

**UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**

**PROGRAMA DE ESTUDIO DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**



**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA**

Identificación de bacterias causantes de mastitis subclínica en establos del distrito
de Huanchaco de la provincia de Trujillo - 2023

Línea de Investigación:

Epidemiología y control de Enfermedades en animales

Autora:

Alcántara Torres, María Lucía

Jurado Evaluador:

Presidente: Mendoza Mendocilla, Roxana Marisol

Secretario: Campos Huacanjulca, Christian Ernesto

Vocal: Castro Haro, Glenda Melissa

Asesor:

Lozano Castro, Angélica Mery

Código ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9197-4454>

Trujillo – Perú

2024

Fecha de sustentación: 2024/06/14

REPORTE DE TURNITIN

Identificación de bacterias causantes de mastitis subclínica en establos del distrito de Huanchaco provincia de Trujillo - 2023

ORIGINALITY REPORT

11 %

SIMILARITY INDEX

10 %

INTERNET SOURCES

4 %

PUBLICATIONS

5 %

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

www.thefreelibrary.com

Internet Source

3 %

2

Submitted to Universidad Privada Antenor Orrego

Student Paper

3 %

3

hdl.handle.net

Internet Source

2 %

4

repositorioinstitucional.uabc.mx

Internet Source

2 %

5

es.slideshare.net

Internet Source

2 %

Exclude quotes Off

Exclude matches < 2%

Exclude bibliography Off

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Angélica Mery Lozano Castro, docente del Programa de Estudio Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Privada Antenor Orrego, asesor de la tesis de investigación titulada "Identificación de bacterias causantes de mastitis subclínica en establos del distrito de Huanchaco provincia de Trujillo - 2023", autor María Lucía, Alcántara Torres, dejo constancia de lo siguiente:

El mencionado documento tiene un índice de puntuación de similitud de 11%. Así lo consigna el reporte de similitud emitido por el software Turnitin el (23 de abril de 2024).

He revisado con detalle dicho reporte y la tesis, y no se advierte indicios de plagio.

Las citas a otros autores y sus respectivas referencias cumplen con las normas establecidas por la Universidad.

Trujillo, 23 de abril de 2024

Asesor: Angélica Mery Lozano Castro

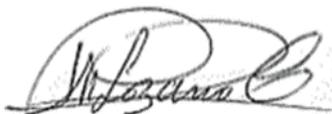
DNI: 17820491

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9197-4454>

Autor: María Lucía, Alcántara Torres

DNI: 76246758

Firma:



Firma:



JURADO EVALUADOR

La presente tesis ha sido revisada y aprobada por
el siguiente jurado:



Mbgla. Mg. Roxana Mendoza Mendocilla

PRESIDENTE



MVZ. Mg. Cristian Campos Huacanjulca

SECRETARIO



MVZ. Mg. Glenda Melissa Castro Haro

VOCAL



MV. Mg. Angélica Mery Lozano Castro

ASESORA

DEDICATORIA

A mis padres Cesar y Silvia por el amor incondicional que me demuestran en cada momento de mi vida.

A mi abuela materna Zoila Rosas Ramírez, por trasmitirme las virtudes que hacen al ser humano y profesional que soy ahora, este logro lo dedico en su memoria.

A mi abuelo paterno Ricardo Alcántara que, aunque no lo conocí en persona, es importante para mí y siempre lo llevo en mi corazón.

A mis amados gatos por su compañía durante las noches de desvelo, más que mascotas son miembros de mi familia.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi asesora Mery Lozano por asesorarme en esta investigación.

A mis compañeros de clase por todo lo compartido durante este proceso.

A mi jefa y compañeros de trabajo por darme la flexibilidad horaria.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTOS	vi
ÍNDICE	vii
ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE ANEXOS	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Mastitis subclínica.....	3
2.2. Impacto económico y sanitario.....	4
2.3 Bacterias causante de mastitis	5
2.3.1 Bacterias Contagiosas.....	5
2.3.2 Bacterias ambientales	8
2.4 Factores de riesgo	9
2.5 Métodos de investigación de mastitis subclínica	11
2.5.1 Recuento de células somáticas (RCS).....	11
2.5.2 California Mastitis Test (CMT).....	12
2.5.3 Cultivo bacteriano	12
2.6 Situación de mastitis en Perú	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	15
3.1. Lugar de la investigación	15
3.2. Población.....	15
3.3. Tamaño de muestra	15
3.4. Definición de variables	16
3.5. Procedimiento para la toma de muestras	16
3.6. Métodos y Técnicas.....	16
3.6.1 Aislamiento bacteriano.....	16

3.6.2. Pruebas bioquímicas y complementarias.....	17
IV. RESULTADOS.....	18
V. DISCUSION	22
VII. RECOMENDACIONES	26
VIII. BIBLIOGRAFÍA	27

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Tipo de crecimiento encontrado en 144 muestras de mastitis subclínica en el distrito de Huanchaco 2024.....	18
Cuadro 2. Frecuencia de bacterias encontradas en 131 muestras positivas a mastitis subclínica en el distrito de Huanchaco 2024.....	19
Cuadro 3. Tipo de bacterias encontradas en 131 muestras positivas a mastitis subclínica en el distrito de Huanchaco 2024.....	20
Cuadro 4. Frecuencia de cuartos afectados por bacterias causantes de mastitis subclínica en Huanchaco 2024.....	21

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Trabajo de Campo	32
Figura 1. Extracción de muestras de leche	34
Figura 2. Identificación de mastitis subclínica con CMT	34
Anexo 2. Trabajo en el Laboratorio	33
Figura 3. Preparación de Agares.....	35
Figura 4. Siembra de agares	35

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo identificar las bacterias causantes de mastitis subclínica en ganado lechero del distrito de Huanchaco de la provincia de Trujillo; para ello, se evaluó una población de 131 vacas pertenecientes a establos del distrito de Huanchaco; de las cuales se tomaron muestras de leche de los cuartos positivos a mastitis subclínica, obteniéndose 144 muestras de leche positivas a mastitis subclínica; estas fueron llevadas al laboratorio de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Privada Antenor Orrego, para realizarles cultivos bacteriológicos y pruebas bioquímicas, con el fin de identificar la especificidad bacteriana. En los resultados se observó que 90.97 % (131/144) de las muestras fueron de crecimiento bacteriano, 5.55% (8/144) fúngico y 3 % (5/144) de no crecimiento. En las muestras de crecimiento bacteriano, se identificó la frecuencia de *Staphylococcus* sp. con el 20.61% (27/131), *Escherichia coli* 16.3% (21/144), seguido de *Staphylococcus aureus* 14,50% (19/131); así mismo, se encontró una predisposición de los cuartos posteriores derecho 32% (42/131) e izquierdo 29% (38/131) en ser los más afectados, por otro lado, los resultados obtenidos nos permiten concluir que en el distrito de Huanchaco el porcentaje de bacterias ambientales fue mayor con un 54.20%.

