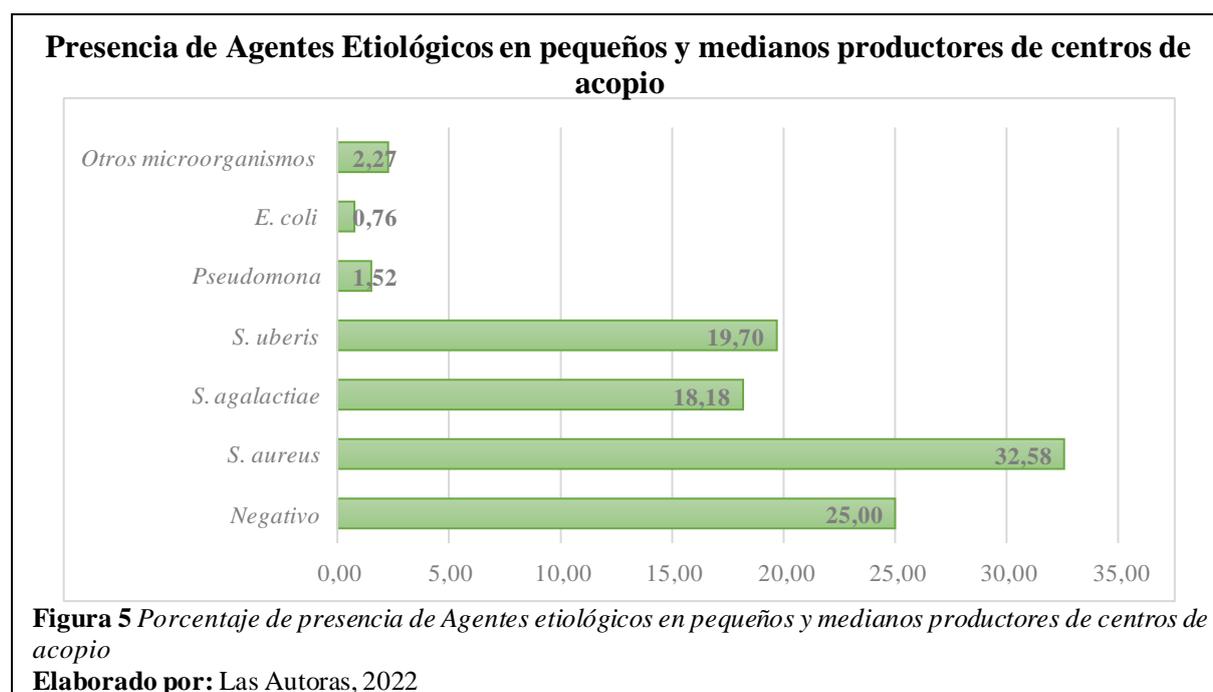
Elaborado por: Las Autoras, 2022

#### 4.4 Análisis de presencia de agentes etiológicos

##### 4.4.1 Pequeños y medianos productores

Con una siembra total de 81 muestras en los medios cromogénicos GP y GN para bacterias gram positivas y gram negativas respectivamente (Granja et al., 2021), se identificó cuatro

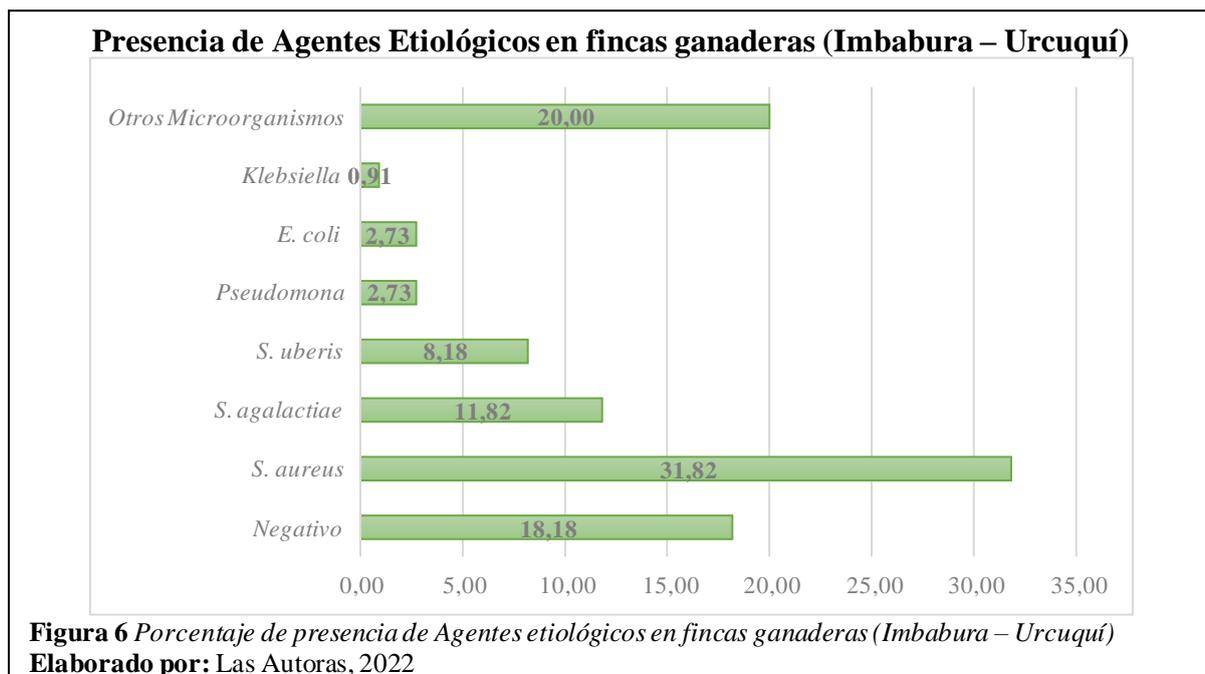
especies de microorganismos gram positivos (Anexo 18) y dos especies de microorganismos gram negativos; donde se encontró que la bacteria con mayor predominancia en estos sectores es *Staphylococcus aureus*, así como lo afirma Farinango, (2015) en el estudio realizado en la zona norte de la provincia de Pichincha, cabe recalcar que se puede encontrar más de un agente etiológico en cada caso analizado; también se observa en la figura 5 que hay casos en donde no existe crecimiento bacteriano, mismos que corresponden al cuadrante A (Damm, et al., 2017); por otro lado, el género *Streptococcus* tiene un gran impacto en la mastitis, ya que, aproximadamente en un medio de los casos con infección tienen como responsables a *Streptococcus uberis* y *Streptococcus agalactiae*, según Ramírez et al., (2018) estas 2 especies son típicas de la mastitis bovina; finalmente podemos observar que un pequeño porcentaje de bovinos tienen una infección a causa de microorganismos gram negativos catalogados como especies bacterianas del medio ambiente, como *Escherichia coli* y *Pseudomona sp.* (Aguilar & Álvear, 2019).



