



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA



PREVALENCIA DE MASTITIS BOVINA EN UNIDADES DE
PRODUCCIÓN PECUARIA PERTENECIENTES AL COMPLEJO
AGROPECUARIO INDUSTRIAL TIZAYUCA S. A. HIDALGO.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA

PRESENTA

ISIDRO JONATHAN CORONA AVILA

ASESORES

MVZ MC Eduardo Posadas Manzano

MVZ MSc. Salvador Avila Téllez

MVZ MC Jaime Alonso Navarro Hernández



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

Con gran afecto y dedicación:

A Dios, por permitirme llegar hasta aquí y haberme colmado de bendiciones que han hecho posible materializar cada sueño.

A mis padres Isidro y Sandra por haber creído en mí desde el inicio, por su apoyo incondicional y su invaluable guía, son mi más grande ejemplo.

A mis abuelos Josefina, Liborio, Román y Soledad por haberme regalado unos excelsos padres, por su comprensión y gran ánimo.

A mis hermanas Claudia y Cecilia por su compañía y aliento ante las vicisitudes.

A Isabella, Dannae y Sofía, por quienes día con día me esfuerzo para ser mejor.

A mis asesores, al gran Maestro Dr. Salvador Avila Téllez por sus enseñanzas y apoyo más allá del deber, al Dr. Eduardo Posadas Manzano por su apoyo incondicional pronto y ágil, al Dr. Pedro Ochoa Galván por su apoyo desinteresado en este trabajo.

A mis amigos, por hacer ameno y divertido mi andar.

Al Departamento de Medicina y Zootecnia de Rumiantes y al Dr. Miguén Ángel Quiroz Martínez por haberme aceptado en su gran equipo y brindarme su invaluable apoyo.

A todos los que no mencioné, pero que de alguna manera contribuyeron a la realización de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia por todo lo que me ha obsequiado.

Al Departamento de Medicina y Zootecnia de Rumiantes por las facilidades prestadas para la realización de este trabajo.

Al MVZ Christopher Poblete Rendón y al MVZ Noé Rodríguez Becerril por facilitar la comunicación con los ganaderos del CAITSA, Tizayuca.

A los ganaderos del Complejo Agropecuario e Industrial Tizayuca S.A. por permitir el uso de sus animales en el presente estudio.

A los alumnos de la materia “Ordeño y fisiopatología de la glándula mamaria” por su apoyo en la realización de este trabajo.

A mis asesores y sinodales por la paciencia y apoyo brindado.

CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MATERIAL Y MÉTODOS	17
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN	37
CONCLUSION	41
REFERENCIAS	42
ANEXOS	52

RESUMEN

CORONA AVILA ISIDRO JONATHAN. Prevalencia de mastitis bovina en unidades de producción pecuarias pertenecientes al Complejo Agropecuario Industrial Tizayuca S. A. Hidalgo (bajo la dirección de: MVZ MC Eduardo Posadas Manzano, MVZ MSc Salvador Avila Téllez y MVZ M en C Jaime Alonso Navarro Hernández).

La mastitis bovina tiene repercusión en muchos ámbitos como la salud pública, el bienestar de las hembras bovinas, y la rentabilidad de las Unidades de Producción Pecuaria cuando se presentan altas tasas de incidencia y prevalencia de esta patología. El objetivo del presente estudio fue estimar la prevalencia de mastitis bovina a nivel de vaca y de glándula en siete Unidades de Producción pertenecientes al Complejo Agropecuario Industrial Tizayuca, S.A. en el estado de Hidalgo y compararlo con los datos publicados anteriormente para la misma zona. Posteriormente se asoció la presentación y grado de mastitis con las variables número de parto y días en leche. Se muestrearon un total de 4,944 glándulas mamarias de 1,236 vacas mediante las pruebas de California para mastitis y tazón con paño negro para diagnosticar mastitis clínica y subclínica; los datos obtenidos a nivel de vaca fueron de 45.87% negativas, 5.91% presentaron mastitis clínica y 48.22% mastitis subclínica, mientras que a nivel de glándula se observó un 67.31% de negativas, 29.65% con mastitis subclínica, 1.74% con mastitis clínica y 1.38% fueron glándulas improproductivas, prevalencia que fue mayor a lo reportado anteriormente para la misma zona. La prueba de *Ji*-cuadrada de Pearson mostró una relación directamente proporcional entre las variables número de parto y días en leche con el grado de mastitis presente en cada glándula. Estos resultados demuestran que estas variables deben ser tomadas en cuenta para el diseño de los futuros programas de control de mastitis y la mejora de los ya existentes.

INTRODUCCIÓN

Panorama de la producción de leche de bovino en México.

De acuerdo con el Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) para el año 2017 México alcanzó 34,277,868 cabezas de ganado bovino, de las cuales 31,771,730 pertenecen a ganado productor de carne, mientras que 2,506,130 son ganado productor de leche (SAGARPA-SIAP, 2018b). Para este mismo año el Producto Interno Bruto (PIB) del sector primario representó el 3.3% de la riqueza nacional, del cual el 30.3 % corresponde a la cría y explotación de animales (Figura 1) (SAGARPA-SIAP, 2018a).

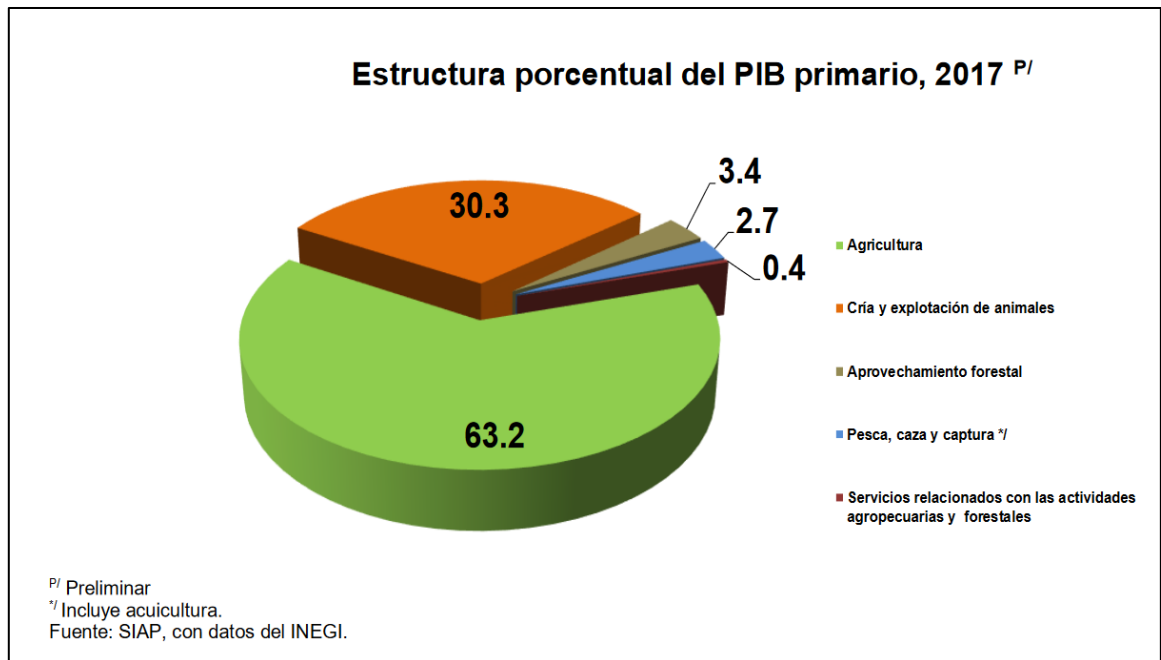


Figura 1. Estructura porcentual del PIB del sector primario durante el año 2017 en México (SAGARPA-SIAP, 2018a).

Dentro del Producto Interno Bruto (PIB) del subsector pecuario, la explotación de bovinos representa el mayor porcentaje con un 45.8% (Figura 2) (SAGARPA-SIAP, 2018a).

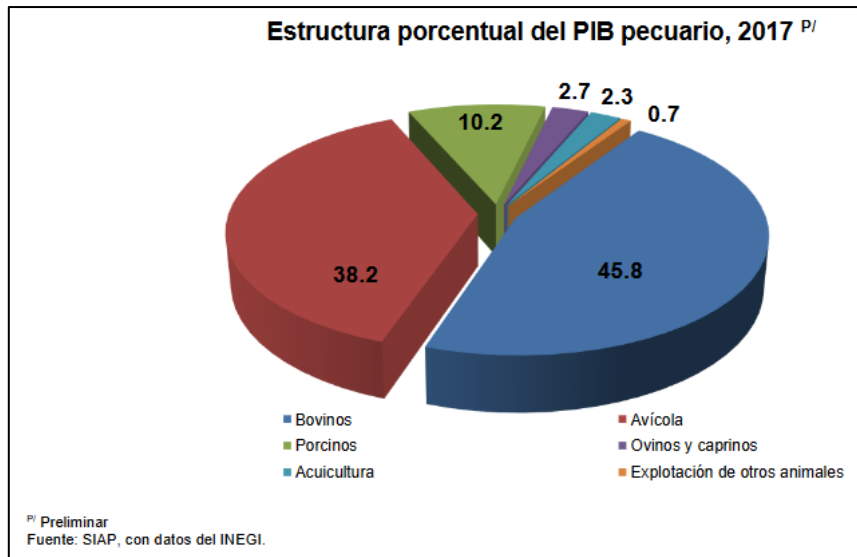


Figura 2. Estructura porcentual del PIB del subsector pecuario durante el año 2017 en México (SAGARPA-SIAP, 2018a).

Al cierre de 2018 en México, la producción acumulada de leche de bovino alcanzó 12 mil 008 millones de litros, 2% más que en 2017 (SADER-SIAP, 2018b); mientras que el consumo aparente para este mismo año fue de 15 mil 288 millones de litros, lo que equivale a un consumo per cápita de 122 litros. Se exportaron 841 millones de litros y se tuvieron que importar 4 mil 121 millones de litros que incluyeron leche fluida, en polvo, evaporada, condensada y preparaciones a base de productos lácteos (SADER-SIAP 2018a); de tal manera que durante 2018 México ocupó el 5° lugar a nivel mundial en la compra de leche líquida, y el 1er° lugar en compra de leche en polvo con el 3.5 y 11.2% de las importaciones globales respectivamente (SADER-SIAP, 2018b), lo que indica que México no es autosuficiente en la producción de leche de bovino.

Además de los problemas reproductivos y las infecciones podales, se considera que la mastitis es el factor más importante asociado a la reducción en producción y calidad de la leche (Bradley, 2002; Oliver & Murinda, 2012).

Mastitis bovina.

Cualquier lesión de la glándula mamaria provoca una respuesta inflamatoria o mastitis. Mastitis del griego *mastos*= glándula mamaria y del sufijo *itis*= inflamación, se define como la inflamación de la glándula mamaria que por lo general se presenta como respuesta a la invasión por microorganismos patógenos contagiosos o ambientales, cambios en el metabolismo o trauma fisiológico y se caracteriza por daños en el epitelio glandular, seguido por una inflamación clínica o subclínica, pudiendo presentarse con cambios patológicos localizados o generalizados, dependiendo de la magnitud del daño (Oviedo-Boyso *et al.*, 2007; Avila & Gutiérrez, 2014). La causa más común de mastitis es la infección intramamaria (IIM) por microorganismos patógenos, sin embargo, se trata de una enfermedad compleja y multifactorial que implica la interacción de diferentes factores como los intrínsecos del animal, aspectos humanos a través del manejo y ambientales (Sellera *et al.*, 2016; Adkins & Middleton, 2018; De Vlieghe *et al.*, 2018). En el ganado lechero la mastitis se produce cuando la ubre se inflama como resultado de una invasión patógena (principalmente bacteriana) del canal del pezón, donde los organismos se multiplican y producen toxinas, lo que provoca lesiones en el tejido secretor debido a un trauma físico e irritación química (Reshi *et al.*, 2015), pudiendo resultar en una pérdida permanente de la capacidad de sintetizar leche (Auld *et al.*, 1995).

Mastitis clínica.

La mastitis clínica se define como la presencia de leche visiblemente anormal e hinchazón o dolor en la glándula mamaria y puede estar acompañado por signos sistémicos como temperatura rectal elevada, letargia, deshidratación y anorexia. Con el examen visual de un chorro de leche recolectada inmediatamente antes de la rutina de ordeño (forestripping), la mastitis clínica se puede detectar fácilmente. La leche de una glándula con mastitis clínica puede ser acuosa, espesa, descolorida, con presencia de sangre, pus, escamas o coágulos. Se puede definir según la gravedad como leve, moderada o grave; los sistemas de puntuación de gravedad se pueden usar para determinar el tratamiento adecuado y el riesgo de un

resultado al tratamiento no deseado (Harmon, 1994; Ruegg, 2011; Royster & Wagner, 2015; Adkins & Middleton, 2018).

Wenz y colaboradores mencionan la siguiente nomenclatura:

Mastitis clínica leve: solo leche anormal (generalmente se manifiesta por coágulos, escamas y/o cambios en el color y la consistencia de la secreción láctea).

Mastitis clínica moderada: leche anormal y glándula mamaria anormal (que se manifiesta por cambios inflamatorios en el tejido, como enrojecimiento, calor, dolor e hinchazón).

Mastitis clínica grave: leche anormal, glándula mamaria anormal y vaca enferma (que se manifiesta por cambios en la temperatura corporal, la rumia, el apetito, el estado de hidratación y el comportamiento) (Wenz *et al.*, 2001).

Mastitis subclínica.

La mastitis subclínica se define como una forma no sintomática de inflamación, con una glándula mamaria aparentemente normal y leche visiblemente normal; lo que hace que esta sea la forma más frecuente de mastitis, que afecta del 20 al 50% de las vacas lecheras (Forsbäck *et al.*, 2009; Adkins & Middleton, 2018). Causa una disminución en la producción de leche y una menor calidad de esta, disminuyendo la vida útil de la leche fresca (Busato *et al.*, 2000). La mastitis subclínica puede conducir a mastitis clínica (Ma *et al.*, 2000; Reksen *et al.*, 2006) y puede ser una fuente de nuevas infecciones intramamarias en vacas sanas (Oliver *et al.*, 2004), pues las bacterias contagiosas pueden diseminarse a otras glándulas; sin embargo, mientras las infecciones bacterianas permanecen subclínicas, a menudo no se tratan durante la lactación (Deluyker *et al.*, 2005). Pese a que la mastitis subclínica tiene mayor prevalencia que la mastitis clínica, recibe poca atención por la mayoría de los productores de leche (Almaw *et al.*, 2008; Tolosa *et al.*, 2013).