Palabras claves: mastitis subclínica, bacterias contagiosas, bacterias ambientales

ABSTRACT

The objective of this study was to identify the bacteria that cause subclinical mastitis in dairy cattle in the district of Huanchaco, province of Trujillo; For this purpose, a population of 131 cows belonging to stables in the Huanchaco district was evaluated; of which milk samples were taken from the quarters positive for subclinical mastitis, obtaining 144 milk samples positive for subclinical mastitis; These were taken to the Veterinary Medicine and Zootechnics laboratory of the Antenor Orrego Private University, to perform bacteriological cultures and biochemical tests, in order to identify the bacterial specificity. The results showed that 90.97% (131/144) of the samples had bacterial growth, 5.55% (8/144) had fungal growth, and 3% (5/144) had no growth. In the bacterial growth samples, the frequency of *Staphylococcus* sp. with 20.61% (27/131), *Escherichia coli* 16.3% (21/144), followed by *Staphylococcus aureus* 14.50% (19/131); Likewise, a predisposition was found for the right 32% (42/131) and 29% (38/131) left hindquarters to be the most affected. On the other hand, the results obtained allow us to conclude that in the district of Huanchaco the The percentage of environmental bacteria was higher with 54.20%.

Keywords: subclinical mastitis, contagious bacteria, environmental bacteria

I. INTRODUCCIÓN

La mastitis subclínica es una enfermedad inflamatoria de la glándula mamaria en bovinos, que afecta la producción de leche y conlleva a pérdidas económicas significativas para la industria láctea. A diferencia de la mastitis clínica, la mastitis subclínica no presenta signos visibles, lo que dificulta su detección temprana. Esta condición es causada principalmente por bacterias patógenas que infectan la glándula mamaria y afectan la calidad y cantidad de la leche producida (Bradley, 2002).

Existe una gran diversidad de bacterias causantes de mastitis subclínica, de acuerdo a sus características epidemiológicas han sido divididas en dos grupos: contagiosas y ambientales. Dentro del grupo de bacterias contagiosas encontramos mayormente a bacterias Gram positivas, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Actinomyces pyogenes*. La mastitis ambiental, en cambio, es provocada en su mayoría por gérmenes Gram-negativos, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, y algunas bacterias Gram positivas como *Streptococcus uberis* y *Streptococcus dysgalactiae* (Blowey y Edmonson, 2009).

Esta enfermedad afecta negativamente la rentabilidad de las explotaciones lecheras al disminuir la producción de leche y aumentar los costos de tratamiento y prevención. Además de ello, la calidad de la leche se ve comprometida debido a la presencia de células somáticas y bacterias, lo que reduce su valor comercial y su capacidad para cumplir con los estándares de calidad exigidos (Bedolla y Ponce de León, 2008).

La mastitis subclínica ha tenido graves consecuencias en la industria láctea del Perú en los últimos años: la disminución de la producción de leche, el aumento del uso de antibióticos, el deterioro del bienestar animal y las pérdidas económicas son solo algunos de los efectos negativos que esta enfermedad ha provocado en el sector (Servicio Nacional de Sanidad Agraria – SENASA, 2015).

Ante lo expuesto el presente estudio tuvo como finalidad identificar las bacterias causantes de mastitis subclínica en establos del distrito de Huanchaco; al determinar los agentes bacterianos específicos, se proporciona a los ganaderos información clave para la toma de decisiones en cuanto a la implementación de estrategias preventivas y tratamientos adecuados. Este conocimiento detallado no solo ayuda a reducir la incidencia de la mastitis subclínica en los establos, sino que también permite la elección más efectiva de la terapia antibiótica, contribuyendo así a la pronta recuperación de los animales afectados. En definitiva, este estudio se convierte en una herramienta valiosa para mejorar la gestión de la salud del ganado bovino y optimizar la producción lechera.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Mastitis subclínica

La mastitis subclínica es una enfermedad inflamatoria de la glándula mamaria en vacas lecheras que no presenta signos visibles en la leche o en el tejido mamario. Aunque no se manifieste de manera evidente, esta condición afecta negativamente la producción y la calidad de la leche. La mastitis subclínica es considerada uno de los problemas más importantes en la industria lechera, ya que conlleva significativas pérdidas económicas y sanitarias. Esta enfermedad se caracteriza por la presencia de bacterias patógenas en el tejido mamario, que provocan una respuesta inflamatoria crónica (Bradley, 2002).

La entrada de bacterias patógenas en la glándula mamaria ocurre a través del canal del pezón, generalmente durante el proceso de ordeño. Una vez dentro, estas bacterias pueden adherirse a las células epiteliales del tejido mamario y formar biopelículas, lo que dificulta su eliminación por parte del sistema inmunitario del animal (Gómez et al., 2016).

La presencia de bacterias en la glándula mamaria estimula la liberación de citocinas y quimiocinas por parte de las células epiteliales y las células inmunitarias residentes. Estas moléculas señalizadoras reclutan células inflamatorias, como los neutrófilos, hacia el sitio de la infección. Los neutrófilos desempeñan un papel crucial en la respuesta inflamatoria al fagocitar y destruir las bacterias invasoras. Sin embargo, en la mastitis subclínica, la respuesta inflamatoria puede no ser lo suficientemente intensa para eliminar completamente las bacterias, lo que resulta en una infección persistente (Burvenich et al., 2003).

Por otro lado, algunas investigaciones sugieren que la prevalencia de la mastitis puede variar según la etapa de lactancia de la vaca. Durante las primeras semanas después del parto, el riesgo de mastitis suele ser más alto debido a la mayor vulnerabilidad del tejido mamario y a la exposición a patógenos durante el proceso de inicio de la lactancia. Sin embargo, a medida que avanza la lactancia, la prevalencia de la mastitis puede disminuir gradualmente debido a la mejora de la salud del tejido mamario y a la disminución de la exposición a patógenos (Barkema et al., 2006).

En cuanto a los cuartos mamarios más afectados por la mastitis bovina pueden variar dependiendo de diversos factores, incluyendo la etiología de la infección, las prácticas de manejo y el estado fisiológico de la vaca. Sin embargo, en general, se observa que el cuarto mamario posterior es el más afectado, seguido del cuarto mamario anterior. Esta tendencia puede estar influenciada por la anatomía y fisiología de la glándula mamaria, así como por el mayor riesgo de contaminación durante el proceso de ordeño. Además, factores como la prevalencia de determinados patógenos y la frecuencia de lesiones en los pezones pueden contribuir a esta distribución asimétrica de la mastitis (Halasa et al., 2007; Hogeveen et al., 2011).

2.2. Impacto económico y sanitario

La mastitis subclínica tiene un impacto significativo en la industria lechera, tanto a nivel económico como sanitario. Desde una perspectiva económica, esta enfermedad reduce la producción de leche en vacas afectadas, lo que resulta en pérdidas económicas directas para los productores (Halasa et al., 2007).

Al respecto, la disminución en la calidad de la leche debido a la presencia de bacterias y células somáticas elevadas puede llevar a penalizaciones en el precio de la leche y a la pérdida de contratos comerciales. Así mismo, los costos asociados con el tratamiento y control de la mastitis subclínica, incluyendo medicamentos, insumos y mano de obra adicional, representan una carga económica adicional para los productores (Hogeveen et al., 2011).