## 4.4.2 Fincas ganaderas

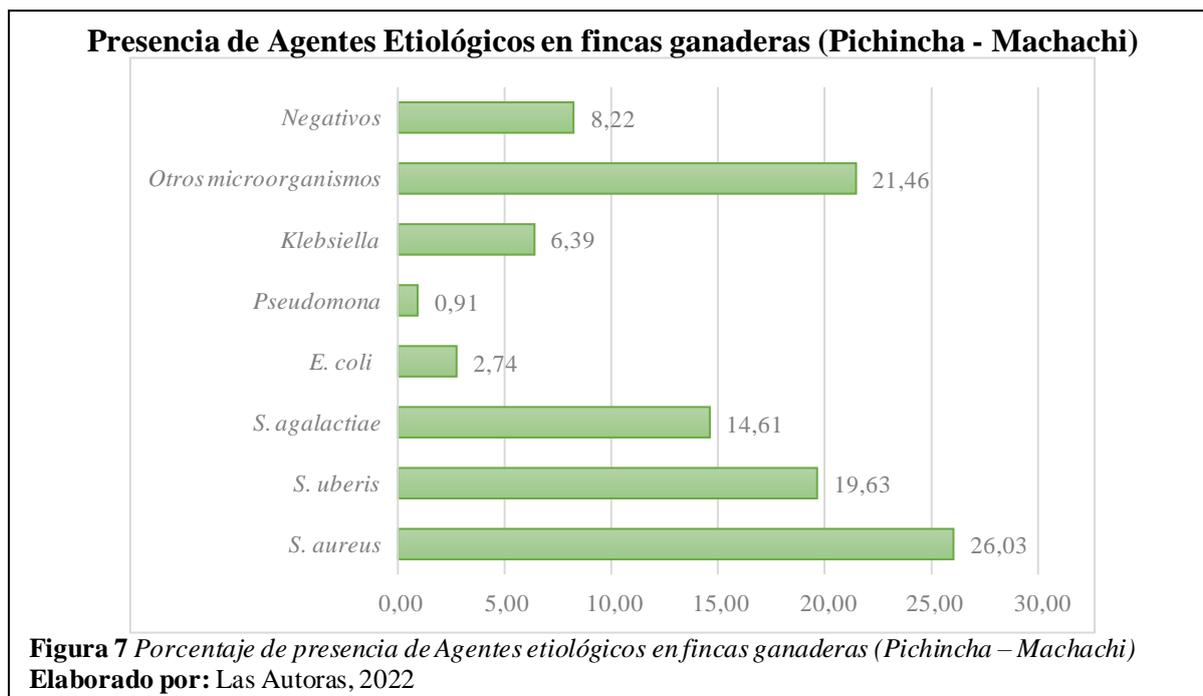
### 4.4.2.1 Imbabura- Urcuquí

De las 123 muestras de leche tomadas en tres fincas de la zona Norte de Imbabura, se pudo determinar con los medios cromogénicos de cuarta generación (Granja et al., 2021) que el microorganismo con mayor predominancia es *Staphylococcus aureus* (Anexo 19) tal como se observa en la figura 6; también la categoría de otros microorganismos tiene un porcentaje elevado de significancia, mismos que, mediante pruebas bioquímicas (Fernández et al., 2011), se identificaron como *Staphylococcus* coagulasa y no coagulasa, según una investigación realizada en Imbabura por Jácome, (2022) se dice que el género de *Staphylococcus* tiene un porcentaje de presencia superior al 50% en esta provincia como se afirma en este estudio; por otro lado, menos de un cuarto de casos se reportaron como negativos, lo cual se corrobora como un porcentaje aceptable en comparación con datos de Espinosa & Mier, (2013); conjuntamente se determinó que *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus uberis* están presentes en menos de un cuarto de los casos analizados (Mendoza et al., 2017; Ferronato et al., 2018); de la misma forma que en la Zona norte de Pichincha, se visualizó que un pequeño porcentaje de los casos de mastitis tienen como responsables a bacterias gram negativas, las cuales son *Klebsiella sp*, *Escherichia coli* y *Pseudomona sp* (Guerrero, 2018).



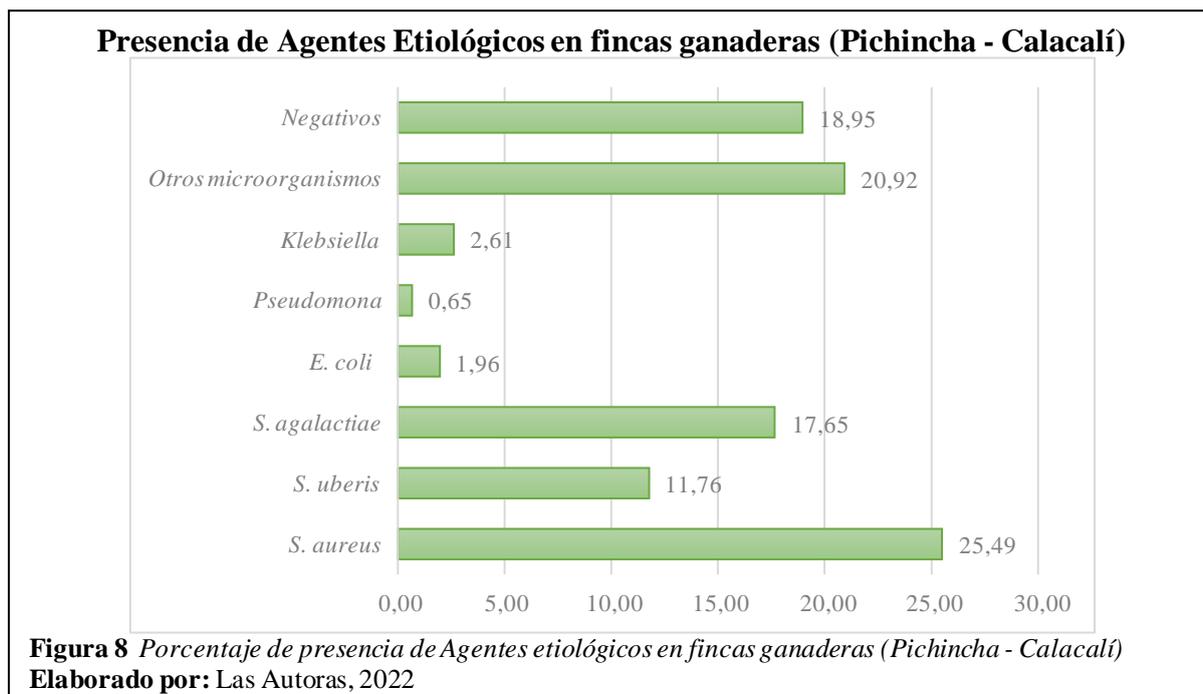
#### 4.4.2.2 Pichincha- Machachi

Se realizó la identificación microbiana a 80 muestras de leche de tres fincas de la zona de Pichincha – Machachi, en donde, se identificó varios microorganismos como se visualiza en la figura 7, siendo *Staphylococcus aureus* el microorganismo con mayor porcentaje de presencia en esta zona (Espinosa & Mier, 2013), seguido de la categoría de otros microorganismos que a través de pruebas bioquímicas realizadas se identificaron como *Staphylococcus* coagulasa y no coagulasa, según Lange et al., (2015) las especies del género *Staphylococcus* se encuentran entre los agentes más frecuentemente aislados de casos de mastitis bovina en todo el mundo; mientras que los *Streptococcus uberis* y *Streptococcus agalactiae* poseen un porcentaje significativo dentro de esta zona, dando a notar que son agentes característicos de la enfermedad (Díaz et al., 2019; Fessia et al., 2018), por otro lado, los casos negativos en esta zona son pocos y finalmente, los microorganismos gram negativos se presentaron en un pequeño porcentaje, destacando a *Klebsiella sp* con un mayor porcentaje que *Escherichia coli* y *Pseudomona sp*, esto se puede confirmar por Sánchez et al., (2018).



#### 4.4.2.3 Pichincha- Calacalí

Dentro de la zona noroccidente de Pichincha se analizó 81 muestras de 4 fincas, en donde, *Staphylococcus aureus* fue uno de los microorganismos con mayor presencia (Vargas et al., 2018), mientras que, la categoría de otros microorganismos es significativa como se observa en la figura 8, por ende, se aislaron y se realizó las pruebas bioquímicas de catalasa y coagulasa según (Fernández et al., 2010) confirmando que son *Staphylococcus* de coagulasa negativa y *Streptococcus* catalasa negativa similares a los datos de (Espinosa & Mier, 2013; Mendoza et al., 2017; Sánchez et al., 2018), seguido de los casos negativos (Anexo 20) que poseen un porcentaje aceptable comprando con los datos de Domínguez, (2018); además de la presencia de *Streptococcus agalactiae* y *Streptococcus uberis* cuyos porcentajes poseen un orden de similitud comparados con los datos de Gonçalves et al., (2018) en donde, se identificaron los mismos microorganismos asegurando que son causantes propios de la enfermedad; y las bacterias gram negativas *Klebsiella*, *Escherichia coli* y *Pseudomona* (Anexo 21) con un porcentaje mínimo indicando que puede haber condiciones deficientes de higiene (Coda, 2019).



#### 4.5 Correlación del grado de mastitis con CCSD y el agente etiológico

##### 4.5.1 Pequeños y medianos productores de centros de acopio

Se asocian todos los resultados que se obtienen de los pequeños productores en la Tabla 18, en donde se resumen la correlación de: CMT, CCS, CCDS y el agente etiológico, basándose los cuadrantes propuestos por Damm, et al., (2017); Schwarz, (2017) y Bobbo et al., (2020); el primer cuadrante (A), pertenece a los animales que no poseen ningún tipo de enfermedad (Schwarz, 2018), de tal manera, que la reacción para el detergente CMT es Negativo (-) (Farinango & Carrillo, 2019) donde se evidencia que tanto el CCS como el porcentaje de PMN son inferiores a los puntos de corte establecidos (Damm, et al., 2017), confirmado por el análisis microbiológico, donde la presencia de bacterias es casi nula; en el cuadrante B se ubican casos con CCS < 200.000 células/mL, sin embargo, investigaciones previas realizadas por Damm et al., (2017), revelan existe reacciones inflamatorias en un rango menor a 100.000 células somáticas, corroborando con los resultados de este estudio, donde se encontraron microorganismos responsables de la mastitis con una abundancia relativa; cambiando de perspectiva, el cuadrante C engloba casos de bovinos mastíticos (Bobbo et al., 2020), sin

embargo, en el cuadrante que más se observó una abundancia de microorganismos es el D debido a que las vacas en este punto se encuentren en un estado crónico (Bobbo et al., 2020).