Diagnóstico de mastitis subclínica.

La elección de una prueba diagnóstica, en gran parte se encuentra determinada por la disponibilidad y calidad de éstas, así como también del costo, la rapidez y el grado de complejidad en su procesamiento. La confiabilidad de cada una de las pruebas diagnósticas para proporcionar un resultado correcto depende directamente de la probabilidad de que el animal pueda resultar enfermo o sano, así como también de ciertas propiedades inherentes a las mismas. Una de las características importantes de las pruebas diagnósticas es la exactitud o validez, la cual describe qué tan cercano es el resultado de ésta, con el estado verdadero del individuo. Es decir, es el grado con el que se refleja el valor real de la variable en cuestión (enfermedad o infección); la exactitud tiene dos componentes importantes, la sensibilidad (**Se**) y la especificidad (**Es**). La sensibilidad es la habilidad de la prueba para detectar a los individuos enfermos (infectados), y es medida como la proporción de individuos con la enfermedad que dan un resultado positivo. La especificidad es la habilidad de la prueba para detectar a los individuos sanos y se mide como la proporción de individuos no enfermos que dan un resultado negativo (Jaramillo & Martínez 2010).

Un diagnóstico de mastitis generalmente se basa en medir la respuesta inflamatoria, mientras que el diagnóstico de una infección intramamaria se basa en la identificación del agente infeccioso causante. El diagnóstico de mastitis mediante la medición de los indicadores de inflamación a menudo se usa como un método indirecto para identificar vacas con una infección intramamaria. Muchas pruebas han sido evaluadas para el diagnóstico de mastitis subclínica (Adkins & Middleton, 2018), entre ellas se encuentran:

Lactosa: El porcentaje de lactosa en la leche mastítica es menor. Este cambio se produce debido al daño tisular que causa la disminución de la capacidad sintética de los sistemas enzimáticos en las células secretoras, lo que resulta en una reducción de la biosíntesis de la lactosa (Kitchen, 1981).

Lactato deshidrogenasa (LDH): Es una enzima que se encuentra en la mayoría de los tejidos, incluido el citoplasma de los leucocitos. Cuando se produce daño celular, ya sea a células epiteliales mamarias o leucocitos, se libera LDH en la leche (Kitchen, 1981). Algunas herramientas de detección de mastitis disponibles en el mercado incorporan la medición de la actividad de LDH (Adkins & Middleton, 2018).

N-acetil- β -D-glucosaminidasa (NAGase): Es una enzima lisosomal que se libera en la leche de las células epiteliales mamarias dañadas y, en menor medida, de las células somáticas de la leche (Kitchen *et al.*, 1978; Fox *et al.*, 1988).

Proteínas de fase aguda: La haptoglobina y el amiloide A de la leche (Milk Amyloid A), se han encontrado en la leche debido a su migración desde la sangre a través de la barrera sangre – leche, debido al aumento de la permeabilidad capilar y la pérdida de las uniones estrechas o a través de la producción local de leucocitos de la leche o células epiteliales mamarias (Kalmus *et al.*, 2013).

Conductividad: La conductividad eléctrica (**EC**) de la leche aumenta con la presencia de mastitis, debido a un aumento en las concentraciones de sodio y cloro, y una disminución en la concentración de potasio (Kitchen, 1981). Varios fabricantes de equipos para ordeño han usado la conductividad eléctrica como un método en línea para detectar mastitis (Adkins & Middleton, 2018).

Conteo de células somáticas (CCS): Mide la concentración de leucocitos (principalmente) por mililitro de leche. Los leucocitos comprenden el 80% de las células somáticas en cuartos no infectados y el 99% en cuartos infectados (Sordillo *et al.*, 1997). Un conteo de células somáticas en muestras de leche compuesta (leche de los cuatro cuartos) de más de 200,000 células somáticas/mililitro indica que uno o más cuartos están infectados (Royster & Wagner, 2015), el factor más importante que causa un aumento en el conteo celular somático es una infección intramamaria. Es la prueba de diagnóstico más comúnmente utilizada para la detección de mastitis subclínica. En un entorno de laboratorio, el conteo de células somáticas se puede medir mediante microscopía, lo que se conoce como conteo de células somáticas microscópico directo o mediante el uso de contadores de células electrónicos automatizados (Adkins & Middleton, 2018).

El método microscópico directo de conteo de células somáticas, se realiza mediante la distribución de un volumen específico de leche dentro de un área calibrada de un portaobjetos microscópico. Después de que la leche seca, el portaobjetos se tiñe y las células visibles se cuentan dentro del área definida. El método requiere mano de obra, un microscopio de alta calidad y una capacitación exhaustiva del personal para obtener habilidad. Los contadores electrónicos automáticos de células, que comúnmente se basan en métodos de citometría de flujo, permiten la determinación rápida y fácil del conteo de células somáticas, los cuales son utilizados principalmente por organizaciones de productos lácteos, sin embargo, están disponibles contadores portátiles y se pueden usar para obtener el conteo de células somáticas en la unidad de producción (Adkins & Middleton, 2018).

A nivel de hato, los datos del conteo de células somáticas están generalmente disponibles en cada envío de leche que sale de la unidad de producción y estos datos proporcionan una estimación general de la salud de la ubre de las vacas que contribuyen a la leche del tanque. A nivel de vacas los hatos que utilizan un laboratorio de pruebas tienen datos mensuales que reflejan la salud de la ubre de cada vaca, y estos datos se pueden usar paralelamente para predecir qué vacas tienen glándulas mamarias sanas en comparación con las que tienen casos agudos, resueltos o crónicos de mastitis subclínica (Adkins & Middleton, 2018).

Aunque las muestras compuestas de conteo de células somáticas a nivel de vacas son útiles para separar vacas infectadas de no infectadas, estos datos son imperfectos. La sensibilidad del conteo de células somáticas compuesto como indicador de infección intramamaria en al menos un cuarto varía del 30 al 89%, mientras que la especificidad varía del 60 al 90% (McDermott *et al.*, 1982; Reksen *et al.*, 2008; Jashari *et al.*, 2016). La sensibilidad y especificidad utilizando un límite de 200,000 células/ml para un solo conteo de células somáticas compuesto obtenido lo más cercano al tiempo de cultivo bacteriológico fue de 44 y 87% respectivamente para vacas infectadas con cualquier patógeno y de 65 y 73%, respectivamente, para vacas infectadas con alguno de los patógenos mayores (Jashari *et al.*, 2016).

La relación más precisa entre infección intramamaria y conteo de células somáticas existe a nivel de cuarto. Los datos sugieren que los cuartos no infectados tienen un conteo de células somáticas promedio de aproximadamente 70,000 células somáticas/ml (Djabri *et al.*, 2002; Schukken *et al.*, 2003) y un conteo de células somáticas de 200,000 células/ml o más, se usa a menudo como límite para definir los cuartos infectados (Schukken *et al.*, 2003). Dicho esto, la sensibilidad diagnóstica del conteo de células somáticas a nivel de cuarto para la mastitis subclínica también puede ser imperfecta, y de alguna manera depende del patógeno que provoca a la mastitis (Adkins & Middleton, 2018). Al utilizar un límite de 200,000 células somáticas/ mililitro, Dohoo y Leslie estimaron que la sensibilidad y especificidad para la detección de una infección intramamaria a nivel de cuarto es de 72.6% y 85.5% respectivamente (Dohoo & Leslie, 1991), mientras que Middleton y colaboradores reportaron que la sensibilidad del conteo de células somáticas a nivel de cuarto utilizando un límite de 100,000 células somáticas/ml fue de 0.60 para todas las infecciones intramamarias bacterianas, de 0.53 para infecciones intramamarias por estafilococos coagulasa negativos, de 0.96 para infecciones intramamarias por estafilococos coagulasa positivos y de 0.71 para infecciones intramamarias por estreptococos diferentes a *Streptococcus agalactiae* (Middleton *et al.*, 2004).

Se han identificado otras limitaciones que afectan el uso del conteo de células somáticas como herramienta de diagnóstico. El conteo de células somáticas en leche puede permanecer elevado durante algún tiempo después de que se haya eliminado el microorganismo, lo que resulta en falsos positivos como prueba para detectar infección intramamaria; además aunque la infección intramamaria es el factor predominante asociado con la variación en el conteo de células somáticas, otros factores pueden afectarlo, incluidos el hato, la vaca, la raza, la glándula, el mes de muestreo, la temporada (estación), la etapa de lactación, la edad de la vaca, el número de parto, la frecuencia de ordeño y agentes estresantes (Harmon, 1994; Schepers *et al.*, 1997; Brolund, 1985; Walsh *et al.*, 2007). Por otra parte, la contribución de un solo cuarto infectado puede sobrestimar el efecto de la mastitis en el conteo de células somáticas a nivel de vaca (Bezman *et al.*, 2015); mientras que cuando se evaluaron muestras de leche compuesta, un solo cuarto con conteo celular somático alto suele

enmascararse por el efecto de dilución de los cuartos sanos (Forsback *et al.*, 2009; Blum *et al.*, 2014).

Existe una variación considerable en el patrón temporal de los recuentos de células somáticas después de una infección intramamaria. Como regla general, si se elimina la infección, el conteo de células somáticas vuelve a los niveles de pre-infección en unas pocas semanas, mientras que, si el sistema inmunitario no logra eliminar la infección, se produce una elevación prolongada del conteo de células somáticas (Schukken *et al.*, 2003); tres conteos de células somáticas elevados de forma consecutiva son indicativo de una alta probabilidad de infección crónica. Por lo tanto, la interpretación de los patrones de conteo de células somáticas se utiliza cada vez más en el campo como una herramienta para realizar la toma de decisiones de manejo y tratamiento (Williams *et al.*, 2012).

Estimación del conteo de células somáticas a pie de vaca.

Se han desarrollado y estudiado varios métodos a pie de vaca para medir o aproximar el conteo de células somáticas en leche como son:

Prueba de Wisconsin para mastitis (WMT) modificada: Una modificación del CMT desarrollada para aumentar la objetividad de la medición de la viscosidad (Adkins & Middleton, 2018). Una modificación de la WMT ha sido adaptada para su uso en la Unidad de Producción (Rodrigues *et al.*, 2009), que se puede realizar en unos pocos minutos y da como resultado una medición semicuantitativa del conteo de células somáticas; sin embargo, se requiere una muestra refrigerada y recolectada máximo 5 horas antes de realizar la prueba (Adkins & Middleton, 2018).

Prueba de actividad de esterasa: Una prueba cualitativa que convierte los resultados de una reacción enzimática en un conteo de células somáticas estimado. Requiere de 5 a 45 minutos de incubación, dependiendo del tipo de prueba (Adkins & Middleton, 2018).

Prueba de California para mastitis (CMT): Indica una medida cualitativa del conteo de células somáticas. El reactivo causa la lisis de las membranas celulares,

la precipitación del ADN celular y las proteínas, lo que produce un cambio en la viscosidad del reactivo cuando se agrega a la leche; el grado de gelificación se puntúa como negativo, traza, 1, 2 ó 3. Se trata de una prueba simple, rápida y económica que indica indirectamente el conteo de células somáticas en leche (Schalm & Noorlander, 1957). El CMT se puede realizar rápidamente al lado de la vaca y cuesta aproximadamente \$0.15 dólares/vaca (\approx \$2.87 MXN) costo que considera el reactivo CMT y la paleta, deberá sumarse la mano de obra (Gooden *et al.*, 2017).

El CMT, cuando se usó una calificación de “Traza” o mayor como punto de corte, tuvo una sensibilidad y especificidad de prueba mucho más altas que la versión WMT a pie de vaca. Al comparar las pruebas de CMT, WMT a pie de vaca y 3 diferentes pruebas de actividad de esterasa, CMT proporcionó la mayor precisión, practicidad y menor costo en la Unidad de Producción, para el diagnóstico de mastitis subclínica al momento del secado (Kandeel *et al.*, 2017). El CMT también proporcionó una detección más rápida y mayor precisión como método de detección de mastitis subclínica definida como un conteo de células somáticas de más de 200,000 células/ml en el momento del secado y al inicio de una nueva lactación (Kandeel *et al.*, 2018).

La sensibilidad y especificidad del CMT se ha analizado en varios estudios, al evaluar la capacidad de la prueba para detectar una infección intramamaria por un patógeno mayor causante de mastitis (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* spp y organismos gram negativos) en la lactación temprana, la sensibilidad fue del 82.4% y la especificidad fue del 80.6% en el día 4 de la lactación (Dingwell *et al.*, 2003). Cuando se evaluó para determinar la capacidad del CMT para identificar infección intramamaria por cualquier patógeno, incluidos los patógenos menores, la sensibilidad fue mucho menor con el 61%, pero la especificidad fue la misma en el 80% (Middleton *et al.*, 2004). Cuando se evaluó el CMT para identificar infección intramamaria al momento del secado a nivel vaca para todos los patógenos, la sensibilidad fue del 70% y la especificidad fue del 48% (Sanford *et al.*, 2006). En general, aunque el CMT carece de sensibilidad diagnóstica para detectar infecciones intramamarias inespecíficas, cuando la infección intramamaria es causada por

alguno de los patógenos mayores la sensibilidad es razonable, lo que sugiere que el CMT sigue siendo una herramienta de detección útil para los patógenos mayores causantes de mastitis (Nyman *et al.*, 2014).

Diagnóstico de infección intramamaria.