Así también esta enfermedad está asociada con un aumento en los descartes de vacas debido a su impacto en la salud y la longevidad del ganado lechero (Rasmussen y Du Preez., 2014).

En cuanto al impacto sanitario, la mastitis subclínica compromete la salud de las vacas lecheras, afectando su bienestar y calidad de vida. La inflamación crónica de la glándula mamaria puede predisponer a las vacas a

infecciones clínicas más graves, lo que aumenta el riesgo de mastitis clínica (Halasa et al., 2007). Aunado a esto, la presencia de bacterias patógenas en el tejido mamario puede llevar a la transmisión de infecciones a través de la leche, lo que representa un riesgo para la salud pública y la seguridad alimentaria. La mastitis subclínica también puede provocar la formación de tejido cicatricial en la glándula mamaria, lo que reduce su capacidad de producción de leche a largo plazo (Hogeveen et al., 2011).

Estas consecuencias económicas y sanitarias de la mastitis subclínica subrayan la importancia de su control y prevención en la industria lechera. Al comprender y abordar los factores de riesgo asociados, así como implementar medidas efectivas de manejo y tratamiento, se puede reducir el impacto negativo de esta enfermedad tanto en términos económicos como sanitarios (Halasa et al., 2007; Rasmussen y Du Preez, 2014).

2.3 Bacterias causante de mastitis

El origen infeccioso de la mastitis bovina es diverso y está influenciada por una variedad de microorganismos, tanto patógenos ambientales como contagiosos; también, aunque menos frecuente, pueden contribuir al desarrollo de mastitis microorganismos oportunistas, como levaduras y algas del género *Phrototheca* (Bedolla, 2017).

2.3.1 Bacterias Contagiosas

En el contexto de la mastitis contagiosa, se clasifican en patógenos mayores y menores, dependiendo del grado de inflamación que causan en la glándula mamaria. Los patógenos mayores incluyen *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Actinomyces pyogenes*. Los patógenos menores abarcan *Mycoplasma spp.*, *Pasteurella spp.*, *Corynebacterium bovis*, entre otros. La transmisión de estos patógenos ocurre principalmente durante el ordeño, mediante prácticas como el uso compartido de toallas, el uso de pezoneras no desinfectadas y las manos contaminadas del personal de ordeño (Blowey y Edmonson, 2009).

Las medidas de control se centran en prácticas higiénicas durante el ordeño, como la desinfección de pezones post ordeño y el lavado y desinfección de los equipos de ordeño (Pitkala et al., 2010)

Staphylococcus aureus posee diversos factores de virulencia que facilitan su capacidad para causar infecciones persistentes en la glándula mamaria. Esto incluye la producción de proteínas de unión a la fibronectina, que favorecen la adhesión a las células epiteliales mamarias, y la expresión de enzimas como la coagulasa, que promueve la formación de abscesos. Estos factores de virulencia contribuyen a la cronicidad y resistencia a los tratamientos, complicando la gestión de la mastitis subclínica causada por *Staphylococcus aureus* (Fernández et al., 2019).

Dentro del grupo de *Staphylococcus* coagulasa positivo (SCP), *Staphylococcus aureus* es el más significativo debido a que no es un patógeno obligado de la ubre. Puede encontrarse en lesiones de la piel de los pezones, en las manos de los ordeñadores, en las camas y en los equipos de ordeño. Dependiendo de las prácticas de manejo, este agente etiológico puede llegar al conducto del pezón, desencadenando una reacción inflamatoria (Gómez et al., 2009)

El género *Staphylococcus* incluye 36 especies, nueve de las cuales tienen subdivisiones, siendo la mayoría de estas especies coagulasa negativa, excepto *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* y *Staphylococcus hyicus* (Gómez et al., 2009).

Los *Staphylococcus* coagulasa negativo (SCN), como *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus warnery* y *Staphylococcus epidermidis*, forman parte de la flora normal de la piel de los pezones. Estas especies suelen causar formas subclínicas de mastitis. Es importante destacar que, aunque son considerados menos virulentos, estudios en las últimas décadas reportan que las medidas de manejo tomadas contra la mastitis contagiosa por *Staphylococcus aureus*, incluyendo el descarte de vacas infectadas, tuvo un impacto significativo en la reducción de este patógeno en explotaciones con un

adecuado manejo higiénico-sanitario de mastitis contagiosa (Rainard y Poutrel, 2011; Boneto, 2014).

Estudios en las últimas décadas sugieren a los SCN como patógenos emergentes, los cuales están adquiriendo mayor importancia, como la causa principal de infecciones intramamarias en el ganado bovino a lo largo del mundo (Pyörälä y Taponen, 2009; Paradis et al., 2010).

Streptococcus agalactiae es un patógeno obligado de la ubre, altamente contagioso en los rodeos lecheros debido a su fácil diseminación. Una gran cantidad de estas bacterias son expulsadas a través de la leche, lo que facilita su propagación. Aunque puede sobrevivir de manera indefinida en el interior de la glándula mamaria, también puede persistir en el ambiente externo, incluidos los tejidos superficiales de la ubre, los equipos de ordeño y las manos de los ordeñadores. Su tiempo de permanencia en el exterior es limitado, y esta relacionado con las buenas prácticas de limpieza y ordeño del hato lechero (García, 2016).

La transmisión de infecciones por *Streptococcus agalactiae* ocurre principalmente durante el proceso de ordeño, donde las vacas infectadas pueden contagiar a las sanas. Introducir vacas infectadas en un hato libre de la infección puede resultar en una rápida propagación del patógeno en poco tiempo. La falta de un programa de control o medidas de bioseguridad agravan la velocidad de contagio en el hato (Kirk y Mellenberger, 2019).

Además, la infección puede extenderse a las terneras que comparten el mismo corral. Por ejemplo, una ternera puede adquirir la infección al mamar la glándula mamaria de una vaca infectada. Una vez infectada, la bacteria puede permanecer en la glándula mamaria de la ternera de forma indefinida (Kirk y Mellenberger, 2019).

Corynebacterium bovis no es tan común como otros géneros en la mastitis bovina, su presencia ha sido asociada con infecciones subclínicas y crónicas. Su impacto puede variar, pero se le ha identificado en diferentes

regiones geográficas. La importancia clínica de *C. bovis* está relacionada con su capacidad para eludir la respuesta inmunitaria y persistir en el ambiente intramamario (Wilson, 2017).

2.3.2 Bacterias ambientales

Las bacterias ambientales, provenientes del entorno de la vaca (pesebre, suelo, estiércol), son difíciles de eliminar por completo, pero su incidencia puede controlarse mediante buenas prácticas de manejo. Coliformes como *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter*, y estreptococos ambientales como *S. uberis* y *S. dysgalactiae* son comunes. Estas bacterias se multiplican en condiciones húmedas, siendo el estiércol y la humedad su sustrato (Philpot y Nickerson, 2012).

Las prácticas de manejo, como la limpieza del pesebre, son cruciales para prevenir la mastitis ambiental. La contaminación puede ocurrir al acostarse en pesebres sucios, vadear lodazales o salpicar la ubre con agua contaminada. El secado inadecuado, el uso de paños de secado contaminados y la secuencia incorrecta de secado pueden aumentar el riesgo de infección (García, 2016).