**Tabla 18**

*Correlación del grado de mastitis con CCS y el agente etiológico en pequeños y medianos productores de centros de acopio*

Cuadrante	CMT	CCS (cel/mL × 10 <sup>3</sup> )	CCSD/ %PMN	Crecimiento Bacteriano
A	Negativo (-)	7-175	0-58,4	<i>S. aureus</i> < 1%
B	Negativo (-) Trazas (T)	10-198	66,3-83,7	<i>S. aureus</i> <i>S. uberis</i> <i>S. agalactiae</i>
C	Trazas (T) Grado 1 (+) Grado 2 (++) Grado 3 (+++)	210-6570	66,4-88,6	<i>S. aureus</i> <i>S. uberis</i> <i>S. agalactiae</i> Otros microorganismos
D	Trazas (T) Grado 1 (+)	261-687	0-63,6	<i>S. aureus</i> <i>S. uberis</i> <i>S. agalactiae</i> <i>Pseudomona</i> <i>E. coli</i> Otros microorganismos

Elaborado por: Las Autoras, 2022

## 4.5.2 Fincas ganaderas

### 4.5.2.1 Imbabura – Urcuquí

En la tabla 19, se contempla los resultados de cada análisis en su respectivo cuadrante correlacionados todos los estudios de forma específica; el cuadrante A refleja resultados negativos para cada una de las pruebas a las que las muestras colectadas en la zona de Imbabura fueron sometidas, coincidiendo con los estándares establecidos por Damm, et al., (2017) en los puntos de corte, afirmando que las vacas con bajo conteo de CCS son saludables (Ballesteros & Valdivieso, 2018); el cuadrante B abarca resultados negativos (-) y trazas (T), debido a que

existe un conteo de CCSD superior al punto de corte (Schwarz, 2018), donde se observa ya una infección por patógenos propios de la mastitis (Shokouhi, 2020), por otro lado, el cuadrante C engloba distintos grados de mastitis (T) 200.000-400.000 células/mL, grado 1 (+) 400.000-1.200.000 células/mL, grado 2 (++) 1.200.000 a 5.000.000 células/mL y grado 3 (+++) >5.000.000 (Miranda et al., 2019), al igual que se evidencia el crecimiento de varios microorganismos unos que son propios de la mastitis y otros productos de la contaminación ambiental (Aguilar & Álvear, 2019); para finalizar se compararon los casos que se han ubicado en el cuadrante D, ya que, tienen un porcentaje CCSD bajo, pese a ello el crecimiento bacteriano se considera un problema serio ya que es permanente, encontrando patógenos catalogados por Kirkeby et al., (2020) de mayor importancia.

**Tabla 19**

Correlación del grado de mastitis bovina con CCSD y el agente etiológico de fincas ganaderas  
(Imbabura – Urcuquí)

Cuadrante	CMT	CCS (cel/mL × 10 <sup>3</sup> )	CCSD/ %PMN	Crecimiento Bacteriano
A	Negativo (-)	8-185	0-63,9	Negativo
B	Negativo (-) Trazas (T)	76-199	65,7-82,8	<i>S. aureus</i> <i>S. uberis</i> <i>Pseudomona</i> <i>Candida</i> <i>Otros</i> <i>microorganismo</i> <i>s</i>
C	Trazas (T) Grado 1 (+) Grado 2 (++) Grado 3 (+++)	216-21069	37,8-87	<i>S. aureus</i> <i>S. uberis</i> <i>S. agalactiae</i> <i>Klebsiella</i> <i>E. coli</i> <i>Otros</i> <i>microorganismos</i>
D	Trazas (T) Grado 1 (+) Grado 2 (++)	212-40999	18,4-64,6	<i>S. aureus</i> <i>S.uberis</i> <i>S. agalactiae</i>

Elaborado por: Las Autoras, 2022

#### 4.5.2.2 Pichincha – Machachi

En relación con los anteriores análisis de la zona de Pichicha - Machachi en la tabla 20, se sintetiza la correlación de los parámetros CMT, CCS, CCDS y el agente etiológico en donde, en el cuadrante A se encuentran las muestras negativas tanto para el grado de CMT y el crecimiento bacteriano según los datos obtenidos, se confirma que los bovinos se encuentran en un estado sano (Aguilar & Álvarez, 2019; Cuéllar, 2020) y afirmando su dependencia con el CCS (0 – 200.000 células/mL) y porcentaje de PMN estableciéndose por debajo de los puntos de corte según lo descrito por Damm, et al., (2017); mientras que en el cuadrante B se evidencia la presencia de algunos microorganismos en donde, se da el inicio de una posible infección de

mastitis subclínica (Sánchez et al., 2018) en relación al grado de CMT (trazas) y el CCS (200.000 – 400.000 células/mL); el cuadrante C tiene una gran significancia puesto que se encuentran los grados trazas (T) 200.000-400.000 células/mL, grado 1 (+) 400.000-1.200.000 células/mL y grado 2 (++) 1.200.000 - 5.000.000 células/mL y grado 3 (+++) >5.000.000 células/mL que indican alguna fase de mastitis subclínica y clínica en que sus valores se hayan dentro del rango de CCS (Cuéllar, 2020) y en el porcentaje de CCSD (Damm, et al., 2017) coincidiendo así, que los microorganismos que se identificaron en este cuadrante si son característicos de esta enfermedad como lo menciona Halasa & Kirkeby, (2020) existe un 60 al 80% que indica un cambio en las poblaciones celulares hacia PMN por parte de estos agentes infecciosos; por último se encuentra el cuadrante D donde señala de igual forma la presencia de microorganismos y dos de los grados: grado 1 (+) 400.000-1.200.000 células/mL y grado 2 (++) 1.200.000 - 5.000.000 células/mL que indican la enfermedad pero, con la diferencia que el porcentaje de PMN es bajo de lo que se cataloga una infección alta de la enfermedad es decir, se encuentra en un estado inflamatorio (Halasa & Kirkeby, 2020; Schwarz, 2017)

**Tabla 20**

*Correlación del grado de mastitis con CCSD y el agente etiológico de fincas ganaderas (Pichincha, Machachi)*

Cuadrante	CMT	CCS (cel/mL × 10 <sup>3</sup> )	CCSD/ % PMN	Crecimiento Bacteriano
A	Negativo (-)	15-198	0-63,6	<i>Negativo</i>
B	Trazas (T)	67-150	67,8-77,4	<i>S. aureus</i> <i>S. uberis</i> <i>S. agalactiae</i> <i>Klebsiella</i> <i>E. coli</i> <i>Otros</i> <i>microorganismos</i>
C	Trazas (T) Grado 1 (+) Grado 2 (++) Grado 3 (+++)	225-11708	66,1-88	<i>S. aureus</i> <i>S.uberis</i> <i>S. agalactiae</i> <i>Klebsiella</i> <i>E. coli</i> <i>Pseudomona</i> <i>Otros</i> <i>Microorganismos</i>
D	Grado 1 (+) Grado 2 (++)	214-2572	32,4-64	<i>S. aureus</i> <i>S.uberis</i> <i>S. agalactiae</i> <i>Klebsiella</i> <i>E. coli</i> <i>Pseudomona</i> <i>Otros</i> <i>Microorganismos</i>

Elaborado por: Las Autoras, 2022

#### **4.5.2.3 Pichincha – Calacalí**

En la tabla 21, se resume la correlación de los parámetros CMT, CCS, CCDS y el agente etiológico categorizado por cuadrantes; en el cuadrante A se encuentran las muestras negativas del grado de CMT con un crecimiento bacteriano mínimo y con un CSS bajo indicando que los bovinos se encuentran saludables (Sánchez et al., 2018); en el cuadrante B se nota la presencia de crecimiento microbiano destacando el conteo de CCSD superior al punto de corte, (Schwarz, 2018) iniciando una posible infección de mastitis subclínica (Cuéllar, 2020); en el cuadrante C se encuentran los grados que demuestran alguna fase de mastitis subclínica: trazas (T) 200.000-400.000 células/mL, grado 1 (+) 400.000-1.200.000 células/mL, grado 2 (++) 1.200.000 - 5.000.000 células/mL y clínica de grado 3 (+++) >5.000.000 células/mL concordando así que los microorganismos que se catalogaron en este cuadrante si son característicos de la mastitis bovina (Mera et al., 2017); mientras que, el cuadrante D expone la presencia de microorganismos y un porcentaje CCSD bajo, pero con un riesgo de la enfermedad, puesto que se encuentran microorganismos de mayor presencia los cuales conllevan al bovino a una fase crónica (Aguilar & Álvaez, 2019).