Ninguna de las pruebas de diagnóstico utilizadas para identificar mastitis puede especificar el agente patógeno que causa la infección y, por lo tanto, excluye la información necesaria para tomar una decisión de tratamiento. Por esto, se recomienda hacer un seguimiento diagnóstico de la mastitis con una prueba para identificar el agente causal de la infección intramamaria. En general, los objetivos son seleccionar un protocolo de tratamiento o determinar dónde se deben implementar o mejorar las medidas de control en la unidad de producción para reducir la incidencia de la enfermedad y mejorar la salud de la ubre y calidad de la leche. Al igual que con el conteo de células somáticas, los datos se pueden recopilar a nivel de hato (tanque de almacenamiento), por vaca (muestreo en línea) o cuarto mamario. El cultivo bacteriológico y la reacción en cadena de la polimerasa (**PCR**) son los principales métodos actualmente en uso para diagnosticar infección intramamaria (Adkins & Middleton, 2018).

Para mastitis clínica o subclínica, el cultivo microbiológico de la leche es el estándar de oro aceptado para determinar el estado de infección intramamaria, sin embargo, los investigadores pueden usar diferentes enfoques para el muestreo o interpretación de los resultados del cultivo, al definir el estatus de infección intramamaria. Si bien el cultivo microbiológico es reconocido como el estándar de oro para determinar una infección intramamaria, el costo y la posibilidad de enviar muestras a los laboratorios de referencia para el cultivo de leche puede ser un impedimento para que algunas unidades de producción adopten este enfoque en los programas de rutina para detección de vacas secas o recién paridas, sin embargo, existen otras opciones de diagnóstico en granja para identificar una infección intramamaria a nivel de cuarto o de vaca; como lo es el cultivo rápido de la leche en granja, OFC por sus siglas en inglés (on-farm culture) (Gooden *et al.*, 2017).

Impacto económico de la mastitis bovina.

Debido a que la mastitis puede ser causada por diferentes patógenos, el control puede ser difícil y las pérdidas económicas debido a la mastitis pueden ser inmensas. El National Mastitis Council estima que la mastitis le cuesta a los productores de leche en los Estados Unidos de América más de \$ 2 mil millones de dólares al año (Hogan *et al.* 2011 NMC). Por lo tanto, la mastitis sigue siendo uno de los factores limitantes más significativos, si no el más importante, para la producción lechera rentable en los Estados Unidos y alrededor del mundo (Oliver & Murinda, 2012).

Se ha demostrado que la mastitis subclínica reduce la producción de leche y el rendimiento económico; en un estudio donde se evaluó el efecto de diferentes patógenos mediante la comparación de cuartos mamarios sanos *versus* infectados de 146 vacas en producción de leche, se determinó: el impacto económico multiplicando la producción láctea de cada cuarto por el precio estimado de la misma para ambos casos (infectados y no infectados), el conteo de células somáticas y la composición de la leche. Los resultados demostraron que los cuartos sanos tuvieron un conteo de células somáticas menor (274,900 células somáticas/ml) que su contraparte de cuartos infectados (1,038,500 células somáticas/ml); también se observó que la leche de los cuartos infectados por patógenos contagiosos, tuvieron concentraciones elevadas de proteína y grasa en comparación con los cuartos sanos. Las pérdidas en producción de leche oscilaron entre 70 gramos/cuarto hasta 1.4 kg/cuarto y las pérdidas económicas oscilaron entre US\$ 0.02-0.4 (≈\$0.39-7.84 MXN) /cuarto según el agente patógeno (Gonçalves *et al.*, 2018).

Hogeveen y colaboradores mencionan que las pérdidas económicas mundiales debidas a la mastitis oscilan entre 61 y 97 euros (≈\$1,344.9–2,138.5 MXN) por vaca al año (Hogeveen *et al.*, 2011), mientras que Rollin y colaboradores señalan que cada caso de mastitis clínica durante los primeros 30 días de lactación representa un costo de \$ 444.00 dólares estadounidenses (≈\$9,107.6 MXN) en los que se incluyen: diagnóstico, tratamiento, leche no vendida, servicio médico veterinario, mano de obra, muerte de animales enfermos, pérdida de la futura producción láctea, eliminación prematura de vacas de la unidad de producción,

pérdida por concepto de animales de reemplazo, así como el valor de futuros problemas reproductivos (Rollin *et al.*, 2015). Aunado a esto otro factor a considerar son las altas tasas de sacrificio de vacas con un conteo de células somáticas elevado, en los hatos con un conteo de células somáticas en leche de tanque cercano al límite legal superior (Barkema *et al.*, 1998).

La duración del tratamiento con antibióticos junto con el período de retiro puede causar la pérdida de leche por alrededor de 6 a 10 días, lo que exacerba las pérdidas económicas (Smith *et al.*, 2005; Conzuelo *et al.*, 2013; Bhosale *et al.*, 2014). La producción de cantidades máximas de leche de calidad es un objetivo importante de todo productor de leche, la leche de calidad sabe mejor, es más nutritiva y tiene una vida de anaquel más larga; por otro lado, la leche de calidad pobre o reducida, afecta a todos los segmentos de la industria láctea, lo que en última instancia da como resultado un decremento en las propiedades de manufactura de la leche y productos lácteos con una vida de anaquel más corta (Oliver & Murinda, 2012).

Importancia de la mastitis bovina en salud pública.

Además de las consecuencias negativas para los productores de leche y la industria láctea, la mastitis es una amenaza para la salud pública, ya que muchos de los agentes causantes de esta patología también pueden infectar al hombre y causar infecciones en el tracto gastrointestinal, además del potencial de aparición y propagación de bacterias resistentes a los antibióticos o la transferencia de genes de resistencia antibiótica a patógenos humanos (Seeger *et al.*, 2003; de Freitas Guimarães *et al.*, 2013; Langoni, 2013; Keane, 2016).

En la actualidad existe un dilema debido a la creciente atención de los consumidores a la necesidad de reducir el uso de antibióticos en los animales dedicados al abasto y al deseo de la industria alimentaria de ser más rentable y al mismo tiempo, mantener los estándares óptimos de salud animal. En la mayoría de los países, solo se permite la venta de leche cuando los residuos de antibióticos detectables son cero o muy bajos (Regev *et al.*, 2018).

De acuerdo con datos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), Sistema Nacional de Monitoreo de Salud Animal (NAHMS) Dairy 2014,

durante 2013 el 91.3% de las acciones de manejo en ganado lechero corresponde a aplicación de antibióticos. Durante el mismo año la mayoría de las vacas afectadas por mastitis y enfermedades respiratorias fueron tratadas con antimicrobianos con el 85.6 y 95.0 por ciento respectivamente (**Tabla 1**), por lo que la mastitis es una de las principales causas del uso de antibióticos en las unidades de producción.

Tabla 1. Para el 91.3% de las operaciones que administraron antimicrobianos en 2013, porcentaje de vacas afectadas por las siguientes enfermedades o trastornos, el porcentaje tratado con antimicrobianos y el porcentaje de vacas afectadas tratadas:

Porcentaje de vacas*			
Enfermedad o trastorno	Afectadas	Tratadas	Porcentaje de afectadas y tratadas
Mastitis	25.7 %	22.0 %	85.6 %
Reproductivo	14.7 %	7.7 %	52.8%
Podales	14.7 %	3.6 %	24.8 %
Respiratorio	2.8 %	2.6 %	95.0 %
Diarrea u otro digestivo	5.1 %	1.1 %	21.5 %
Otro	0.7 %	0.5 %	75.5 %

* Como porcentaje del inventario de vacas lecheras al 1° de enero de 2014 en EUA.

Adaptado de: "Dairy 2014. Health and Management Practices on U.S. Dairy Operations, 2014." Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Febrero 2018.

El uso continuo de antibióticos en el tratamiento de la mastitis y otras enfermedades en humanos y animales ha dado lugar a organismos resistentes a múltiples fármacos, por ejemplo, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), *S. aureus* resistente a la vancomicina, *Enterococcus* resistente a la vancomicina (VRE) y tuberculosis extensamente farmacorresistente (XDR) (Alekhshun & Levy, 2007), por lo que se requiere con urgencia la identificación de un tratamiento eficaz para la mastitis mediante intervenciones que no conduzcan a la aparición de residuos biológicos en productos de origen animal y que no promuevan la selección de poblaciones microbianas resistentes a los medicamentos (Sellera et al., 2016).

Con base en lo anterior, conocer los patógenos causantes de mastitis, identificar los factores de riesgo, así como la prevalencia de esta patología, es esencial en el diseño de medidas de prevención y control (Tolosa *et al.*, 2013; Mekonnen *et al.*, 2017).

Hipótesis.

La prevalencia de mastitis bovina en unidades de producción pecuaria pertenecientes al Complejo Agropecuario Industrial Tizayuca, S.A. ha aumentado respecto a años anteriores. Así mismo existe una correlación entre la presencia y grado de mastitis, con las variables número de parto y días en leche.

Objetivo.

El objetivo del presente estudio es conocer la prevalencia de mastitis bovina subclínica y clínica, en una muestra disponible de unidades de producción pecuaria (UPP) pertenecientes al Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca, S.A. (CAITSA), así como determinar si existe una correlación entre la presencia de mastitis y las variables número de parto y días en leche.

Objetivos específicos.

Determinar la prevalencia de mastitis clínica y subclínica a nivel de vaca y de glándula mamaria, aplicando la prueba de tazón con paño negro y prueba de California para mastitis (CMT), para conocer la situación de esta patología en las unidades de producción pecuaria bajo estudio.

Comparar la prevalencia de mastitis bovina obtenida en el presente estudio con la prevalencia reportada anteriormente para unidades de producción pecuaria del mismo complejo agropecuario a través de una prueba de contraste de hipótesis, para verificar su aumento o disminución.

Evaluar si existe asociación entre los valores número de parto y días en leche con grado de mastitis según el score de la prueba CMT, mediante el uso de pruebas estadísticas, para conocer la importancia de estas variables en la presentación de la mastitis bovina.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización.

El presente estudio se realizó en unidades de producción de leche ubicadas en el Complejo agropecuario industrial de Tizayuca, S. A (CAITSA), localizado en el Km, 40.5 de la carretera federal México-Pachuca. Ubicado entre los paralelos 19° 47' y 19° 55' de latitud norte; los meridianos 98° 54' y 99° 02' de longitud oeste; y una altitud de 2300 m.s.n.m. Cuenta con un rango de temperatura de 12 a 16°C, precipitación de 500 a 700 mm y clima semiseco templado (INEGI, 2009).

Unidades producción pecuaria.

Mediante un muestreo no probabilístico de conveniencia se seleccionaron siete unidades de producción pecuaria pertenecientes al Complejo Agropecuario Industrial de Tizayuca, S.A (CAITSA). Se incluyen en el estudio siete unidades de producción pecuaria (UPP) con ganado comercial Holstein-Friesian, con un aproximado de 200 vacas en ordeño en promedio por unidad de producción, los cuales se encuentran identificados con los números 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 (**Tabla 2**).

Tabla 2. Unidades de producción y número de animales estudiados.

Unidad de producción.	Número de vacas muestreadas.
1	109
2	229
3	200
4	157
5	74
6	228
7	239
Total	1,236

Diagnóstico de mastitis bovina.

A la totalidad de vacas en ordeño de las diferentes unidades de producción se aplicó para el diagnóstico de mastitis clínica la prueba de tazón con paño negro según lo descrito por Avila y Gutiérrez (Avila y Gutiérrez., 2014) y posteriormente para la identificación de mastitis subclínica, la prueba de California para mastitis de acuerdo a lo descrito por Schalm y Noorlander (Schlam y Noorlander., 1957).



Figura 3. Estructura del Complejo Agropecuario Industrial Tizayuca, S. A. ubicado en el estado de Hidalgo.

-Cada número corresponde a la identificación de una Unidad de Producción.

*Modificado de Google Earth.

Plan de análisis de resultados.

Estimación de la prevalencia de mastitis bovina.

Los datos recabados de ambas pruebas se registraron en el formato correspondiente (**Anexo 1**) con la siguiente nomenclatura (**Tabla 3**):

Tabla 3. Nomenclatura para el registro de los resultados a las pruebas CMT y tazón con paño negro en el formato correspondiente (**Anexo 1**).

Valor	Descripción
0	Reacción CMT= Negativo
0.5	Reacción CMT = Trazas
1	Reacción CMT = 1
2	Reacción CMT = 2
3	Reacción CMT= 3
4	Glándula positiva a tazón con paño negro = mastitis clínica.
5	Glándula improductiva (ciega).

Así mismo a partir de los registros reproductivos individuales de las vacas en producción de leche, se obtuvieron los valores de número de parto y días en leche, y se registraron en el formato correspondiente (**Anexo 1**).

Los datos obtenidos se trasladaron a una hoja de cálculo del programa Microsoft® Excel® 2016 MSO (16.0.11901.20070) 32 bits, para su análisis. La prevalencia se estimó a nivel de vaca y a nivel de glándula. A nivel de vaca, se consideró positivas a las vacas con al menos una glándula positiva a la prueba de California para mastitis en al menos grado trazas, o positiva a tazón con paño negro; el mismo criterio fue utilizado para el cálculo de prevalencia a nivel de glándula. La estimación se calculó mediante las siguientes fórmulas (Santivañez-Ballón *et al.*, 2013):

$$Prevalencia \ a \ nivel \ de \ vaca = \frac{Número \ de \ vacas \ positivas}{Número \ de \ vacas \ muestreadas} \times 100$$

$$\text{Prevalencia a nivel de glándula} = \frac{\text{Número de glándulas positivas}}{\text{Número de glándulas muestreadas}} \times 100$$

Comparación de la prevalencia obtenida respecto a años anteriores.

La prevalencia de mastitis se comparó mediante una prueba de contraste de hipótesis contra los datos reportados en la literatura ^(Gasca, 2002) para unidades de producción pertenecientes a este mismo complejo agropecuario, a nivel de significancia estadística de $\alpha = 0.05$ con el fin de determinar si la prevalencia ha aumentado. La prueba de hipótesis fue la siguiente:

$$Z = \frac{(\hat{p}_1 - \hat{p}_2) - 0}{\sqrt{\frac{\hat{p}\hat{q}}{n_1} + \frac{\hat{p}\hat{q}}{n_2}}}$$

Donde \hat{p} es la proporción combinada de ambas muestras:

$$\hat{p} = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} x_i + \sum_{i=1}^{n_2} y_i}{n_1 + n_2}$$

$$\hat{q} = 1 - \hat{p}$$

- *Prueba de hipótesis para muestras independientes grandes, de poblaciones Bernoulli* (Ducoing, 2016).