Las bacterias coliformes, Gram negativas, pueden causar casos agudos con síntomas severos, especialmente al comienzo de la lactancia. Infecciones con organismos ambientales como *Klebsiella* y *Enterobacter* son más comunes al comienzo del período seco, mientras que las infecciones con *E. coli* tienden a ocurrir alrededor del parto. Las estrategias de manejo, como la terapia con antibióticos al momento del secado, el sellado del pezón y la gestión del medio ambiente, son fundamentales para prevenir la mastitis ambiental. Mantener el pesebre limpio y seco es una de las medidas más efectivas para reducir el riesgo de infección (Tully, 2011).

Los estreptococos ambientales, han sido encontrados en diversos materiales y ambientes relacionados con la ganadería, incluyendo material de cama para el ganado (especialmente orgánicos), suelo, rumen, materia fecal, vulva, labios, ollares, pezones y glándulas mamarias, así como forrajes y ensilados (Kirk y Melenberger, 2019).

El material de cama, donde las camas de materia orgánica tienen una mayor concentración, comparado con las de arena, siendo la contaminación mayor en camas de heno y menor en camas de aserrín y viruta. Las camas de heno con alta carga de orina y heces están altamente contaminadas. El diseño de las instalaciones y las prácticas de manejo contribuyen a la contaminación de la cama, aumentando la exposición de los pezones. Factores estacionales también afectan la aparición de mastitis por *Streptococcus* ambientales, con mayores exposiciones en ciertos periodos y condiciones climáticas como humedad y temperaturas cálidas (Calvinho, 2005)

La implementación de programas de control de mastitis contagiosa, basadas en la higiene durante el ordeño, incluyendo la desinfección de pezones post-ordeño, terapia antibiótica durante la lactancia y al inicio del período seco, y el descarte de vacas con infecciones crónicas, ha llevado a un progreso considerable en el control de los patógenos contagiosos. Sin embargo, la desinfección de pezones post-ordeño y la terapia de vaca seca han demostrado ser menos efectivas contra los patógenos ambientales. Varios estudios han demostrado que, a medida que se logró reducir la prevalencia de patógenos contagiosos, la proporción de infecciones intramamarias (IIM) por patógenos ambientales aumentó. Por lo tanto, no es sorprendente que las mastitis de tipo ambiental se conviertan en un problema significativo en aquellos establecimientos que, a través de un buen manejo sanitario, lograron controlar las mastitis causadas por organismos contagiosos (Kirk y Melenberger, 2019; Calvinho 2005)

2.4 Factores de riesgo

La mastitis subclínica en vacas lecheras puede estar influenciada por una amplia variedad de factores de riesgo:

La mala higiene durante el proceso de ordeño es uno de los principales factores que contribuyen a la entrada y propagación de bacterias patógenas en la glándula mamaria; así mismo, el incumplimiento de prácticas adecuadas de limpieza y desinfección de los equipos de ordeño, así como las

bacterias en las manos de los operarios, puede permitir la transferencia de microorganismos durante el ordeño (Hagnestam et al., 2018).

El ambiente en la sala de espera también puede desempeñar un papel importante en el riesgo de mastitis subclínica. Así tenemos, que factores como una mala ventilación o un exceso de humedad, pueden aumentar la proliferación de bacterias en el entorno y favorecer la transmisión de agentes patógenos entre las vacas. Al mismo tiempo, la calidad del agua utilizada durante el ordeño puede ser un factor de riesgo. Si el agua está contaminada con bacterias, puede actuar como una fuente de infección y contribuir al desarrollo de mastitis subclínica en las vacas (Hagnestam et al., 2018).

Así también el manejo de la cama en los establos puede influir en la prevalencia de la mastitis subclínica, debido a que la presencia de camas húmedas o sucias proporciona un ambiente propicio para el crecimiento bacteriano, lo que aumenta el riesgo de infección de las glándulas mamarias, asimismo, la falta de limpieza y desinfección adecuadas de los equipos de ordeño, puede facilitar la transmisión de bacterias entre las vacas (Bradley et al., 2018).

Además de estos factores relacionados con el manejo y el ambiente, otros elementos también pueden influir en la susceptibilidad de las vacas a la mastitis subclínica. La genética de la vaca desempeña un papel importante, ya que ciertas razas pueden ser más susceptibles a la infección que otras. Así también, el estado inmunológico de las vacas, influenciado por factores como la edad, el estrés y el estado de salud general, puede afectar su capacidad para combatir las infecciones mamarias (Bradley et al., 2018).

Las condiciones climáticas, como la temperatura y la humedad, pueden afectar la prevalencia de bacterias ambientales en el entorno de la vaca. Las regiones con climas cálidos y húmedos pueden favorecer el crecimiento y la propagación de ciertos patógenos, mientras que las regiones más frías pueden tener una prevalencia diferente de bacterias (Hogeveen et al., 2011; Wilson, 2017).

2.5 Métodos de investigación de mastitis subclínica

Los estudios microbiológicos han permitido la identificación y caracterización de las bacterias patógenas causantes de la enfermedad, utilizando técnicas de cultivo, pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos y métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Cremonesi et al., 2018). Asimismo, los enfoques de diagnóstico, como el recuento de células somáticas y la medición de los parámetros de calidad de la leche, han sido ampliamente utilizados para evaluar la presencia y la gravedad de la mastitis subclínica en el ganado lechero (Hagnestam et al., 2018).

2.5.1 Recuento de células somáticas (RCS)

El recuento de células somáticas (RCS) es una técnica ampliamente utilizada en la detección y seguimiento de la mastitis subclínica en el ganado lechero. Esta técnica se basa en la medición del número de células somáticas presentes en la leche, que incluyen principalmente leucocitos, especialmente neutrófilos, linfocitos y macrófagos. El RCS se realiza mediante métodos automáticos o manuales, utilizando equipos especializados que cuentan y registran el número de células somáticas presentes en una muestra de leche (Lundén et al., 2016).

El RCS se considera un indicador de la inflamación presente en la glándula mamaria, ya que el aumento en el número de células somáticas está asociado con la respuesta del sistema inmunológico del animal frente a la infección mamaria. Un incremento en el RCS por encima de un umbral determinado se considera un indicio de mastitis subclínica, incluso en ausencia de signos clínicos visibles (Barkema et al., 2006). Este método de diagnóstico tiene la ventaja de ser relativamente fácil de realizar, no invasivo y permite la detección temprana de la enfermedad, lo que facilita la implementación de medidas de control y tratamiento oportunos (Pyörälä y Taponen, 2009).

Sin embargo, es importante tener en cuenta que el RCS puede estar influenciado por diversos factores, como la etapa de lactancia, el estado

de salud de la glándula mamaria y el estado fisiológico de la vaca. Además, se deben considerar las variaciones individuales entre animales y las diferencias entre razas (Pyörälä y Taponen, 2009). Por lo tanto, es necesario establecer valores de referencia específicos para cada rebaño y realizar seguimientos regulares para detectar cambios significativos en el RCS que puedan indicar la presencia de mastitis subclínica (Lundén et al., 2016).