**Tabla 21**

*Correlación del grado de mastitis con CCSD y el agente etiológico de fincas ganaderas (Pichincha – Calacalí)*

Cuadrante	CMT	CCS (cel/mL × 10 <sup>3</sup> )	CCSD/ %PMN	Crecimiento Bacteriano
A	Negativo (-)	4-174	0-63,6	<i>Otros</i> <i>Miroorganismos</i> <1%
B	Negativo (-)	54-183	67,8-77,4	<i>S. aureus</i> <i>S. agalactiae</i> <i>Klebsiella</i> <i>Otros</i> <i>microorganismos</i>
C	Trazas (T) Grado 1 (+) Grado (++) Grado (+++)	226-10388	66,1-88	<i>S. aureus</i> <i>S. uberis</i> <i>S. agalactiae</i> <i>Klebsiella</i> <i>E. coli</i> <i>Pseudomona</i> <i>Otros</i> <i>Microorganismos</i>
D	Grado 2 (++)	426-2954	32,4-64	<i>S. aureus</i> <i>S.uberis</i> <i>S. agalactiae</i> <i>Klebsiella</i> <i>Otros</i> <i>microorganismos</i>

Elaborado por: Las Autoras, 2022

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

La prueba de California mastitis test (CMT) se puede utilizar para realizar una estimación del intervalo de células somáticas, donde se obtuvo un porcentaje elevado de mastitis subclínica correspondiente al grado de trazas (T) 200.000-400.000 células/mL, grado 1 (+) 400.000-1.200.000 células/mL y grado 2 (++) 1.200.000 a 5.000.000 células/mL; sin embargo, al ser una prueba cualitativa se necesita el respaldo de pruebas específicas de laboratorio, como el conteo de células somáticas diferenciales (CCSD) y la determinación del agente etiológico mediante pruebas microbiológicas.

El conteo de células somáticas (CCS) conjuntamente con el conteo células somáticas diferenciales (CCSD) mediante citometría de flujo, han demostrado ser herramientas fundamental cuantitativa para la detección de mastitis bovina, pero la técnica de CCSD permite clasificar por cuadrantes cada muestra analizada, determinando un diagnóstico más adecuado según el grado de mastitis bovina; en este estudio el mayor porcentaje de casos se encontró en el cuadrante C (> 65 - >200.000 células/mL) concluyendo que tanto pequeños, medianos y fincas ganaderas tienen problemas graves de mastitis subclínica.

Según las pruebas microbiológicas y bioquímicas se detectaron siete agentes etiológicos de la mastitis bovina, los cuales son: *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Staphylococcus aureus* (Gram positivos), *Klebsiella sp.*, *Escherichia coli* y *Pseudomona sp* (Gram negativos) y *Candida sp.* (levadura); además de *Staphylococcus sp.* de coagulasa negativa y *Streptococcus sp.* catalasa negativa; siendo *Staphylococcus aureus* el patógeno con mayor presencia en esta investigación causante de la mastitis subclínica y clínica.

Los parámetros de CMT, CCS, CCDS y el agente etiológico se los relacionó mediante los cuadrantes que categorizan en que etapa de la enfermedad se encuentra el bovino, destacando el cuadrante C en el cual, la mayoría de los casos se encuentran en alguna fase de mastitis subclínica, donde el crecimiento microbiano es predominante, puesto que, hubo la presencia de la mayoría de patógenos identificados; aunque, el CCS y CCSD tienen una relación débil para la mayoría de los casos estudiados; se concluye que todos los parámetros analizados en este estudio se relacionan de forma adecuada, siendo aptos para diagnosticar la mastitis bovina subclínica y clínica.

## **5.2 Recomendaciones**

La prueba de CMT es una técnica importante para el control de esta enfermedad en campo, por lo que se debería realizar cada 15 días; por otro lado, si esta prueba cualitativa llega arrojar resultados positivos, se recomienda realizar un análisis con las pruebas cuantitativas como el CCS y CCSD para un diagnóstico efectivo de la enfermedad.

La identificación de los agentes etiológicos causantes de la mastitis bovina mediante análisis microbiológicos y moleculares, conjuntamente con el antibiograma es primordial, ya que, con estos análisis se puede instaurar un tratamiento específico según el grado de mastitis bovina.

Es necesario llevar un mejor manejo productivo en las fincas lecheras, tanto de pequeños, medianos y grandes productores tomando en cuenta que, los factores más importantes para la predisposición de esta patología son cuando se presenta un mal manejo de la nutrición animal, bienestar animal y sobre todo cuando existe deficiencias en el manejo sanitario e higiénico de hato ganadero.

## BIBLIOGRAFÍA

- Agrocalidad. (2021). *Reglamento para la vigilancia y control de la Inocuidad de Leche cruda*.
- Aguilar, F., & Álvear, C. (2019). Mastitis bovina. In *Microbiology* (Vol. 3).
- Avellán, R., Zambrano, M., De La Cruz, L., Cedeño, C., Delgado, M., Rezabala, P., & Macías, Y. (2019). *Prevalencia de mastitis subclínica en el ganado bovino, mediante la prueba California Mastitis Test, en el cantón Rocafuerte de la provincia Manabí, Ecuador*. 8(1), 62–70.
- Ayala, L., Olave, W., & Pelaéz, N. (2016). *Concordancia entre dos pruebas diagnósticas de Mastitis subclínica en la Hacienda Longoburgo - Pereira Risaralda, Colombia*.
- Ballesteros, J., & Valdivieso, A. (2018). *Estudio de la Problemática Epidemiológica de la Mastitis bovina en el cantón Cayambe*.
- Banerjee, S., Batabyal, K., Joardar, S., Isore, D., Dey, S., Samanta, I., Samanta, T., & Murmu, S. (2017). Detection and characterization of pathogenic *Pseudomonas aeruginosa* from bovine subclinical mastitis in West Bengal, India. *Veterinary World*, 10(7), 738–742. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2017.738-742>
- Bayona, J., & Echeverry, J. (2017). *Caracterización de la calidad de la leche entregada por los productores lecheros al centro de acopio de Panamá de Arauca*. 59.
- Bobbo, T., Penasa, M., & Cassandro, M. (2019). Short communication: Genetic aspects of milk differential somatic cell count in Holstein cows: A preliminary analysis. *Journal of Dairy Science*, 102(5), 4275–4279. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-16092>
- Bobbo, T., Penasa, M., & Cassandro, M. (2020). Combining total and differential somatic cell count to better assess the association of udder health status with milk yield, composition and coagulation properties in cattle. *Italian Journal of Animal Science*, 19(1), 697–703. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2020.1784804>
- Calderón, A., & Rodríguez, V. (2008). Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 21(0120–0690), 582–589.
- Calvinho, L. (2017). *Mastitis bovina: evolución del control en Argentina y nuevos horizontes de investigación*. 148–165.
- Cervantes, E., García, R., & Salazar, P. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Anti-Corrosion Methods and Materials*, 11(4), 11–14. <https://doi.org/10.1108/eb020168>
- CHROMagar. (2015). *CHROMagar Mastitis (GP) y (GN)* (Vol. 33, Issue 0, pp. 1–19).
- Coda, E. (2019). *Aislamiento e identificación de bacterias vinculadas a mastitis bovina en leche cruda comercializada por el tambo Complejo Agropecuario Casilda*.

