

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**AGENTES PATÓGENOS CAUSANTES DE MASTITIS CLÍNICA EN VACAS
LECHERAS EN URUGUAY
AÑOS 2014 Y 2015**

por

**LARUMBE CURBELO, Ramiro
VIDART DAMIÁN, Mariana Irma**

**TESIS DE GRADO presentada como uno
de los requisitos para obtener el título de
Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Producción Animal
MODALIDAD Estudio de Caso**

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2016**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

Dr. MSc. Ruben E. Gianneechini

Segundo miembro (Tutor):

Dra. MSc. Elena de Torres

Tercer miembro:

Dra. Rosario de los Santos

Co – Tutores:

Dra. Fernanda Zorrilla

Lic. Pablo E. Bobadilla

Fecha:

Autores:

Br. Ramiro LARUMBE CURBELO

Br. Mariana Irma VIDART DAMIÁN

AGRADECIMIENTOS

A nuestras familias por su incondicional apoyo

A los amigos de la vida

A los amigos y compañeros que nos regaló la facultad

A la Dra. Elena de Torres por su apoyo y enseñanzas

A la Dra. Fernanda Zorrilla, Dr. Guillermo Sierra, Dr. Edgardo Gianneechini, Dra. Virginia Diana y Daniela Martínez, Dr. José Piaggio, Lic. Pablo Bobadilla y Dra Anabela Lanza por su colaboración en la realización de este trabajo

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	6
1. RESUMEN.....	7
2. SUMMARY.....	8
3. INTRODUCCIÓN.....	9
3.1 Producción lechera en Uruguay.....	9
3.2 Calidad de leche en Uruguay.....	11
3.3 Reglamentación.....	11
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	13
4.1 Definición de mastitis.....	13
4.2 Patogénesis.....	13
4.3 Agentes causantes de mastitis.....	15
4.3.1 Clasificación.....	15
4.3.2 Microorganismos contagiosos.....	16
4.3.3 Microorganismos Ambientales.....	16
4.3.4 Microorganismos oportunistas.....	17
4.3.5 Otros microorganismos.....	18
4.4 Microorganismos que causan mastitis.....	18
4.4.1 Mastitis causada por <i>Staphylococcus aureus</i>	18
4.4.2 Mastitis causada por <i>Streptococcus agalactiae</i>	19
4.4.3 Mastitis causada por <i>Mycoplasma</i> spp.....	21
4.4.4 Mastitis causada por <i>Escherichia coli</i>	21
4.4.5 Mastitis causada por <i>Corynebacterium bovis</i>	22
4.4.6 Mastitis causada por <i>Streptococcus</i> ambientales.....	22
4.4.7 Mastitis causada por <i>Streptococcus uberis</i>	23
4.4.8 Mastitis causada por <i>Streptococcus dysgalactiae</i>	24
4.4.9 Mastitis causada por Levaduras.....	24
4.5 Microorganismos causantes de mastitis en Uruguay y el resto del mundo.....	25
5. HIPÓTESIS.....	28
6. OBJETIVOS.....	29
6.1 Objetivo General.....	29
6.2 Objetivos Específicos.....	29
7. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
7.1 Base de datos.....	30
7.2 Muestras de leche.....	30
7.3 Registro de datos.....	30
7.4 Análisis Estadístico.....	31

8. RESULTADOS.....	32
8.1 Resultados generales.....	32
8.2 Frecuencia de los diferentes microorganismos causantes de mastitis clínica para cada año de estudio.....	32
8.3 Frecuencia de los diferentes microorganismos causantes de mastitis clínica por estrato para cada año.....	33
8.4 Número de establecimientos con presencia de cada uno de los microorganismos causantes de mastitis clínica por estrato para cada año....	35
8.5 Diversidad de agentes patógenos causantes de mastitis clínica en cada establecimiento lech.....	37
9. DISCUSIÓN.....	38
9.1 Frecuencias de microorganismos causantes de mastitis clínica.....	38
9.2 Frecuencia de los diferentes microorganismos causantes de mastitis clínicas por estrato para cada año.....	44
9.3 Número de establecimientos con presencia de cada uno de los microorganismos causantes de mastitis por estrato para cada año.....	46
10. CONCLUSIONES.....	47
11. BIBLIOGRAFÍA.....	48
12. ANEXOS.....	55
12.1 ANEXO 1 Planilla electrónica utilizada para registrar los datos.....	55

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Página

FIGURA 1. Número de remitentes y volumen de leche medio diario por remitente (Tomado de Anuario Estadístico Agropecuario 2015, DIEA- MGAP).....	10
FIGURA 2. Frecuencias (%) de microorganismos aislados de cultivos de muestras de mastitis clínicas durante los años 2014 y 2015 sin considerar estratos.....	33
TABLA I. Número y porcentaje de microorganismos aislados en muestras de mastitis clínica por estrato en el año 2014.....	34
TABLA II. Número y porcentaje de microorganismos aislados en muestras de mastitis clínica por estrato en el año 2015.....	35
TABLA III. Número de establecimientos en los que fue hallado cada microorganismo en el año 2014, por estrato y en el total.....	36
TABLA IV. Cantidad de establecimientos en los que fue hallado cada microorganismo en el año 2015, por estrato y en el total.....	37

1. RESUMEN

En este trabajo se determinaron los microorganismos causantes de mastitis clínica en Uruguay en los años 2014 y 2015 y se establecieron sus frecuencias de aparición. Los datos fueron obtenidos a partir de resultados de cultivos e identificación de muestras de mastitis clínicas enviadas por médicos veterinarios. Los mismos fueron registrados en planillas electrónicas para realizar un estudio de estadística descriptiva para las variables categóricas. De 1331 muestras provenientes de 153 establecimientos en el año 2014 y de 977 muestras provenientes de 93 establecimientos lecheros en el 2015, se encontró que *Staphylococcus aureus* fue el microorganismo más frecuentemente aislado de casos de mastitis clínica. Los establecimientos de los que se recibieron muestras fueron estratificados según el número de vacas en ordeño en: estrato 1, aquellos con menos de 100 vacas en ordeño, en estrato 2, entre 100 y 300 vacas y finalmente estrato 3 aquellos con más de 300 vacas en ordeño. Se observó que *Staphylococcus aureus* fue el microorganismo más frecuentemente aislado en cada estrato en ambos años, a excepción del estrato 3 en 2015 donde *Escherichia coli* (26,5 %) presentó la mayor frecuencia de aislamiento, seguido de *Staphylococcus aureus* (22,4 %). Si consideramos el número de establecimientos en que se encontró cada uno de los microorganismos, por estrato y por año, el *Staphylococcus aureus* fue el microorganismo encontrado en el mayor número de establecimientos por año (63,4 % en el año 2014 y 73,1 % en el 2015) y por estrato. Se concluye que *Staphylococcus aureus* fue el microorganismo más prevalente como causa de mastitis clínica en Uruguay para los años 2014 y 2015. En la mayoría de los establecimientos existen por lo menos dos microorganismos como causantes de mastitis clínica y no pertenecen a un grupo determinado de los mismos (ambiental o contagioso) por lo que en Uruguay los programas de control de mastitis deben ser desarrollados en base a la epidemiología tanto de microorganismos contagiosos como ambientales.

2. SUMMARY

In this work the microorganisms responsible for clinical mastitis in Uruguay in 2014 and 2015 were determined and their frequency of appearance was established. Data was obtained from the results of culture and identification of samples of clinical mastitis which were sent by veterinaries to. Data was recorded in electronic forms to carry out a study of descriptive statistics for the categorical variables. Of 1331 clinical mastitis samples obtained from 153 farms during 2014 and 977 samples obtained from 93 farms during 2015 *Staphylococcus aureus* was the most frequent causative pathogen of clinical mastitis. The farms were stratified according to the number of milking cows, strata 1, farms with less to 100 cows; strata 2, farms with 100 to 300 cows; and strata 3, farms with more than 300 cows. *Staphylococcus aureus* was the microorganism with highest frequency of isolation in each strata in both years, except for strata 3 in 2015 where *Escherichia coli* presented the highest frequency (26,5%), followed by *Staphylococcus aureus* (22,4%).. If the number of farms in which each microorganism was found is considered, *Staphylococcus aureus* was the microorganism found in most farms per year and per strata (63.4% in 2014 and 73.1% in 2015). In conclusion *Staphylococcus aureus* was the most frequent causative pathogen of clinical mastitis in Uruguay in 2014 and 2015. In most farms there were at least two microorganisms as the cause of clinical mastitis and they did not belong to a particular group (environmental or contagious); for that reason programs of control of mastitis in Uruguay must be developed taking in account the epidemiology of both kinds of microorganisms.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 Producción lechera en Uruguay

Uruguay cuenta con el 93% (16,4 millones de hectáreas) de su superficie apta para uso agropecuario. Por su ubicación geográfica presenta condiciones naturales en suelos y un clima que lo hacen favorable para la producción de leche. Es limítrofe con Argentina y Brasil con quién además de Paraguay forman parte de la principal región exportadora de alimentos del mundo. Con una población de 3,5 millones de habitantes, se producen alimentos para 28 millones de personas y se prevé llegar a producir alimentos para 50 millones de personas en los próximos años (Uruguay XXI, 2015).