Análisis de la relación entre mastitis y las variables número de parto y días en leche.

Con el fin de conocer si existe una relación significativa entre el grado de mastitis a nivel de glándula, utilizando la nomenclatura que se muestra en la **Tabla 2**, y las variables número de parto y días en leche, se realizó la prueba de ji-cuadrada de Pearson con nivel de significancia estadística de $\alpha = 0.05$; utilizando el software estadístico R ^(R Core team, 2019).

RESULTADOS

1. Prevalencia de mastitis.

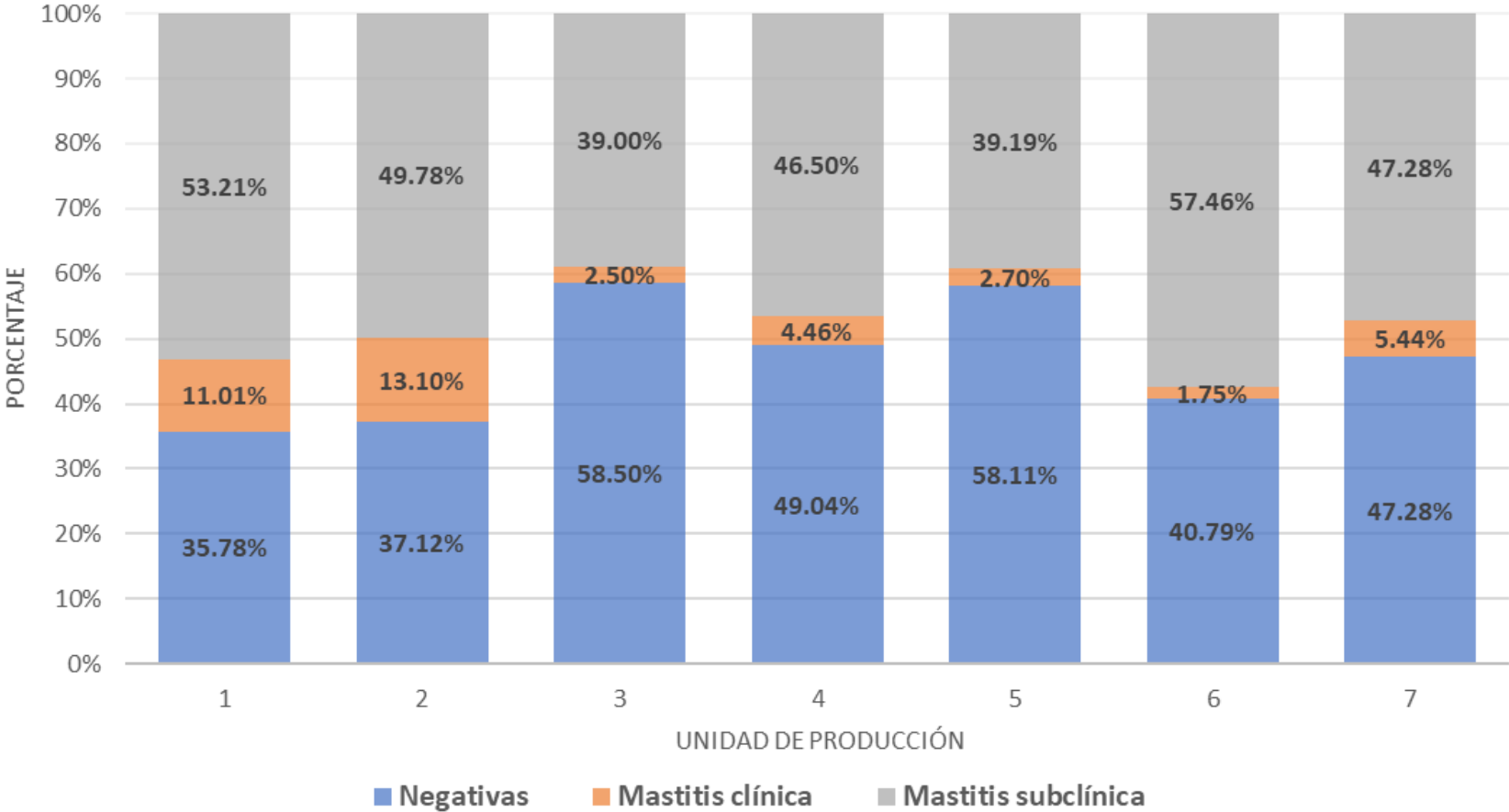
1.1 Prevalencia a nivel de vaca.

La prevalencia de mastitis a nivel de vaca, obtenida mediante las pruebas de tazón con paño negro y prueba de California para mastitis en las siete Unidades de Producción, así como el número de vacas en ordeño pertenecientes a cada una de ellas se muestran en la siguiente tabla (**Tabla 4**), y de manera gráfica en la **figura 3**.

Tabla 4. Prevalencia de mastitis a nivel de vaca				
Unidad de Producción	Número de vacas	Negativas (%)	Mastitis clínica (%)	Mastitis subclínica (%)
1	109	35.78	11.01	53.21
2	229	37.12	13.10	49.78
3	200	58.50	2.50	39.00
4	157	49.04	4.46	46.50
5	74	58.11	2.70	39.19
6	228	40.79	1.75	57.46
7	239	47.28	5.44	47.28
TOTAL	1236	45.87	5.91	48.22

Con base en los resultados anteriores que corresponden a la prevalencia de mastitis a nivel de vacas, la unidad de producción con la mayor prevalencia de mastitis clínica fue la identificada con el **número 2**, para el caso de mastitis subclínica la mayor prevalencia se encontró en la unidad **número 6** y finalmente la unidad de producción con la mayor proporción de animales sanos fue la **número 3**.

Figura 4. Prevalencia de mastitis a nivel de vaca en Unidades de Producción seleccionadas.



1.2 Prevalencia a nivel de glándula (cuarto).

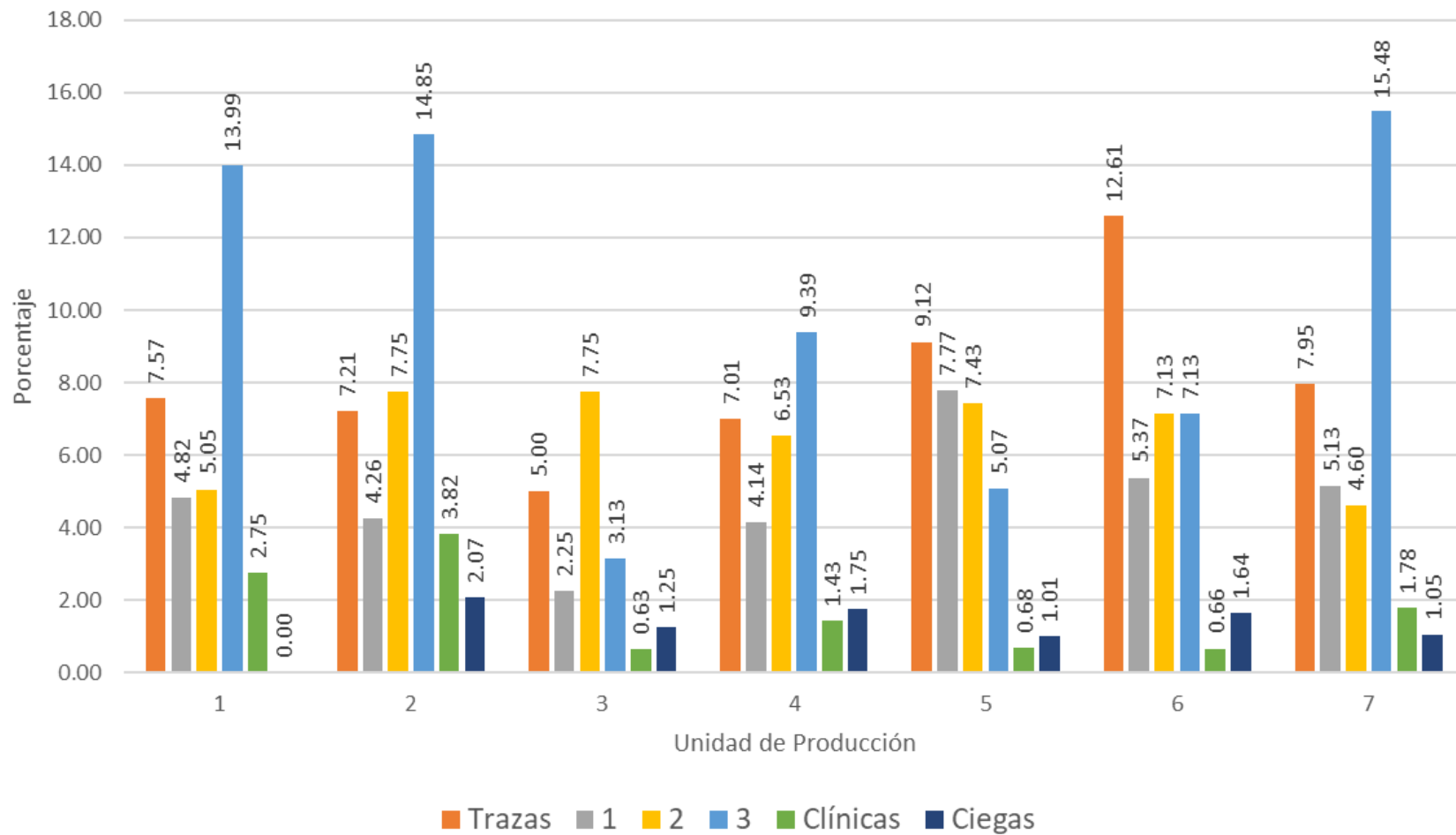
La prevalencia de mastitis a nivel de glándula obtenida mediante las pruebas señaladas en las diferentes unidades de producción se muestra en la siguiente tabla (**Tabla 5**), y de manera gráfica en la **figura 4**.

Tabla 5. Prevalencia de mastitis a nivel de glándula.								
UP	Número de glándulas	Mastitis subclínica (Reacción CMT)					Glándulas con mastitis clínica. (%)	Glándulas ciegas (%)
		Negativa (%)	Trazas (%)	1 (%)	2 (%)	3 (%)		
1	436	65.83	7.57	4.82	5.05	13.99	2.75	0.00
2	916	60.04	7.21	4.26	7.75	14.85	3.82	2.07
3	800	80.00	5.00	2.25	7.75	3.13	0.63	1.25
4	628	69.75	7.01	4.14	6.53	9.39	1.43	1.75
5	296	68.92	9.12	7.77	7.43	5.07	0.68	1.01
6	912	65.46	12.61	5.37	7.13	7.13	0.66	1.64
7	956	64.02	7.95	5.13	4.60	15.48	1.78	1.05
TOTAL	4944	67.31	8.11	4.55	6.61	10.30	1.74	1.38

UP: Unidad de producción.

De acuerdo a los resultados obtenidos, la prevalencia de mastitis a nivel de glándula mamaria en las diferentes unidades de producción y en los diferentes grados observados, la unidad de producción **número 3** mostró la mayor proporción de glándulas negativas (sanas). De igual manera para cada nivel de la prueba CMT se mencionan las unidades de producción con la mayor prevalencia en dicho rubro, para el grado trazas la unidad **número 6** presentó la mayor prevalencia, para el grado 1 la unidad **número 5**, para el grado 2 las unidades **número 2 y 3** mostraron la mayor prevalencia, para el grado 3 la unidad **número 7**, y finalmente la unidad **número 2** presentó la mayor prevalencia de glándulas con mastitis clínica así como de glándulas ciegas.

Figura 5. Prevalencia de mastitis a nivel de glándula en Unidades de Producción seleccionadas.



De igual manera se analizó la prevalencia de mastitis a nivel de glándula mamaria según su posición en la ubre, identificándolas como anterior izquierda, anterior derecha, posterior izquierda y posterior derecha, los resultados se muestran en la **tabla 6** y de manera gráfica en las **figuras 6, 7, 8 y 9**.

Tabla 6. Prevalencia de mastitis a nivel de glándula según su ubicación anatómica en Unidades de Producción seleccionadas.

UP	Glándula anterior izquierda.							Glándula anterior derecha						
	N (%)	T (%)	CMT 1 (%)	CMT 2 (%)	CMT 3 (%)	Clínicas (%)	Ciegas (%)	N (%)	T (%)	CMT 1 (%)	CMT 2 (%)	CMT 3 (%)	Clínicas (%)	Ciegas (%)
1	76.15	4.59	3.67	2.75	10.09	2.75	0.00	61.47	11.01	4.59	4.59	16.51	1.83	0.00
2	62.45	5.24	3.06	6.55	16.16	3.93	2.62	57.64	6.55	3.93	6.11	16.59	6.55	2.62
3	79.00	4.50	2.00	8.00	2.50	1.00	3.00	82.50	3.50	1.00	7.00	3.50	0.50	2.00
4	71.97	4.46	6.37	4.46	9.55	1.27	1.91	68.79	4.46	4.46	9.55	8.28	1.91	2.55
5	72.97	6.76	6.76	8.11	2.70	1.35	1.35	70.27	10.81	8.11	4.05	4.05	1.35	1.35
6	68.42	10.09	4.82	5.70	7.89	1.32	1.75	64.91	11.84	5.26	7.46	7.46	0.88	2.19
7	65.69	7.53	3.77	4.60	15.90	1.67	0.84	66.95	7.11	4.60	2.93	17.15	1.26	0.00
\bar{x}	69.90	6.39	4.05	5.74	10.19	1.94	1.78	67.31	7.52	4.21	6.07	11.08	2.18	1.62
UP	Glándula posterior izquierda.							Glándula posterior derecha						
	N (%)	T (%)	CMT 1 (%)	CMT 2 (%)	CMT 3 (%)	Clínicas (%)	Ciegas (%)	N (%)	T (%)	CMT 1 (%)	CMT 2 (%)	CMT 3 (%)	Clínicas (%)	Ciegas (%)
1	66.97	4.59	5.50	4.59	16.51	1.83	0.00	58.72	10.09	5.50	8.26	12.84	4.59	0.00
2	61.57	5.68	4.80	10.04	12.66	4.37	0.87	58.52	11.35	5.24	8.30	13.97	0.44	2.18
3	80.50	6.00	3.50	7.50	2.50	0.00	0.00	78.00	6.00	2.50	8.50	4.00	1.00	0.00
4	70.70	7.64	3.18	6.37	10.19	0.00	1.91	67.52	11.46	2.55	5.73	9.55	2.55	0.64
5	68.92	10.81	4.05	10.81	5.41	0.00	0.00	63.51	8.11	12.16	6.76	8.11	0.00	1.35
6	65.79	14.04	5.70	7.89	5.26	0.00	1.32	62.72	14.47	5.70	7.46	7.89	0.44	1.32
7	63.18	10.04	5.44	4.60	13.39	2.09	1.26	60.25	7.11	6.69	6.28	15.48	2.09	2.09
\bar{x}	67.80	8.58	4.69	7.28	9.39	1.38	0.89	64.24	9.95	5.26	7.36	10.52	1.46	1.21

- **UP:** Unidad de Producción, **N:** Negativo, **T:** Trazas, **CMT 1:** Reacción 1 a la prueba de California, **CMT 2:** Reacción 2 a la prueba de California, **CMT 3:** Reacción 3 a la prueba de California, **Clínicas:** Glándulas con mastitis clínica, **Ciegas:** Glándulas improductivas.