- Cuéllar, J. (2020). *Mastitis bovina: enfermedad mundial*. Veterinaria Digital. <https://www.veterinariadigital.com/articulos/mastitis-bovina-enfermedad-mundial/>
- Damm, M., Holm, C., Blaabjerg, M., Novak, M., & Schwarz, D. (2017). Differential somatic cell count—A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs. *Journal of Dairy Science*, *100*(6), 4926–4940. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-12409>
- Delgado, E. (2020). Series de Identificación Bioquímica (Urea, Citrato, Lisina, Sim y Tsi). *MDM Científica S.A.S.*, *4*, 5. <https://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2021/03/IS-24-SERIES-DE-IDENTIFICACION-BIOQUIMICA.pdf>
- Díaz, D., Remón, D., Riverón, Y., Ribot, A., Ledesma, A., Martínez, A., & Uffo, O. (2019). Identificación de *Streptococcus agalactiae* en leche de bovinos afectados por mastitis en el occidente de Cuba. *Revista de Salud Animal*, *41*(3), 1–12.
- Domínguez, M. (2018). *Incidencia de mastitis bovina subclínica y clínica en dos épocas (invierno- verano), en e Noroccidente de Pichincha- Nanegalito*.
- Du, J., Wang, X., Luo, H., Wang, Y., Liu, X., & Zhou, X. (2018). Epidemiological investigation of non-albicans *Candida* species recovered from mycotic mastitis of cows in Yinchuan, Ningxia of China. *BMC Veterinary Research*, *14*(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12917-018-1564-3>
- Engler, C. (2018). *Estudio cinético de poblaciones inmunes durante la infección crónica por *Staphylococcus aureus* en la involución de la glándula mamaria bovina*.
- Espinosa, M., & Mier, J. (2013). *Determinación de la prevalencia de mastitis mediante la prueba California Mastitis Test e identificación y antibiograma del agente causal en ganaderías lecheras del Cantón El Chaco, Provincia del Napo*.
- 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*.
- Farinango, S., & Carrillo, R. (2019). *Identificación del agente etiológico en casos de mastitis subclínica bovina mediante pruebas de campo y laboratorio en la Comunidad Turucucho, Cayambe*.
- Fernández, A., García, C., Saéz, J., & Valdezate, S. (2010). *Metodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología*.
- Fernández, A., García, C., Sáez, J., & Valdezate, S. (2011). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. In *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* (Vol. 29, Issue 8). <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2011.03.012>
- Ferronato, J., Ferronato, T., Schneider, M., Pessoa, L., Blagitz, M., Heinemann, M., Libera, A., & Souza, F. (2018). Diagnosing mastitis in early lactation : use of Somaticcell , California mastitis test and somatic cell count. *Italian Journal of Animal Science*, *0*(0), 1–7. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1426394>
- Fessia, A., Dieser, S., & Odierno, L. (2018). Identificación de *Streptococcus uberis* aislados

- de muestras de leche bovina. *Ab Intus*, 1(1), 82–87.
- Flores, J., García, P., Campos, C., & Moreno, C. (2020). Laboratorio De Control De Calidad De Leche. *Agrocalidad*.
- García, I., Rivas, R., Pérez, M., & Palacios, L. (2019). Correlation: Not all correlation entails causality. *Revista Alergia Mexico*, 66(3), 354–360.  
<https://doi.org/10.29262/ram.v66i3.651>
- Gasque, R. (2015). Mastitis bovina. In *Sitio Argentino de Producción Anima* (pp. 1–5).
- Gonçalves, J., Kamphuis, C., Martins, C., Barreiro, J., Tomazi, T., & Gameiro, A. (2018a). Bovine subclinical mastitis reduces milk yield and economic return. *Livestock Science*, 210(June 2017), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.01.016>
- Gonçalves, J., Kamphuis, C., Martins, C., Barreiro, J., Tomazi, T., & Gameiro, A. (2018b). Bovine subclinical mastitis reduces milk yield and economic return. *Livestock Science*, 210(June 2017), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.01.016>
- González, D. (2019). *Mastitis bovina en ganaderías de la Provincia de Ubaté, estudio de cohorte*. 121.
- González, R., & Vidal del Río, M. (2021). Mastitis bovina y calidad de la leche, un desafío para la salud humana. *Revista Universidad y Sociedad*, 13(1), 89–96.  
[http://www.ejournal.its.ac.id/index.php/sains\\_seni/article/view/10544%0Ahttps://scholar.google.com/scholar?hl=en&as\\_sdt=0%2C5&q=tawuran+antar+pelajar&btnG=%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103237](http://www.ejournal.its.ac.id/index.php/sains_seni/article/view/10544%0Ahttps://scholar.google.com/scholar?hl=en&as_sdt=0%2C5&q=tawuran+antar+pelajar&btnG=%0Ahttps://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103237)
- Granja, B., Fidelis, C., Garcia, B., & Dos Santos, M. (2021). Evaluation of chromogenic culture media for rapid identification of microorganisms isolated from cows with clinical and subclinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 104(8), 9115–9129.  
<https://doi.org/10.3168/jds.2020-19513>
- Guerrero, H. (2018). Evaluación del efecto antibiótico del extracto de la planta medicinal más usada en mastitis bovina en la provincia de Imbabura. *Economía*, 1–41.
- Guzman, D. (2015). *Factores inherentes para la presentación de mastitis bovina y nuevos avances en su tratamiento*.  
[http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1730/1/Factores\\_inherentes\\_presentacion\\_mastitis\\_bovina.pdf](http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1730/1/Factores_inherentes_presentacion_mastitis_bovina.pdf)
- Halasa, T., & Kirkeby, C. (2020). Differential Somatic Cell Count: Value for Udder Health Management. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(December).  
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.609055>
- Hernández, J., & Bedolla, J. (2008). Importance of the somatic cells count in the quality of milk. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 9, 1695–7504.  
<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090908/090904.pdf>
- Hernández, J., Espinoza, J., Peñaloza, M., Díaz, E., Bautista, M., Riaño, M., Chacón, O., Chaparro, Y., García, D., & Bernúdez, V. (2018). Sobre el uso adecuado del coeficiente de correlación de Pearson. *Definición, Propiedades y Suposiciones. Venezuela.*, 37(5),

586–601.

Home Care C.A. (2019). *Reactivo CMT* (p. 2019).

Hoque, M., Das, Z., Rahman, A., Haider, M., & Islam, M. (2018). Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* strains in bovine mastitis milk in Bangladesh. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 6(1), 53–60. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2018.03.008>

Jácome, J. (2022). *Prevalencia de agentes bacterianos resistentes a antibióticos en mastitis bovina en ganaderías lecheras del cantón Antonio Ante*.

Jiménez, S., Torres, L., Parra, J., Rodríguez, J., García, F., & Patiño, R. (2020). Profile of antimicrobial resistance in isolates of *Staphylococcus* spp. obtained from bovine milk in Colombia. *Revista Argentina de Microbiología*, 52(2), 121–130. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2019.05.004>

Kirkeby, C., Toft, N., Schwarz, D., Farre, M., Nielsen, S., Zervens, L., Hechinger, S., & Halasa, T. (2020). Differential somatic cell count as an additional indicator for intramammary infections in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 103(2), 1759–1775. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-16523>

Lange, C., Brito, M., Reis, D., Machado, M., Salles, E., Guimara, A., Alvim, M., Silva, F., & Meurer, I. (2015). Species-level identification of staphylococci isolated from bovine mastitis in Brazil using partial 16S rRNA sequencing. *Veterinary Microbiology*, 176, 382–388. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2015.01.024>

Linares, M., Santos, L., Vela, T., Muñoz, R., & Barahora, E. (2018). Utilidad de la técnica de Gram en exudados uretrales en la consulta de atención primaria. *Medicina de Familia. SEMERGEN*, 44(6), 441–442. <https://doi.org/10.1016/j.semerg.2017.11.006>

Llivicura, J. (2018). *Tinciones de Gram y Ziehl-Neelsen* (p. 6).

Márquez, J. (2021). *Boletín Técnico Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua*.

Mendoza, J., Vera, Y., & Peña, L. (2017). Prevalencia de mastitis subclínica, microorganismos asociados y factores de riesgo identificados en hatos de la provincia de Pamplona, Norte de Santander. *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 64(2), 11–24. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v64n2.67209>

Mera, R., Muñoz, M., Artieda, J., Ortíz, P., González, R., & Vega, V. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. *Revista Electronica de Veterinaria*, 18(11), 1–17. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653574004.pdf>

Miranda, S., Albuja, C., & Tríbulo. (2019). Asociación entre la mastitis subclínica con la pérdida temprana de gestación en un hato de vacas lecheras. *La Granja*, 30(2), 48–56. <https://doi.org/10.17163/lgr.n30.2019.05>

Morales, R. (2021). *Incidencia de la mastitis subclínica mediante la prueba de california mastitis en la granja “ Don Domenico ” Montero Santa Cruz*.

