

# UCUENCA

## Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

### **Frecuencia de mastitis en vacas ubicadas en las comunidades de Puculcay, Sarama y Hornillos del cantón Santa Isabel de la provincia del Azuay**

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Médico Veterinario Zootecnista

#### **Autores:**

Alexandra Vanessa Falconi Méndez

José Salvador Idrovo Castro

#### **Director:**

Juan Carlos Ramón Cárdenas

ORCID:  0000-0002-8081-7533

**Cuenca, Ecuador**

2023-08-01

## Resumen

La mastitis es una enfermedad multifactorial que afecta al ganado bovino productor de leche, tanto en la salud del animal como en la calidad, comercialización y consumo de productos lácteos. Considerando la relevancia de la inocuidad de los alimentos de origen animal, en este caso leche, se planteó el presente estudio, con el objetivo de evaluar la frecuencia de mastitis en ganado bovino lechero en las comunidades de Puculcay, Sarama y Hornillos del cantón Santa Isabel de la provincia del Azuay y comparar la frecuencia de mastitis clínica y subclínica, los agentes etiológicos presentes y aquellos factores de riesgo para el desarrollo de la enfermedad en ganado bovino. La investigación se llevó a cabo mediante la toma de muestras a 226 vacas pertenecientes a 20 productores rurales mediante las pruebas de jarro de fondo negro, California Mastitis Test (CMT) y hoja de registro de información con 19 preguntas con el objetivo de conocer las condiciones del hato lechero y el proceso de ordeño. Mediante las pruebas de laboratorio, se determinó que el 43,8% de animales presentaba mastitis, de la cual el 95,95% corresponden a mastitis subclínica y el 4,05% a mastitis clínica. Además, el análisis estadístico descriptivo concluyó que los agentes bacterianos en el caso de mastitis clínica y subclínica son *Estafilococos ssp*, *Streptococos spp* y *Enterobacter*, siendo *Estafilococos* el agente de mayor predominación dentro del recuento de microorganismos en laboratorio. Finalmente, los factores como la cuarentena de vacas contagiadas, ordeño final de vacas con mastitis y el buen estado de bebederos y comederos, se registran como factores de protección frente al desarrollo de la enfermedad y en cuanto al agente biológico, se evidenció que el agente causal principal es de tipo contaminante con 76,84% en el caso de la mastitis subclínica y el 100% en mastitis clínica.

*Palabras clave:* ganadería, mastitis, organismos patógenos, bacterias



El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Cuenca ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por la propiedad intelectual y los derechos de autor.

**Repositorio Institucional:** <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

### Abstract

Mastitis is a multifactorial disease that affects dairy cattle, both in animal health and in the quality, marketing and consumption of dairy products. Considering the relevance of the safety of foods of animal origin, in this case milk, the present study was proposed, with the objective of evaluating the frequency of mastitis in dairy cattle in the communities of Puculcay, Sarama and Hornillos of the Santa Isabel canton from the province of Azuay and compare the frequency of clinical and subclinical mastitis, the etiological agents present and those risk factors for the development of the disease in cattle. The investigation was carried out by taking samples from 226 cows belonging to 20 rural producers using the black bottom jug tests, the California Mastitis Test (CMT) and the information record sheet with 19 questions in order to know the conditions of the dairy herd and the milking process. Through laboratory tests, it was determined that 43.8% of animals had mastitis, of which 95.95% correspond to subclinical mastitis and 4.05% to clinical mastitis. In addition, the descriptive statistical analysis concluded that the bacterial agents in the case of clinical and subclinical mastitis are *Staphylococcus* spp, *Streptococcus* spp, and *Enterobacter*, with *Staphylococcus* being the most prevalent agent in the laboratory count of microorganisms. Finally, factors such as the quarantine of infected cows, final milking of cows with mastitis and the good condition of drinkers and feeders, are recorded as protective factors against the development of the disease and in terms of the biological agent, it was evidenced that the agent The main cause is contaminant with 76.84% in the case of subclinical mastitis and 100% in clinical mastitis.

*Keywords: livestock, mastitis, pathogenic organisms, bacteria*



The content of this work corresponds to the right of expression of the authors and does not compromise the institutional thinking of the University of Cuenca, nor does it release its responsibility before third parties. The authors assume responsibility for the intellectual property and copyrights.

**Institutional Repository:** <https://dspace.ucuenca.edu.ec/>

## Índice de contenido

Introducción .....	10
1.1. Descripción del problema.....	10
1.2. Justificación .....	11
Objetivos.....	12
2.1. Objetivo general.....	12
2.2. Objetivos específicos .....	12
Revisión de literatura .....	13
3.1. Definición y frecuencia.....	13
3.2. Caracterización de mastitis bovina.....	13
3.2.1. Etiología de la mastitis .....	13
3.2.2. Clasificación de la mastitis .....	14
3.2.3. Diagnóstico de mastitis .....	14
3.2.4. Prueba de Jarro de Fondo Negro.....	15
3.2.5. Prueba CMT .....	15
3.2.6. Diagnóstico bacterológico de mastitis .....	15
3.2.7. Cultivo bacteriano de mastitis .....	16
Materiales y métodos .....	18
4.1. Metodología .....	18
4.1.1. Materiales .....	18
4.2. Área de estudio .....	19
4.3. Observación de campo.....	20
4.3.1. Encuesta.....	20
4.3.2. Prueba de jarro de fondo negro .....	20
4.3.3. Prueba de CMT.....	20
4.3.4. Transporte de muestras de leche.....	21
4.3.5. Conservación.....	21
4.3.6. Pruebas de laboratorio.....	21
4.3.7. Cultivos bacterianos.....	21
4.3.7.1. Esterilización de materiales usados.....	21
4.3.7.2. Preparación de medios de cultivo (sólidos) .....	21
4.3.7.3. Siembra o inoculación. ....	22
4.3.8. Pruebas de identificación bacteriana.....	22
4.3.8.1. Tinción de GRAM.....	22
4.3.9. Pruebas bioquímicas .....	23
4.3.9.1. Pruebas de sensibilidad o antibiograma. ....	23
4.4. Metodología experimental .....	24

4.4.1. Unidad muestral.....	24
4.4.2. Tamaño de la muestra .....	24
4.4.3. Criterios de inclusión y exclusión .....	25
4.4.4. Técnica estadística .....	25
Resultados y discusión .....	27
5.1. Presencia de mastitis subclínica y clínica entre las comunidades.....	28
5.2. Determinación de agentes patógenos en mastitis clínica. ....	29
5.3. Determinación de agentes patógenos en mastitis subclínica.....	30
5.4. Factores de riesgo.....	31
Conclusiones .....	35
Recomendaciones .....	37
Referencias.....	38
Anexos.....	44

## Índice de figuras

Figura 1. Diagnóstico de mastitis por tipo.....	15
Figura 2. Proceso de identificación de mastitis clínica y subclínica .....	18
Figura 3. Área de estudio.....	19

**Índice de tablas**

Tabla 1. Materiales.....	18
Tabla 2. Frecuencia de presencia general de mastitis en vacas .....	27
Tabla 3. Frecuencia de presencia de mastitis en vacas en las comunidades Puculcay, Sarama y Hornillos del cantón Santa Isabel .....	28
Tabla 4. Frecuencia de presentación de mastitis subclínica y mastitis clínica en vacas de las comunidades Puculcay, Sarama y Hornillos del cantón Santa Isabel.....	29
Tabla 5. Determinación de agentes patógenos en mastitis clínica .....	29
Tabla 6. Determinación de agentes patógenos en mastitis subclínica .....	30
Tabla 7. Factores de riesgo evaluados para la presentación de Mastitis.....	31
Tabla 8. Cálculo de ODSS para factores relacionados con la presencia de Mastitis.....	32
Tabla 9. Determinación de agentes biológicos en mastitis clínica .....	33
Tabla 10. Determinación de agentes biológicos en mastitis subclínica .....	34

## Agradecimientos

Primero doy gracias a Dios por haberme dado la salud, sabiduría y paciencia en todo este tiempo para crecer como persona, doy gracias a la vida por permitirme subir un escalón más para poder continuar con mis sueños y metas. Le doy gracias a mi familia por su comprensión y por haber permanecido a mi lado en esta larga travesía llena de obstáculos, pero finalmente con grandes recompensas. Le doy gracias a la universidad y profesores por permitirme culminar esta etapa de mi vida.

Alexandra Vanessa Falconi Méndez

Mi más sincero agradecimiento a Dios y mi familia, que fueron un pilar fundamental para la preparación, realización y culminación de este trabajo de titulación, a nuestro distinguido asesor de tesis quien impartió y guió nuestro proyecto gracias a su conocimiento y experiencia.

José Salvador Idrovo Castro

### Dedicatoria

Le doy gracias a mi familia, principalmente a mi hermana Luli Falconi por ser mi motor que me ha impulsado a continuar con mi carrera, a mis padres Marco Falconi y Laura Méndez gracias por su paciencia y amor incondicional; me han sabido brindar su apoyo tanto emocional como económico; les quiero dedicar este título, porque son mi pilar ya que sin ellos no estaría en donde me encuentro en estos momentos, han sido mi mayor motivación para ser perseverante en la vida, y son mi mayor felicidad. Gracias por creer en mí.

Alexandra Vanessa Falconi Méndez

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional. A mi madre Dora Leonor, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su cariño y apoyo incondicional y que ahora ya me guía desde el cielo. Asimismo a mi Abuelito Jorge Idrovo, quien fue mi mayor motivación y fortaleza, para culminar este momento y formarme como una excelente persona y un gran profesional quien ya desde el cielo me cuida.