El sector lácteo ocupa un rol importante en la estructura económica del país, siendo uno de los rubros que genera mayor valor agregado. Desde 1975 la producción lechera en el país creció ininterrumpidamente a una tasa de 5 a 6 % alcanzando en 2013 el récord histórico de 2.046 millones de litros remitidos a plantas industriales. El sector primario se ha ido tecnificando en materia de pasturas, alimento para el ganado, sanidad, mejoramiento genético del rodeo, maquinaria y equipos. El sector industrial, compuesto de empresas trasnacionales y nacionales, liderado por una empresa cooperativa nacional, ha expandido continuamente su capacidad instalada lo que le ha permitido la captación de un gran porcentaje de la leche producida, diversificando su producción para el mercado interno y exportando diversos productos (Uruguay XXI, 2015).

El Uruguay cuenta con una totalidad de 4.341 establecimientos lecheros en una superficie total de 794.000 hectáreas y con 773.000 cabezas de vacunos lecheros. Entre los predios que tienen la actividad lechera como rubro principal 1.370 poseen menos de 50 hectáreas, 2.630 poseen entre 50 y 500 hectáreas y 342 predios poseen más de 500 hectáreas (DIEA, 2015).

Según datos de la encuesta lechera realizada por INALE en 2014 sobre el tamaño de las empresas lecheras, el 50% tiene menos de 100 hectáreas, menos de 70 vaca masa y produce menos de 700 litros diarios (INALE, 2015).

En 2014 se produjo 2.240 millones de litros de leche con destino comercial, 2.014 millones de litros se remitieron a plantas industriales (lo que representa el 90 %), 124 millones de litros se destinaron a la elaboración en el predio, mayoritariamente para producción de quesos, y el resto tuvo como destino el consumo animal y humano.

Unos 2.927 (67%) establecimientos lecheros fueron remitentes, 68 menos que en 2013 y manteniendo la evolución de los últimos años, de los cuales en los últimos cinco la reducción acumulada fue de unos 351 remitentes. En contrapartida, el volumen medio por remitente (también indicador de tamaño productivo) va en aumento y alcanzó a 1.885 litros diarios, superando en 2.1% al 2013.

Entre 2003 y 2013 la remisión de leche a plantas industriales creció 76 %, pero la superficie dedicada a la lechería cayó 17 % y sin embargo los litros de leche remitida por vaca en ordeño creció 38 % (DIEA, 2015).

Lo cual demuestra un proceso de intensificación de la lechería uruguaya el cual viene desarrollándose desde hace muchos años produciendo más litros de leche con menos cantidad de productores, elevando los niveles de producción por animal (Figura 1).

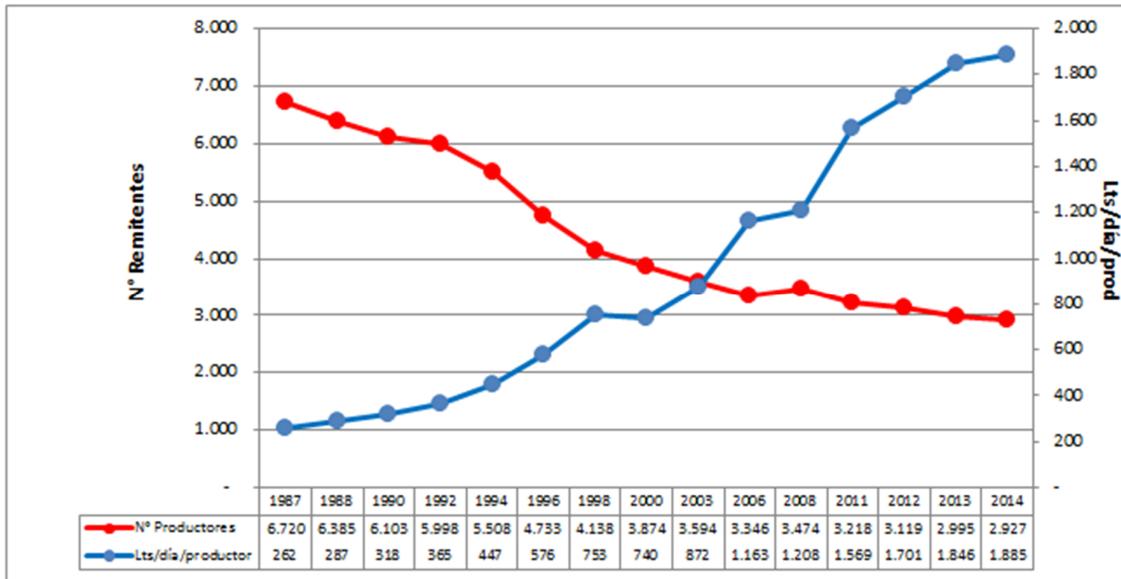


FIGURA 1. Número de remitentes y volumen de leche medio diario por remitente (Tomado de Anuario Estadístico Agropecuario 2015, DIEA- MGAP).

Con respecto al tipo de ganado el 83 % es de raza Holando de origen americano y canadiense, 9 % cruza, 6 % Holando neozelandés, 1 % Jersey y 1 % Normando. El ganado es alimentado fundamentalmente a base de pasturas. 50% aproximadamente pastoreo directo, 25 % reservas forrajeras y 25 % concentrados (INALE, 2015).

Con un consumo elevado en mercado interno, (el consumo anual de leche en Uruguay es de 250 litros per cápita) todo incremento de la producción se destina a la exportación representando en la actualidad el 70 % de lo producido anualmente. El desarrollo del sector ha posicionado a Uruguay como exportador de lácteos, accediendo a diversos mercados (INALE, 2015).

3.2 Calidad de leche en Uruguay

La calidad higiénico-sanitaria se muestra reflejada en el recuento bacteriano (RB) y en el recuento de células somáticas (RCS) respectivamente.

La mayoría de las células en un recuento de células somáticas son leucocitos (glóbulos blancos) y en menor medida células provenientes del tejido secretor mamario (células epiteliales). Los porcentajes entre los distintos grupos de células (glóbulos blancos) van cambiando a medida que avanza la infección (mastitis) (Delucci, 2008).

Datos provenientes de la leche recibida por plantas industrializadoras indican que la calidad de la leche en el año 1996 para recuento de células somáticas fue de $545,8 \times 10^3$ céls/ml y en cuanto a la calidad higiénica los valores de recuento bacteriano fue de $558,3 \times 10^3$ ufc/ml; en el año 2003 se encontraban valores de $358,9 \times 10^3$ céls/ml y $57,2 \times 10^3$ ufc/ml. En el año 2004, indica unos niveles de conteos microbianos de $55,9 \times 10^3$ ufc/ml, y $341,2 \times 10^3$ céls/ml. Estos resultados implican una mejora de 5% en células somáticas y de 2% en unidades formadoras de colonia con respecto a 2003, lo que confirma que el proceso de mejora de la calidad en esos años fue continuo, aunque aun manteniendo niveles muy altos, sobretodo de células somáticas (OPYPA, 2004).

Datos presentados en 2015 revelan que el 90 % de la leche uruguaya remitida a la industria tiene menos de 50.000 unidades formadoras de colonias (UFC), siendo el estándar internacional menos de 100.000. Además, el 82 % de la leche remitida cumple con el estándar internacional de menos de 400.000 células somáticas por mililitro (INALE, 2015).

La leche remitida a planta recibida por CONAPROLE bonifica un 19 % con menos de 50.000 ufc/ml de recuento bacteriano y menos de 300.000 cél/ml de recuento celular en el promedio geométrico mensual.

3.3 Reglamentación

Siendo el Uruguay país exportador de productos lácteos y teniendo la necesidad de darle transparencia al mercado y viabilidad a la política de promoción y mejoramiento de la calidad higiénico-sanitaria de la leche, se crea en la década del 90 por el decreto del Poder Ejecutivo N° 90/995 el Sistema Nacional de Calidad de la Leche.

En Marzo de 1999 por medio del decreto N° 57/999, se actualizó la clasificación para el pago por calidad de la leche, las variables tomadas en cuenta continúan siendo recuento microbiano (parámetro de calidad higiénica) y recuento de células somáticas (parámetro de calidad sanitaria). Las exigencias establecidas en este sistema, eran las mínimas obligatorias, pudiendo las empresas compradoras establecer exigencias adicionales, si lo entienden necesario, con las bonificaciones suplementarias correspondientes.

El incremento de los requisitos en materia de inocuidad y calidad a nivel internacional, el avance en los niveles promedio de calidad acorde a las exigencias de los mercados internacionales hacen necesario la revisión y ajuste periódico de los parámetros de calidad de leche, fundamental para mantener la competitividad en los mercados. Por ello, el 6 de noviembre de 2013 se aprueba el decreto N° 359/2013 que establece valores máximos para recuento de células somáticas y recuento bacteriano que se ajustarán progresivamente en el tiempo, siendo a la entrada en vigencia de dicho decreto 500.000 UFC/ml y 800.000 céls/ml; al año de entrada en vigencia del decreto 300.00 UFC /ml y 600.000 céls/ml y a los tres años de entrada en vigencia, correspondiendo a partir de Noviembre de 2016, 100.000 UFC /ml y 400.000 céls/ml.

Los valores de *recuento bacteriano* están referidos a la media geométrica de los resultados de las muestras analizadas durante un período móvil de tres meses, con un mínimo de tres muestras por mes, a la leche cruda al momento de la recolección de la misma a la industria o previo a su transformación en el establecimiento artesanal. El productor que acumule 2 medias geométricas consecutivas, excediéndose del límite establecido, quedará en infracción. Valores referidos a *recuento de células somáticas*, la media geométrica de los resultados de las muestras analizadas durante un período móvil de tres meses, con un mínimo de dos muestras por mes, a la leche cruda al momento de la recolección de la leche a la industria o previo a su transformación en el establecimiento artesanal. El productor que acumule 3 medias geométricas consecutivas, excediéndose del límite establecido, quedará en infracción (IMPO, 2016).