- Ochoa, C., Ortega, E., & Molina, M. (2020). Fundamentos de medicina basada en la evidencia Inferencia estadística : contraste de hipótesis. *Evidencias En Pediatría*, 15(40), 3–7.
- Oyola, L., & Urrea, M. (2021). *Conceptos Generales Y Métodos Establecidos Para El Diagnóstico Y Tratamiento De La Mastitis Bovina*.
- Pereyra, E., Dallard, B., & Calvino, L. (2014). Aspectos de la respuesta inmune innata en las infecciones intramamarias causadas por *Staphylococcus aureus* en bovinos. *Revista Argentina de Microbiología*, 46(4), 363–375. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70096-3](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70096-3)
- Quevedo, W. (2018). Recuento de células somáticas (rsc), como indicador en la resistencia de la mastitis bovina. *Revista Ciencia, Tecnología e Innovación*, 16, 1001–1012.
- Quiroga, J. (2018). *Respuesta clínica e inmunología frente a una vacuna en base a proteoliposomas bacterianos en un modelo murino de mastitis por Escherichia coli*.
- Ramírez, J., Medina, Y., & Uscanga, I. (2018). *Manual de laboratorio de Microbiología*.
- Ramírez, N., Fernández, J., & Palacio, L. (2018). Tasa de incidencia de mastitis clínica y susceptibilidad antibiótica de patógenos productores de mastitis en ganado lechero del norte de Antioquia. *Rev Med Vet.*, 75–87.
- Rojas, C. (2017). *Factores asociados con la mastitis subclínica bovina en fincas lecheras de Zipaquirá, Cundinamarca*.  
<https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.012>  
<http://www.capsulae.com/media/Microencapsulation-Capsulae.pdf>  
<https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2019.05.001>
- Ruiz, A., Peña, J., & Remón, D. (2016). Mastitis bovina en Cuba. Artículo de revisión. *Revista de Producción Animal*, 28(2–3), 39–50.
- Ruiz, L., & Sandoval, R. (2018). Diagnosis of subclinical mastitis in dairy cattle through somatic cell counts using two diagnostic methods. *Revista Científica de La Facultad de Ciencias Veterinarias de La Universidad Del Zulia*, 28(2), 129–135.  
<https://www.redalyc.org/journal/959/95955158006/html/>
- Sánchez, M., Gutiérrez, N., & Posada, I. (2018). Prevalence of bovine mastitis in the anaime canyon, a colombian dairy region, including etiology and antimicrobial resistance. *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Peru*, 29(1), 226–239.  
<https://doi.org/10.15381/rivep.v29i1.14084>
- Schwarz, D. (2017). Differential Somatic Cell Count with the Fossomatic 7 DC-a novel parameter. In *Foss*.
- Schwarz, D. (2018). The new CombiFoss™ 7 DC - an update on Differential Somatic Cell Count and other advancements in milk testing. *ICAR Technical Series*, 23, 119–125.
- Schwarz, D., Diesterbeck, U., König, S., Brügemann, K., Schlez, K., Zschöck, M., Wolter, W., & Czerny, C. (2011). Flow cytometric differential cell counts in milk for the evaluation of inflammatory reactions in clinically healthy and subclinically infected bovine mammary glands. *Journal of Dairy Science*, 94(10), 5033–5044.

<https://doi.org/10.3168/jds.2011-4348>

- Schwarz, D., Kleinhans, S., Reimann, G., Stückler, P., Reith, F., Ilves, K., Pedastsaar, K., Yan, L., Zhang, Z., Valdivieso, M., Luisa, M., & Fouz, R. (2020). Investigation of dairy cow performance in different udder health groups defined based on a combination of somatic cell count and differential somatic cell count. *Preventive Veterinary Medicine*, *183*, 105–123. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105123>
- Shokouhi, V. (2020). *Mastitis bovina*. 30–43.
- Shokouhi, V. (2021). Mastitis bovina en la encrucijada de nuevo. *Diario Digital Axón Informavet One Health*, 12–37.
- Silva, F. (2021). *Caracterización de los agentes bacterianos casuales de Mastitis Bovina*. 40.
- Stocco, G., Summer, A., Cipolat, C., Zanini, L., Vairani, D., Dadousis, C., & Zecconi, A. (2020). Differential somatic cell count as a novel indicator of milk quality in dairy cows. *Animals*, *10*(5), 1–15. <https://doi.org/10.3390/ani10050753>
- Tatés, V. (2018). *Evaluación del efecto antibiótico del extracto de la planta medicinal más usada en mastitis bovina en la provincia de Imbabura*.
- Tsegaye, B., Fayera, T., & Muktar, Y. (2019). Risk factors for bovine mastitis with the isolation and identification of *Streptococcus agalactiae* from farms in and around Haramaya district, eastern Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, *51*(6), 1507–1513. <https://doi.org/10.1007/s11250-019-01838-w>
- Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. (2016). *Pruebas bioquímicas de identificación de bacterias* (p. 8).
- Uribe, S. (2016). *Diagnóstico de prevalencia en mastitis subclínica en dos hatos lecheros de Antioquia*. 1–50.
- Vargas, K., Vidal, J., & Olivera, M. (2018). Validación de método cualitativo para detección de *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* en muestras de leche para diagnóstico de mastitis bovina. *Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales*, *21*(1), 271–275. <https://doi.org/10.31910/rudca.v21.n1.2018.687>
- Yusef, Y. (2017). *Aislamiento e identificación de levaduras a partir de casos de mastitis subclínica bovina en rebaños lecheros de la región de Los Ríos, Chile*. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2018.07.012><http://www.capsulae.com/media/Microencapsulation-Capsulae.pdf><https://doi.org/10.1016/j.jaerosci.2019.05.001>
- Zanini, L. (2020). Differential Somatic Cell Count as a Marker for Changes of Milk Composition in Cows with Very Low Somatic Cell Count. *Animals*, *10*, 1–14.
- Zecconi, A., Vairani, D., Cipolla, M., Rizzi, N., & Zanini, L. (2019). Assessment of subclinical mastitis diagnostic accuracy by differential cell count in individual cow milk. *Italian Journal of Animal Science*, *18*(1), 460–465. <https://doi.org/10.1080/1828051X.2018.1533391>

## ANEXOS

### Inflamación en las ubres por mastitis bovina



**Anexo 1** *Vaca con mastitis clínica.*  
**Fuente:** Las Autoras, 2022

### Toma de muestras en campo



**Anexo 2** *Toma de muestras bovino a bovino*  
**Fuente:** Las Autoras, 2022

### Equipo FOSSOMATIC 7DC



**Anexo 3** *Conteo de células somáticas diferenciales (CCSD) mediante citometría de flujo, en el equipo FOSSOMATIC 7DC.*

**Fuente:** Las Autoras, 2022

### **Anexo 4** *Preparación de medio de cultivo CHROMagar Mastitis (GP)*

<b>Paso 1</b> <b>Preparación de la mezcla</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Suspender lentamente 42,4 g de base de polvo en 1L de agua purificada.</li><li>- Añadir 8 mL de suplemento líquido (S) en la mezcla.</li><li>- Remover hasta que el agar haya espesado bien</li><li>- Autoclavar a 110 °C durante 5 min.</li></ul>
<b>Paso 2</b> <b>Dispensa del medio</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Enfriar en una cubeta térmica a 45-50 °C, agitando o removiendo suavemente.</li><li>- Verter en placas de Petri estériles.</li><li>- Dejar solidificar y secar.</li></ul>
<b>Paso 3</b> <b>Almacenamiento</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>- Almacenar en la oscuridad antes de usar</li></ul>

**Fuente:** (CHROMagar, 2015)

### Anexo 5 Preparación de medio de cultivo CHROMagar Mastitis (GN)

---

<b>Paso 1</b>	- Suspender lentamente 33,2 g de base de polvo en 1 L de agua purificada.
<b>Preparación de la mezcla</b>	- Remover hasta que el agar haya espesado bien. - Calentar hasta la ebullición (100 °C) agitando o removiendo regularmente. - Autoclavar a 121 °C durante 15 min.
<b>Paso 2</b>	- Enfriar en una cubeta térmica a 45-50 °C, agitando o removiendo suavemente.
<b>Dispensa del medio</b>	- Verter en placas de Petri estériles. - Dejar solidificar y secar.
<b>Paso 3</b>	- Almacenar en la oscuridad antes de usar
<b>Almacenamiento</b>	

---

Fuente: (CHROMagar, 2015)

### Anexo 6 Interpretación de colonias sembradas en CHROMagar Mastitis (GP)

---

<b>Microorganismos</b>	<b>Color que se torna la colonia</b>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	Azul turquesa
<i>Streptococcus uberis</i>	Azul metálico
<i>Staphylococcus aureus</i>	Rosa
<b>Bacterias gram (-)</b>	Inhibidas
<b>Otros microorganismos</b>	Varios

---

Fuente: (CHROMagar, 2015)

**Anexo 7 Interpretación de colonias sembradas en CHROMagar Mastitis (GN)**

<b>Microorganismos</b>	<b>Color que se torna la colonia</b>
<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
<b>Bacterias gram (+)</b>	Inhibidas