Figura 6. Prevalencia de mastitis en glándula anterior izquierda en Unidades de Producción seleccionadas.

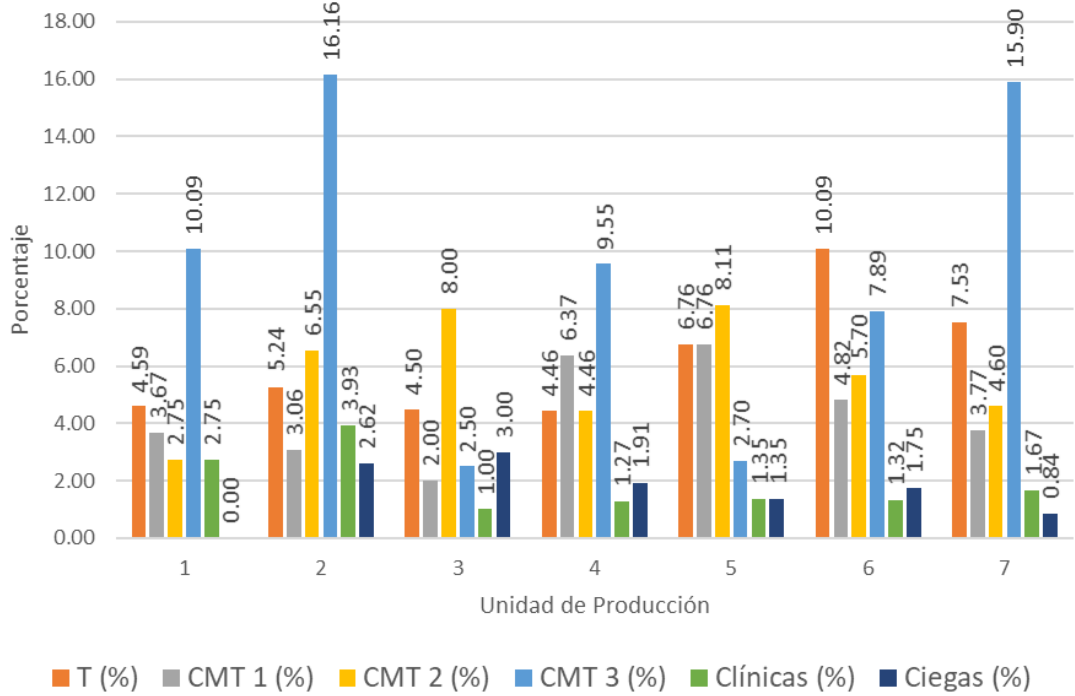


Figura 7. Prevalencia de mastitis en glándula anterior derecha en Unidades de Producción seleccionadas.

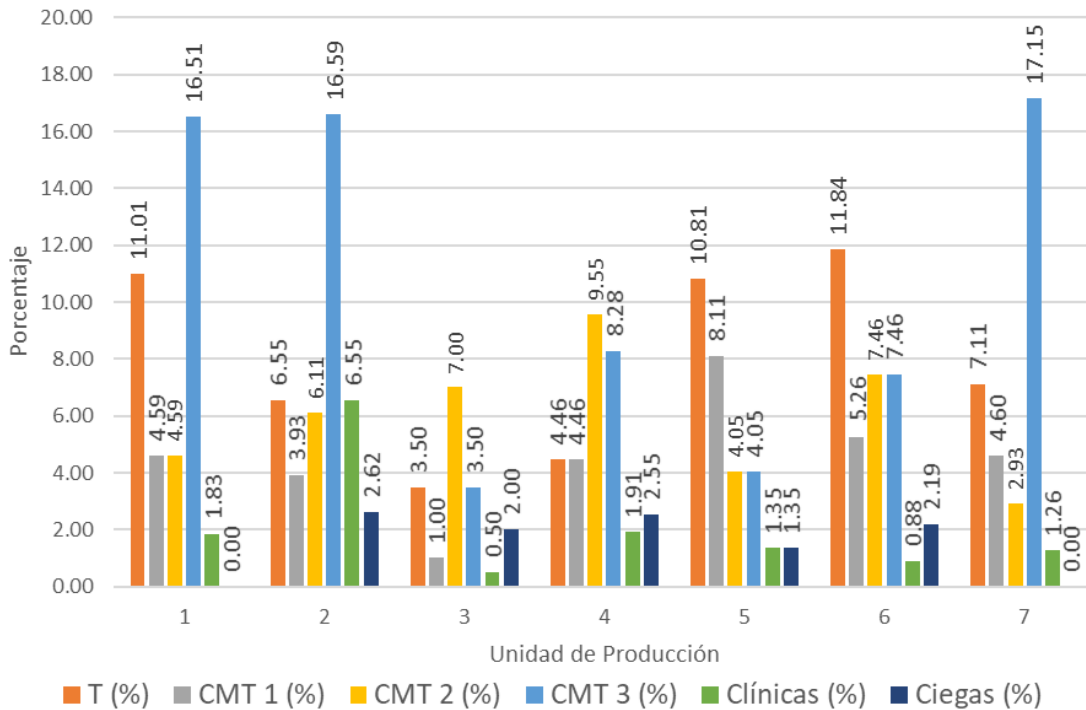


Figura 8. Prevalencia de mastitis en glándula posterior izquierda en Unidades de Producción seleccionadas.

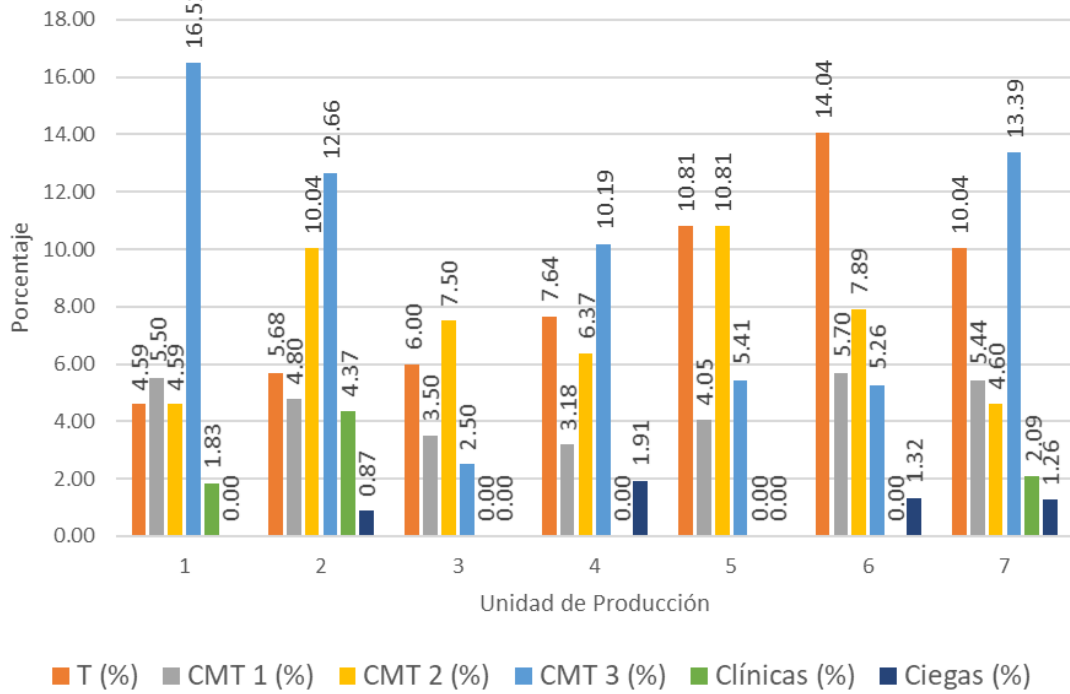
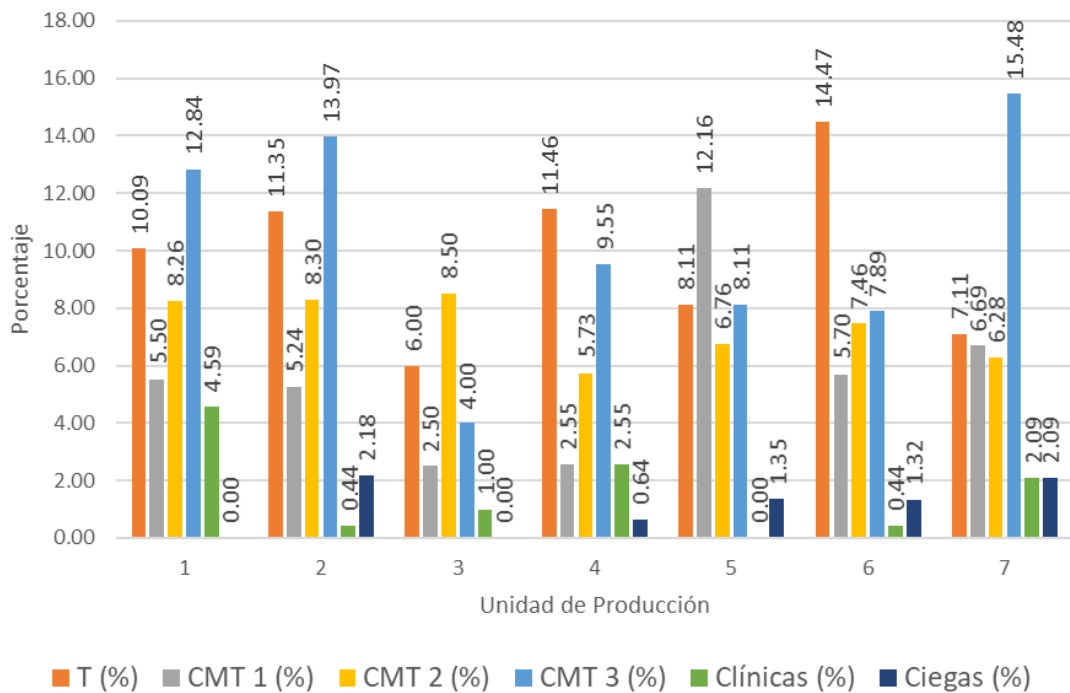


Figura 9. Prevalencia de mastitis en glándula posterior derecha en Unidades de Producción seleccionadas.



2. Comparación de la prevalencia obtenida respecto a años anteriores.

Se comparó la prevalencia de mastitis a nivel de vaca con lo reportado en la literatura para unidades de producción pecuaria pertenecientes al Complejo agropecuario industrial Tizayuca S.A (**Tabla 7**).

Tabla 7. Valores de prevalencia de mastitis bovina a nivel de vaca en hatos pertenecientes al CAITSA reportados en la literatura y obtenidos en el presente estudio.

Parámetros	Prevalencia de mastitis en el año 2002 <small>(Gasca, 2002)</small>	Prevalencia de mastitis obtenida en el presente estudio
Mastitis clínica	3.02 %	5.91 %
Mastitis subclínica	14.97 %	48.22 %
Sanas	82.01 %	45.87 %
	$n_1 = 900$ vacas	$n_2 = 1236$ vacas

2.1 Prueba de hipótesis para comparar la prevalencia de mastitis general en unidades de producción pertenecientes al CAITSA.

a. Hipótesis

$$H_0: P_1 - P_2 \geq 0$$

$$H_a: P_1 - P_2 = 0$$

Donde:

P_1 : proporción de vacas que presentaron mastitis clínica o subclínica en el año 2002 (Gasca., 2002).

P_2 : proporción de vacas que presentaron mastitis clínica o subclínica en el presente estudio.

b. Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$.

c. Estadístico de prueba

$$Z = \frac{(\hat{p}_1 - \hat{p}_2) - 0}{\sqrt{\frac{\hat{p}\hat{q}}{n_1} + \frac{\hat{p}\hat{q}}{n_2}}}$$

$$\hat{p} = \frac{\sum_{i=1}^{n_1} x_i + \sum_{i=1}^{n_2} y_i}{n_1 + n_2}$$

d. Distribución nula: $N(0, 1)$.

e. Región de rechazo

Todos los valores de $\frac{(\hat{p}_1 - \hat{p}_2) - 0}{\sqrt{\frac{\hat{p}\hat{q}}{n_1} + \frac{\hat{p}\hat{q}}{n_2}}} \leq -z_{0.025} = -1.96$

f. Decisión: $\hat{p}_1 = 0.1799$ $\hat{q}_1 = 0.8201$ $\hat{p}_2 = 0.5413$ $\hat{p}_2 = 0.4587$

$$Z_c = \frac{(0.1799 - 0.5413)}{\sqrt{\frac{(0.389)(0.611)}{900} + \frac{(0.389)(0.611)}{1236}}} \quad \hat{p} = \frac{161.91 + 669.04}{2136} = 0.384 \quad \hat{q} = 0.611$$

$$Z_c = \frac{-0.3614}{\sqrt{0.000264 + 0.000192}}$$

$$Z_c = \frac{-0.3614}{0.0213} = -16.46$$

Como $Z_c = -16.46 < -1.96$, se rechaza H_0 con un nivel de significancia de 5% y se concluye que la proporción de mastitis general es mayor en las vacas analizadas en el presente estudio en comparación con lo reportado por Gasca en 2002 ($P_1 < P_2$); lo que significa que la prevalencia de mastitis general ha aumentado respecto a los registros disponibles en el año 2002.