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 Definición de Mastitis

El proceso inflamatorio es la respuesta del tejido productor de leche en la ubre y puede ser causada por muchos tipos de lesiones, incluyendo agentes infecciosos y sus toxinas, traumas físicos o irritantes químicos. En la mayoría de los casos la enfermedad es causada por los microorganismos. El propósito de la inflamación es eliminar o neutralizar microorganismos invasores y reparar los tejidos lesionados, para así regresar la glándula a su normal funcionamiento (NMC, 1996).

Es importante considerar que la mastitis es una enfermedad multifactorial donde intervienen la relación vaca-ubre, ambiente y patógeno.

La mastitis puede presentarse de forma subclínica o clínica, aguda o crónica y gangrenosa. Las formas más frecuentes de presentación son la mastitis clínica y subclínica. La mastitis clínica es aquella que se caracteriza por anomalías visibles en la ubre y/o en la leche, a diferencia de la subclínica que no puede detectarse por observación visual (Philpot y Nickerson, 1992). Los síntomas varían ampliamente desde una leve reacción local, hasta una grave toxemia (Blood y col., 1992) y depende del grado de reacción del tejido de la ubre afectada (Philpot y Nickerson, 1992). La magnitud de la respuesta inflamatoria puede estar influenciada por el patógeno causante, etapa de la lactancia, edad, estado inmunitario de la vaca, genética y estado nutricional (Harmon, 1994).

La numerosa cantidad de agentes patógenos, la variedad y la magnitud de la respuesta fisiológica a estos patógenos, y las diversas medidas de control para los diferentes microorganismos dan cuenta de la complejidad de esta patología (Harmon, 1994).

4.2 Patogénesis

La punta del pezón es la primera línea de defensa de la glándula contra la infección. Un esfínter muscular que rodea el esfínter del pezón cumple la función de mantener el canal del pezón cerrado, impidiendo que la leche se escape, y evitando el ingreso de bacterias. Las células que revisten el canal del pezón producen queratina, una proteína fibrosa con componentes lípidos (ácidos grasos de cadena larga) que tiene propiedades bacteriostáticas y funciona como barrera contra las bacterias. Durante el ordeño las bacterias pueden tener contacto con el esfínter del pezón, ya sea a través de condiciones de suciedad y humedad o lesiones en la punta del pezón, por superficies contaminadas de las unidades de ordeño o por los procedimientos de preparación de la vaca. Traumatismos en el pezón lo vuelven más susceptible a la invasión bacteriana debido a los daños en la membrana de queratina o mucosa que reviste el seno del pezón, por el motivo que este puede quedar parcialmente abierto.

El resbalamiento de las pezoneras causadas por pérdidas de vacío de la unidad de ordeño, fluctuaciones del vacío causado por un ineficiente funcionamiento de la máquina de ordeño, mala alineación de pezoneras o el mal estado de las pezoneras pueden generar condiciones en el colector que impulsan a las bacterias a través de la punta del pezón sano con una alta fuerza de impacto.

Luego del ordeño el músculo del esfínter del canal del pezón permanece dilatado durante una o dos horas, tiempo en el que las bacterias pueden entrar.

A continuación, la multiplicación bacteriana y producción de toxinas, enzimas y los componentes de la pared celular alterada estimulan la producción de numerosos mediadores de la inflamación por las células inflamatorias (Harmon, 1994).

Las células somáticas son parte esencial de la inmunidad de la glándula mamaria y son vitales para la protección contra las infecciones. El tipo de células predominantes en la leche de cuartos sanos son los macrófagos, que mediante la secreción de quimiocinas reclutan en gran cantidad a células polimorfonucleares, que son las predominantes en cuartos infectados, y cumplen una función vital en la lucha contra la infección (Bradley, 2002).

Neutrófilos polimorfonucleares (por su sigla en inglés PMN), linfocitos y fagocitos fluyen libremente por los capilares, durante el proceso inflamatorio se expresan moléculas de adhesión y los PMN se adhieren y migran por el endotelio de los vasos sanguíneos más pequeños, atraídos en gran número por los mensajeros químicos o agentes quimiotácticos producidos en los tejidos dañados y los leucocitos, que también liberan sustancias específicas que modifican la permeabilidad de los vasos sanguíneos y atraen a más de estos. Una vez en la glándula estas células pueden pasar entre las células productoras de leche y llegar al lumen de los alvéolos, lo que resulta en un aumento del recuento de células somáticas (RCS), así como de células secretoras o epiteliales dañadas.

Las células somáticas consisten principalmente de PMN o también denominadas células blancas de la sangre. Su función es envolver y digerir las bacterias, además de otros componentes de la leche (glóbulos de grasa y caseína). Con la persistencia de la infección el número de leucocitos puede variar, pero en general continúa siendo anormalmente alto. Tales números se mantienen altos hasta que se produzca la curación del tejido glandular, aunque la bacteria ya haya sido eliminada. Se considera que hay un proceso inflamatorio en la glándula mamaria cuando por vaca o cuarto el RCS supera los 200.000 células/ml en animales multíparas y 100.000 células/ml en primíparas. La principal e importante causa de inflamación es la infección de la glándula, por lo que se considera que RCS superiores a los antes mencionados son indicativos de animales enfermos (infectados) (Harmon, 1994; Schepers y col., 1997).

La infección de la glándula mamaria por bacterias patógenas resulta en una disminución de la producción de leche y cambios en la composición que varían con la intensidad y duración de la infección (Harmon, 1994; Jones y Bailey, 2009).

El daño a las células epiteliales y la obstrucción de los pequeños conductos, debido a la formación de coágulos por la agregación de leucocitos y factores de la

coagulación de la sangre, puede dar lugar al reemplazo del tejido glandular por tejido cicatrizal con una pérdida permanente de la función de esa porción de la glándula. Aunque en otros casos la inflamación puede disminuir y producirse la reparación del tejido, recuperando la función durante esa o en la próxima lactancia (Harmon, 1994).

Las toxinas bacterianas o los mediadores de la inflamación dañan el tejido productor de leche, resultando en menor producción de leche. Los cambios en la permeabilidad de los vasos sanguíneos y en el tejido secretor, provocan la salida de componentes de la sangre a la leche y el movimiento de algunos componentes normales de la leche hacia el espacio perivascular (Harmon, 1994). La afección en la composición de la leche es indeseable para el productor y la industria, afectando el rendimiento y vida útil de subproductos lácteos.

Las pérdidas económicas debido a mastitis incluyen reducción en la producción de leche, aumento del costo de producción, pérdida en la calidad de la leche, reducción de la longevidad de animales, descarte de animales, mayor trabajo para operarios, costos de tratamiento, aumento del riesgo de transmisión de la enfermedad (Oliveira y col., 2013).

4.3 Agentes causantes de mastitis

4.3.1 Clasificación

Los patógenos más comunes son bacterias e incluyen a *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus agalactiae* (*Str. agalactiae*), coliformes, estreptococos y enterococos de origen ambiental. Los brotes esporádicos o casos individuales de mastitis pueden ser causados por *Pseudomona* spp., *Trueperella pyogenes* (*T. pyogenes*), *Serratia* spp., Levaduras, *Prototheca* spp. u otros agentes inusuales. Una manera de clasificar los agentes causantes de mastitis puede ser en patógenos mayores o menores. La mastitis causada por los patógenos mayores resulta en los mayores cambios en la composición de la leche, incluyendo el aumento de RCS (Schepers y col., 1997), y tiene el mayor impacto económico entre todos los agentes patógenos, estos son; *S. aureus*, *Streptococcus* spp., coliformes, levaduras, *Proteus* spp., *Pseudomona* spp., *Prothoteca* spp., *Bacillus cereus*, *Nocardia* spp., Gram negativo no coliformes, *Trueperella pyogenes*, *Micrococcus* spp., *Klebsiella* spp. Los *Staphylococcus* coagulasa negativo (SCN) y *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*) son considerados patógenos menores y la infección por estos organismos sólo causan una inflamación moderada, con aumentos de RCS de dos a tres veces más que una ubre sana. Las infecciones por patógenos menores son menos frecuentemente asociadas a casos de mastitis clínica, cambios en la composición de la leche o a una disminución drástica en la producción de leche (Harmon, 1994).

Otra clasificación muy utilizada es la de agrupar los microorganismos según características epidemiológicas en; *contagiosos, ambientales, oportunistas y otros* (Philpot y Nickerson, 1992).

4.3.2 Microorganismos contagiosos

Los patógenos contagiosos viven y se multiplican en la glándula mamaria y la piel del pezón, se transmiten de animal a animal principalmente durante el ordeño e incluyen a *S. aureus*, *Str. agalactiae*, *C. bovis* y *Mycoplasma* spp. (Philpot, 1992; Saran y Chaffer, 2000; Calvino y Tarabla, 2007). Los microorganismos contagiosos están bien adaptados para sobrevivir y crecer en la glándula mamaria y frecuentemente causan infecciones que duran semanas, meses o años (NMC).

Los principales patógenos más importantes de este grupo son *Str. agalactiae* y *S. aureus*, causan RCS elevados y disminución de la producción de leche (Saran y Chaffer, 2000; NMC, 2011; Moroni, 2014; Ruegg, 2014).

La desinfección de los pezones luego del ordeño, la higiene durante el ordeño, terapia de vaca seca y el descarte de animales son parte del programa que requiere la erradicación de *Str. agalactiae* del establecimiento lechero y la reducción en la incidencia de infecciones a causa de *S. aureus*. Estas medidas de manejo tienen el objetivo en prevenir nuevas infecciones, y deben ser utilizadas correctamente, de forma rutinaria y constante, para alcanzar el éxito en controlar los microorganismos contagiosos (Harmon, 1996).