**Fuente:** (CHROMagar, 2015)

**Aislamiento de microorganismos no identificados por el CHROMagar en medios selectivos.**



**Anexo 8 Aislamiento de cepas no identificadas mediante un estriado compuesto en medios selectivos.**

**Fuente:** Las Autoras, 2022

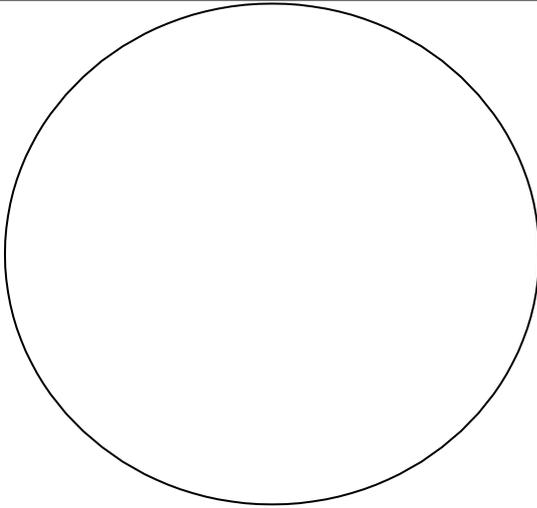
**Anexo 9** Vista microscópica (100x) de tinciones gram

---

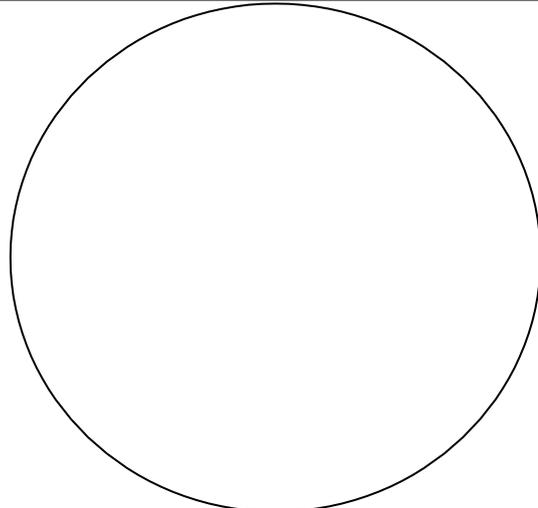
**Gram positivos**

**Gram negativos**

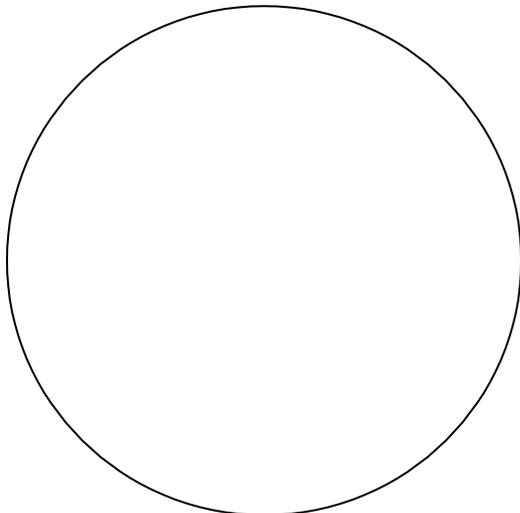
---



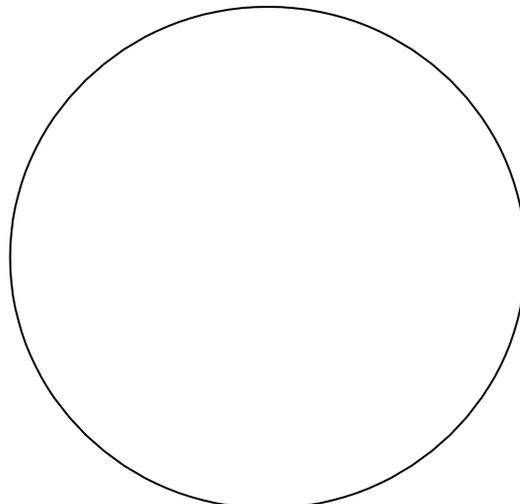
*Streptococcus sp.*



*E. coli*



*Staphylococcus sp.*



*Klebsiella sp.*

---

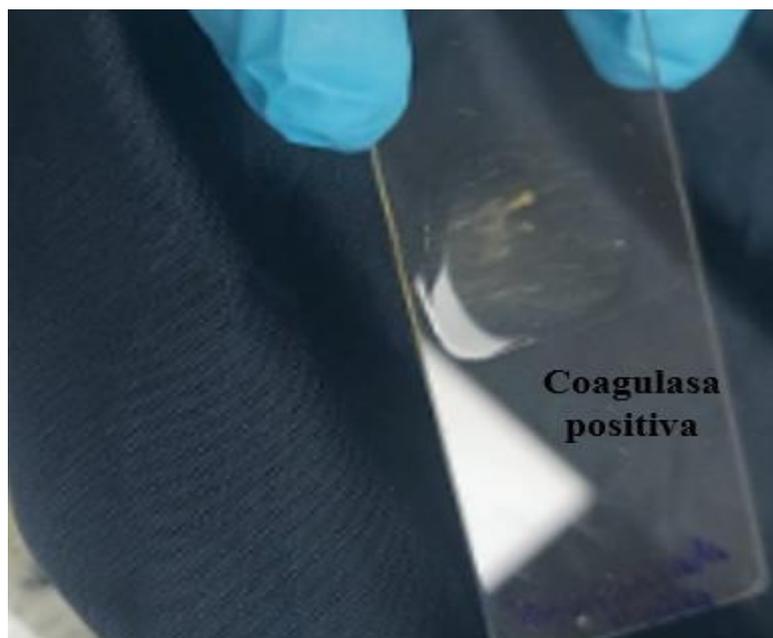
Fuente: Las Autoras, 2022

### Prueba de catalasa para identificación cepas



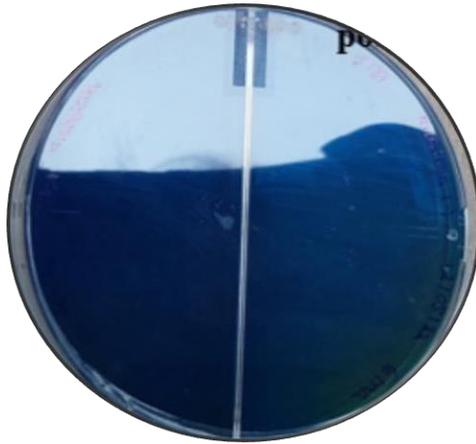
*Anexo 10 Prueba de catalasa para la diferenciación de géneros en bacterias gram positivas*  
**Fuente:** Las Autoras, 2022

### Prueba de catalasa para identificación de géneros de bacterias gram positivas



*Anexo 11 Prueba de coagulasa para la diferenciación de géneros en bacterias gram positivas*  
**Fuente:** Las Autoras, 2022

### Prueba de citrato

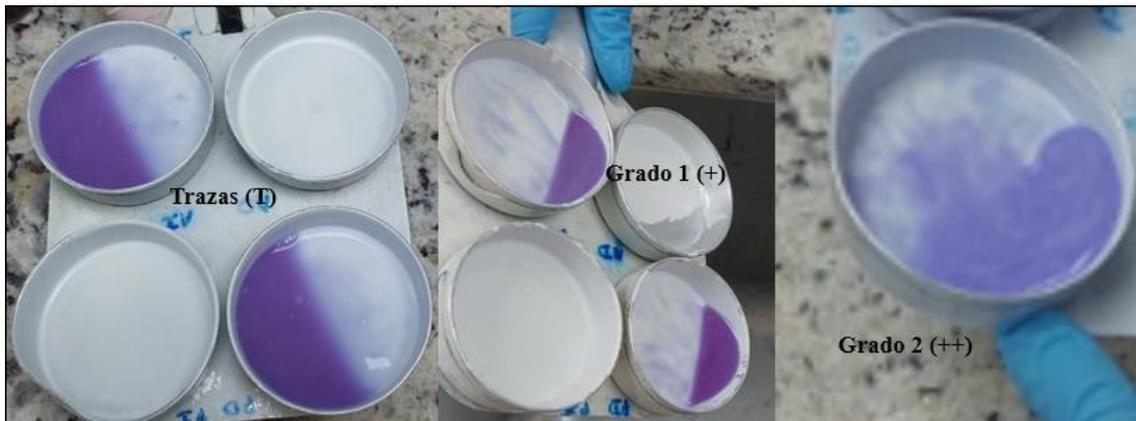


Reacción de coloración: Azul (+); verde (-)

**Anexo 12** Prueba de citrato para confirmar la presencia de *Klebsiella*

**Fuente:** Las Autoras, 2022

### Visualización de la intensidad del CMT con la leche que posee algún grado de mastitis subclínica



**Anexo 13** Reacción del CMT- leche con algún grado de mastitis subclínica

**Fuente:** Las Autoras, 2022

**Visualización de la intención del CMT con la leche que posee un grado de mastitis clínica (formación de coagulo)**



**Anexo 14** *Reacción del CMT - leche con un grado de mastitis clínica*  
**Fuente:** Las Autoras, 2022

**Visualización de la intención del CMT con la leche de bovinos sanos**



**Anexo 15** *Reacción del CMT - leche de bovinos sanos*  
**Fuente:** Las Autoras, 2022

## Informe de CCS y CCDS



### LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE

**Información proporcionada por el cliente**

Cliente: Universidad Politécnica Salesiana - Proyecto Mastitis Bovina 2022  
 Dirección: Cayambe  
 Contacto: Dra. Nancy Bonifaz  
 Teléfono: 0982776914  
 Fecha de colecta: 21/02 al 07/03/2022