José Salvador Idrovo Castro

## Introducción

La mastitis es una enfermedad considerada altamente prevalente en el ganado lechero y se define como una reacción inflamatoria de la glándula mamaria debido a una infección microbiana causada por agentes infecciosos, toxinas, microorganismos patógenos, sustancias irritantes o lesiones traumáticas, las cuales han logrado colonizar el tejido secretor a través del canal del pezón (Vega et al., 2017).

Esta enfermedad infecto-contagiosa desde su signología se divide en subclínica y clínica. En el primer caso, la mastitis subclínica no presenta signos palpables, sin embargo, la leche cuenta con un número elevado de células somáticas y una baja producción, los que afecta la calidad para el consumo humano. Mientras que, la mastitis clínica, la vaca presenta baja producción, decaimiento, aumento de pulso y temperatura, y en el caso de ubres y leche, existe la presencia de inflamación, edema, grumos, apariencia amarilla/rojizo por la presencia de sangre o pus (Peña, 2022).

Los ganaderos hacen uso de métodos de observación, pruebas físicas y químicas para la detección de mastitis en el ganado. Entre estos, se encuentra la identificación de signos clínicos, prueba de jarro de fondo negro o taza probadora, la cual consiste en la examinación de los primeros chorros de leche para la detección de grumos o materia fibrosa. En el caso de las pruebas químicas, las muestras de leche son sometidas a reactivos que indican alteraciones en la calidad de la misma y el estado de salud del animal (Velázquez y Vega, 2012).

A pesar de la extensa literatura que existe en torno a la presencia de mastitis en el ganado bovino, actualmente no se cuenta con información sobre el desarrollo de la patología en la zona de estudio, siendo la zona rural de Santa Isabel, conocida por la alta producción de leche y derivados. Es por ello, que la investigación actual aporta conocimientos sobre la situación sanitaria que enfrentan los productores frente a la mastitis.

### 1.1. Descripción del problema

La mastitis es una de las enfermedades más comunes que afectan a nivel mundial y del país a pequeños y medianos productores, es así, que las pérdidas económicas debido a la disminución en calidad y cantidad de leche, riesgo para el consumo humano, disminución en la capacidad productora de sus derivados, aumento de costos por el uso de fármacos, servicios veterinarios y la pérdida de animales en casos extremos, son cada vez más comunes (Bedolla y Ponce, 2018).

Del mismo modo, existe una inversión mayor en acciones de mitigación como prevención de la mastitis, lo cual repercute en el uso indiscriminado de fármacos que implican una baja calidad de la leche y de la salud del animal, provocando trabajo extra de cuidadores y en varios casos, penalizaciones por parte de grandes empresas que recolectan la leche de pequeños y medianos productores. Es por ello que surge la necesidad de realizar un diagnóstico que permita que ganaderos pertenecientes al cantón Santa Isabel conozcan la prevalencia de la enfermedad y formulen medidas y estrategias que mejoren las condiciones financieras de productores y del ganado bovino.

## **1.2. Justificación**

La mastitis es divisada como una enfermedad “polifactorial”, debido a que el contagio de la misma dependerá de condiciones medioambientales, condiciones higiénicas del hato lechero, higienización de los pezones durante el ordeño y el sellado de los pezones posterior al proceso, limpieza del ganado, alojamiento e higiene física del operador o cuidador a cargo del ganado entre vaca y vaca (Hans, 2001).

Según datos obtenidos de la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua en el año 2015 mediante el Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, la mastitis es la segunda enfermedad con mayor prevalencia dentro del país, siendo aquellos productores de leche y sus derivados los más afectados (INEC, 2015), representando un gasto por excedente económico la reposición de los animales afectados por la patología.

Por tal razón, con el objetivo de aportar a la mejora en el manejo del ganado bovino productor de leche, la detección de patógenos, factores de riesgo y protección, facilitarán una producción sustentable y sostenible con meta a beneficiar al sector económico que vive de las actividades lecheras en el Azuay.

## Objetivos

### 1.3. Objetivo general

Evaluar la frecuencia de mastitis en vacas en las comunidades de Puculcay, Sarama y Hornillos del cantón Santa Isabel de la provincia del Azuay.

### 1.4. Objetivos específicos

- Comparar la frecuencia de mastitis bovina clínica y subclínica en las comunidades de Puculcay, Sarama y Hornillos.
- Identificar los agentes patógenos en mastitis clínica y subclínica con análisis de laboratorio cultivo y antibiograma
- Determinar los factores de riesgo para la presencia de mastitis.

## Revisión de literatura

### 2.1. Definición y frecuencia

La mastitis bovina implica la inflamación de las glándulas mamarias o la ubre, lo que provoca dolor, molestia y estrés en los animales, como consecuencia ocasiona la disminución en la producción, calidad y condición de la leche, puesto que se evidencia cambios en el sabor, olor y aumento de la carga bacteriana (Mera et al., 2017).

A pesar de los métodos modernos establecidos para el control de la mastitis bovina, es una de las mayores causas de pérdidas económicas en la producción lechera, sufrimiento animal, efectos negativos en la calidad de la leche y reducción en la higiene del producto (Chaves et al., 2017).

En cuanto a la prevalencia de la mastitis bovina indicará el número total de animales que presentan síntomas o padecen de la enfermedad en un periodo de tiempo, dividido para la población con posibilidad de llevar a padecer dicha enfermedad. De acuerdo a Mora et al. (2015) la frecuencia de mastitis subclínica fue de un 28% por vaca y el 11% por cuartos.

### 2.2. Caracterización de mastitis bovina

#### 2.2.1. Etiología de la mastitis

De acuerdo con González y Vidal del Río (2021) se reconocen más de 100 microorganismos que ocasionan la mastitis, que la mayoría implican *estafilococos*, *estreptococos* y *Gram-negativas*, para ello los divide en patógenos contagiosos y ambientales:

Los patógenos se dividen de acuerdo a la forma en la que el bovino adquirió la mastitis: 1=*Staphylococcus aureus*, 2=*Streptococcus agalactiae*, 3=*Corynebacterium spp*, 4=*Mycoplasma spp*, 5=*Cándida albicans*, 6=*Prototheca zopfi*, 7=*Escherichia coli*, 8=*Klebsiella spp*, 9=*Streptococcus dysgalactiae*, 10=*Enterococcus spp*.

Dado que los patógenos contagiosos se transmiten por el contacto entre vacas mediante el proceso de ordeño, que al no contar con las medidas de sanidad establecidas, trasladan los microorganismos de un animal a otro. En cambio, los patógenos ambientales implican diferentes microorganismos que no son propios de los bovinos, pero que pueden ser transportados mediante el contacto con los cuidadores, dos o más ordeños al día y el tipo de ordeño del animal.

### 2.2.2. Clasificación de la mastitis

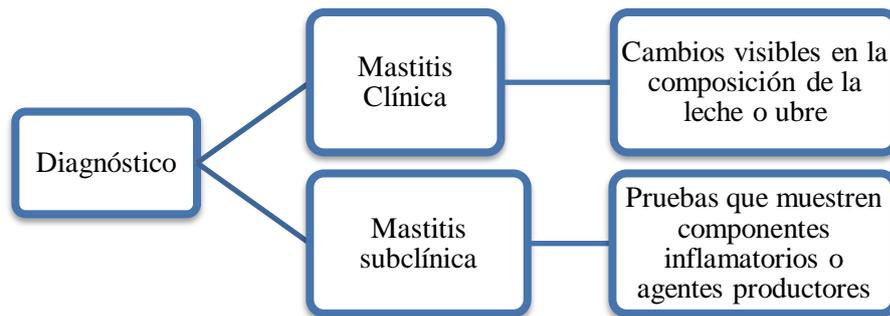
La mastitis de acuerdo al origen puede ser contagiosa y ambiental, la primera incluye organismos como: *Corynebacterium bovis*, *Mycoplasma spp*, *Streptococcus agalactiae* que son transmitidos de vaca a vaca a través de paños utilizados para limpiar las ubres, la leche residual en las pezoneras y un equipo de ordeño inadecuado (Chasi, 2015).

Por otro lado, la mastitis ambiental cuenta con organismos como *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, que trata de microorganismos patógenos que se introducen inadvertidamente en la glándula mamaria al realizar un tratamiento intramamario, es importante mencionar que este tipo de mastitis es el principal problema que afecta a los muchos hatos lecheros, que aplican un programa de control de los patógenos contagiosos (Chasi, 2015).

Por su parte, Brisuela et al. (2018), mencionan que la mastitis puede ser subclínica o clínica, la primera es difícil de detectar debido a la ausencia de cualquier signo visible, pero tiene alto impacto económico por el costo de la enfermedad; la segunda, es definida como la anormalidad en la glándula mamaria de la vaca, se caracteriza por alteraciones obvias en la ubre, por ejemplo: picor, enrojecimiento en la zona afectada, hinchazón, cambios en la apariencia de la leche y su composición (Quevedo, 2018).

### 2.2.3. Diagnóstico de mastitis

El rápido diagnóstico de la mastitis bovina es importante para el inicio del tratamiento del animal afectado y el control para prevención de contagios, de tal forma que se logre impedir que la infección se agudice en la glándula mamaria y que trascienda a otros animales. En este sentido, el caso de la mastitis clínica cuyos síntomas son evidentes, se realiza de manera directa por el personal del establecimiento mediante el tacto o despunte de leche en un jarro de fondo oscuro. En el caso de mastitis subclínica, presenta desafíos únicos, puesto que depende de la evaluación de ciertos parámetros en la leche cuyos valores alteran el producto. Lo mencionado se resume a continuación:

**Figura 1.***Diagnóstico de mastitis por tipo*

Nota. Adaptado de García et al. (2018)

El método para detectar la mastitis subclínica implica el análisis biológico de componentes inflamatorios o microorganismos, la forma más utilizada para el diagnóstico es con la prueba California Mastitis Test [CTM]. En el caso de la mastitis clínica se emplea la observación, tacto y jarro de fondo negro.