4.3.3 Microorganismos Ambientales

Los patógenos asociados con mastitis ambiental son bacterias Gram negativas, las más frecuentes son *Escherichia coli* (*E.coli*), *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Pseudomona* spp. y *Proteus* spp., y bacterias Gram positivas: varias especies de *Streptococcus*, como *Streptococcus uberis* (*Str. uberis*) y *Streptococcus dysgalactiae* (*Str. dysgalactiae*), este último se puede comportar como ambiental o contagioso (Philpot y Nickerson 1992; Smith y Hogan, 1993a; Saran y Chaffer, 2000).

El principal reservorio de patógenos ambientales es el ambiente de las vacas lecheras. La fuente de estos son las camas, estiércol, agua estancada restos de comida y también las agujas y cánulas contaminadas de uso intramamario (Saran y Chaffer, 2000). La exposición de los cuartos no infectados a patógenos ambientales puede ocurrir en cualquier momento durante la vida de la vaca incluyendo el ordeño,

entre ordeños, durante el período seco y antes del primer parto en novillas (Smith y Hogan, 1993a).

Coliformes y estreptococos no pueden vivir en la piel del pezón durante largos períodos de tiempo. Si estas bacterias están presentes en grandes números en la piel de los pezones, es el resultado de una contaminación reciente (Hogan y Smith, 2012).

Según indica Bradley (2014) las vacas enfermas graves con mastitis probablemente sean a causa de un coliforme, pero la mayoría de los casos por coliformes no resultan en casos graves. La infección por lo general resulta en un caso leve de mastitis clínica, solo en ocasiones, durante la lactancia temprana o en situaciones bajo estrés metabólico pueden producir una enfermedad más grave, desarrollando shock tóxico, postración y muerte.

El control de las infecciones intramamarias causadas por patógenos ambientales se logra mediante mejoramiento de la higiene durante el ordeño y eliminación/control de reservorios en el medio ambiente donde habita la vaca con el fin de reducir la exposición de las vacas a los agentes patógenos (Almeida, 2014).

4.3.4 Microorganismos oportunistas

El grupo de los microorganismos oportunistas, incluye más de 20 especies de estafilococos diferentes del *Staphylococcus aureus*, generalmente conocidos como *Staphylococcus* coagulasa negativo (no forman coágulos en respuesta a la prueba de la coagulasa y la mayoría son no hemolíticos) son también llamados patógenos menores (Philpot y Nickerson, 1992; Blowey y Edmondson, 1995; Taponen y Simijoki, 2014), cinco de estas especies han sido aisladas en mayor frecuencia y ellos son: *S. chromogenes*, *S. simulans*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* y *S. xylosus* (Taponen y Simijoki, 2014).

Normalmente se encuentran en la piel de ubre, pezones y en las manos de los ordeñadores, siendo una fuente de infección constante, dicha ubicación permite colonizar el canal del pezón y penetrar en los tejidos de la ubre (Philpot y Nickerson, 1992; Saran y Chaffer, 2000).

La prevalencia tiende a ser mayor en las vacas de primera lactancia que en las vacas más viejas e inmediatamente después del parto (NMC, 1998).

Las infecciones causadas por SCN, son por lo general subclínicas o clínicas leves, no parece afectar a la producción de leche y no aumentan el recuento de células somáticas en la leche del tanque (Philpot y Nickerson, 1992; Taponen y Simijoki, 2014). En comparación con los patógenos mayores, los SCN producen de una leve a moderada elevación de los recuentos de célula somáticas individuales. Solo una gran proporción de cuartos infectados frecuentemente con SCN puede constituir un importante factor en el alto recuento celular en el tanque (Dufour, 2012).

4.3.5 Otros microorganismos

Otros corresponden a microorganismos causantes de mastitis menos frecuentes, debidas casi siempre a malos procedimientos de tratamientos. Ejemplos de este grupo son; *Pseudomona aeruginosa*, *Trueperella (Actinomyces) pyogenes*, *Nocardia* spp., levaduras (*Candida* spp.), *Bacillus* spp., *Serratia* spp., *Pasteurella* spp. y *Prototheca* spp. (Philpot y Nickerson, 1992; Calvino y Tarabla, 2007).

4.4 Microorganismos que causan mastitis

4.4.1 Mastitis causada por *Staphylococcus aureus*

La mastitis causada por *S. aureus* es generalmente catalogada como contagiosa, es un microorganismo gram positivo y provoca principalmente infecciones subclínicas e infecciones que a menudo se convierten en crónicas (Zadoks, 2011; Middleton, 2013). Los signos clínicos van desde la presencia de leche anormal a mastitis gangrenosa (Middleton, 2013).

S. aureus presenta una variedad de factores de virulencia como proteínas pro-inflamatorias, toxinas citolíticas, factores antifagocíticos, cápsula de polisacáridos, proteínas inhibidoras de la quimiotaxis, factores anti-complementarios entre otros, los cuales inducen una infección persistente dentro de los tejidos del hospedador (Almeida, 2014). Esta bacteria se agrupa en comunidades estructuradas, rodeadas y protegidas por una matriz extracelular compuesta por un polisacárido (poli-N-acetil-B-(1,6) glucosamina) formando los biofilms, que favorece la colonización y proliferación de la bacteria (Hulsen y col., 2013)

La ubre de la vaca lactante es considerada el principal reservorio de la infección por *S. aureus*, el modo principal de transmisión es de vaca a vaca a través de la unidad de ordeño en el momento del ordeño (Capurro, 2010; Middleton, 2014; Moroni, 2014). Aunque la glándula mamaria es la fuente más importante, también puede

tener una fuente/reservorio ambiental, aunque de menor importancia epidemiológica (Roberson, 1999).

La infección se disemina también por las manos del ordeñador y materiales que se utilizan para limpiar pezones, como toallas si se utilizan en más de una vaca. El contacto con secreciones lácteas en el material de camas y bretes son potenciales puntos de infección (Ruegg, 2005; Capurro, 2010; Moroni, 2014). El microorganismo ha sido aislado de la cabeza, cuerpo, miembros posteriores, la nariz de vacas, nariz de personas y desde el medio ambiente (Moroni, 2014).

Las moscas pueden funcionar como vectores del *S. aureus*, transportándolo de un animal a otro (Owens y col., 1998).

Al seleccionar candidatos para el tratamiento, la duración de la infección es la clave, y una de las mejores oportunidades para mejorar los resultados del tratamiento es a través de la detección temprana de candidatos para el tratamiento. Cuanto mayor sea la edad de la vaca, el número de cuartos infectados, la duración de la infección, o el nivel de RCS antes del tratamiento, menor es la probabilidad de cura (Barkema, 2006). La formación de microabscesos, encapsulamientos con formación de tejido cicatrizal en el tejido secretor y producción de biofilms, son responsables de la baja tasa de curación que tiene esta infección con antibioticoterapia (NMC).

La herramienta más eficiente para su control es la prevención de nuevas infecciones, que se logra a través de la eliminación de animales crónicos y la implementación de medidas profilácticas durante el ordeño (Almeida, 2014).

Se han reportado disminución en la producción láctea de 45 % por cuarto y 15 % por animal infectado por *S. aureus* (NMC).

4.4.2 Mastitis causada por *Streptococcus agalactiae*

En bovinos la mastitis es la única enfermedad asociada con *Str. agalactiae* (Zadoks, 2011). Es un coco Gram positivo, agente obligado de la glándula mamaria, sin embargo, puede sobrevivir poco tiempo en el ambiente y en manos del ordeñador (Saran y Chaffer, 2000). La transmisión dentro del rebaño es estrictamente contagiosa, es decir de vaca a vaca (Zadoks, 2011). En consecuencia, la hora del ordeño es el período de riesgo primario (Keefe, 2012).

Es causa común de mastitis subclínica o también de clínica leve a moderada (Keefe, 1997; Ruegg, 2005).

Son mastitis que en general son resueltas de manera rentable a través de programas de higiene y tratamiento del rebaño (Zadoks, 2011).

Si una vaca con una infección intramamaria por *Str. agalactiae* se compra y se introduce en un rebaño que cumpla con un programa de control de mastitis, la probabilidad de que la infección se extienda a una importante proporción del rebaño es relativamente baja (Barkema y col., 2009).

El objetivo de tratamiento para *Str. agalactiae* suele ser la erradicación de dicho microorganismo. La susceptibilidad antimicrobiana es muy alta. El tratamiento in vivo para *Str. agalactiae* es muy exitoso y la erradicación es relativamente sencilla (Keefe, 2012).

Una aplicación rigurosa de la higiene del ordeño y la terapia de la vaca seca, junto con la bioseguridad para limitar la reintroducción, se puede esperar reducir drásticamente o eliminar las infecciones en unos pocos años (Keefe, 2012).

Si el objetivo es la erradicación se puede implementar el tratamiento “blitz”, donde todos los portadores del microorganismo son aislados en un grupo de ordeño separados y tratados con antibiótico. El tratamiento se repite después de exámenes bacteriológicos de control, hasta que no se detecten portadores en la explotación (Saran y Chaffer, 2000). Las vacas que son refractarias al tratamiento deberían ser eliminadas (Keefe, 2012).

De los agentes patógenos contagiosos es el menos virulento. La reducción en la producción es debida a la destrucción del tejido secretor. El típico escenario observado en establecimientos con *Str. agalactiae* son recuento celulares de tanque elevados con pocos casos clínicos (APHIS, 2008). Se debe sospechar de mastitis causada por *Str. agalactiae* cuando en el establecimiento o en la vaca el RCS comienza aumentar y se mantiene alto en niveles de 1.000.000 cél/ml o mayores (NMC).