2.5.2 California Mastitis Test (CMT)

El California Mastitis Test (CMT) es una prueba ampliamente utilizada en la detección rápida y en el campo de la mastitis subclínica en el ganado lechero. Esta prueba se basa en la reacción química que ocurre entre las células somáticas presentes en la leche y un agente de desnaturalización ácido, que provoca la formación de un gel característico (Oteiza et al., 2009). La consistencia del gel formado se evalúa visualmente y se clasifica en una escala de cuatro puntos, donde un mayor grado de gelificación indica una mayor presencia de células somáticas y, por lo tanto, una mayor probabilidad de mastitis subclínica (Quinteros et al., 2016).

El CMT se considera una herramienta efectiva y práctica en la detección preliminar de la mastitis subclínica, ya que proporciona una indicación rápida de la presencia y gravedad de la enfermedad en una muestra de leche. Además, el CMT se puede realizar en el lugar, sin necesidad de equipo sofisticado o especializado, lo que lo convierte en una herramienta valiosa para los productores de leche (Negrón et al., 2013). Sin embargo, es importante destacar que el CMT es un método indirecto de detección y solo proporciona una estimación del nivel de células somáticas, no identifica el tipo de bacteria causante de la infección (Olivera et al., 2015).

2.5.3 Cultivo bacteriano

El cultivo bacteriano es una herramienta fundamental en el diagnóstico de la mastitis subclínica, ya que permite identificar y caracterizar las bacterias presentes en la muestra de leche. Se basa en la siembra de la leche en medios de cultivo selectivos que favorecen el crecimiento de las

bacterias, permitiendo su posterior identificación mediante técnicas microbiológicas. Los medios de cultivo más comúnmente utilizados incluyen agar sangre, agar MacConkey, entre otros (Contreras et al., 2011).

Agar sangre:

El agar sangre es ampliamente utilizado en microbiología para el cultivo de bacterias aerobias y anaerobias facultativas. Este medio de cultivo está compuesto por agar, extracto de carne y una pequeña cantidad de sangre animal, como ovejas, cabras o caballos. La sangre proporciona nutrientes esenciales y factores de crecimiento necesarios para el crecimiento bacteriano. Además, el agar sangre permite la identificación de características hemolíticas de las bacterias, clasificándose en hemólisis alfa, beta y gamma. Esta propiedad es valiosa en la identificación de ciertas especies bacterianas (Murray et al., 2016).

Agar MacConkey:

El agar MacConkey es un medio de cultivo selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento e identificación de bacterias gramnegativas, especialmente de la familia Enterobacteriaceae. Contiene sales biliares y cristal violeta, que inhiben el crecimiento de bacterias grampositivas y permiten el crecimiento de bacterias gramnegativas. Además, el agar MacConkey contiene lactosa y un indicador de pH, generalmente rojo neutro. Esto permite diferenciar bacterias lactosa-positivas de lactosa-negativas. Las bacterias lactosa-positivas fermentan la lactosa, produciendo ácido que acidifica el medio y genera un cambio de color a amarillo. Por otro lado, las bacterias lactosa-negativas no producen ácido y el medio permanece de color rosado (Murray et al., 2016)

El uso de estos medios de cultivo es fundamental en microbiología clínica y veterinaria. El agar sangre proporciona los nutrientes necesarios para el crecimiento bacteriano y la observación de características hemolíticas, lo que contribuye a la identificación de diferentes especies bacterianas. Por su parte, el agar MacConkey es útil para el aislamiento y

diferenciación de bacterias gramnegativas, especialmente de la familia Enterobacteriaceae, con base en su capacidad para fermentar la lactosa. Estos medios permiten el estudio de la microbiota y el diagnóstico de infecciones bacterianas en diferentes muestras clínicas (Murray et al., 2016)

2.6 Situación de mastitis en Perú

En un estudio realizado por Arauco et al. (2016) en la región de Cajamarca, Perú, se evaluó la etiología de la mastitis subclínica en vacas lecheras. Se analizaron un total de 200 muestras de leche y se encontró que *Staphylococcus aureus* fue la bacteria más prevalente, encontrándose en el 50% de las muestras. Otras bacterias identificadas incluyeron *Streptococcus agalactiae* con un 20%, *Escherichia coli* con un 15% y *Streptococcus uberis* con un 10%.

Según Gutiérrez et al. (2017) en Lambayeque evaluaron la prevalencia de mastitis subclínica y se investigaron los principales patógenos causantes en vacas lecheras. Se analizaron un total de 200 muestras de leche de vacas en lactancia y se encontró una prevalencia de mastitis subclínica del 42%. En cuanto a los patógenos identificados, *Staphylococcus aureus* fue la bacteria más prevalente, encontrándose en el 30% de las muestras. Otros patógenos importantes incluyeron *Escherichia coli* (18%), *Streptococcus uberis* (15%) y *Streptococcus agalactiae* (12%).

En un estudio realizado por Cieza et al. (2019) en Cusco, analizaron 120 muestras de leche de vacas lecheras con mastitis subclínica, refieren que *Staphylococcus aureus* fue la bacteria más prevalente, presente en el 60% de las muestras. Le siguió *Escherichia coli* con un 25% y *Streptococcus agalactiae* con un 15%. Estos porcentajes de prevalencia bacteriana reflejan la situación específica de la región de Cusco en ese estudio.

Para finalizar, Peralta et al. (2020) en Junín, analizó 150 muestras de leche de vacas lecheras con mastitis subclínica, reportando que *Staphylococcus aureus* fue la bacteria más prevalente, presente en el 45% de las muestras. Le siguió *Streptococcus uberis* con un 28%, *Escherichia coli* con un 20% y *Streptococcus agalactiae* con un 7%.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de la investigación

El presente estudio se realizó en dos establos lecheros del distrito de Huanchaco de la provincia de Trujillo – Perú. Posee un clima templado con pocas lluvias y temperaturas moderadas que oscila 23C° y 28C°, viento del S a 14 km/h, humedad del 73%.

3.2. Población

Vacas en producción de los establos seleccionados.

3.3. Tamaño de muestra

Para determinar el tamaño de muestra se aplicó la fórmula estadística, considerando una proporción de 54.6% por Mojica y Jaramillo (2014), con un índice de confianza del 95% y un error del 7%.

$$n = \frac{N \times Z_{\alpha/2}^2 \times p \times q}{(e^2 \times (N - 1)) + (Z_{\alpha/2}^2 \times p \times q)}$$

En donde:

n : Tamaño de muestra.

$Z_{\alpha/2}$: Índice de confianza (seguridad).

p : Proporción esperada.

q : Proporción no esperada.

e : Error máximo permisible

Obteniéndose una muestra de 131, de un total de 670 vacas en producción de los 2 establos seleccionados.

3.4. Definición de variables

Variable dependiente

Bacterias encontradas en muestras de leche de vacas con mastitis subclínica

3.5. Procedimiento para la toma de muestras

La toma de muestras se llevó a cabo en dos establos lecheros del distrito de Huanchaco.