**2.2.4. Prueba de Jarro de Fondo Negro**

Dispositivos que cuentan con fondo negro como jarros, son utilizados para realizar el despunte de leche antes del proceso de ordeño de la vaca. Esto quiere decir, que se obtiene los 2 o 3 primeros chorros de leche y se observa alguna anomalía en la composición o color de la misma, entre lo más frecuentes se encuentran grumos, filamentos o coágulos. Esta técnica es usada para determinar mastitis clínica, la cual se acompaña de alteraciones en la ubre como inflamación o cambios de temperatura u otros indicadores de la presencia de la patología en cuestión (Bedolla, 2018).

**2.2.5. Prueba CMT**

El California Mastitis Test es el instrumento más utilizado para diagnosticar la mastitis en el ganado bovino lechero, puesto que realiza el recuento de células somáticas de la leche y a pesar de que no se obtiene un resultado numérico, si representa un nivel alto o bajo de las mismas, ante el resultado por encima de la reacción vestigial, se interpreta como sospechoso. En el caso de la mastitis aguda, los conteos de células somáticas pueden ser hasta de millones (Bonifaz y Conlago, 2016).

**2.2.6. Diagnóstico bacteriológico de mastitis**

Para el reconocimiento de microorganismos causantes de la mastitis se siguen por lo general procesos de cultivo de la leche de vaca que sirve para caracterizar los patógenos que ocasionan la mastitis. A decir de Colorado et al., (2018), una de las formas de diagnóstico

bacteriológico de mastitis es la tinción de Gram, posteriormente se realizan diferentes pruebas que confirman la presencia de patógenos.

Por su parte, la prueba 3M Placas PetrifilmMR Staph Express, que implica un medio de cultivo diferenciado de acuerdo a cada posible tipo de patógeno, tal como se describe a continuación:

- *Staphylococcus aureus*: en el que se utiliza un agente gelificante, en un medio modificado y se identifican colonias rojo-violeta como positivo para este microorganismo.
- *Listeria sp*: se agregan 400 µl del cultivo, luego se sumergen en agua hirviendo a 100°C, se insertan reactivos y si aparece una línea roja indica que es negativo a la presencia del patógeno, pero si hay dos líneas rojas indica que es positivo.

### 2.2.7. Cultivo bacteriano de mastitis

Desde la apreciación de Ostos et al. (2019) el cultivo celular es una alternativa en la producción masiva de microorganismos necesarios para analizar agentes patológicos, en este caso la relevancia radica en las técnicas de laboratorio para el análisis o detección de las cepas según la intención de la investigación.

El cultivo bacteriano para la identificación de la incidencia de patógenos en la mastitis que se aplica por cada muestra de leche dura entre 24 a 48 horas en una temperatura de 37°. Los resultados, aportan a la identificación de las células somáticas producto de los diferentes agares en las placas de cultivo (Mulato, 2018).

Para el análisis, la toma de muestras debe recopilarse en recipientes estériles previo a un proceso de etiquetado, en tanto que la transportación requiere de un ambiente de hasta 4 grados centígrados. En el laboratorio, se las incorpora en cajas Petri, sin duda un proyecto presenta mayor aislación de microorganismos pasadas las 48 horas (Aguirre, 2016).

A nivel internacional, según el Comité de Seguridad Alimentaria (2014) en el caso de la producción láctea, las principales pérdidas se producen en el proceso de manipulación inicial de la leche ante la falta y la tecnificación para el ordeño y saneamiento adecuado. Por todo ello, se produce la contaminación del ganado con cuantiosas pérdidas para los pequeños productores, entre los factores de pérdida sobresale la mastitis que afecta en la calidad del producto.

Así, ante la preocupación sobre las afectaciones económicas en la ganadería en España, Yera y Ramírez (2016) reconocen el costo de enfrentar a la mastitis ya sea en el ordeño manual o mecánico, por ello se plantean como objetivo determinar la prevalencia de la

mastitis clínica en 1040 vacas de raza Holstein en una cooperativa de 12 organizaciones locales. En cuanto a la metodología, las autoras recurrieron a cultivos de laboratorio donde obtuvieron que el 4,65% de los microorganismos patógenos corresponde a *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corinebacterium pyogenes*, sin embargo, la afectación en la calidad de los productos fue leve, mientras que el medio de contagio aún persiste por condiciones ambientales.

En el caso de Colombia, Arroyave (2015), aplica la técnica de CMT en 121 animales de producción bovina del departamento de Antioquía, que se distribuyen en 15 fincas, de ahí se obtiene que este tipo de técnica es funcional sin importar el tipo de ordeño. En tanto que el diagnóstico se considera la diferente anatomía de los animales y la salubridad en los hatos ganaderos.

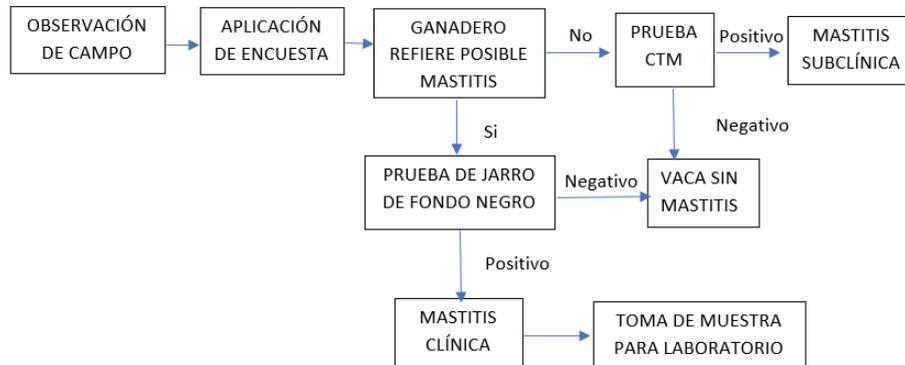
Por su parte, Ramírez (2015), busca determinar la prevalencia y los factores predisponentes a la mastitis subclínica de cabezas de ganado en lactancia, con la prueba CTM se evaluó la prevalencia en 1162 cuartos de 300 vacas de producción, los resultados indicaron que existe el 53% de prevalencia y que la higiene de la ubre, tamaño del establo, periodo y número de lactación, profilaxis de la sala de ordeño y el uso de sellador en la ubres, son los factores determinantes en el desarrollo de la mastitis subclínica, en otras palabras, un alto índice de prevalencia de la mastitis se debe al manejo de ordeño y el ambiente de crianza del ganado vacuno lechero.

De igual manera, Avellan et al. (2019), buscan determinar la prevalencia de mastitis subclínica en el ganado bovino en la provincia de Manabí, para ello se evaluó a 280 vacas en ordeño durante 6 meses, para determinar la prevalencia se utilizó la prueba California Mastitis Test, los resultado indicaron que existe una prevalencia de 38,57% en los cuatro cuartos mamarios, se encontró un 15,76% de prevalencia de mastitis, lo que implica que dicha prevalencia es alta y está relacionada con problemas sanitarios en la rutina de ordeño y como consecuencia provoca pérdidas económicas a los productores.

**Materiales y métodos**

**3.1. Metodología**

**Figura 2**



*Proceso de identificación de mastitis clínica y subclínica*

**3.1.1. Materiales**

**Tabla 1**

*Materiales*

Físicos		Químicos	Biológicos
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Papel secante</li> <li>▪ Paletas para prueba de CMT</li> <li>▪ Reactivo en solución para detección de mastitis (CMT)</li> <li>▪ Guantes desechables</li> <li>▪ Etiquetas de identificación</li> <li>▪ Caja térmica para el transporte de muestras</li> <li>▪ Tubos de transporte</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Agua destilada</li> <li>▪ Calentador</li> <li>▪ Balanza digital</li> <li>▪ Autoclave</li> <li>▪ Cinta testigo</li> <li>▪ Rotuladores</li> <li>▪ Alcohol</li> <li>▪ Mechero</li> <li>▪ Espátulas</li> <li>▪ Asas de siembra</li> <li>▪ Fosforera</li> <li>▪ Pipetas automáticas</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Agar manitol para el <i>Staphylococcus</i></li> <li>▪ Agar base sangre para <i>Streptococcus</i></li> <li>▪ EMB para identificar enterobacterias o patógenos ambientales</li> <li>▪ Tinción de Gram</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Sangre de bovinos</li> <li>▪ Muestra de leche.</li> </ul>