Ocasionalmente altos recuentos bacterianos en tanque pueden producirse debido a la liberación de grandes cantidades de *Str. agalactiae* por parte de ubres infectadas (NMC).

4.4.3 Mastitis causada por *Mycoplasma* spp.

La mastitis por *Mycoplasma* por lo general puede presentarse como casos clínicos agudos que no responden a los tratamientos usuales con antibióticos, se diferencia de otras bacterias por el hecho de carecer de pared celular, no siendo sensibles a los antibióticos que bloquean la síntesis de la pared celular como las penicilinas u otros antibióticos beta lactámicos. Pueden afectar más de un cuarto mamario, sin embargo, los síntomas típicos no se observan en todos los casos, ya que pueden darse casos subclínicos y crónicos (Calvinho y Neder, 2013).

Mycoplasma spp. reside comúnmente en el tracto respiratorio y urogenital del individuo, teniendo por lo tanto varias vías de transmisión entre animales. Siendo resistente a todos los tratamientos los animales afectados deben ser separados y removidos de los sanos, para evitar su propagación y mantenimiento en el establecimiento (APHIS, 2008).

No hay antibiótico intramamario aprobado que sea eficaz (Janus, 2009).

4.4.4 Mastitis causada por *Escherichia coli*

Escherichia coli ha sido clasificado como un patógeno ambiental. Estudios previos han demostrado rápido inicio de los signos clínicos después de la inoculación, aunque estos síntomas a menudo se presentan poco antes o incluso después de la eliminación de bacterias viables de la glándula. La defensa de la glándula mamaria bovina ha demostrado ser eficaz en el control y la eliminación de la infección de *E. coli*, aunque esta habilidad ha demostrado ser menos eficaz en la lactación temprana debido a deficiencias en función de los neutrófilos (Bradley y Green, 2001).

Clínicamente la enfermedad puede presentar una amplia gama de grados en su severidad, pudiendo ser fatal, hiperaguda, aguda, recurrente clínica y hasta llegar a ser subclínica. La enfermedad más común es en las primeras etapas de la lactación (Chaffer, 1999). Se ha demostrado que las defensas de la glándula mamaria bovina son eficaces en controlar y eliminar la infección por *E. coli*, aunque esta habilidad es menos eficiente al principio de la lactancia debido a deficiencias en la función y número de neutrófilos (Bradley y Green, 2001).

Hay una percepción común de que la mastitis causada por patógenos gram-negativos son por lo general graves, la evaluación de las puntuaciones de gravedad de las mastitis causada por patógenos específicos recogidos de 622 casos de

mastitis clínica en 52 granjas lecheras de Wisconsin, indica que síntomas sistémicos se producen sólo alrededor de 30% de los casos causados por *E. coli* y *Klebsiella* spp. (Ruegg, 2012).

La exposición de la ubre a los agentes ambientales, como *E. coli*, se realiza principalmente entre los ordeños, es decir fuera de la sala, a diferencia de la exposición a los patógenos contagiosos (Chaffer, 1999), los materiales de cama, humedad, barro y estiércol en las áreas de alojamiento son reservorios comunes de estos patógenos (Ruegg, 2012). Los procedimientos para el control de patógenos contagiosos no son efectivos para el control de las infecciones intramamarias causadas por microorganismos medioambientales, debido a que no se afecta el reservorio de dichos patógenos (Smith y Hogan, 1993a).

La mastitis ambiental es controlada reduciendo la exposición de las puntas de los pezones a patógenos (higiene ambiental) o al maximizar la resistencia de las vacas para una nueva infección (Smith y Hogan, 1993b).

4.4.5 Mastitis causada por *Corynebacterium bovis*

C. bovis considerado como patógeno menor contagioso causa inflamación moderada con RCS por encima de los valores de animales sin infección por 2 o 3 veces su valor. Su principal reservorio es la glándula mamaria o el canal del pezón, se transmite rápidamente de vaca a vaca en ausencia de una adecuada desinfección de pezones. Esta bacteria no es frecuentemente la causa de elevados recuentos de células somáticas en el tanque, casos de mastitis clínica, marcados cambios en la composición de la leche o gran disminución en la producción láctea (Harmon, 1994).

4.4.6 Mastitis causada por *Streptococcus* ambientales

Las infecciones por *Streptococcus* spp. medioambientales son muy comunes en el período seco. Dos semanas después del secado y dos semanas antes del parto, se aumenta la susceptibilidad a la infección. Si no se realiza la terapia de secado la posibilidad de infección se aumenta al poco tiempo de haber secado al animal. También son elevados los casos al principio de la lactancia (Philpot y Nickerson, 1992).

Aproximadamente el 40 a 50% de las infecciones causadas por *Streptococcus* medioambientales son asociadas con síntomas clínicos (Smith y Hogan, 1993a).

La mayoría de las infecciones son de menos de 30 días de duración, con un promedio de duración más larga que la observada para las infecciones de coliformes. Las infecciones crónicas de larga duración se producen. La probable eliminación de las infecciones por *Streptococcus* ambientales son: por agentes antibióticos (41,7%), cura espontánea (38,5%) y otras causas (19,8%) (Smith y Hogan, 1993a).

Infecciones de cuartos por *Streptococcus* medioambientales pueden contribuir significativamente al alto recuento de células somáticas (RCS) en el tanque en rodeos lecheros (Smith y Hogan, 1993a). Sin embargo, el impacto de los *Streptococcus* ambientales en un rodeo lechero no se puede evaluar correctamente con esta medición (Hogan y Smith, 1987).

4.4.7 Mastitis causada por *Streptococcus uberis*

Es considerada como la responsable de la mayoría de los casos clínicos y subclínicos de Nueva Zelanda y el Reino Unido y se encuentra entre las causas más prevalentes de mastitis en Estados Unidos (Zadoks y col., 2001).

Esta bacteria es frecuentemente tomada del ambiente pero después se contagia entre vacas.

El índice de nuevas infecciones es superior durante las 2 semanas posteriores al período seco y las dos anteriores al parto, el índice también es superior en vacas más viejas que en vaquillonas (Radostitis, 2002).

Es la bacteria de mayor relevancia entre los agentes ambientales causantes de mastitis. Es de gran relevancia en sistemas estabulados, se lo puede encontrar en las camas, en labios, patas y piel de ubre. El nivel en materia fecal no es alto (Saran y Chaffer, 2000).

Se han identificado varios factores de virulencia, los factores anti fagocíticos permiten infectar y multiplicarse en la glándula mamaria, adherirse e invadir el tejido mamario. Los macrófagos mamarios son capaces de fagocitar, pero ciertas cepas del microorganismo son capaces de resistir la fagocitosis de los neutrófilos, la capacidad de *Str. uberis* de invadir células epiteliales mamarias podría tener como consecuencia infecciones crónicas y una protección frente a los mecanismos de

defensa del huésped y la mayoría de los antimicrobianos (Saran y Chaffer, 2000; Radostitis, 2002).

4.4.8 Mastitis causada por *Streptococcus dysgalactiae*

Streptococcus dysgalactiae es caracterizado como un patógeno contagioso ambiental, considerando que la transmisión se puede producir de vaca a vaca, pero puede sobrevivir perfectamente en el medio ambiente (Harmon 1996; Blowey y Edmonson, 1995; Saran y Chaffer, 2000; Petersson-Wolf y Currin, 2012).

Bacteria que se la considera contagiosa, la cual reside en la glándula mamaria, pero a diferencia de otras bacterias contagiosas sobrevive en el medio ambiente, siendo por eso que en las diversas clasificaciones de los agentes causantes de mastitis se la incluye en los dos grupos. La bacteria es aislada en la piel del pezón, como asimismo en tonsilas, siendo que la succión de pezones que se realiza entre terneras o vaquillonas pueda ser causa de difusión del germen (Chaffer, 1999).

Las vacas en lactancia temprana tienen un mayor riesgo de infección debido al estrés y la inmunosupresión asociada al puerperio. El período de secado temprano es otro momento en el cual el riesgo es mayor. Vacas de alta producción no tienen mayores riesgos que las de baja producción (Petersson-Wolf y Currin, 2012).

El uso de adecuados procedimientos de ordeño como el uso de guantes, desinfección pre y post ordeño de pezones, uso de toallas individuales y la terapia de secado contribuye al control de este patógeno. *Str. dysgalactiae* responde muy bien a los tratamientos de antibioticoterapia (Petersson-Wolf y Currin, 2012).

4.4.9 Mastitis causada por Levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares ubicuos en el medio ambiente y que se consideran patógenos oportunistas de la glándula mamaria, produciendo mastitis cuando disminuyen los mecanismos de defensa naturales del individuo. Las fuentes de infección incluyen la piel de la ubre, la secreción de la ubre, manos de los ordeñadores, máquinas de ordeño, instrumentos de tratamiento, paja, alimentos, polvo, tierra, mezclas de drogas y soluciones de saneamiento. Estos casos de mastitis regresan espontáneamente entre 2 a 4 semanas (Scaccabarozzi y col., 2011).

Las principales especies fúngicas asociadas a mastitis pertenecen a los géneros *Candida* (Spanamberg, 2009; Scaccabarozzi y col., 2011) y *Cryptococcus*, como

también especies de *Trichosporom*, *Rhodotorula* y *Geotrichum* (Spanamberg y col, 2009).