Para la toma de muestras las vacas seleccionadas pasaron a la sala de ordeño donde se realizó la higiene de los pezones con la solución predipping; una vez que la vaca estuvo lista para ser ordeñada con pezones limpios y secos se procedió a realizar la prueba del CMT, se escurrieron los 3 ó 4 primeros chorros de leche de cada pezón en los compartimientos de la bandeja apropiada. Se inclinó la bandeja en un ángulo de 60 grados para igualar la cantidad de leche en cada uno (debiendo quedar entre 2 y 4 ml). Se agregó una cantidad igual de reactivo CMT y se inició un proceso suave de agitación por rotación durante 15 a 20 segundos. Se interpretó la prueba de acuerdo al grado de viscosidad, la cual nos indica la presencia de mayor número de células somáticas. A continuación, se realizó la asepsia de los pezones con alcohol 70° y se procedió a recolectar en frascos estériles entre 5 a 6 ml de leche de cada cuarto seleccionado positivo al CMT.

Las muestras recolectadas se almacenaron en un cooler refrigerante con gel congelado para conservar temperaturas de 4°C, para ser trasladadas al laboratorio de Medicina Veterinaria en la Universidad Privada Antenor Orrego para su posterior procesamiento (Villanueva y Morales, 2017).

3.6. Métodos y Técnicas

3.6.1 Aislamiento bacteriano

Las muestras de leche se sembraron por estría en agar sangre y agar Mac Conkey, e incubadas a 37°C por 24-48 h. Se observó la morfología

de las colonias y se aislaron en cultivo puro para su identificación. A cada cultivo se le realizó la tinción de Gram para confirmar su pureza y diferenciar a las bacterias Gram positivas y Gram negativas (Amand de Mendieta et al., 2001 citado en Rodríguez y Muñoz, 2017).

3.6.2. Pruebas bioquímicas y complementarias

Se realizaron distintas pruebas bioquímicas con la finalidad de identificar los distintos género y especies bacterianas presentes. Se realizó la prueba de catalasa para diferenciar *Staphylococcus* de *Streptococcus* y *Enterococcus*; la prueba de coagulasa en tubo se utilizó para distinguir *Staphylococcus* coagulasa positiva (SCP) de los *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN). Por otro lado, se realizó el sembrado en agar manitol salado con el objetivo de diferenciar *Staphylococcus aureus* (Mac Faddin, 2000; Sacsquispe y Ventura, 2001 citado en Rodríguez y Muñoz, 2017).

También se llevaron a cabo pruebas en agar hierro triple azúcar (TSI) en las colonias de bacilos Gram negativos con el fin de identificar bacterias que fermentan glucosa, lactosa o sacarosa, y determinar si hay producción de gas (H₂S). En la prueba de agar hierro-lisina (LIA), se examinó la descarboxilación de lisina o la desaminación de lisina. Además, se llevó a cabo la prueba de citrato de Simmons, producción de indol, rojo de metilo y Voges - Proskauer (Mac Faddin, 2000; Sacsquispe y Ventura, 2001 citado en Rodríguez y Muñoz, 2017).

3.7. Análisis estadístico

El análisis e interpretación de datos se realizó mediante la aplicación de la estadística descriptiva a través del software Excel.

IV. RESULTADOS

En el Cuadro 1, se observa, que, de un total de 144 muestras de leche positivas a mastitis subclínica, de las cuáles el 90.97% (131/144) fueron de crecimiento bacteriano, el 5.55% (8/144) fueron de crecimiento fúngico, y el 3.47% (5/144) no mostraron crecimiento.

Cuadro 1. Tipo de crecimiento encontrado en 144 muestras de mastitis subclínica en el distrito de Huanchaco 2024

Tipo de crecimiento		Número	Frecuencia %
Crecimiento	Bacteriano	131	90.98
	Fúngico	8	5.55
No crecimiento		5	3.47
TOTAL		144	100.00

En el Cuadro 2, se observa, que, de un total de 131 muestras de leche positivas a mastitis subclínica, se identificaron nueve tipos diferentes de bacterias, siendo las más frecuentes: *Staphylococcus* spp con el 20.61 % (27/131), *Escherichia coli* con el 16.03% (21/131), *Staphylococcus aureus*. con el 14.50% (19/131), *Streptococcus* spp con el 11.45% (15/131).

Cuadro 2. Frecuencia de bacterias encontradas en 131 muestras positivas a mastitis subclínica en el distrito de Huanchaco 2024

Agentes etiológicos bacterianos	N° Aislados	Frecuencia %
Cocos gram positivos		
<i>Staphylococcus</i> spp.	27	20.61
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	14.50
<i>Streptococcus</i> spp.	15	11.45
<i>Streptococcus agalactiae</i>	10	7.63
Bacilos gram positivos		
<i>Corynebacterium</i> sp.	4	3.05
<i>Bacillus</i> sp.	8	6.10
Bacilos gram negativos		
<i>Escherichia coli</i>	21	16.03
<i>Klebsiella</i> sp.	11	8.40
<i>Enterobacter</i> sp.	9	6.88
<i>Citrobacter</i> sp.	4	3.05
<i>Proteus</i> sp.	3	2.30
TOTAL	131	100.00

En el Cuadro 3, se observa el tipo de bacteria causante de mastitis subclínica, siendo predominante las bacterias de tipo ambiental con un 54.20% (71/131).

Cuadro 3. Tipo de bacterias encontradas en 131 muestras positivas a mastitis subclínica en el distrito de Huanchaco 2024

Tipo de bacteria	N° Aislados	Frecuencia %
Ambiental	71	54.20
Contagioso	60	45.80
Total	131	100.00

En el Cuadro 4, se observa la frecuencia del cuarto más afectado por mastitis subclínica bacteriana, en donde, el más afectado es el posterior derecho, seguido del posterior izquierdo.

Cuadro 4. Frecuencia de cuartos afectados por bacterias causantes de mastitis subclínica en Huanchaco 2024

Cuarto afectado	N° Aislados	Frecuencia %
Anterior Derecho	24	18
Anterior Izquierdo	27	21
Posterior Derecho	42	32
Posterior Izquierdo	38	29
Total	131	100

V. DISCUSIÓN

Los resultados del análisis de mastitis subclínica en Huanchaco revelan presencia de bacterias del género *Staphylococcus*, siendo mayormente aislados *Staphylococcus* spp. (20.61%), seguido de *Staphylococcus aureus* (14,50%). Lo que difiere con los estudios previos en las distintas regiones del país Arauco et al. (2016) Cajamarca, Gutiérrez et al. (2017) en Lambayeque; Cieza et al. (2019) en Cusco y Peralta et al. (2020) en Junín, donde la especie *Staphylococcus aureus* fue predominante, 50%, 30%, 60% y 45% respectivamente.

La presencia de bacterias de este género, puede deberse a las condiciones de higiene durante el ordeño, ya que las bacterias son del tipo contagiosa lo que se puede atribuir a deficiencias en los protocolos de limpieza y desinfección al momento del ordeño (Blowey y Edmonson, 2009).