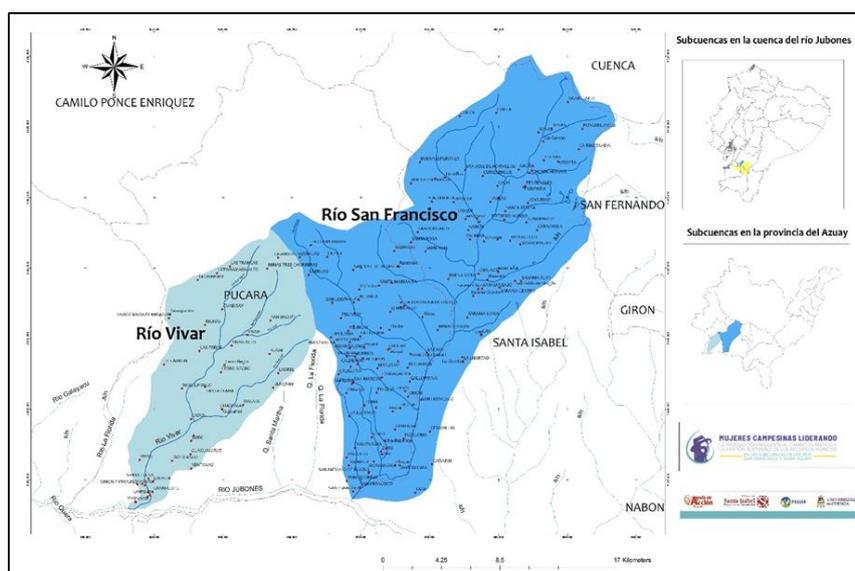
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Cajas Petri</li> <li>▪ Tubos de ensayo</li> <li>▪ Caja porta objetos</li> <li>▪ Aceite de inmersión</li> <li>▪ Microscopio</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Puntas para pipeta de 100 ul y 1000 ul</li> <li>▪ Gradilla</li> <li>▪ Cámara de seguridad</li> <li>▪ Refrigeradora</li> <li>▪ Incubadora</li> <li>▪ Pipeta</li> <li>▪ Mandiles</li> <li>▪ Erlenmeyer</li> </ul>		
--	--	--	--

### 3.2. Área de estudio

La investigación se llevó a cabo en las subcuencas del río San Francisco y Vivar ubicados en la cuenca hidrográfica del río Jubones, en el cantón Santa Isabel de la provincia del Azuay, específicamente en las comunidades de Puculcay, Sarama y Hornillos. El clima es variado y presenta oscilaciones entre 8 ° y 24 ° C, tiene una altura que va desde los 100 msnm hasta los 4000 msnm y está ubicado a 62 km de la ciudad de Cuenca (Vélez, 2008).

A continuación, se presenta la ubicación en el mapa de la zona de estudio.

**Figura 3**



*Área de estudio*

**Fuente:** Google Maps

**Nota:** Mapa de Ubicación de las comunidades de Puculcay, Sarama y Hornillos, entre las coordenadas UTM 17 s 652 769 m – 666 712 m E y 9 652 536 m – 9 632 788.

### **3.3. Observación de campo**

#### **3.3.1. Encuesta**

Para la recolección de datos en las comunidades de Puculcay, Sarama y Hornillos se utilizó una hoja de registro compuesta por 19 preguntas sobre sanidad animal, adaptadas de la entidad pública Agrocalidad, 2021. La misma fue aplicada a 20 productores de la zona rural.

#### **3.3.2. Prueba de jarro de fondo negro**

Para realizar la prueba de jarro de fondo negro, se siguió el procedimiento especificado por Velázquez y Vega (2012):

- Se lavó y secó la glándula mamaria y los pezones antes de realizar la toma de muestra.
- Se realizó un correcto despunte y se direccionaron los primeros 3 chorros de leche en un jarro de fondo negro.
- Se analizó si la muestra recolectada presentaba anomalías.
- Se secaron nuevamente los pezones con toallas desechables.

#### **3.3.3. Prueba de CMT**

El procedimiento que se usó para aplicar la técnica CMT fue el especificado por Bedolla (2018):

- Se lavó y secó la glándula mamaria y los pezones antes de tomar la muestra.
- Se realizó un correcto despunte y se eliminaron los primeros chorros de leche.
- Se secaron nuevamente los pezones con toallas desechables.
- Se tomaron muestras de leche de 2 ml en cada una de las copas de la paleta.
- Se agregó un valor igual de CMT a la muestra de cada cuarto mamario.
- Se mezcló durante 20 segundos con una ligera rotación y en una posición horizontal lo cual se puede observar en el anexo

### **3.3.4. Transporte de muestras de leche**

Las muestras se transportaron al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad de Cuenca en cajas térmicas a una temperatura entre 2 a 8 °C.

### **3.3.5. Conservación**

Las muestras de leche se conservaron en el laboratorio a una temperatura de -20°C.

### **3.3.6. Pruebas de laboratorio**

Para identificar los patógenos que ocasionan la mastitis clínica, se utilizó la prueba de jarro de fondo negro, con la cual, aquellas vacas que presentaron una alteración en la calidad de leche o síntomas clínicos, pasaron a una segunda fase de obtención de nuevas muestras. Las cuales se mantuvieron mediante cadena de frío y se identificaron mediante la etiqueta de frascos con la fecha y la hora de recolección.

La observación fue el instrumento de medición del estudio al momento de realizar y analizar los cultivos, ya que las muestras se sometieron a 3 medios de cultivo en el que se utilizó Agar Nitol, Agar en Base- Sangre al 5 %, EMB (específicamente para patógenos). Posterior a esto se realizó la identificación de cada colonia de bacteria presente en los medios.

### **3.3.7. Cultivos bacterianos**

#### **3.3.7.1. Esterilización de materiales usados**

- a) Limpiar la mesa de trabajo con alcohol.
- b) Limpieza del esterilizador o autoclave de calor seco.
- c) Colocación de materiales a esterilizar (Asas, tubos de ensayo con medios, medios a utilizar para cultivos entre otros).
- d) Cerrar adecuadamente la autoclave y colocar 160°C a 15 lb/in<sup>2</sup> de presión/ 60 minutos.
- e) Revisar continuamente el manómetro y regular la temperatura.
- f) Apagar la autoclave y dejar que su presión baje a cero y luego se procede a abrirla cuidadosamente (Bello A, Gonzáles G, 2015).

#### **3.3.7.2. Preparación de medios de cultivo (sólidos)**

- a) Pesar el agar a ser usado en una balanza analítica.

- b) Medir el volumen de agua destilada en un matraz, en el mismo se vacía el agar antes pesado.
- c) Diluir en el agua destilada el agar usado con fuego directo (el matraz se debe tapar con papel de aluminio, simulando una tapa). Mover el matraz constantemente para evitar que el agar se quemé. No agitar cuando exista la presencia de burbujas.
- d) Listo el agar, se procede a sellar con cinta y papel aluminio. Esterilizar en la autoclave a 121°C (15 libras de presión) por 15 – 20 minutos.
- e) Luego de esterilizar, se procede a distribuir en cajas Petri, que van de acuerdo a su diámetro. (Bello A, Gonzáles G, 2015)

### **3.3.7.3. Siembra o inoculación.**

- a) Tomar el medio de transporte, esterilizar la boca del frasco.
- b) Colocar el hisopo en agua destilada, con la finalidad de diluir la carga bacteriana.
- c) Esterilizar un asa de siembra en el mechero y dejarla enfriar.
- d) Tomar la muestra del cultivo líquido diluido con el asa.
- e) Extender la muestra en la placa en tres sectores formando estrías o líneas sobre la superficie, siguiendo un patrón definido.
- f) Esterilizar y enfriar el asa en cada sector.
- g) Repetir dos veces más para tener triplicado.
- h) Colocar las cajas en la incubadora en posición invertida a 35 °C por 24 a 48 horas.
- i) Examinar las cajas Petri, comprobando si existe presencia y crecimiento de bacterias o ausencia de las mismas (Bonilla Salinas et al., 2016).

### **3.3.8. Pruebas de identificación bacteriana**

#### **3.3.8.1. Tinción de GRAM**

- a. Se realizó un frotis de la colonia a ser observada. Para esto se colocó 1 gota de agua en el centro de un portaobjetos limpio. Luego con el asa se procedió a tomar una colonia a evaluar y se colocó en la gota de agua (previamente esterilizado). Se homogeneizar la

muestra y se extendió. Se esperó a que se seque y se aceleró el proceso acercando a la flama del mechero.

- b. Se agregó unas gotas de cristal violeta y al 1 minuto, se enjuagó con agua destilada.
- c. Se agregó lugol y en 1 minuto, se enjuagó con agua destilada eliminando el excedente.
- d. Se agregaron gotas de alcohol acetona y después de 20 segundos, se procedió a enjuagar y eliminar el excedente de agua.
- e. Se agregó safranina por 1 minuto, enjuagó y dejó secar.
- f. Se observó en el microscopio.
- g. Se procedió a la toma de datos e identificación (Lagunas, Vega y García, 2018).

### **3.3.9. Pruebas bioquímicas**

#### **3.3.9.1. Pruebas de sensibilidad o antibiograma.**

- a) Se preparó el medio de cultivo para el antibiograma, dejarlo enfriar a 45 – 50 °C.
- b) Colocó el medio en cajas Petri, para obtener una capa de 4 mm de espesor.
- c) Dejar solidificar el medio de cultivo y luego esperar a que se enfríen las placas por al menos 30 minutos antes de usar para inoculación.
- d) Inocular la placa mediante hisopo estéril del germen de 18 - 24 horas de incubación, con una turbidez equivalente a  $1,5 \times 10^6$  bacterias (Tubo 5 de la escala de Mc Farland). Para la inoculación sumergir el hisopo estéril en el cultivo y eliminar el excedente rotándolo finalmente contra la parte interna del tubo. Finalmente frotar el hisopo sobre la superficie del medio de cultivo.
- e) Repetir esta operación por tres veces sucesivas, rotando la placa para obtener una dispersión uniforme del inóculo en toda la superficie.
- f) Colocar la tapa de la placa y dejar secar el líquido por al menos 3 a 5 minutos.
- g) Se colocaron los discos impregnados de antibióticos por medio de pinzas estériles o aplicador de discos. Oprimir los discos suavemente con una pinza con un buen contacto con el medio. La distribución de los discos debe estar a 15 mm de la pared de la placa y a 30 mm entre ellas.

h) Incubar a 35 – 37 °C, por al menos 18 – 19 horas (En caso de requerir resultados con rapidez, se pueden leer las zonas de inhibición después de 6 – 8 horas de incubación, los resultados pueden ser confirmados por una nueva lectura después de la incubación por 18 a 19 horas).

i) Se observó el crecimiento bacteriano alrededor del disco impregnado con antibiótico.

j) Se procedió a medir en mm, en caso de no existir crecimiento bacteriano (El área de alrededor que no presenta crecimiento se denomina diámetro de la zona de inhibición o DZI).

k) Se procedió a realizar comparación con cuadros estándares de interpretación. La cepa se clasifica como: susceptible (S), moderado (M), resistente (R) (Pedrique M, 2002).