La contaminación ambiental asociada con falta de higiene durante el ordeño y pobre limpieza del equipo conduce al desarrollo de la mastitis. Altas tasas de aislamiento de este microorganismo y elevados porcentajes de muestras con crecimiento mixto surgen de fallas en el momento de la colecta de las muestras destinadas a análisis microbiológico. Otro factor que puede justificar la presencia de microorganismos en el interior de la glándula son fallas en la administración de antimicrobianos intramamarios, los cuales han sido relacionados como factor determinante en la aparición de casos en grandes proporciones (da Costa y col, 2008), las levaduras del género *Candida* pueden utilizar la penicilina y la tetraciclina como fuentes de nitrógeno. *Candida rugosa* se ha descrito como siendo responsable de infecciones intramamarias después de tratamientos con antibióticos intramamarias (Crawshaw y col., 2005).

Otro caso ligado al manejo inadecuado de antimicrobianos intramamarios es el caso de algas aclorofiladas, sobre todo del género *Prototheca* (Spanamberg y col, 2009).

Por lo tanto, para reducir el desarrollo de mastitis debido a levaduras, es importante el control de la contaminación ambiental y la higiene durante el ordeño.

4.5 Microorganismos causantes de mastitis en Uruguay y el resto del mundo

En un estudio realizado en Uruguay por Giannechini y col. (2002) en la cuenca del Litoral Oeste *S. aureus* fue el patógeno más aislado, 37,5% en casos de mastitis clínica y 62,8% en mastitis subclínicas, mientras que en la cuenca tradicional los patógenos principalmente aislados de casos de mastitis clínica fueron *S. aureus* (23,1%) y *Str.dysgalactiae* (14%), y en los casos de mastitis subclínicas también fue *S. aureus* (48,3%) el más aislado, seguido de SCN (15,2%) (Giannechini y col, 2005a y 2005b).

De Torres y col. (2015) demostraron que en Uruguay para los años 2012 y 2013 *S. aureus* fue el microorganismo más prevalente en muestras de leche de mastitis clínica representando el 34,6 % y 34,5 % de los aislamientos respectivamente. Para el 2012 el segundo microorganismo más aislado fue *Str. agalactiae* (16,4 %) seguido de *Str. dysgalactiae* (11,6 %), y para el 2013 *Str. dysgalactiae* representó el 15,2 % en el segundo lugar, mientras que la prevalencia de *Str. agalactiae* fue de 9,9 %. Las

muestras negativas fueron 28 % y 33 % para el año 2012 y 2013 respectivamente, mientras que las contaminadas representaron el 1,4 % en 2012 y 5 % en 2013.

A nivel regional, Calvinho y Tirante (2005) realizaron una revisión de prevalencia de patógenos causantes de mastitis clínica en Argentina y encontraron que en un estudio realizado en la década del '80 en la cuenca del Valle de Lerma en la provincia de Salta, sobre una base de 278 casos de mastitis clínica de 28 establecimientos se determinó una prevalencia de 29,5 % de *S. aureus*, 11,1 % de *Str. agalactiae* y 12,5 % de *E. coli*.

En un relevamiento realizado entre 1977 y 1982 en la zona de abasto del Gran Buenos Aires, de 257 muestras de mastitis clínicas obtuvieron una prevalencia de 15,9 % *Str. agalactiae*, 9,7 % *S. aureus*, 6,6 % *S. epidermidis* y 5,5 % de *Streptococcus* spp. sobre el total de muestras procesadas.

Estudios más recientes sobre 1865 muestras de leche de casos clínicos pertenecientes a 73 establecimientos ubicados en la provincia de Buenos Aires, se demostró que *S. aureus* fue hallado en aproximadamente el 80 % de los rodeos incluidos y *Str. agalactiae* en el 12,3 %. Sobre las muestras con aislamiento positivo en el 29 % se aisló *S. aureus*, mientras que en un 39,6 % se aislaron diferentes especies de *Streptococcus*.

Tomazi y col. (2015) en rebaños de Sao Paulo y Minas Gerais de un total de 20 rebaños, en un periodo de 12 meses, monitorearon los casos de mastitis clínica, tomaron muestras a 3703 casos, que fueron sometidos a cultivo microbiológico, los microorganismos más frecuentemente aislados fueron *Streptococcus* ambientales (26,7%), los cuales fueron identificados como *Str. uberis* (11,8%), *Str. dysgalactiae* (9,4%) y *Streptococcus* spp. (5,44%). Las bacterias Gram negativas fueron 24,2% de los casos de mastitis clínica dentro de los cuales *E. coli* (47,1%), *Klebsiella* spp. (16,54%) y *Citrobacter* spp. (11,54%). *S. aureus* representó el 7,2% entre las bacterias Gram positivas y el 5,1% del total de muestras positivas. Las Gram positivas fueron el 70,5% del total de cultivos positivos.

En un estudio realizado en Alemania en base a 9910 muestras de leche de cuartos clínicamente sanos, provenientes de 2529 vacas de 80 tambos, el 26,4 % (2614) de las muestras contenían patógenos causantes de mastitis. *C. bovis* y SCN fueron las bacterias más predominantes de las muestras positivas representando el 62,2%. *S. aureus* fue el agente contagioso más aislado (21,8 %) y *Str. uberis* fue el ambiental más prevalente (3,7 %) (Tenhagen y col., 2006).

En Suecia un trabajo realizado durante el 2002 y 2003 sobre la etiología microbiana de los casos de mastitis clínica aguda, se obtuvieron muestras de 987 casos correspondientes a 829 vacas. *S. aureus* representó el 21,3 % de los diagnósticos obtenidos seguido de *E. coli* (15,9 %), *Str. dysgalactiae* (15,6 %), *Str. uberis* (11,1 %) y SCN (6,2 %) (Unnerstad y col., 2009).

Un estudio realizado por Bradley y col. (2007), en el cual se incluyeron 97 productores de Inglaterra y Gales, sobre un total de 480 muestras de mastitis clínica y siendo menos de 5 muestras por establecimiento, los patógenos encontrados fueron; *Str. uberis* (23,5%) como el más frecuentemente aislado, seguido de *E. coli* (19,8%), y *S. aureus* (3,3%), de los patógenos menores SCN 8,1% y *Corynebacterium bovis* 3,5%. Los cultivos negativos representaron el 26,5% de las muestras.

Oliveira y col. (2013) realizaron un trabajo de caracterización de mastitis clínica en 50 rebaños de Wisconsin, USA. Se incluyeron en el estudio 741 muestras de mastitis clínica y los patógenos aislados de mayor prevalencia fueron *E. coli* (22,5 %), seguido de estreptococos ambientales (12,8 %), *Klebsiella* spp. (6,9 %) y SCN (6,1 %). *E. coli* y estreptococos ambientales fueron aislados de 42 y 38 establecimientos respectivamente, de un total de 50. En este estudio *S. aureus* fue aislado en un limitado número de casos (2,8 %) y establecimientos (n=14) y *Str. agalactiae* no fue aislado en ningún caso.

Los rebaños incluidos en el estudio tenían un mínimo de 200 animales en ordeño, rutinas de ordeño y protocolos de tratamiento. Las vacas se alojaban en “free stall” y la arena era la cama más común.

En un estudio realizado en Canadá por Olde Riekerink y col. (2008) participaron 106 tambos, con vacas en sistemas de confinamiento, de 10 provincias de Canadá en el período de un año. Se analizaron 3033 muestras de mastitis clínica 43,9% de las muestras dieron cultivo negativo, 8,6% estaban contaminadas y 2,7 % tuvieron cultivo mixto. Los patógenos de mastitis aislados con mayor frecuencia fueron *S. aureus* (21,7 %), *E. coli* (17,6 %), *Str. uberis* (13,3 %) y SCN (10,7 %). Estos resultados son los porcentajes sobre los aislamientos.

El objetivo de un estudio realizado por el National Animal Health Monitoring System (NAHMS, 2008) Dairy 2007, fue estudiar la prevalencia de los 3 patógenos contagiosos más importantes en Estados Unidos, *S. aureus*, *Str. agalactiae* y *Mycoplasma* spp. El estudio fue realizado en 17 estados, los establecimientos participantes fueron divididos en tres categorías: pequeños (menos de 100 vacas); mediano (100 a 499 vacas) y grande (más de 500 vacas). Para estimar la prevalencia de mastitis contagiosa en establecimientos lecheros de Estados Unidos se tomaron muestras de tanque de 534 establecimientos con 30 o más vacas; *S. aureus* fue el de mayor prevalencia 43 % del total, *Str. agalactiae* y *Mycoplasma* spp. fueron encontradas en 2,6 % y 3,2 % respectivamente. Las diferencias a nivel de tamaño de rodeo se produjeron sólo con *Mycoplasma* spp. que aumentó la prevalencia a medida que aumentó el tamaño de rodeo.

5. HIPÓTESIS

La mastitis clínica en Uruguay es producida tanto por microorganismos contagiosos como ambientales.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General:

Caracterizar la frecuencia de los microorganismos causantes de mastitis clínica en Uruguay en los años 2014 y 2015 considerando el tamaño del rodeo en ordeño del establecimiento de origen.

6.2 Objetivos Específicos:

Describir la frecuencia de los diferentes microorganismos causantes de mastitis clínica para cada año de estudio.

Describir la frecuencia de los diferentes microorganismos causantes de mastitis clínicas por estrato para cada año.

Describir el número de establecimientos con presencia de cada uno de los microorganismos causantes de mastitis por estrato para cada año.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Base de datos

Se relevaron informes de cultivos de muestras de leche de cuartos afectados por mastitis clínica aportados por Médicos Veterinarios provenientes de establecimientos lecheros ubicados en los departamentos de Paysandú, Río Negro, Colonia, Durazno, San José, Flores, Florida, Maldonado y Rocha. Las muestras fueron remitidas a diferentes laboratorios habilitados por la División de Laboratorios Veterinarios del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca durante los años 2014 y 2015, para cultivo e identificación de los agentes patógenos causantes de mastitis clínica.