2.2 Prueba de hipótesis para comparar la prevalencia de mastitis clínica en unidades de producción pertenecientes al CAITSA.

a. Hipótesis

$$H_0: P_1 - P_2 \geq 0$$

$$H_a: P_1 - P_2 = 0$$

Donde:

P_1 : proporción de vacas que presentaron mastitis clínica en el año 2002 (Gasca., 2002).

P_2 : proporción de vacas que presentaron mastitis clínica en el presente estudio.

b. Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$.

c. Región de rechazo

Todos los valores de $Z \leq -1.96$

d. Decisión:

$$Z_c = -3.1413$$

Como $Z_c = -3.1413 < -1.96$, se rechaza H_0 con un nivel de significancia de 5% y se concluye que la proporción de mastitis clínica es mayor en las vacas analizadas en el presente estudio en comparación con lo reportado por Gasca en 2002 ($P_1 < P_2$); lo que significa que la prevalencia de mastitis clínica ha aumentado respecto a los registros disponibles de años anteriores.

2.3 Prueba de hipótesis para comparar la prevalencia de mastitis subclínica en unidades de producción pertenecientes al CAITSA.

a. Hipótesis

$$H_0: P_1 - P_2 \geq 0$$

$$H_a: P_1 - P_2 = 0$$

Donde:

P_1 : proporción de vacas que presentaron mastitis subclínica en el año 2002 (Gasca., 2002).

P_2 : proporción de vacas que presentaron mastitis subclínica en el presente estudio.

b. Nivel de significancia: $\alpha = 0.05$.

c. Región de rechazo

Todos los valores de $Z \leq -1.96$

d. Decisión:

$$Z_c = -16.06$$

Como $Z_c = -16.06 < -1.96$, se rechaza H_0 con un nivel de significancia de 5% y se concluye que la proporción de mastitis subclínica es mayor en las vacas analizadas en el presente estudio en comparación con lo reportado por Gasca en 2002 ($P_1 < P_2$); lo que significa que la prevalencia de mastitis subclínica ha aumentado respecto a los registros disponibles de años anteriores.

3. Análisis de la relación entre mastitis y las variables número de parto y días en leche.

Una vez obtenidos los valores número de parto y días en leche de aquellas vacas que contaban con registros productivos se agruparon según estas características y su grado de mastitis a nivel de glándula, como se muestra en las siguientes tablas (Tablas 8 y 9).

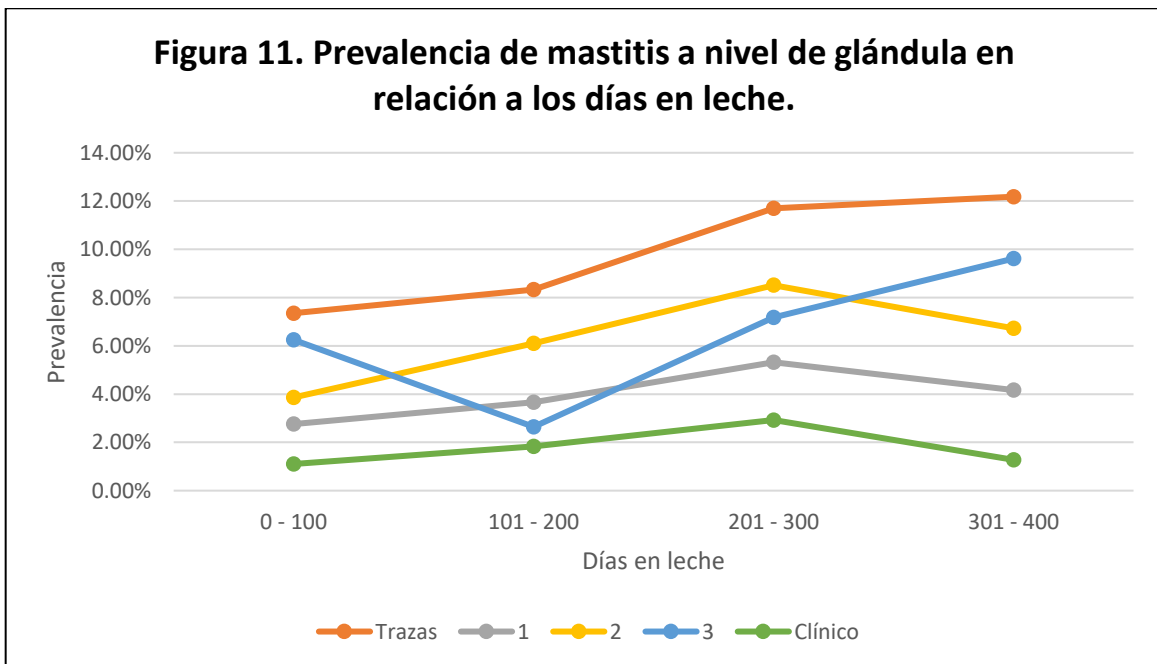
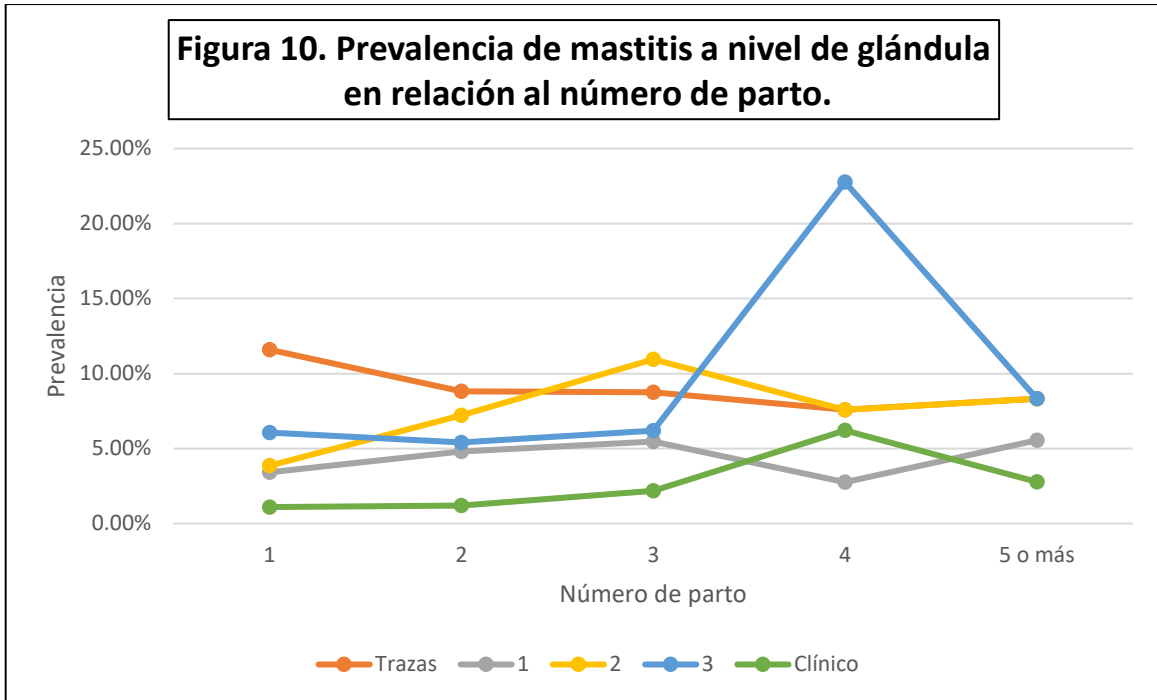
Tabla 8. Distribución de las glándulas mamarias en función del número de parto y grado de mastitis al que pertenecen.

Grado de mastitis	Número de parto					Total
	1° parto	2° parto	3° parto	4° parto	≥ 5° parto	
Negativo	670	362	182	77	48	1339
Trazas	105	44	24	11	6	190
1	31	24	15	4	4	78
2	35	36	30	11	6	118
3	55	27	17	33	6	138
Clínica	10	6	6	9	2	33
Total	906	499	274	145	72	1896

Tabla 9. Distribución de las glándulas mamarias en función de los días en leche y grado de mastitis al que pertenecen.

Grado de mastitis	Días en leche				Total
	0 - 100	101 - 200	201 - 300	301 - 400	
Negativo	426	372	235	198	1231
Trazas	40	41	44	38	163
1	15	18	20	13	66
2	21	30	32	21	104
3	34	13	27	30	104
Mastitis clínica	6	9	11	4	30
Total	542	483	369	304	1698

Posteriormente con la finalidad de ver el efecto del cambio en estas variables sobre la proporción de mastitis en cada grupo, se graficaron los valores mediante gráficas de líneas (**Figuras 10 y 11**).



En las **figuras 10** y **11** se observa que el grado de mastitis es mayor conforme aumentan los días en leche y el número de parto, por lo que se realizó el estadístico *ji*-cuadrada de Pearson para corroborar este comportamiento.

3.1 Prueba de *ji*-cuadrada de Pearson para conocer la asociación entre grado de mastitis a nivel de glándula y número de parto.

a. Hipótesis nula: La hipótesis nula establece que la probabilidad de que una glándula mamaria independientemente de su grado de mastitis, pertenezca a cualquier categoría de la variable número de parto es la misma para todas las poblaciones.

$$p_{11} = p_{21} = p_{31} = p_{41} = p_{51} = p_{61}$$

$$p_{12} = p_{22} = p_{32} = p_{42} = p_{52} = p_{62}$$

$$p_{13} = p_{23} = p_{33} = p_{43} = p_{53} = p_{63}$$

$$p_{14} = p_{24} = p_{34} = p_{44} = p_{54} = p_{64}$$

$$p_{15} = p_{25} = p_{35} = p_{45} = p_{55} = p_{65}$$

donde p_{ij} es la probabilidad de que una glándula con grado de mastitis i , tenga un número de parto j . $i=1, \dots, 6$ $j=1, \dots, 5$.

Hipótesis alternativa: El grado de mastitis a nivel de glándula difiere según el número de parto al que pertenezca.

b. Nivel de significancia deseado: 0.05

c. Región de rechazo: cualquier valor observado de la estadística de prueba χ^2 , que sea mayor o igual al percentil 0.95 de una *ji*-cuadrada con 20 grados de libertad, $\chi^2_{0.95}(20) = 31.41$.

De modo equivalente, cualquier valor observado para el cual la probabilidad de obtener, en una *ji*-cuadrada con veinte grados de libertad, un valor igual o más grande sea menor o igual que el nivel de significancia establecido.

d. Decisión: Con los datos de la muestra se obtuvo el estadístico de prueba a través del software R, para decidir si se rechaza o no la hipótesis nula.

El valor calculado de la estadística de prueba fue el siguiente:

$$\chi^2 = 109.65$$

Este valor es superior al valor crítico encontrado en el inciso c., de 31.41. De manera alternativa, la $P(\chi^2 \geq 109.65) = 2.278 \times 10^{-14}$, que es menor que el nivel de significancia deseado de 0.05. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el grado de mastitis de las glándulas difiere según el número de parto al que pertenezcan.

3.2 Prueba de ji -cuadrada de Pearson para conocer la asociación entre grado de mastitis a nivel de glándula y días en leche.

a. Hipótesis nula: La hipótesis nula establece que, la probabilidad de que una glándula independientemente de su grado de mastitis, pertenezca a cualquier categoría de la variable días en leche es la misma para todas las poblaciones.

$$p_{11} = p_{21} = p_{31} = p_{41} = p_{51} = p_{61}$$

$$p_{12} = p_{22} = p_{32} = p_{42} = p_{52} = p_{62}$$

$$p_{13} = p_{23} = p_{33} = p_{43} = p_{53} = p_{63}$$

$$p_{14} = p_{24} = p_{34} = p_{44} = p_{54} = p_{64}$$

donde p_{ij} es la probabilidad de que una glándula con grado de mastitis i , tenga un número de parto j . $i=1, \dots, 6$ $j=1, \dots, 4$.

Hipótesis alternativa: El grado de mastitis a nivel de glándula difiere según el grupo de días en leche al que pertenezca.

b. Nivel de significancia deseado: 0.05

c. Región de rechazo: cualquier valor observado de la estadística de prueba χ^2 , que sea mayor o igual al percentil 0.95 de una ji -cuadrada con 15 grados de libertad, $\chi^2_{0.95}(15) = 24.99$.

De modo equivalente, cualquier valor observado para el cual la probabilidad de obtener, en una ji -cuadrada con quince grados de libertad, un valor igual o más grande sea menor o igual que el nivel de significancia establecido.

d. Decisión: Con los datos de la muestra se obtuvo el estadístico de prueba a través del software R, para decidir si se rechaza o no la hipótesis nula.

El valor calculado de la estadística de prueba fue el siguiente:

$$\chi^2 = 53.262$$

Este valor es superior al valor crítico encontrado en el inciso c., de 24.99. De manera alternativa, la $P(\chi^2 \geq 53.262) = 0.000003488$, que es menor que el nivel de significancia deseado de 0.05. Por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que el grado de mastitis de las glándulas difiere según el número de días en leche al que pertenezcan.

DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue estimar la prevalencia de mastitis bovina clínica y subclínica en unidades de producción pertenecientes al Complejo Agropecuario Industrial Tizayuca S.A., así como determinar si existe asociación entre la presencia de mastitis y las variables número de parto y días en leche.

Varios autores resaltan la importancia de conocer la situación del estado de salud de las glándulas mamarias en los hatos lecheros con diferentes fines, Adkins y Middleton señalan que los objetivos de determinar la presencia de mastitis son seleccionar un protocolo de tratamiento o identificar dónde se deben implementar o mejorar las medidas de control en la unidad de producción para reducir la incidencia de la enfermedad y mejorar la salud de la ubre y calidad de la leche (Adkins & Middleton, 2018).