Los cuadros estándares con los que se guió la investigación son: CLSI (Clinical and Laboratory Standards), EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy), SFM (Société Française de Microbiologie) y DIN (Deutsches Institut Für Normung).

### **3.4. Metodología experimental**

#### **3.4.1. Unidad muestral**

El estudio se realizó en las comunidades de Puculcay, Sarama y Hornillos del cantón Santa Isabel, por medio del acceso al ganado bovino perteneciente a 20 productores identificados en el informe del proyecto “Mujeres Campesinas Liderando” de la Universidad de Cuenca en consorcio con el GADM de Santa Isabel, publicado en el 2021, los mismos que cuentan con una total de 2.201 vacas.

#### **3.4.2. Tamaño de la muestra**

El total de animales a muestrear se determinó con la siguiente fórmula:

$$n = \frac{z^2 N p q}{e^2 (N - 1) + (z^2 p q)}$$

**n= tamaño de la muestra**

**z= nivel de confianza**

**p= probabilidad de que ocurra el evento**

**q= probabilidad de que no ocurra el evento**

**N= Tamaño del universo**

**e= error estimado**

**Reemplazamos y tenemos:**

**z= 95% (1.96)**

**p= 0.5**

**q= 0.5**

**N= 2029 total de animales**

**e= 0.05**

$$n = \frac{1.96^2 2029 (0.5)(0.5)}{0.05^2 (2029 - 1) + (1.96^2)(0.5)(0.5)}$$

$$n = 324 \text{ animales}$$

Sin embargo, cabe mencionar que, el acceso a la población de estudio fue limitado, debido a que los ganaderos contaban con un número menor de ganado al esperado por motivos de venta de los mismos o no encontrarse en producción. Es por ello que, la muestra recolectada es menor, pero es el total de la población de ganado vacuno (226) de 20 ganaderos del cantón Santa Isabel de la provincia del Azuay.

### **3.4.3. Criterios de inclusión y exclusión**

#### **Inclusión:**

Vacas en producción, sin tomar en cuenta la raza

Mínimo de 1 partos

#### **Exclusión:**

Vacas con más de 300 días de lactancia

### **3.4.4. Técnica estadística**

La información procesada a excepción de los resultados de los cultivos respectivos que fueron confirmadas posteriormente por el laboratorio designado, fueron recolectadas in situ a través

de encuestas para ser tabuladas en Excel. Esta base de datos fue importada al programa estadístico SPSS para su análisis respectivo

El análisis estadístico implementó tablas de frecuencia para la estimación de mastitis clínica y subclínica, y también tablas de contingencia para determinar la relación entre la presencia de mastitis, tipo de mastitis (clínica y subclínica), tipo de agente biológico (ambiental o contagioso), microorganismo patógeno (agente bacteriano) y factores de riesgo asociados.

Al ser las variables de tipo cualitativas, se usó la prueba de asociación no paramétrica Chi cuadrado, misma que fue específica para evaluar la independencia entre las variables: tipo de mastitis, agente biológico, microorganismo biológico y factores de riesgo asociados con la presencia de mastitis, para realizar el contraste de la información y obtener un valor al que se asocia una significancia que indica si existe relación o no entre estas variables analizadas.

Por último, se implementó pruebas que permitieron establecer una relación de asociación entre estas variables según el tipo de tablas del estudio; por tanto, en tablas 2x2 se implementó el estudio de riesgo para poder definir si existieron factores de protección o exposición en relación a la presencia de mastitis; mientras que, en tablas mayores a 2x2, se implementó el coeficiente de contingencia para determinar el grado de asociación entre las variables de análisis.

## Resultados y discusión

La investigación actual se basó en la recopilación de información de 20 ganaderos pertenecientes a diferentes zonas rurales del cantón Santa Isabel de la provincia del Azuay: Puculcay, Hornillos y Sarama, con una población de 226 vacas. Las cuales tenían edades comprendidas entre los 3 a 6 años, siendo las de 3 años el 56.2% del total de la población estudiada. Además, la época de lactancia que corresponde a la etapa 1 fue del 55.8% de la población, seguida de la etapa 2 con una representatividad del 35.40%. En cuanto a los partos, 127 vacas registraban 1 y el número restante se encontraba entre 2 a 4 partos registrados por sus propietarios.

El objetivo general del estudio consistió en evaluar la frecuencia de mastitis en vacas de las comunidades Puculcay, Sarama y Hornillos del cantón Santa Isabel de la provincia del Azuay, los resultados que se obtuvieron luego de los análisis respectivos establecen que, de los 226 bovinos dentro del estudio, la presencia de mastitis fue del 43,8% representado por 99 animales (Tabla 2). Según su distribución por las comunidades estudiadas: Puculcay representa el 76,8% con 76 animales, seguido por la comunidad Holmillos ante el 10,1% con 10 animales y finalmente Sarama representado con 13,1% con 13 animales (Tabla 3).

Resultados que son menores a los expuestos por Martínez, 2015, en el cual el 20.68% de 208 vacas de una zona rural de la provincia de Pichincha presentaban mastitis, que se describe como la afectación a las ubres, calidad de la leche y pérdida económica para los ganaderos, detalle que señala la autora de la investigación. Además, en el cantón Cayambe, de un total de 220 vacas, 141 (64%) casos presentan mastitis, resultado mayor al expuesto en el presente estudio (Bonifaz y Conlago, 2016). Dichas investigaciones son contextualizadas en zonas rurales del país, lo que nos permite una comparación regional sobre la presencia de mastitis bovina.

**Tabla 2**

*Frecuencia de presencia general de mastitis en vacas.*

	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
<b>Si</b>	99	43,8%
<b>No</b>	127	56,2%
<b>Total</b>	226	100%

**Tabla 3**

*Frecuencia de presencia de mastitis en vacas en las comunidades Puculcay, Sarama y Hornillos del cantón Santa Isabel.*

<b>Comunidad</b>		<b>Animales=226</b>	
		<b>Positivos</b>	<b>Negativos</b>
<b>Puculcay</b>	<b>N</b>	76	60
	<b>%</b>	76,8%	47,2%
<b>Hornillos</b>	<b>N</b>	10	10
	<b>%</b>	10,1%	7,9%
<b>Sarama</b>	<b>N</b>	13	57
	<b>%</b>	13,1%	44,9%

#### **4.1. Presencia de mastitis subclínica y clínica entre las comunidades**

La presencia de mastitis subclínica en la comunidad de Puculcay obtuvo el 75,8% de casos con 72 animales, en la comunidad Hornillos tenemos el 10,5% de casos con 10 animales y la comunidad de Sarama con 13,7% representado con 13 animales. Mientras tanto, para los casos de mastitis clínica en la comunidad de Puculcay, se obtuvo el 100% de casos con 4 animales, seguido por la comunidad Sarama y la comunidad de Hornillos con 0% (Tabla 4). Es decir, que los casos de mastitis subclínica representan el 95,95% y la mastitis clínica el 4,05%.

La presencia de mastitis clínica y subclínica son resultados presentes en otros estudios, en la investigación realizada por López et al. (2012), existe una prevalencia de mastitis subclínica del 48.3% y de mastitis clínica 6.1%, resultado similar al de la investigación actual, en la cual la mastitis subclínica es mayor a la mastitis clínica. Sin embargo, existen resultados contrarios como los presentados por Rodríguez y Muñoz (2017), quienes concluyen que, de la muestra al azar de 35 vacas, 31 presentaban mastitis, la cual se catalogó en 81% mastitis clínica en base a la prueba de la taza de fondo negro y el porcentaje restante (19%) mastitis subclínica mediante la prueba CTM.

Tabla 4

Frecuencia de presentación de mastitis subclínica y mastitis clínica en vacas de las comunidades Puculcay, Sarama y Hornillos del cantón Santa Isabel.

Comunidad	Animales=226		
	Negativo = 127	Mastitis Subclínica = 95	Mastitis Clínica = 4
Puculcay	N	60	72
	%	47.2%	75.8%
Hornillos	N	10	10
	%	7.9%	10.5%
Sarama	N	57	13
	%	44.9%	13.7%

#### 4.2. Determinación de agentes patógenos en mastitis clínica.

La presencia de mastitis clínica según el agente etiológico evidenció que el 100% de los casos están representados por 4 bovinos de los que se obtuvo agentes etiológicos mezclados, siendo estos: *Estafilococos spp*, *Streptococos spp* y *Enterobacter* (Tabla 5).

De los agentes etiológicos enumerados y sus frecuencias, coinciden con los resultados expuestos por Brisuela et al., 2018, en el cual, los agentes causales de mastitis son *Estafilococos aureus* (58.8%), seguido de *Estafilococos agalactiae* (13.2%) y de manera opuesta a los resultados actuales, las infecciones mixtas se presentan por los dos agentes mencionados. Mientras que, de manera contraria, en vacas de la microcuenca lechera de Antioquía – Colombia, los agentes etiológicos más frecuentes son 34% de *Streptococcus agalactiae* y 10,2% a *Estafilococo coagulasa negativo* (Ramírez et al., 2011).