7.2 Muestras de leche

Las muestras de leche de mastitis clínica fueron recolectadas por Médicos Veterinarios en el momento de la detección de la mastitis clínica, siguiendo las normas establecidas por el National Mastitis Council (NMC) (Hogan y col., 1999) para aislamiento bacteriano. Estas muestras fueron congeladas y enviadas al laboratorio en un plazo no mayor a treinta días. El aislamiento e identificación de las bacterias causantes de mastitis clínica se realizó según procedimientos establecidos por el National Mastitis Council Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. Cabe resaltar que en Uruguay no se realizan las técnicas diagnósticas para el cultivo de especies de *Mycoplasma* spp.

7.3 Registro de datos

Se confeccionó una planilla electrónica Excel (Microsoft Office Professional Plus 2010 versión 14.0.4760.1000) para el registro y descripción de los datos para cada año.

Se agruparon los establecimientos en 3 estratos, considerando el número de vacas en ordeño de cada establecimiento (dato que fue relevado por el Médico Veterinario asesor de cada establecimiento) y fueron los siguientes:

Estrato 1 - establecimientos con 100 o menos vacas en ordeño

Estrato 2 - de más de 100 a 300 vacas en ordeño

Estrato 3 - más de 300 vacas en ordeño

En la planilla electrónica se presentaron de cada informe los siguientes datos;

- > establecimiento de origen
- > estrato al cual pertenecía: Estrato 1, Estrato 2 o Estrato 3
- > cantidad de muestras totales
- > cantidad de muestras positivas
- > cantidad de muestras sin desarrollo
- > cantidad de muestras contaminadas.

Se consideraron positivas las muestras con desarrollo de un microorganismo (aislamiento simple) o dos microorganismos (mixta), sin desarrollo las que no presentaron crecimiento microbiano y contaminadas las que evidenciaron crecimiento de tres o más especies bacterianas (Breen y col., 2009).

Además, se presentaron los resultados de las muestras positivas con los microorganismos cultivados.

En la misma planilla se presentaron los detalles de las muestras positivas, mostrando el microorganismo y la cantidad de veces aislado de cada muestra positiva simple (ver Anexo 1).

Los estratos considerados pretenden reflejar el grado de intensificación de cada uno de los establecimientos y por tanto su relación con el manejo y la salud de la ubre en el mismo.

Para determinar la frecuencia de los microorganismos se contabilizó el total de aislamientos simples de cada microorganismo en cada año y en cada estrato, en base al total de aislamientos simples por año y por estrato se calculó la frecuencia por microorganismo en cada año y en cada estrato.

Para estos cálculos no se tuvieron en cuenta las muestras sin desarrollo, contaminadas o mixtas.

Utilizando las mismas planillas electrónicas se verificó la presencia de cada microorganismo por establecimiento, por *Estrato* y por año.

En base al número de establecimientos de cada estrato se determinó la frecuencia de establecimientos con la presencia de cada microorganismo, por *Estrato* y por año.

Este resultado es de carácter cualitativo ya que se consideró solamente la presencia de los microorganismos en cada establecimiento para sumar una unidad al resultado, sin importar la cantidad de aislamientos.

Teniendo en cuenta sólo los establecimientos con dos o más muestras de leche de mastitis clínica, se contabilizó el porcentaje de establecimientos que presentó uno o más agentes patógenos aislados.

7.4 Análisis Estadístico

Los datos fueron registrados y ordenados en planillas electrónicas para realizar un estudio de estadística descriptiva para las variables categóricas. Los resultados fueron expuestos en tablas y figuras adecuadas a cada tipo de variable.

El procesamiento y análisis de los datos se realizó con una planilla Excel (Microsoft Office Professional Plus 2010 versión 14.0.4760.1000 (32 bits)).

8. RESULTADOS

8.1 Resultados generales

Para el año 2014 se evaluaron un total de 221 informes de laboratorio correspondientes a 153 establecimientos. Las muestras de leche de mastitis clínica sumaron un total de 1331, resultando positivas el 69% (n=917), sin desarrollo el 26% (n=345) y el 5% (n=69) contaminadas.

El 98% (n=897) de las muestras positivas (917) presentaron un cultivo puro y en el 2% (n=20) fueron cultivados dos microorganismos (muestras mixtas), éstas últimas representaron el 1,5 % del total de muestras.

Para el año 2015 se evaluaron un total de 131 informes de laboratorio correspondientes a 93 establecimientos.

Las muestras de leche de mastitis clínica sumaron un total de 977, resultando positivas el 66,5 % (n=649), sin desarrollo el 31,5 % (n=307) y el 2% (n=21) contaminadas.

De las 649 muestras positivas, el 97% (n=631) presentaron un cultivo puro y el 3% (n=18) fueron cultivos mixtos, representando éstas últimas el 1,8 % del total de muestras.

8.2 Frecuencia de los diferentes microorganismos causantes de mastitis clínica para cada año de estudio

Encontramos que tanto como para el 2014 como para el 2015 el *S. aureus* fue el microorganismo más prevalente en las muestras analizadas para cada período con el 27,5 % y 28,8 % respectivamente, seguido en mayor frecuencia por *Str. dysgalactiae* (15,4 %) y SCN (15,1 %) en el año 2014 y por *E. coli* (21,7 %) y *Str. dysgalactiae* (14,3 %) en el año 2015. *Str. dysgalactiae* y SCN presentaron frecuencias similares en ambos años. *Str. agalactiae* representó 1,4 % y 2,1 % de las muestras en el año 2014 y 2015 respectivamente. *Str. uberis* fue encontrado en el 12,6 % de las muestras en 2014 y en menor medida (7,1 %) en 2015.

C. bovis, levaduras y *Streptococcus* spp. presentaron frecuencias menores a 10 % en ambos años, al igual que otros microorganismos con bajas frecuencias agrupados en *Otros* que representaron el 5,5 % en 2014 y el 4,9 % de los aislamientos en 2015.

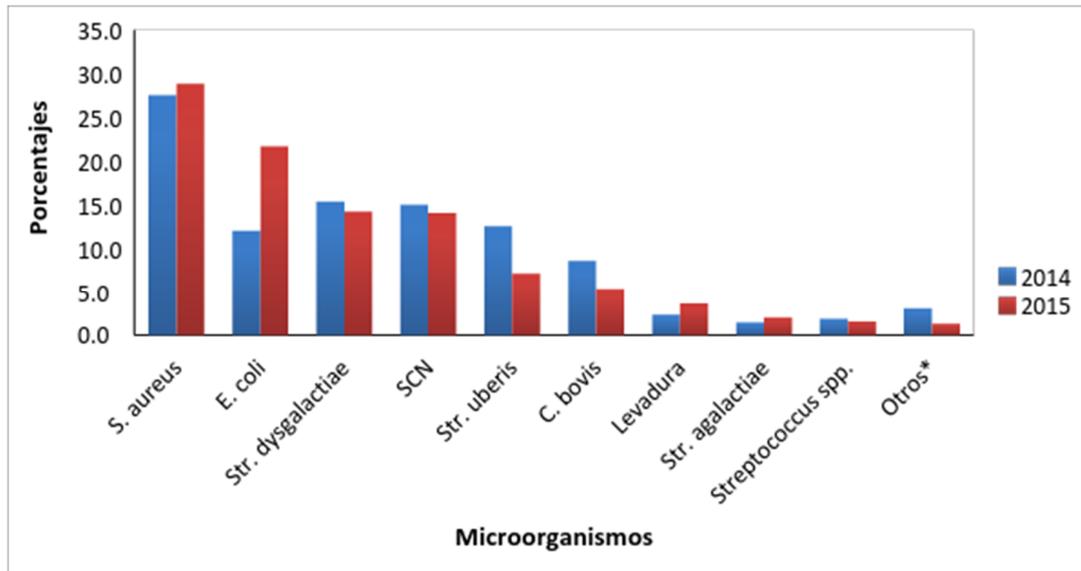


FIGURA 2. Frecuencias (%) de microorganismos aislados de cultivos de muestras de mastitis clínicas durante los años 2014 y 2015 sin considerar estratos.

*Dentro de *Otros* se consideraron en 2014 a *Proteus spp.* (n=6; 0,7%), *Pseudomona spp.* (n=5; 0,6%), *Prothoteca spp.* (n=5; 0,6%), *Bacillus cereus* (n=4; 0,4%), *Nocardia spp.* (n=2; 0,2%), *Lactobacillus spp.* (n=1; 0,1%), Gram negativo no coliformes (n=1; 0,1%), *Trueperella pyogenes* (n=1; 0,1%), *Bacillus spp.* (n=1; 0,1%), *Micrococcus spp.* (n=1; 0,1%), *Klebsiella spp.* (n=1; 0,1%). En 2015: *Proteus spp.* (n=3; 0,5%), *Corynebacterium renale* (n=2; 0,3%), *Bacillus cereus* (n=1; 0,3%), *Lactobacillus spp.* (n=1; 0,3%), *Micrococcus spp.* (n=1; 0,3%).

8.3 Frecuencia de los diferentes microorganismos causantes de mastitis clínica por estrato para cada año

En el año 2014 se evaluaron en el *Estrato 1*, 156 aislamientos, en el *Estrato 2*, 218 y en el *Estrato 3*, 523 aislamientos provenientes de cultivos con un solo microorganismo.