La prevalencia de mastitis bovina estimada en el presente estudio fue mayor que en lo reportado anteriormente para la misma región (Gasca, 2002; Jarillo, 1979), sin embargo, los datos fueron únicamente comparados a nivel de vaca ya que dichos estudios no muestran los datos a nivel de glándula (**Tabla 10**). En el caso del estudio realizado por Jarillo en 1979, se utilizó la prueba de California para mastitis para identificar y cuantificar la mastitis subclínica, y el límite de corte fue de \geq trazas, tal y como se realizó en este estudio, sin embargo, en el trabajo realizado por Gasca en 2002 se utilizó la prueba de Wisconsin para mastitis en donde el límite de corte de la prueba es de aproximadamente 1,525,000 células somáticas por mililitro, por lo que se trata de un límite mayor que en la prueba de California para mastitis.

En relación a lo reportado en otras regiones del altiplano mexicano, el porcentaje de prevalencia de mastitis subclínica a nivel de vaca se encontró dentro de los valores mencionados por Reza en 2003. A nivel de glándula, la frecuencia de mastitis clínica encontrada en el presente estudio fue menor que lo reportado por Pastor y Bedolla en 2008 para la región de Tarímbaro-Michoacán y mayor que lo mencionado por Aguilar *et al* en 2004 en la Región Ciénega-Jalisco; mientras que

la frecuencia de mastitis subclínica a este mismo nivel fue menor que lo reportado por estos mismos autores en las regiones mencionadas (**Tabla 10**).

Tabla 10. Prevalencia de mastitis bovina a nivel de vaca y nivel de glándula reportadas en diferentes regiones del Altiplano de México.

Autor/Región	Nivel Vaca		Nivel Glándula	
	M. Clínica	M. Subclínica	M. Clínica	M. Subclínica
Corona, 2020. Tizayuca- Hidalgo, México.	5.91 %	48.22 %	1.74 %	29.65 %
Gasca, 2002. Tizayuca- Hidalgo, México.	3.02 %	14.97 %	-	-
Jarillo, 1979. Tizayuca- Hidalgo, México.	-	20.82%	-	-
Reza, 2003. Altiplano de México, México.	-	20.8 – 81.1 %	-	-
Aguilar <i>et al.</i> , 2004. Región Ciénega- Jalisco, México.	-	-	0.77 %	62.48 %
Pastor & Bedolla, 2008. Tarímbaro- Michoacán, México.	-	-	2.02 %	41.13%

En lo referente a la relación mastitis y número de parto encontrada en este estudio, esta relación concuerda con lo descrito anteriormente por otros autores (Barkema *et al.* 1998; Pantoja *et al.* 2009; Zadoks *et al.* 2001; Pinzón-Sánchez & Ruegg 2011; Ramírez *et al.* 2014)

quienes mencionan que las vacas más viejas (multíparas) y por lo tanto las glándulas pertenecientes a ellas, presentan un riesgo incrementado de padecer mastitis clínica e infecciones intramamarias. Posibles explicaciones de este fenómeno son que las vacas más viejas tienen más problemas simultáneos como afecciones podales en comparación con las vacas jóvenes del mismo hato, lo que las vuelve más susceptible a infecciones intramamarias generalmente ambientales por pasar más tiempo en recumbencia (Breen *et al.* 2009), por otra parte pueden existir cambios anatómicos en el pezón a través del tiempo que causen la disrupción de los mecanismos naturales de defensa o puede haber una reducción sistemática en la capacidad inmune asociada con el envejecimiento que aumente la susceptibilidad a las infecciones (Green *et al.* 2007). También puede existir el riesgo de que infecciones crónicas sobrevivan durante lactaciones y periodos secos, resultando en un riesgo acumulado para la presentación de la enfermedad clínica con el aumento de la edad (Green *et al.* 2007). En contraste las glándulas de vaquillas recién paridas son más susceptibles, que las de vacas de mayor número de parto a ser infectadas por los estafilococos coagulasa negativos más relevantes incluidos *S. chromogenes*, *S. simulans* y *S. xylosus* (De Vissher *et al.* 2016), de igual manera, existe evidencia de que la prevalencia de *Staphylococcus aureus* resistentes a penicilina fue mayor (41%) en vacas de más de dos lactaciones en comparación con vacas de una o dos (18%) (Sol *et al.* 2000).

La relación entre mastitis y días en leche reportada en el presente estudio concuerda con observaciones previamente publicadas donde se ha observado que uno de los periodos en los que las vacas son más susceptibles a adquirir una infección intramamaria es el periodo seco temprano (Bradley *et al.* 2015). También se ha reportado la fuerte asociación entre el periodo de lactación y la presencia de mastitis subclínica, de manera que mientras los meses en lactación aumentan, aumenta la probabilidad de tener casos de mastitis subclínica; y en asociación con la variable número de parto se ha demostrado su importancia como factores de riesgo en la presentación de infecciones por *S. agalactiae* (Ramírez *et al.* 2014). Esta relación puede deberse, entre otros factores, a que el proceso de ordeño conlleva el riesgo de transferir patógenos contagiosos (Neave *et al.* 1969), de este modo mientras aumentan el

número de lactaciones, así como los meses dentro de cada una de estas, el número de veces que las vacas son expuestas al proceso de ordeño son mayores, creando una probabilidad acumulada mayor de exposición a estos patógenos (Ramírez *et al.* 2014). Varios tipos de estrés incluidas las condiciones fisiológicas como la preñez, el parto y el pico de lactación predisponen al ganado a padecer mastitis y otras infecciones al comprometer la competencia inmunológica (De Vliegher *et al.* 2018; Pighetti 2009); por otro lado se ha sugerido que subpoblaciones de células T están implicadas en la defensa de la ubre contra infecciones intramamarias, y el reclutamiento de estas subpoblaciones depende del agente infeccioso y más probablemente de la etapa de lactación (Schukken *et al.* 2011).

CONCLUSIÓN

Dentro de las unidades de producción pecuaria pertenecientes al CAITSA, Tizayuca que fueron analizadas en el presente estudio, existe una alta prevalencia de mastitis bovina tanto a nivel de vaca como de glándula; esta prevalencia es incluso mayor que a lo reportado en el año 2002 para Unidades de Producción del mismo complejo, lo que sugiere la falta de un control óptimo. Es necesario el análisis exhaustivo de la existencia y el contenido de los programas de prevención y control de mastitis en estas unidades de producción pecuaria para reducir la prevalencia e incidencia de esta patología, así como los efectos adversos que esta conlleva.

Se debe enfatizar y promover el desarrollo y conservación de registros de datos productivos, reproductivos, clínicos, bacteriológicos y de manejo para identificar otros factores de riesgo asociados y confeccionar programas de control de forma específica para cada unidad de producción, lo que actualmente es muy complicado por la ausencia de estos datos. Por otra parte, existe una falta de homogeneidad en el formato de reporte de las mastitis que suceden en las diferentes unidades de producción, lo que ocasiona generación incompleta o poco útil de datos dificultando su análisis o correlación.

Las características estudiadas, número de parto y días en leche a nivel de glándula influyen la probabilidad de presentación de mastitis así como su severidad, por lo que se trata de factores vaca específicos que deben ser tomados en cuenta de manera adicional al momento de seleccionar el protocolo de tratamiento, como por ejemplo, contribuir a la justificación del uso de antibióticos durante la terapia con los beneficios y riesgos que esto representa, o dar la pauta para tomar un camino distinto según el pronóstico de curación. El desarrollo de próximas investigaciones ayudará a determinar y relacionar los factores de riesgo más relevantes en la presentación y curación de la mastitis, lo que permitirá detallar los programas de prevención y control según las características de cada hato; por otra parte, la caracterización detallada de estos factores ayudará a evaluar la eficiencia de nuevos compuestos terapéuticos al permitir comparar poblaciones con características similares.

REFERENCIAS

1. Adkins, P. R. F., Middleton, J. R. (2018). Methods for Diagnosing Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 34(3), 479–491.
2. Aguilar, A. A., Bañuelos, P. J., Pimienta, B. E., Aguilar, F. A., Torres, M. P. (2004). Prevalencia de mastitis subclínica en la Región Ciénega del estado de Jalisco. *Abanico Veterinario*, 4(1), 24-31.
3. Alekshun, M. N., Levy, S. B. (2007). Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell*, 128(6), 1037–1050.
4. Almaw, G., Zerihun, A., Asfaw, Y. (2008). Bovine mastitis and its association with selected risk factors in smallholder dairy farms in and around Bahir Dar, Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 40(6), 427-432.
5. Auldist, M., Coats, S., Rogers, G., McDowell, G. (1995). Changes in the composition of milk from healthy and mastitic dairy cows during the lactation cycle. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 35(4), 427-436.
6. Avila, T. S., Gutiérrez, C. A. (2014). *Producción de leche con ganado bovino*. (3ra ed.). México: Editorial Yire.
7. Barkema, H. W., Schukken, Y. H., Lam, T. J. G. M., Beiboer, M. L., Wilmink, H., Benedictus, G., Brand, A. (1998). Incidence of Clinical Mastitis in Dairy Herds Grouped in Three Categories by Bulk Milk Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science*, 81(2), 411–419.
8. Bezman, D., Lemberskiy-Kuzin, L., Katz, G., Merin, U., Leitner, G. (2015). Influence of intramammary infection of a single gland in dairy cows on the cow's milk quality. *Journal of Dairy Research*, 82(03), 304–311.
9. Bhosale, R.R., Osmani, R.A., Ghodake, P.P., Shaikh, S.M., Chavan, S.R. (2014). Mastitis: an intensive crisis in veterinary science. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*, 2, 96–103.
10. Blum, S. E., Heller, E. D., Leitner, G. (2014). Long term effects of *Escherichia coli* mastitis. *The Veterinary Journal*, 201(1), 72–77.
11. Bradley, A. J. (2002). Bovine Mastitis: An Evolving Disease. *The Veterinary Journal*, 164(2), 116–128.

12. Bradley, A. J., De Vliegher, S., Green, M. J., Larrosa, P., Payne, B., van de Leemput, E. S., Samson, O., Valckenier, D., Van Werven, T., Waldeck, H. W. F., White, V., Goby, L. (2015). An investigation of the dynamics of intramammary infections acquired during the dry period on European dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 98(9), 6029–6047.
13. Breen, J. E., Green, M. J., Bradley, A. J. (2009). Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. *Journal of Dairy Science*, 92(6), 2551–2561.
14. Brolund, L. (1985). Cell counts in bovine milk. Causes of variation and applicability for diagnosis of subclinical mastitis. *Acta Veterinaria Scandinavica. Supplementum*, 80, 1-123.
15. Busato, A., Trachsel, P., Schällibaum, M., Blum, J. W. (2000). Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. *Preventive Veterinary Medicine*, 44(3-4), 205-220.
16. Conzuelo, F., Campuzano, S., Gamella, M., Pinacho, D. G., Reviejo, A. J., Marco, M. P., Pingarrón, J. M. (2013). Integrated disposable electrochemical immunosensors for the simultaneous determination of sulfonamide and tetracycline antibiotics residues in milk. *Biosensors and Bioelectronics*, 50, 100–105.
17. De Freitas Guimarães, F., Nóbrega, D. B., Richini-Pereira, V. B., Marson, P. M., de Figueiredo Pantoja, J. C., Langoni, H. (2013). Enterotoxin genes in coagulase-negative and coagulase-positive staphylococci isolated from bovine milk. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2866–2872.
18. De Visscher, A., Piepers, S., Haesebrouck, F., De Vliegher, S. (2016). Intramammary infection with coagulase-negative staphylococci at parturition: Species-specific prevalence, risk factors, and effect on udder health. *Journal of Dairy Science*, 99(8), 6457–6469.
19. De Vliegher, S., Ohnstad, I., Piepers, S. (2018). Management and prevention of mastitis: A multifactorial approach with a focus on milking, bedding and data-management. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(6), 1214-1233.