Tabla 5

Determinación de agentes patógenos en mastitis clínica

Agente Biológico	Animales=4	
	N	Mastitis clínica
<i>Estafilococos spp</i> ,	4	
<i>Streptococos spp</i> ,		100,0%
<i>Enterobacter</i>		

#### 4.3. Determinación de agentes patógenos en mastitis subclínica.

La presencia de mastitis subclínica según el agente patógeno, evidenció que como agente causal principal se encuentra el *Estafilococos spp* con 58,5% representado en 55 animales, seguido por una infección entre *Estafilococos spp* y *Estreptococos spp* con 21,3% con 20 animales, continuando por una infección entre *Estafilococos spp* y *Enterobacter* con 8,5% con 8 animales, posteriormente una contaminación entre *Estafilococos spp*, *Estreptococos spp* y *Enterobacter* con el 7,4% representado por 7 animales y finalmente la contaminación con *Estreptococos spp* con 4,3% representado con 4 animales (Tabla 6).

La presencia de mastitis subclínica en la investigación actual, es menor a lo prevalencia del 65.55% reportada por Santivañez et al., 2013, en vacas pertenecientes a haciendas de los Andes Peruanos y mayor al 10,67% reportado por Acuña y Rivadeneira (2008) en Sangolquí – Ecuador.

Sin embargo, en cuanto al agente patógeno, se reportan similitudes en la presencia elevada de *Staphylococcus* (40,00%) y seguido de *Staphylococcus coagulasa negativa* (28,00%) y *Streptococcus spp* (17,00%). A la par, en diversos estudios realizados para otros países, se coincide con la presencia de *Staphylococcus* como el agente más común como causa de mastitis subclínica, lo cual coincide con los resultados del estudio actual (Della et al., 2001; Gonzales y Wilson, 2022).

**Tabla 6**

*Determinación de agentes patógenos en mastitis subclínica*

Agente Biológico	Animales = 94 Mastitis Subclínica	
	N	%
<i>Estafilococos spp</i>	55	58,5%
<i>Estreptococos spp</i>	4	4,3%
<i>Estafilococos spp</i> <i>Estreptococos spp</i>	20	21,3%
<i>Estafilococos spp</i> <i>Enterobacter</i>	8	8,5%
<i>Estafilococos spp</i> <i>Estreptococos spp</i> <i>Enterobacter spp</i>	7	7,4%

#### 4.4. Factores de riesgo

De los 9 factores de riesgo evaluados (Tabla 7), se evidencia que 3 manifestaron significancia estadística y se procedió a establecer a estos factores la prueba de ODDS ratio para conocer la intensidad y dirección de dicha asociación.

**Tabla 7**

*Factores de riesgo evaluados para la presentación de Mastitis*

<b>Característica</b>	<b>Variable</b>	<b>P</b>
Desinfección previa al ordeño	Si - No	0,713
Los animales con síntomas clínicos son los últimos en ordenar	Si - No	0,049
Se realizaron cuarentena a los animales con síntomas de enfermedad	Si - No	0,010
Buenas condiciones en las vías para el ingreso de personas, animales y vehículos	Si - No	0,499
Los comederos y bebederos están contruidos, ubicados y mantenidos de manera que se minimice la contaminación de agua y alimento	Si - No	0,000
¿Se encuentran ubicadas en lugares que faciliten el manejo y bienestar de los animales?	Si - No	0,052
Permite una fácil limpieza para evitar la acumulación de estiércol, lodo y sustancias orgánicas que puedan contaminar	Si - No	0,214
Se utiliza ropa limpia al momento del ordeño	Si - No	0,357

Tabla 8

*Cálculo de ODSS para factores relacionados con la presencia de Mastitis*

Factor de riesgo	Positivo	Negativo	P	OD	Lim Inf	Lim Sup
Los animales con síntomas clínicos son los últimos en ordenar						
<b>Si</b>	6	18	0,049	0,391	0,149	0,968
<b>No</b>	93	109				
Se realizaron cuarentena a los animales con síntomas de enfermedad						
<b>Si</b>	3	16	0,010	0,217	0,061	0,767
<b>No</b>	93	111				
Los comederos y bebederos están contruidos, ubicados y mantenidos de manera que se minimice la contaminación de agua y alimento						
<b>Si</b>	75	118	0,000	0,534	0,406	0,703
<b>No</b>	24	9				

No se evidenció diferencias estadísticas ni asociación causal para la desinfección realizada previamente al ordeño frente a la presencia de mastitis. Resultado contrario a las conclusiones presentadas por Ramírez, (2015), quien expone que la mala higiene de la ubre, sala de ordeño y el uso de sellador, son los factores determinantes en la presencia de la mastitis en el ganado.

Los animales con síntomas clínicos son los últimos en ordeñar, es un factor que presentó significancia ( $P=0,049$ ). Por lo tanto, el ordeñar en último puesto a los animales con signos clínicos de mastitis reduce el riesgo ( $OD=0,391$ ) actuando como factor de protección; resultado que concuerda con los planteados por Mendoza, Vera y Peña, 2017, en el cual concluyen que la detección temprana de mastitis más la segregación de animales contagiados, son un factor de protección al momento de evitar contagios.

El procedimiento de cuarentena para los animales con síntomas de enfermedad mostró significancia estadística ( $p=0,010$ ). Por lo tanto, el realizar cuarentena a animales con síntomas de enfermedad, reduce el riesgo ( $OD=0,217$ ) siendo este un factor más de protección; el cual data del plan de disminución de infecciones para el ganado y que se considera un factor de protección en conjunto al trato médico adecuado de los casos positivos en mastitis (Prado, 2015).

No se encontró significancia estadística ( $P=0,499$ ) entre la variable buenas condiciones en las vías para el ingreso de personas, animales y vehículos ante la presentación de mastitis.

En cuanto al factor: los comederos y bebederos están contruidos, ubicados y mantenidos de manera que se minimice la contaminación de agua y alimento, presentó significancia ( $P=0,000$ ). Por lo tanto, los comederos y bebederos contruidos, ubicados y mantenidos de manera que se minimice la contaminación de agua y alimento, reducen el riesgo de presentación de mastitis ( $OD=0,54$ ), siendo este un factor de protección. Resultado que coincide con las aportaciones de Sánchez et al., 2022, quienes señalan que la profilaxis tanto al momento del ordeño como del ambiente del ganado, podrá ser un factor que disminuya un posible contagio o aparición de mastitis.

No se encontró significancia estadística ( $P=0,052$ ), ni asociación causal entre la variable “Se encuentran ubicadas en lugares que faciliten el manejo y bienestar del paciente” y la presentación de mastitis.

La literatura indica que aquellos hatos que están expuestos a malas prácticas de ordeño e higienización, son más propensos a desarrollar mastitis bovina (Hans, 2001), en el caso de la variable “Permite una fácil limpieza para evitar la acumulación de estiércol, lodo y sustancias orgánicas que puedan contaminar” ante la presentación de mastitis, se concluye que no existe una significancia estadística ( $P=0,214$ ) ni asociación causal con los casos de mastitis identificados en la investigación.

No se encontró significancia estadística entre la variable “Implementación de ropa limpia al momento de realizar el ordeño y la presentación de mastitis ( $P=0,357$ ), a pesar de que varias investigaciones señalan que la poca higiene de quien realiza el proceso de ordeño, predispone a la propagación y aparición de la mastitis bovina, en los casos registrados de mastitis en la investigación actual, no se encuentra una relación causal (Calderón y Rodríguez, 2008; Celis y Bedoya, 2016).

## Tabla 9

### *Determinación de agentes biológicos en mastitis clínica*

Agente Biológico	Animales = 94	
	N	Mastitis Subclínica
Ambiental y Contaminante	4	100%

La presencia de mastitis clínica según el agente biológico, evidenció que como agente causal principal tenemos de tipo ambiental y contaminante con 4 animales representando su 100% (Tabla 8); resultado que coincide con investigaciones realizadas en Colombia y Perú, en las cuales los agentes biológicos son causantes de mastitis, ya sea clínica o subclínica y corresponden a la falta de higiene a la hora del cuidado del ganado y ordeño en cuanto a el manejo de las ubres, lugar de ordeño, limpieza del hato lechero, entre otros (Rodríguez, 2006; Tineo y Andía, 2017; Sánchez, Gutiérrez y Posada, 2018).

**Tabla 10**

*Determinación de agentes biológicos en mastitis subclínica*

Agente Biológico	Animales = 94 Mastitis Subclínica	
	N	%
Negativo	5	5,26%
Contaminante	73	76,84
Ambiental y Contaminante	17	17,89%

La presencia de mastitis subclínica según el agente biológico, evidenció que como agente causal principal tenemos de tipo contaminante con 73 animales representando su 76,84%; seguido por tipo ambiental y contaminante de 17 animales con 17,89% y finalmente negativos con 5,26% con 5 animales que pueden ser de carácter secundario tales como procesos traumáticos, entre otros factores (Tabla 9).

Resultado similar a los aportados por García, Sánchez, López y Benítez, (2018), quienes concluyen que, en una muestra de 57 vacas, existe la presencia de mastitis subclínica en el 60% de los animales y que el agente biológico que predominó fue de tipo contaminante/contagioso.