Así también, los factores ambientales y de manejo propios de cada establo, pueden afectar la exposición de las vacas a patógenos específicos (Bradley et al., 2018). Tal como lo refiere, Hogeveen et al., (2011) que las variaciones climáticas propias de cada región pueden influir en la proliferación de una especie bacteriana. Esta discrepancia resalta la importancia de abordar las prácticas de manejo del ganado y la higiene en el ordeño de manera específica para cada región.

Por otro lado, es muy importante agregar, que el control de mastitis contagiosa por *Staphylococcus aureus*, posiciona a otras especies de este género como patógenos emergentes adquiriendo gran importancia en las infecciones intramamarias. El resultado de este estudio resalta la importancia de nuevas investigaciones en las especies emergentes del género *Staphylococcus* en nuestra región (Rainard y Poutrel, 2011; Boneto, 2014).

Con respecto a *Escherichia coli*, fue la segunda bacteria mayormente aislada representando el 16.03% (21/131) de las muestras analizadas. Resultados similares a los obtenidos por Gutiérrez et al., (2017) en Lambayeque 18% y Cieza et al., (2019) en Cusco 25%; donde *Escherichia coli* también fue una de las bacterias más aisladas. Esta bacteria al ser del tipo ambiental vive en el estiércol,

por lo que su frecuencia está relacionada a las condiciones higiénicas en los animales y el entorno en donde viven (Phylpot y Nickerson, 2012; García, 2016)

Por otro lado, *Streptococcus agalactiae* tuvo una frecuencia menor en un 7.63%, dato similar a Peralta et al., (2020) 7%; sin embargo, difiere a lo reportado por Arauco et al., (2016), Gutiérrez et al., (2017), Cieza et al., (2019), 20%, 12%, 15% respectivamente. Esta discrepancia en la frecuencia encontrada, puede deberse a las prácticas de manejo y control propias de cada establo, prácticas de ordeño, introducción de animales nuevos, distribución de animales infectados con animales sanos, son factores que influyen directamente en la frecuencia de *Streptococcus agalactiae* (Kirk y Melenberger, 2019).

El aumento en la frecuencia de *Streptococcus* spp. 11.45% frente al *Streptococcus agalactiae* 7.63%, en el distrito de Huanchaco, puede deberse a diversos factores relacionados con el manejo y las condiciones climáticas locales, según los estudios de Calvino (2005) y Kirk y Melenberger (2019), los estreptococos ambientales han sido encontrados en diversos materiales, incluyendo material de cama para el ganado, forrajes y ensilados, por lo que, el diseño de las instalaciones y prácticas de manejo inadecuadas contribuyen a la contaminación de la cama, aumentando la exposición de los pezones.

Al respecto Kirk y Melenberger (2019), mencionan que, al ser bacterias del tipo ambiental, se reproducen fácilmente en climas templados y con humedad, siendo el clima del distrito de Huanchaco idóneo para su proliferación, si no se tienen las adecuadas prácticas de manejo de camas y forrajes.

Así mismo, se encontró que la frecuencia de bacterias ambientales fue mayor 54.20% (71/131), seguida de las bacterias contagiosas 45.80% (60/131). Resultado que discrepa con los estudios mencionados anteriormente en distintas regiones del país, donde las bacterias contagiosas, son las principales responsables de las infecciones de mastitis subclínica.

Al respecto, según Philpot y Nickerson (2012) y García (2016) manifiestan que las bacterias ambientales son provenientes del entorno del ganado (pesebre, suelo, estiércol), por lo que las buenas prácticas de manejo, como la limpieza de pesebres, suelos y camas, son cruciales para evitar la propagación de las mismas, ya que la contaminación puede ocurrir al acostarse en pesebres sucios, vadear lodazales, o salpicar la ubre con agua contaminada.

Otro factor a considerar respecto a las bacterias ambientales, son las condiciones climáticas propias del distrito de Huanchaco, el clima cálido con humedad moderada a alta puede favorecer al crecimiento y propagación de bacterias ambientales, ya que como lo menciona Hogeveen et al., en el 2011, estas bacterias se multiplican en condiciones húmedas con temperaturas cálidas.

Cabe resaltar, que la introducción y difusión de buenas prácticas de manejo y control sanitario de microorganismos contagiosos en ganaderías de crianza intensiva, produce una disminución en la frecuencia de las bacterias tradicionales como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae*; sin embargo, da paso a patógenos emergentes del tipo ambiental, y al ser éstas de una naturaleza epidemiológica distinta a las contagiosas, deben abordarse de una manera distinta para controlar su incidencia (Calvinho, 2005; Kirk y Melenberger, 2019).

Respecto a los cuartos mamarios afectados por mastitis subclínica, se observó que los cuartos posteriores derecho e izquierdo tuvieron una mayor incidencia con 32% y 29% respectivamente, esto puede deberse a la anatomía propia de la ubre, dejándolos expuestos a una mayor contaminación bacteriana lo que conlleva a una mayor incidencia de mastitis subclínica (Halasa et al., 2007; Hogeveen et al., 2011).

VI. CONCLUSIONES

- Se identificaron a *Staphylococcus* spp y *Escherichia coli* como las bacterias de mayor frecuencia causantes de mastitis subclínica.
- Se obtuvo un porcentaje mayor de bacterias ambientales frente a las bacterias contagiosas.
- Los cuartos mamarios con mayor predisposición para contagio fueron posterior derecho y posterior izquierdo.

.

VII. RECOMENDACIONES

1. Realizar la aplicación periódica (cada mes) de CMT en el hato lechero, para el diagnóstico y seguimiento de mastitis subclínica y considerar las medidas de control.
2. Promover la capacitación en buenas prácticas de higiene y limpieza en los animales y el medio ambiente donde viven.
3. Realizar trabajos de investigación teniendo en cuenta otros factores: edad, número de parto y tiempo de lactancia

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- ARAUCO, R., TORRES, H., PAJUELO, R., PINTO, C. 2016. Etiología de mastitis subclínica en vacas lecheras de la región Cajamarca, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 27(3), 392-398.
- BARKEMA, W., SCHUKKEN, H., ZADOKS, N. 2006. Invited review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *Journal of Dairy Science*, 89(6), 1877–1895.
- BEDOLLA, C., PONCE DE LEÓN, M. 2008. Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, IX(4), 1-26.
- BEDOLLA, C., 2017. Etiología de la mastitis bovina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Michoacana de San Nicolas de Hidalgo. Morelia. Michoacán.
- BLOWEY, R; EDMONSON, P. 2009. Mastitis. En: *Control de la mastitis en granjas de vacunos de leche. Guía práctica e ilustrada*. Zaragoza. España: Acribia; Pp 208.
- BONETO, C., 2014. Mastitis bovina causada por *Staphylococcus cuagulasa* negativo, Universidad Nacional de la Plata, Facultad de Ciencias Veterinarias.
- BRADLEY, J. 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. *Veterinary Journal*, 164(2), 116-128.
- BRADLEY, J., GREEN, J., MEDLEY, F. 2018. Factors affecting the transmission of *Staphylococcus aureus* between cows and implications for mastitis. *Veterinary Research*, 49(1), 64.