20. Deluyker, H. A., Van Oye, S. N., Boucher, J. F. (2005). Factors Affecting Cure and Somatic Cell Count After Pirlimycin Treatment of Subclinical Mastitis in Lactating Cows. *Journal of Dairy Science*, 88(2), 604–614.
21. Dingwell, R.T., Leslie, K. E., Schukken, Y. H., Sargeant, J. M., Timms, L.L. (2003). Evaluation of the California mastitis test to detect an intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows. *Canadian Veterinary Journal*, 44 (5), 413-416.
22. Djabri, B., Bareille, N., Beaudeau, F., Seegers, H. (2002). Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Veterinary Research*, 33 (4), 335-357.
23. Dohoo, I. R., Leslie, K. E. (1991). Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Preventive Veterinary Medicine*, 10(3), 225–237.
24. Ducoing, W. A. M. (2016). *Estadística para veterinarios y zootecnistas*. México: NEWTON, Edición y Tecnología Educativa.
25. Forsbäck, L., Lindmark-Månsson, H., Andrén, A., Åkerstedt, M., Svennersten-Sjaunja, K. (2009). Udder quarter milk composition at different levels of somatic cell count in cow composite milk. *Animal*, 3 (05), 710-717.
26. Fox, L. K., Hancock, D. D., McDonald, J. S., & Gaskins, C. T. (1988). N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase Activity in Whole Milk and Milk Fractions. *Journal of Dairy Science*, 71(11), 2915–2922.
27. Gasca, S. A. L. (2002). Análisis del comportamiento de mastitis subclínica y clínica en la cuenca lechera de Tizayuca, Hidalgo. Trabajo de seminario. *Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-UNAM*.
28. Godden, S. M., Royster, E., Timmerman, J., Rapnicki, P., Green, H. (2017). Evaluation of an automated milk leukocyte differential test and the California Mastitis Test for detecting intramammary infection in early- and late-lactation quarters and cows. *Journal of Dairy Science*, 100(8), 6527–6544.
29. Gonçalves, J. L., Kamphuis, C., Martins, C. M. M. R., Barreiro, J. R., Tomazi, T., Gameiro, A. H., Hogeveen, H., dos Santos, M. V. (2018). Bovine

- subclinical mastitis reduces milk yield and economic return. *Livestock Science*, 210, 25–32.
30. Green, M. J., Bradley, A. J., Medley, G. F., Browne, W. J. (2007). Cow, Farm, and Management Factors During the Dry Period that Determine the Rate of Clinical Mastitis After Calving. *Journal of Dairy Science*, 90(8), 3764–3776.
 31. Harmon, R. J. (1994). Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science*, 77(7), 2103–2112.
 32. Hogan, J. S., Berry, E., Hillerton, E., *et al.* Current concepts of bovine mastitis. 5th edition. Verona (WI): *National Mastitis Council*; 2011.
 33. Hogeveen, H., Huijps, K., Lam, T. (2011). Economic aspects of mastitis: New developments. *New Zealand Veterinary Journal*, 59(1), 16–23.
 34. Jaramillo, A. C. J., Martínez, M. J. J. (2010). *Epidemiología veterinaria*. México: Editorial El Manual Moderno.
 35. Jarillo, C. D. (1979). Prevalencia de mastitis en un hato lechero y su relación con las prácticas de ordeño, manejo y medicina preventiva. Tesis de licenciatura. México, D.F. *Universidad Nacional Autónoma de México*.
 36. Jashari, R., Piepers, S., De Vliegher, S. (2016). Evaluation of the composite milk somatic cell count as a predictor of intramammary infection in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 99(11), 9271–9286.
 37. Kalmus, P., Simojoki, H., Pyörälä, S., Taponen, S., Holopainen, J., Orro, T. (2013). Milk haptoglobin, milk amyloid A, and N-acetyl- β -d-glucosaminidase activity in bovines with naturally occurring clinical mastitis diagnosed with a quantitative PCR test. *Journal of Dairy Science*, 96(6), 3662–3670.
 38. Kandeel, S. A., Megahed, A. A., Arnaout, F. K., Constable, P. D. (2018). Evaluation and Comparison of 2 On-Farm Tests for Estimating Somatic Cell Count in Quarter Milk Samples from Lactating Dairy Cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1), 506–515.
 39. Kandeel, S. A., Megahed, A. A., Constable, P. D. (2017). Comparison of six on-farm tests to estimate somatic cell count at dry-off in dairy cattle. *American College of Veterinary International Medicine Forum 2017*. National Harbor, MD, June 8-9, 2017. p.1358.

40. Keane, O. M. (2016). Genetic diversity, the virulence gene profile and antimicrobial resistance of clinical mastitis-associated *Escherichia coli*. *Research in Microbiology*, 167(8), 678–684.
41. Kitchen, B. J. (1981). Review of the progress of dairy science: bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. *Journal of Dairy Research*, 48(1), 167-188.
42. Kitchen, B. J., Middleton, G., Salmon, M. (1978). Bovine milk N-acetyl- β -D-glucosaminidase and its significance in the detection of abnormal udder secretions. *Journal of Dairy Research*, 45(1), 15-20.
43. Langoni, H. (2013). Qualidade do leite: utopia sem um programa sério de monitoramento da ocorrência de mastite bovina. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(5), 620-626.
44. Ma, Y., Ryan, C., Barbano, D. M., Galton, D. M., Rudan, M. A., Boor, K. J. (2000). Effects of somatic cell count on quality and shelf-life of pasteurized fluid milk. *Journal of Dairy Science*, 83(2), 264-274.
45. McDermott, M. P., Erb, H. N., Natzke, R. P. (1982). Predictability by Somatic Cell Counts Related to Prevalence of Intrammary Infection Within Herds. *Journal of Dairy Science*, 65(8), 1535–1539.
46. Mekonnen, S. A., Koop, G., Melkie, S. T., Getahun, C. D., Hogeveen, H., Lam, T. J. G. M. (2017). Prevalence of subclinical mastitis and associated risk factors at cow and herd level in dairy farms in North-West Ethiopia. *Preventive Veterinary Medicine*, 145, 23–31.
47. México. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI). (2009). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos*. Tizayuca, Hidalgo. Clave geoestadística 13069.
48. México. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2018a). *Boletín de Leche. Octubre-diciembre 2018*. Ciudad de México.
49. México. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural (SADER). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2018b). *Panorama de la leche en México. Diciembre 2018*. Ciudad de México.

50. México. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (SAGARPA). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2018a). *Análisis del Producto Interno Bruto (PIB) primario anual, 2016 vs 2017*. Ciudad de México. Disponible en:
51. México. Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación (SAGARPA). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2018b). *Población ganadera*. Ciudad de México.
52. Middleton, J. R., Hardin, D., Steevens, B., Randle, R., Tyler, J. W. (2004). Use of somatic cell counts and California mastitis test results from individual quarter milk samples to detect subclinical intramammary infection in dairy cattle from a herd with a high bulk tank somatic cell count. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 224(3), 419–423.
53. Neave, F. K., Dodd, F. H., Kingwill, R. G., Westgarth, D. R. (1969). Control of Mastitis in the Dairy Herd by Hygiene and Management. *Journal of Dairy Science*, 52(5), 696–707.
54. Nyman, A.-K., Persson Waller, K., Bennedsgaard, T. W., Larsen, T., Emanuelson, U. (2014). Associations of udder-health indicators with cow factors and with intramammary infection in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97(9), 5459–5473.
55. Oliver, S. P., Gillespie, B. E., Headrick, S. J., Moorehead, H., Lunn, P., Dowlen, H. H., Johnson, D. L., Lamar, K. C., Chester, S. T., Moseley, W. M. (2004). Efficacy of extended ceftiofur intramammary therapy for treatment of subclinical mastitis in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 87(8), 2393-2400.
56. Oliver, S. P., Murinda, S. E. (2012). Antimicrobial Resistance of Mastitis Pathogens. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 28(2), 165–185.
57. Oviedo-Boyso, J., Valdez-Alarcon, J. J., Cajero-Juarez, M., Ochoa-Zarzosa, A., Lopez-Meza, J. E., Bravo-Patiño, A., Baizabal-Aguirre, V. M. (2007). Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection*, 54(4), 399-409.

58. Pantoja, J. C. F., Hulland, C., Ruegg, P. L. (2009). Somatic cell count status across the dry period as a risk factor for the development of clinical mastitis in the subsequent lactation. *Journal of Dairy Science*, 92(1), 139–148.
59. Pastor, G. F. J. I., Bedolla, C. J. L. C. (2008). Determinación de la prevalencia de mastitis bovina en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, mediante la prueba de California. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 9(10), 1-34.
60. Pighetti G. (2009). New horizons for boosting immune competence. In: Proceedings NMC Annual Meeting. *National Mastitis Council*, New Prague, Minnesota, United States. pp. 98–102.
61. Pinzón-Sánchez, C., Ruegg, P. L. (2011). Risk factors associated with short-term post-treatment outcomes of clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 94(7), 3397–3410.
62. R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria. URL <https://R-project.org/>.
63. Ramírez, N. F., Keefe, G., Dohoo, I., Sánchez, J., Arroyave, O., Cerón, J., Jaramillo, M., Palacio, L. G. (2014). Herd- and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. *Journal of Dairy Science*, 97(7), 4141–4150.
64. Regev, G., Martins, J., Sheridan, M. P., Leemhuis, J., Thompson, J., Miller, C. (2018). Feasibility and preliminary safety of nitric oxide releasing solution as a treatment for bovine mastitis. *Research in Veterinary Science*, 118, 247–253.
65. Reksen, O., Sølverød, L., Branscum, A. J., Østerås, O. (2006). Relationship between milk culture results and treatment for clinical mastitis or culling in Norwegian dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 89(8), 2928-2937.
66. Reksen, O., Sølverød, L., Østerås, O. (2008). Relationships Between Milk Culture Results and Composite Milk Somatic Cell Counts in Norwegian Dairy Cattle. *Journal of Dairy Science*, 91(8), 3102–3113.
67. Reshi, A.A., Husain, I., Bhat, S.A., Rehman, M.U., Razak, R., Bilal, S., Mir, M.R. (2015). Bovine mastitis as an evolving disease and its impact on the

- dairy industry. *International Journal of Current Research and Review*, 7, 48–55.
68. Reza, G. L. C. (2003). Mastitis bovina su reconocimiento clínico, programas de prevención y su terapia con antimastíticos a base de cefapirinas. V *Congreso Nacional de Control de Mastitis, Calidad de la leche y Producción Láctea*. Aguascalientes, Ags. México, 29-31 mayo.
69. Rodrigues, A. C. O., Cassoli, L. D., Machado, P. F., Ruegg, P. L. (2009). Short communication: Evaluation of an on-farm test to estimate somatic cell count. *Journal of Dairy Science*, 92(3), 990–995.
70. Rollin, E., Dhuyvetter, K. C., Overton, M. W. (2015). *The cost of clinical mastitis in the first 30 days of lactation: An economic modeling tool*. *Preventive Veterinary Medicine*, 122(3), 257–264.
71. Royster, E., Wagner, S. (2015). Treatment of Mastitis in Cattle. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 31(1), 17–46.
72. Ruegg, P. L. (2011). *Managing mastitis and producing quality milk*. In: Risco CA, Melendez, P. R. editors. *Dairy production medicine*. West Sussex (Shire): John Wiley & Sons. P. 207-32.
73. Sanford, C. J., Keefe, G. P., Sanchez, J., Dingwell, R. T., Barkema, H. W., Leslie, K. E., Dohoo, I. R. (2006). Test characteristics from latent-class models of the California Mastitis Test. *Preventive Veterinary Medicine*, 77(1-2), 96–108.
74. Santivañez-Ballón, C. E., Gómez-Quispe, O. E., Cárdenas-Villanueva, L. A., Escobedo-Enríquez, M. H., Bustinza-Cárdenas, R. H., Peña-Sánchez, J. (2013). Prevalencia y factores asociados a la mastitis subclínica bovina en los Andes peruanos. *Veterinaria y Zootecnia*. 7(2), 92-104.
75. Schalm, O. W., Noorlander, D. O. (1957). Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 130, 199-204.
76. Schepers, A. J., Lam, T. J. G. M., Schukken, Y. H., Wilmink, J. B. M., Hanekamp, W. J. A. (1997). Estimation of Variance Components for Somatic

- Cell Counts to Determine Thresholds for Uninfected Quarters. *Journal of Dairy Science*, 80(8), 1833–1840.
77. Schukken, Y. H., Günther, J., Fitzpatrick, J., Fontaine, M. C., Goetze, L., Holst, O., Leigh, J., Petzl, W., Schuberth, H.-J., Sipka, A., Smith, D. G. E., Quesnell, R., Watts, J., Yancey, R., Zerbe, H., Gurjar, A., Zadoks, R. N., Seyfert, H.-M. (2011). Host-response patterns of intramammary infections in dairy cows. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 144(3-4), 270–289.
78. Schukken, Y. H., Wilson, D. J., Welcome, F., Garrison-Tikofsky, L., Gonzalez, R. N. (2003). Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research*, 34(5), 579–596.
79. Seegers, H., Fourichon, C., Beaudeau, F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research*, 34(5), 475–491.
80. Sellera, F. P., Sabino, C. P., Ribeiro, M. S., Gargano, R. G., Benites, N. R., Melville, P. A., & Pogliani, F. C. (2016). In vitro photoinactivation of bovine mastitis related pathogens. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 13, 276–281.
81. Smith, G. W., Gehring, R., Craigmill, A. L., Webb, A. I., Riviere, J. E. (2005). Extralabel intramammary use of drugs in dairy cattle. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 226(12), 1994–1996.
82. Sol, J., Sampimon, O. C., Barkema, H. W., Schukken, Y. H. (2000). Factors Associated with Cure after Therapy of Clinical Mastitis Caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science*, 83(2), 278–284.
83. Sordillo, L. M., Shafer-Weaver, K., DeRosa, D. (1997). Immunobiology of the mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 80 (8), 1851-1865.
84. Tolosa, T., Verbeke, J., Piepers, S., Supré, K., De Vlieghe, S. (2013). Risk factors associated with subclinical mastitis as detected by California Mastitis Test in smallholder dairy farms in Jimma, Ethiopia using multilevel modelling. *Preventive Veterinary Medicine*, 112(1-2), 68–75.

85. United States of America. USDA APHIS. (2018). United States Department of Agriculture, Animal Plant Health Inspection Service, National Animal Health Monitoring System. Dairy 2014: Health and Management Practices on U.S. Dairy Operations, 2014.
86. Walsh, S., Buckley, F., Berry, D. P., Rath, M., Pierce, K., Byrne, N., Dillon, P. (2007). Effects of Breed, Feeding System, and Parity on Udder Health and Milking Characteristics. *Journal of Dairy Science*, 90(12), 5767–5779.
87. Wenz, J. R., Barrington, G. M., Garry, F. B., Dinsmore, R. P., Callan, R. J. (2001). Use of systemic disease signs to assess disease severity in dairy cows with acute coliform mastitis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 218(4), 567-572.
88. Williams, H. J., Cripps, P. J., Grove-White, D. H. (2012). The association between high milk somatic cell counts in the first lactation and somatic cell counts in the second lactation. *The Veterinary Journal*, 191(2), 183–187.
89. Zadoks, R. N., Allore, H. G., Barkema, H. W., Sampimon, O. C., Wellenberg, G. J., Gröhn, Y. T., Schukken, Y. H. (2001). Cow- and Quarter-Level Risk Factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* Mastitis. *Journal of Dairy Science*, 84(12), 2649–2663.

ANEXOS

- **Anexo 1:** Formato para el registro de los resultados a las pruebas California para mastitis y tazón con paño negro; así como para los valores número de parto y días en leche.

PREVALENCIA DE MASTITIS (CMT)

Responsable de actividad: _____

Unidad de producción: _____ Día: _____ Mes: _____ Año: 20____

Hora: _____

ID_Vaca	Ai	Ad	Pi	Pd	CTU	# de parto	Días en leche	Observaciones

*Ai: Glándula anterior izquierda, Ad: Glándula anterior derecha, Pi: Glándula posterior izquierda, Pd: Glándula posterior derecha, CTU: Cuenta total por ubre