## Conclusiones

La investigación llevada a cabo a 20 ganaderos de las comunidades de Puculcay, Hornillos y Sarama pertenecientes al cantón Santa Isabel de la provincia del Azuay con la finalidad de evaluar la frecuencia de mastitis, comparar la frecuencia entre mastitis clínica y subclínica, identificar los agentes patógenos causales de la enfermedad y determinar los factores de riesgo para la presencia de mastitis, concluye que:

- La comunidad de Puculcay presenta un mayor número de cabezas de ganado en comparación con las otras comunidades, por tal motivo, los casos de mastitis registrados son mayores en la zona en correspondencia a los registros y el procesamiento de datos.
- La frecuencia de mastitis bovina es menor en comparación al número de vacas que no presentan la enfermedad, siendo 99 animales infectados y 127 sanos, lo cual se considera un aspecto positivo, debido a que mientras menor sea el número de vacas con mastitis, mayor control de la infección en cada animal y prevención de contagios dentro del ganado.
- Al identificar el tipo de mastitis que presenta cada vaca, se concluye que el número de casos de mastitis subclínica es mayor a la clínica y que los casos se registran en todas las comunidades que fueron parte del estudio. Sin embargo, en el caso de la mastitis clínica, los casos solo se registran en la comunidad de Puculcay.
- En cuanto a los patógenos identificados mediante pruebas de laboratorio, solo se registran la presencia de 3 agentes en el caso de la mastitis clínica y subclínica (*Stafilococos ssp*, *Streptococos spp* y *Enterobacter*), pero en el registro de mastitis subclínica existe presencia mixta de los agentes en una variedad mayor en referencia a la mastitis clínica.
- En concordancia a los aportes de la literatura sobre la higienización y profilaxis a la hora del cuidado y ordeño de las vacas, el presente estudio concluye que los factores: ordeñar al último los animales con signos clínicos, realizar cuarentena a animales con síntomas de enfermedad, comederos y bebederos que minimicen la contaminación, son factores de protección que disminuyen la predisposición de los animales al contagio o desarrollo de mastitis dentro de los hatos lecheros.
- Los agentes biológicos y patógenos demuestran una relación causal con el desarrollo de la mastitis y los casos positivos registrados en el presente estudio, pero en el caso de la mastitis subclínica, la relación es más alta en comparación a la mastitis clínica.

- Se concluye que los resultados obtenidos son una muestra de los retos que representa la producción ganadera frente a la industria láctea y los derivados de la leche que son elaborados para el consumo humano, siendo en este caso los agentes ambientales y patógenos una de las causales más frecuentes para la mala calidad de la leche, por lo que se debe considerar una mejora en las condiciones del ganado, el cuidado y procedimiento a la hora del ordeño con un dirección de prevención de desarrollo de enfermedades que puedan afectar la calidad de la leche y a su vez, representar pérdidas económicas para los ganaderos.
- Las estrategias de control deben tener un enfoque diverso, debido a que la mastitis se presenta como una enfermedad multifactorial que depende tanto del ambiente, el manejo del ganado vacuno y las prácticas de ordeño.

### Recomendaciones

En base a los datos estadísticos recopilados y las conclusiones presentadas en la investigación, se recomienda:

- Que desde la academia se facilite un trabajo continuo con pequeñas, medianas y grandes productores ganaderos que perciben ganancias de la producción de leche diaria que tienen gracias al ordeño diario dentro de sus hatos, enfocado a mejorar el bienestar, alimentación y cuidado del ganado bovino.
- Incentivar a que los ganaderos tengan planes de prevención y control de enfermedades aprobados por instituciones públicas que se adecuen a lineamientos generales del cuidado del ganado bovino y el contexto en el cual se encuentran, ya que, la zona geográfica y sus condiciones varían entre sí.
- Asistencia técnica por parte de instituciones públicas y privadas en el manejo del ordeño, la higiene y la calidad de la leche, con la finalidad de que exista un crecimiento dentro de la industria que permita el beneficio de los productores y de la comunidad a la hora de impulsar la economía de zonas rurales.
- Finalmente, que estudios futuros consideren entre las variables el tipo de ordeño, lo cual puede ser un factor determinante a la hora del diagnóstico y control de la mastitis en el ganado.

## Referencias

- Agrocalidad. 2021. *Dirección de Vigilancia Zoonosanitaria*. Recuperado 16 de mayo de 2022 (<https://www.agrocalidad.gob.ec/direccion-de-vigilancia-zoonosanitaria-3/>).
- Aguilar, F., y Carlos Álvarez. 2019. *Mastitis bovina*. 1.a ed. Machala: UTMACH.
- Aguirre, A. (2016). *Determinación de los microorganismos asociados a la resistencia antibiótica en un grupo de vacas del Norte de Antioquía*. [Tesis de grado, Corporación Universitaria Lasallista]. Obtenido de [http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1937/1/DETERMINACION\\_MICROORGANISMOS\\_ASOCIADOS\\_MASTITIS\\_SUBLCLINICA.pdf](http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1937/1/DETERMINACION_MICROORGANISMOS_ASOCIADOS_MASTITIS_SUBLCLINICA.pdf)
- Arroyave, P. (2015). *Frecuencia de presentación de mastitis subclínica y comparación entre ordeño manual y ordeño mecánico por medio del CMT en vacas de leche*. Obtenido de [http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/2247/1/Frecuencia\\_mastitisSubclinica\\_comparacion\\_OrdenoManual\\_Orden.pdf](http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/2247/1/Frecuencia_mastitisSubclinica_comparacion_OrdenoManual_Orden.pdf)
- 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. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 8(1), 62-70.
- Bedolla, C. (2018). *Pruebas y métodos para el diagnóstico de la mastitis II*. BM Editores. Obtenido de <https://bmeditores.mx/ganaderia/pruebas-y-metodos-para-el-diagnostico-de-mastitis-ii-1705/>
- Benavides, E. (2017). *Factores asociados con la mastitis subclínica bovina en fincas lecheras de Zipaquirá, Cundinamarca*. Tesis de maestría en epidemiología. [Universidad del Rosario]. Bogotá.
- Bonifaz, N., & Colango, F. (2016). Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de california mastitis test con identificación del agente etiológico, en Paqui estancia, Ecuador. *La granja*, 24(2), 43–52. <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.03>
- Brisuela, J., Palacios, J., López, G., Hori, S., Herrera, J., Pujol, L., & Angulo, C. (2018). Identificación molecular y frecuencia de patógenos aislados de mastitis bovina en establos de la Península de Baja California, México. *Revista Mexicana de Ciencias*

*Pecuarias*, 9(4), 1-15. doi:<http://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v9n4/2448-6698-rmcp-9-04-754.pdf>

Bucio, A., Castañeda, H., & Izquierdo, F. (2020). Aplicación de la prueba CMT y del contador de células somáticas para evaluar la calidad de la leche de vaca en la leche de tanque. *Agroproductividad*, 13(14). Obtenido de <https://revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1619>

Calderón, A. & Rodríguez, V. (2008). Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano Cundiboyacense (Colombia). *Rev Colom Cienc Pecu*; 21: 582-589. Retrieved May 09, 2023, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0120-06902008000400006&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902008000400006&lng=en&tlng=es).

Celis, J., & Bedoya, O. (2016). *Presentación de mastitis en diferentes hatos lecheros del Norte y Oriente de Antioquia entre los meses de diciembre de 2015 - mayo 2016*. Corporación Universitaria Lasallista.

Chasi, E. (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 Muyurco, Cayambe - Ecuador, 2014*. [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana sede Quito]. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9839/1/UPS-YT00309.pdf>

Colorado, J., Echeverri, J., Olivera, M., & López, A. (2018). Microorganismos en cultivo bacteriológico de muestras de leche de vacas holstein clínicamente sanas. *CES medicina veterinaria y Zootecnia*, 31-41.

Comité de Seguridad Alimentaria. (2014). *Informe del grupo de alto nivel de expertos*. Obtenido de <https://www.fao.org/3/i3901s/i3901s.pdf>

Cortes, C. (2021). *Resistencia a antibióticos en bacterias causantes de mastitis bovina*. [Tesis de grado, Universidad de Cundinamarca]. Obtenido de <https://repositorio.ucundinamarca.edu.co/handle/20.500.12558/3458>

Della, A.; Araujo, W.; Costa, E.; García, M.; Távora, J.; Benatti, L. (2001). Características físico-químicas e microbiológicas do leite de vacas sem alteraciones o exámen físico da glândula mamaria y con alto conteo de células somáticas. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.* 1: 42-47.