Correo electrónico: nbonifaz@ups.edu.ec

### INFORME DE RESULTADOS

Cantidad de muestras: CCS 46  
 CCSD 46

Muestras con observaciones: 46  
 Fecha de recepción: 22/02 al 08/03/2022  
 Fecha de análisis: 22/02 al 08/03/2022  
 Fecha de emisión de resultados: 17/03/2022  
 Descripción: Leche cruda

Lote: 22107

Muestra	Código examinado	CCS (x1000/ml)	% CCSD LINFO + PMN	% CCSD Macrófagos	Observaciones de las muestras
Filtro					
282383	Luna	111	76,7	23,3	G
282384	Esperancita	354	75,4	24,6	G
282414	Kiara	403	79,3	20,7	G
282415	Chule	644	77,3	22,7	G
282416	Capulina	49	0,0	100,0	G
282417	Fortuna	5.508	88,1	11,9	G
282418	Chiquita	194	83,7	16,3	G
282419	Milagros	275	77,8	22,2	G
282420	Perla	681	82,2	17,8	G
282421	Fortuna	18	0,0	100,0	G
282422	Maria	2.595	79,9	20,1	G
282423	Caucha	49	0,0	100,0	G
282424	Mita	1.960	79,0	21,0	G
282425	Esperanza	622	82,5	17,5	G
282426	Fernanda	821	82,2	17,8	G
282427	Pecas	1.713	75,1	24,9	G
282428	Cerquilla	261	63,5	36,5	G
282429	Marqueza	391	75,9	24,1	G
282430	Arenilla	709	77,6	22,4	G
282431	Vanesa	63	63,4	36,6	G
282432	Fatima	543	51,4	48,6	G
282438	Maria	248	88,3	11,7	G
282439	Lola	210	81,0	19,0	G
282440	Juana	310	63,6	36,4	G
282441	Bianca Flor	260	78,4	21,6	G

LABORATORIO DE CALIDAD DE LECHE

Revisión: 09

Total de páginas: 2

Cayambe, Av. Natalia Jarrín N3-85 y 9 de Octubre. Teléfonos: 593 (2) 3962 946 / 3962 800 Ext: 2501-2530  
 Correo electrónico: psimbana@ups.edu.ec / bioagrolab@ups.edu.ec

## Análisis estadístico en el programa SPSS

Resumen del modelo<sup>b</sup>

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error tip. de la estimación	Estadísticos de cambio				
					Cambio en R cuadrado	Cambio en F	gl1	gl2	Sig. Cambio en F
1	,155 <sup>a</sup>	,024	,016	23,98012	,024	2,932	1	119	,089

a. Variables predictoras: (Constante), CCS

b. Variable dependiente: CCSD

ANOVA<sup>a</sup>

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	1685,769	1	1685,769	2,932	,089 <sup>b</sup>
	Residual	68430,475	119	575,046		
	Total	70116,244	120			

a. Variable dependiente: CCSD

b. Variables predictoras: (Constante), CCS

Coefficientes<sup>a</sup>

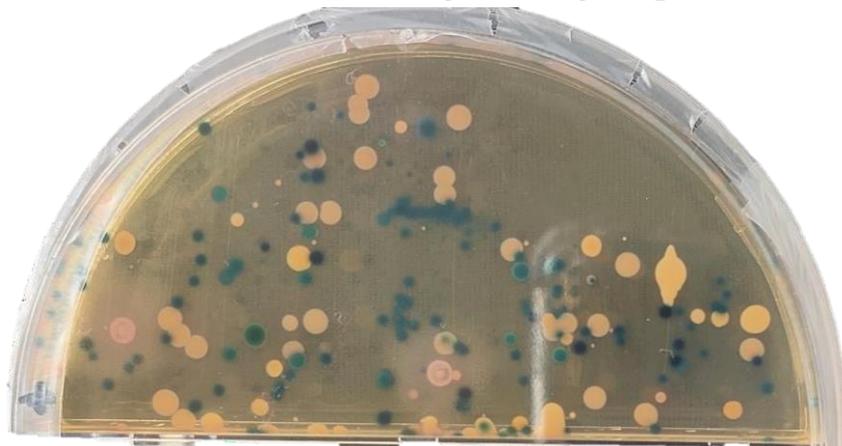
Modelo		Coefficients no estandarizados		Coefficients tipificados	t	Sig.	Intervalo de confianza de 95,0% para B		Estadísticos de colinealidad	
		B	Error tip.	Beta			Límite inferior	Límite superior	Tolerancia	FIV
1	(Constante)	60,685	2,318		26,185	,000	56,096	65,274		
	CCS	,001	,000	,155	1,712	,089	,000	,002	1,000	1,000

a. Variable dependiente: CCSD

**Anexo 17** Análisis estadístico en el programa SPSS de la Zona Norte (Imbabura- Urcuqui)

**Elaborado:** Las Autoras, 2022

## Identificación de microorganismos gram positivos



Colonias rosas: *S. aureus*; Colonias anaranjadas: Otros microorganismos (*Staphylococcus sp.*); Colonias azules: *S. uberis*; Colonias turquesas: *S. agalactiae*

**Anexo 18** Identificación de microorganismos gram positivos por distintas coloraciones formadas en el CHROMagar (GP) específico para mastitis

**Fuente:** Las Autoras, 2022

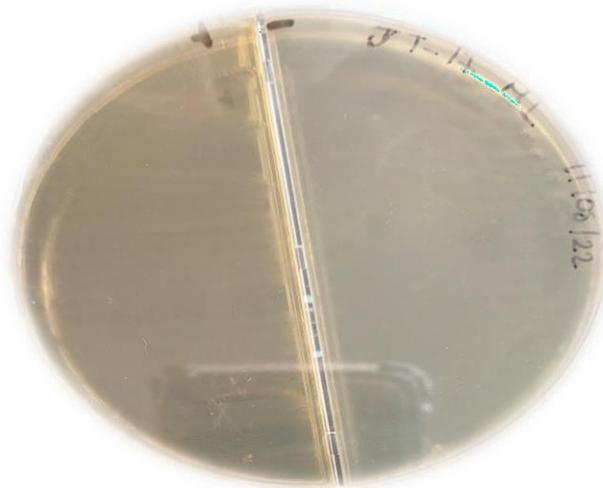
### Identificación de *Staphylococcus aureus*



**Anexo 19** Identificación de *Staphylococcus aureus* por su coloración en el CHROMagar (GP) específico para mastitis.

**Fuente:** Las Autoras, 2022

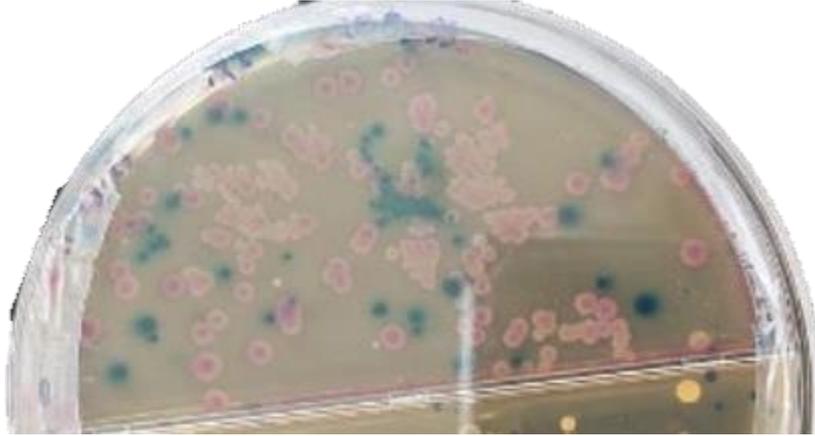
### Análisis microbiológico a casos negativos de mastitis bovina (no existe crecimiento bacteriano)



**Anexo 20** Análisis microbiológicos de casos negativos

**Fuente:** Las Autoras, 2022

## Identificación de microorganismos gram negativos



Colonias lilas: *E. coli*; Colonias azules: *Klebsiella sp*; Colonias blancas: *Pseudomona sp*.

**Anexo 21** Identificación de microorganismos gram negativos por distintas coloraciones formadas en el CHROMagar (GN) específico para mastitis.

**Fuente:** Las Autoras, 2022