- BURVENICH, C., VAN MERRIS, V., MEHRZAD, J., DIEZ-FRAILE, A., DUCHATEAU, L., PAAPE, M. 2003. Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. *Veterinary Research*, 34(5), 521-564.
- CALVINHO, L. 2005. Estreptococos ambientales causantes de mastitis bovina, Jornada Técnica de Actualización en mastitis. Montevideo, Uruguay.
- CIEZA, E., PRADO, F., GUTIÉRREZ J., HUAMÁN, S. 2019. Prevalencia y etiología de la mastitis subclínica en vacas lecheras de la región Cusco, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(4), 1539-1546.
- CONTRERAS, A., RODRÍGUEZ, M., LUENGO, C. 2011. Mastitis: Comparative etiology and epidemiology. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 16(4), 339-356.
- CREMONESI, P., CASTIGLIONI, B., LUZZANA, M. 2018. Overview on diagnostic tests for the detection of mastitis pathogens. *Veterinary Sciences*, 5(3), 83.
- FERNÁNDEZ, R., TOMAZI, T., AYRES, H., DOS SANTOS, V., HEINEMANN, B. 2019. Coagulase-negative staphylococci isolated from bovine milk: Species and antimicrobial gene diversity. *Journal of Dairy Science*, 102(12), 10988-10997.
- GARCÍA, A. 2016. Mastitis contagiosa vs Mastitis Ambiental. South Dakota State University.
- GÓMEZ, F., HENRIQUES, M., AZEREDO, J. 2016. Inflammatory response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria and strategies to combat their effects. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 457-474.

- GÓMEZ, L.; PINILLA, R.; JARAMILLO, E. Diagnóstico y control de mastitis bovina en la region de Umbita (Boyacá). Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional de Colombia. Bogota. Trabajo de Grado. Pp 116. 2009.
- GUTIÉRREZ, J., GUERRA, J., CIEZA, E., PRADO, F. 2017. Prevalencia de mastitis subclínica y evaluación de los principales patógenos causantes en vacas lecheras de la región Lambayeque, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 28(3), 792-798.
- HAGNESTAM, C., ALSTRUP, O., ELVANDER, M. 2018. Mastitis in dairy heifers: Prevalence and risk factors. *Journal of Dairy Science*, 101(4), 3726-3736.
- HALASA, T., HUIJPS, K., OSTERAS, O., HOGEVEEN, H. 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary Quarterly*, 29(1), 18-31.
- HOGEVEEN, H., HUIJPS, K., LAM, T. 2011. Economic aspects of mastitis: New developments. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(1), 16-23.
- KIRK, J., MELLEBERGER, R. 2019. Control de mastitis subclínica por *Streptococcus agalactiae*. Traducido por María Constanza Córdoba y Matías Fernández (University of Wisconsin, Madison).
- LUNDÉN, A., LINDBERG, A., SANDGREN, H., SVENSSON, KEELING, J. 2016. Assessing animal welfare in dairy farms: towards a valid on-farm monitoring tool. *Animals*, 6(3), 21.
- MOJICA, A., JARAMILLO, A. 2014. Prevalencia de mastitis subclínica en sistemas de producción bovina doble propósito de la vereda Matepiña del municipio de Arauca. *Rev Sist Prod Agroecol*. 5: 2: 2014.

- MURRAY, R., ROSENTHAL, S., FALLER, A., LANDRY, L. 2016. Medical microbiology (8th ed.). Elsevier.
- NEGRÓN, M., CORREA, A., CARDONA, A., MARTÍNEZ, D., Y CONTRERAS, D. 2013. Factores de riesgo asociados a la mastitis subclínica bovina en hatos lecheros de la provincia de Matanzas. *Revista de Salud Animal*, 35(2), 98-103.
- OLIVERA, J., CALDERÓN, C., VARGAS, I., GÓMEZ, S., Y GÓMEZ, M. 2015. Validación del CMT en detección de mastitis subclínica en bovinos. *Ciencia Veterinaria*, 1(1), 1-8.
- OTEIZA, A., BIANCHI, P., CABEZAS, H., ZALDIVAR, S., GUZMÁN, A., Y BARAJAS-CRUZ, G. 2009. Evaluación de la prueba de mastitis californiana y bacteriológica en cabras en el periodo seco. *Veterinaria México*, 40(3), 237-246.
- PARADIS, M., BOUCHARD, E., SCHOLL, D., MIGLIOR, F., ROY, J. 2010. Effect of nonclinical *Staphylococcus aureus* or coagulase - negative staphylococci intramammary infection during the first month of lactation on somatic cell count and milk yield. *J. Dairy Sci*; 93: 2989-2997
- PERALTA, D., GONZALES, R., SAAVEDRA, L., PERALTA, A. 2020. Mastitis subclínica y su etiología bacteriana en vacas lecheras de la región Junín, Perú. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 31(1), 477-483.
- PHILPOT, N; NICKERSON, S. 2012. Agentes patógenos. En: *Ganando la lucha contra la mastitis*. Naperville, USA y Oelde, Germany. Pp 32. 2012.
- PITKALA, A.; HAVERI, M.; PYORALA, S.; MYLLYS, V.; HONKANEN, T. Bovine mastitis in Finland prevalence distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J. Dairy Sci*. 92: 231-245. 2010.

- PYÖRÄLÄ, S., TAPONEN, S. 2009. Coagulase-negative staphylococci emerging mastitis pathogens. *Veterinary Microbiology*, 134(1-2), 3-8.
- QUINTEROS, C., GAMBOA, M., LOZANO, M., JARAMILLO, H. 2016. Aplicación del CMT para el diagnóstico de mastitis subclínica en bovinos de leche en el departamento de Córdoba, Colombia. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 27(2), 253-261.
- RAINARD, P., POUTREL, B. 2011. Predicting the probability of quarter from somatic cell concentration. *Am. J. Vet. Res.* 44: 346-354.
- RASMUSSEN, D., DU PREEZ, H. 2014. Economic impact of mastitis: a case study. *Journal of the South African Veterinary Association*, 85(1), 1-8.
- RODRÍGUEZ, R. Y 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).
- SENASA. Servicio Nacional de Sanidad Agraria. Memoria institucional del 2015. Atributos del sistema de vigilancia. Mayor coordinación. Lima: SENASA.
- TULLY, J. 2011. Test for digitonin sensitivity and sterol requirement. En: S. Razin and J.G. Tully. (Eds). *Methods in Mycoplasmaology*, Academic Press Inc. New York. Vol. 1. Pp 333-335. 2011.
- TILLE, P. 2017. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology*. 14^a ed. Elsevier.
- VILLANUEVA, T., MORALES, S. 2017. Resistencia antibiótica de patógenos bacterianos aislados de mastitis clínica en bovinos de crianza intensiva. *REDVET Rev. electrón. vet.* volumen 18. nº 12.
- WILSON, J. 2017. Mastitis Control Programs: Beyond Antibiotic Use. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 33(3), 483–495.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Trabajo de Campo



Figura 5. Extracción de muestras de leche



Figura 6. Identificación de mastitis subclínica con CMT

Anexo 2. Trabajo en el Laboratorio**Figura 7.** Preparación de medios de cultivo.**Figura 8.** Siembra en medios de cultivo.