- Estévez, M., & Estefanía, P. (2015). *Evaluación de dos dosis de ozono en el tratamiento de mastitis bovina*. [Universidad Central del Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/6968>
- Faría, J., García, A., D'Pool, G., Valero, K., Allara, M., & Angelosante, G. (2005). Detección de mastitis subclínica en bovinos mestizos doble propósito ordeñados en forma manual o mecánica. comparación de tres pruebas diagnósticas. *Revista Científica*, XV (2), 109-118.
- García, F., Sánchez, T., López, O., & Benítez, M. (2018). *Prevalencia de mastitis subclínica y microorganismos asociados a esta. Pastos y Forrajes*. Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03942018000100005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942018000100005)
- González, R., & Vidal del Río, M. (2021). Mastitis bovina y calidad de la leche, un desafío para la salud humana. *Revista Universidad y Sociedad*, 89-96.
- González, R., Wilson, D. (2002). *Realistic milk culture programs for herd expansion. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings*. Florida, February 3-2. 118-124
- INEC. (2015). ECUADOR – *Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua 2015*. Obtenido de: <https://anda.inec.gob.ec/anda/index.php/catalog/750/datafile/F23/V1300>
- Manjarrez, A., Zarco, S., Salazar, F., Carranza, V., Del Carmen, A., Castillo, G., Plliego, A., Rojas, T., Uxúa, M., Fresán, A., & Velázquez, V. (2012). *Identificación de biotipos de Staphylococcus aureus en vacas lecheras de producción familiar con mastitis subclínica en la región centro-este del Estado de México*. Org.mx. Recuperado el 24 de abril de 2023, de <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmcp/v3n2/v3n2a8.pdf>
- Mera, R., Muñoz, M., Artieda, J., Ortíz, P., González, R., & Vega, V. (2017). Mastitis bovina y su repercusión en la calidad de la leche. REDVET. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(11), 1-16. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63653574004.pdf>
- Mora, M., Vargas, B., Romero, J., & Camacho, J. (2015). *Factores de riesgo para la incidencia de mastitis clínica en ganado lechero de Costa Rica*. *Agronomía Costarricense*, 39(2), 77-89. doi:<https://www.scielo.sa.cr/pdf/ac/v39n2/0377-9424-ac-39-02-00077.pdf>
- Mulato, J. (2018). *Resistencia antibiótica y los agentes causales de mastitis en vacas*. [Tesis de Grado, Universidad Nacional de Huancavelica].

- Murillo, Y., Vázquez, J., Ayala, L., Pesántez, M., Pesántez, J., Serpa, V., Nieto, P. (2017). La rutina de ordeño en la prevalencia de la mastitis subclínica en lecherías del sur del Ecuador. *MASKANA*, 41-43.
- Ostos, O., Rosas, S., & González, J. (2019). *Aplicaciones biotécnicas de los microorganismos*. Nova. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v17n31/1794-2470-nova-17-31-129.pdf>
- Otzen, T., & Manterola, C. (2017). *Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio*. Int. J. Morphol, 227-232. Obtenido de <https://www.scielo.cl/pdf/ijmorphol/v35n1/art37.pdf>
- Peña, M. (2022). *Prevalencia de mastitis clínica y subclínica en cabras lactantes del distrito de Casitas – Tumbes, 2022*. Universidad Nacional de Tumbes.
- Pérez, M., & Tarafa, L. (2017). Evaluación del equipo Mas-D-Tec en el diagnóstico de campo de la mastitis subclínica en el ganado vacuno. *Revista de Salud Animal*, 39(3). Obtenido de [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0253-570X2017000300001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2017000300001)
- Prado, M. (2015). Mastitis bovina. *SEVET*.
- Quevedo, W. (2018). Recuento de células somáticas como indicador en la resistencia de la mastitis bovina. *Revista Ciencia, Tecnología e Innovación*, 16 (17), 1001-1012. doi:[http://www.scielo.org.bo/pdf/rcti/v16n17/v16n17\\_a05.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/rcti/v16n17/v16n17_a05.pdf)
- Quiceno, L. (2015). *Impacto productivo y económico de la mastitis en una lechería doble propósito de la sabana de Bogotá*. Tesis de grado. Universidad de la Salle.
- Ramírez, N., Arroyave, O., Cerón, M., Jaramillo, M., Cerón, J., & Palacio, L. (2011). Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, (22), 31-42. Retrieved April 24, 2023, from [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0122-93542011000200004&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-93542011000200004&lng=en&tlng=es).
- Ramírez, J. (2015). Prevalencia y factores predisponentes a mastitis subclínica en establos lecheros de la provincia de Trujillo. *CEDAMAZ*, 5 (1), 12-22. doi:<https://revistas.unl.edu.ec/index.php/cedamaz/article/view/41/39>

- Rodríguez, G. (2006). Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto económico en algunos hatos de la Sabana de Bogotá, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 1(12), 35-55.
- Rodríguez, R., & Muñoz, E. (2017). Frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana de bacterias causantes de mastitis en bovinos de un establo de Trujillo, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28 (4), 994-1001. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13874>
- Rodríguez, L. (2020). Prevalencia de mastitis subclínica en tambo lechero en Paraguay. *Revista de Medicina Veterinaria*, (40). doi:<https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss40.6>
- Sánchez, M., Gutiérrez, P., & Posada, I. (2018). Prevalencia de mastitis bovina en el Cañón de Anaime, región lechera de Colombia, incluyendo etiología y resistencia antimicrobiana. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(1), 226-239.
- Sánchez, D., & Mamani, G. (2022). Mastitis subclínica bovina y factores de riesgo ambientales en pequeños productores de ganado lechero criado en alta montaña. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 33 (1). Recuperado 01 de enero de 2023 <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v33i1.20466>
- Santivañez, C., Gómez, O., Cárdenas, A., Escobedo, M., Cárdenas, B., y Peña Sánchez, J. (2013). Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos. *Revista Veterinaria Y Zootecnia*, 7(2), 92–104. Recuperado a partir de <https://revistasojs.ucaldas.edu.co/index.php/vetzootec/article/view/4385>
- Scaramelli, A., & González, Z. (2005). *Epizootiología y diagnóstico de la mastitis bovina*. Ula.ve. [http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros\\_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo9-s5.pdf](http://www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo9-s5.pdf)
- Tineo-Ayala, J. J., & Andía-Ayme, V. (2017). Mastitis bovina por recuento de células somáticas con PortaSCC® y Test de California en el fundo de Allpachaca–UNSCH, Ayacucho, Perú. REDVET. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(7), 1-13.
- Usuga, A., Ortiz, T., Usuga, J., & Palacio, L. (2021). Toma de muestra de leche de la glándula mamaria para cultivo bacteriológico. *Revistas UDEA*. doi:30-43
- Vissio, C., Agüero, D., Raspanti, C., Odierno, L., & Larriestra, A. (2015). Pérdidas productivas y económicas diarias ocasionadas por la mastitis y erogaciones derivadas de su control en establecimientos lecheros de Córdoba, Argentina. *Arch Med Ver*, 7-14.

Winston, Q. (2018). Recuento de células somáticas (SCR) como indicador de la resistencia a la mastitis bovina. *Revista Ciencia, Tecnología e Innovación*, 16(17). Obtenido de [http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2225-87872018000100005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S2225-87872018000100005&script=sci_arttext)

Yera, G., & Ramírez, W. (2016). La Prevalencia de mastitis clínica en vacas mestizas Holstein x Cebú. *REDVET*, 17(3), 1-8. doi:<https://www.redalyc.org/pdf/636/63646040004.pdf>

## Anexos

Anexo A. Hoja de registro para el proyecto Frecuencia de mastitis en vacas ubicadas en las comunidades de Puculcay, Sarama y Hornillos del cantón Santa Isabel de la provincia del Azuay.

COMUNIDAD				FECHA											
PROPIETARIO				TIPO DE ORDEÑO				MANUAL							
								MECÁNICO							
N.-	Edad del bovino	Etapa de lactancia	Número de partos	Desinfección previa al ordeño		Desinfección de utensilios previo a su uso		Presencia de Mastitis		Los animales con síntomas clínicos son los últimos en ordeñar		Se realiza cuarentena a animales con síntomas de enfermedad		Existen registros de vacunación	
				SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO

¿Vías de acceso se encuentran en buenas condiciones para el ingreso de personas, animales y vehículos?		¿Los comederos y bebederos, están contruidos, ubicados y mantenidos de manera que se minimice la contaminación de agua y alimento?		¿Se encuentra ubicado en lugares que faciliten el manejo y bienestar de los animales?		¿Permite una fácil limpieza para evitar la acumulación de estiércol, lodo y sustancias orgánicas que puedan contaminar?		¿Se utiliza ropa limpia al momento del ordeño?	
SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO	SI	NO

## Anexo B. Identificación de reacción de las trazas de CMT

Codificación	Significado	Descripción	RSC * 1000	
CN	Casos negativos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Solución permanece inalterada.</li> <li>Mezcla sigue en estado líquido</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>100</li> </ul>	
T	Trazas	<ul style="list-style-type: none"> <li>Precipitado en el piso de la paleta que desaparece pronto</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>300</li> </ul>	
T1	Trazas 1	<ul style="list-style-type: none"> <li>Precipitado mayor pero no se forma gel</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>900</li> </ul>	
T2	Trazas 2	<ul style="list-style-type: none"> <li>Precipitado denso y se concentra en el centro</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>2700</li> </ul>	

T3	Trazas 3	<ul style="list-style-type: none"> <li>Formación de un gel denso y se concentra en el centro</li> </ul>	▪ 8100	
----	----------	---	--------	---

Nota. Adaptado de Rodríguez (2020)

Anexo C. Hoja de registro para la aplicación de la técnica estadística

Nombre de Ganadero	Ubicación	C. del Bovino	Edad del Bovino	Fecha de Recolección 1 muestra CMT	Fecha de recolección 2 muestra Análisis de Laboratorio	Época de lactancia	Presencia de mastitis		Tipo Mastitis			Tipo Mastitis Subclínica			Tipo Ag. B		Nombre Ag. B		
							NO	SI	MS	MC	SM	Trazas			A	C	Sth	Str	E
							0	1	0	1	2	0	1	2	3	0	1	1	2

- Tipo de mastitis: 0= mastitis subclínica, 1= mastitis clínica, 2=sin mastitis
- Tipo de mastitis subclínica: 0=trazas, 1=trazas 1, 2=trazas 2, 3=trazas 3
- Tipo de agente biológico: 0= ambiental, 1= contagioso
- Nombre de agente biológico: 1= *estafilococos spp.*, 2=*estreptococos spp.*, 3=*Enterobacterias.*