Para el año 2014 en cualquiera de los 3 estratos se encontró el *Staphylococcus aureus* como el microorganismo con mayor frecuencia de aislamiento, siendo su porcentaje de aislamiento mayor en el *Estrato 1* (44,2 %), seguido por 33,9 % en el *Estrato 2* y decreciendo hacia el *Estrato 3* con el 19,9 % (Tabla 1).

TABLA I. Número y porcentaje de microorganismos aislados en muestras de mastitis clínica por estrato en el año 2014

Microorganismo cultivado	ESTRATO 1		ESTRATO 2		ESTRATO 3	
	n	%	n	%	N	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	69	44,2	74	33,9	104	19,9
SCN	29	18,6	37	17,0	69	13,2
<i>Streptococcus uberis</i>	19	12,2	17	7,8	77	14,7
<i>E. coli</i>	12	7,7	23	10,6	73	14,0
<i>Corynebacterium bovis</i>	8	5,1	10	4,6	59	11,3
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	6	3,8	35	16,1	97	18,5
<i>Streptococcus</i> spp.	6	3,8	5	2,3	6	1,1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	1,9	2	0,9	8	1,5
<i>Bacillus cereus</i>	2	1,3	1	0,5	1	0,2
Levadura	1	0,6	9	4,1	11	2,1
<i>Pseudomona</i> spp.	1	0,6	1	0,5	3	0,6
<i>Proteus</i> spp.	0	0,0	2	0,9	4	0,8
<i>Prothoteca</i> spp.	0	0,0	0	0,0	5	1,0
<i>Nocardia</i> spp.	0	0,0	0	0,0	2	0,4
<i>Lactobacillus</i> spp.	0	0,0	1	0,5	0	0,0
Gram negativo no coliformes	0	0,0	0	0,0	1	0,2
<i>Corynebacterium renale</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<i>Trueperella pyogenes</i>	0	0,0	1	0,5	0	0,0
<i>Bacillus</i> spp.	0	0,0	0	0,0	1	0,2
<i>Micrococcus</i> spp.	0	0,0	0	0,0	1	0,2
<i>Klebsiella</i> spp.	0	0,0	0	0,0	1	0,2
TOTAL	156	100	218	100	523	100

En el año 2015 se evaluaron en el *Estrato 1* un total de 48 aislamientos, en el *Estrato 2*, 88 y en el *Estrato 3*, 495 aislamientos.

Se evaluó un menor número de aislamientos con respecto al año 2014, sin embargo *Staphylococcus aureus* continuó siendo el microorganismo de mayor aislamiento, en el *Estrato 1* (64,6 %), en el *Estrato 2* (45,5 %) y en el *Estrato 3* fue el segundo en frecuencia de aislamientos con el 22,4 %, siendo *E. coli* el patógeno más aislado (26,5 %) (Tabla II).

TABLA II. Número y porcentaje de microorganismos aislados en muestras de mastitis clínica por estrato en el año 2015

Microorganismo cultivado	ESTRATO 1		ESTRATO 2		ESTRATO 3	
	n	%	n	%	n	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	31	64,6	40	45,5	111	22,4
SCN	2	4,2	10	11,4	77	15,6
<i>Streptococcus uberis</i>	6	12,5	6	6,8	33	6,7
<i>E. coli</i>	1	2,1	5	5,7	131	26,5
<i>Corynebacterium bovis</i>	2	4,2	1	1,1	31	6,3
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4	8,3	12	13,6	74	14,9
<i>Streptococcus</i> spp.	1	2,1	2	2,3	7	1,4
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0,0	7	8,0	6	1,2
<i>Bacillus cereus</i>	0	0,0	0	0,0	1	0,2
Levadura	1	2,1	3	3,4	19	3,8
<i>Pseudomona</i> spp.	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<i>Proteus</i> spp.	0	0,0	2	2,3	1	0,2
<i>Prothoteca</i> spp.	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<i>Nocardia</i> spp.	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<i>Lactobacillus</i> spp.	0	0,0	0	0,0	1	0,2
Gram negativo no coliformes	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<i>Corynebacterium renale</i>	0	0,0	0	0,0	2	0,4
<i>Trueperella pyogenes</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<i>Bacillus</i> spp.	0	0,0	0	0,0	0	0,0
<i>Micrococcus</i> spp.	0	0,0	0	0,0	1	0,2
<i>Klebsiella</i> spp.	0	0,0	0	0,0	0	0,0
TOTAL	48	100	88	100	495	100

8.4 Número de establecimientos con presencia de cada uno de los microorganismos causantes de mastitis clínica por estrato para cada año

En el total de los 153 establecimientos analizados en 2014, en el 63,3 % se encontró *S. aureus*, siendo el encontrado en la mayor cantidad de establecimientos, seguido de SCN (52,3 %), *Str. dysgalactiae* (39,2 %), *Str. uberis* (35,9 %), *C. bovis* (30,1 %), *E. coli* (29,4%) y *Str. agalactiae* (7,2 %). Otros microorganismos fueron encontrados en menos del 10 % de los establecimientos.

En el *Estrato 1* (n=41) se encontró en orden de prevalencia a *S. aureus* en el 73,2 % de los establecimientos, SCN (48,8 %), *Str. uberis* (26,8 %), *E. coli* (22,0 %), *Str. dysgalactiae* y *C. bovis* (14,6 % cada uno), *Str. agalactiae* (7,3 %), entre otros.

En el *Estrato 2* (n=49) también *S. aureus* fue el microorganismo encontrado en el mayor número de establecimientos (57,1 %), SCN (53,1 %), *Str. dysgalactiae* (34,7 %), *Str. uberis* (24,5 %), *C. bovis* (24,5 %), *E. coli* (22,4 %), *Str. agalactiae* (6,1 %).

En el *Estrato 3* (n=63) se mantiene *S. aureus* en el 61,9 % de los establecimientos como el más encontrado, seguido de *Str. dysgalactiae* (58,7 %), SCN (54 %), *Str. uberis* (50,8 %), *C. bovis* (44,4 %), *E. coli* (39,7 %), levadura (14,3 %), *Str. agalactiae* (7,9 %) (Tabla III).

TABLA III. Número de establecimientos en los que fue hallado cada microorganismo en el año 2014, por estrato y en el total.

Microorganismos	ESTRATO 1 (n=41)	ESTRATO 2 (n=49)	ESTRATO 3 (n=63)	TOTAL (n=153)
<i>Staphylococcus aureus</i>	30	28	39	97
SCN	20	26	34	80
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	6	17	37	60
<i>Streptococcus uberis</i>	11	12	32	55
<i>Corynebacterium bovis</i>	6	12	28	46
<i>E. coli</i>	9	11	25	45
Levadura	2	3	9	14
<i>Streptococcus</i> spp.	3	3	6	12
<i>Streptococcus agalactiae</i>	3	3	5	11
<i>Pseudomona</i> spp.	2	1	4	7
<i>Bacillus cereus</i>	2	1	1	4
<i>Proteus</i> spp.	0	1	2	3
<i>Nocardia</i> spp.	0	0	2	2
<i>Lactobacillus</i> spp.	0	1	0	1
Gram negativo no coliformes	0	0	1	1
<i>Trueperella pyogenes</i>	0	1	0	1
<i>Bacillus</i> spp.	0	0	1	1
<i>Prothoteca</i> spp.	0	0	1	1
<i>Micrococcus</i> spp.	0	0	1	1
<i>Klebsiella</i> spp.	0	0	1	1

Para el 2015 se analizaron 93 establecimientos, en los cuales se encontró con mayor prevalencia a *S. aureus* en el 73,1 % de los establecimientos, SCN (45,2 %), *E. coli* (36,6 %), *Str. dysgalactiae* (35,5 %), *Str. uberis* (25,8 %), *C. bovis* (22,6%), levadura (19,4 %), *Str. agalactiae* (6,5 %) y otros microorganismos en menos de 10 % de los establecimientos.

En este año en el *Estrato 1* (n=20) se encontró en orden de prevalencia a *S. aureus* en el 80 % de los establecimientos, *Str. dysgalactiae* (20 %), SCN (10 %), *Str. uberis* (10 %), *E. coli* (5 %), *C. bovis* (10 %), respectivamente mientras *Str. agalactiae* no fue hallado, entre otros.

En el *Estrato 2* (n=23) también *S. aureus* fue el microorganismo encontrado en el mayor número de establecimientos (69,6 %), *Str. dysgalactiae* (43,5 %), SCN (39,1 %), *Str. uberis* (21,7 %), *Str. agalactiae* (13 %), *C. bovis* (4,3 %), *E. coli* (8,7 %).

En el *Estrato 3* (n=50) se mantiene *S. aureus* en el 72 % de los establecimientos como el más encontrado, seguido de SCN (62 %) y *E. coli* (62 %), *Str. dysgalactiae* (38 %), *C. bovis* (36 %), *Str. uberis* (34 %), levaduras (28 %), *Str. agalactiae* (6,0 %) (Tabla IV)

TABLA IV. Cantidad de establecimientos en los que fue hallado cada microorganismo en el año 2015, por estrato y en el total.

Microorganismos	ESTRATO 1 (n= 20)	ESTRATO 2 (n=23)	ESTRATO 3 (n=50)	TOTAL (n=93)
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	16	36	68
SCN	2	9	31	42
<i>E. coli</i>	1	2	31	34
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	4	10	19	33
<i>Streptococcus uberis</i>	2	5	17	24
<i>Corynebacterium bovis</i>	2	1	18	21
Levadura	1	3	14	18
<i>Streptococcus spp.</i>	1	2	4	7
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	3	3	6
<i>Proteus spp.</i>	0	2	1	3
<i>Corynebacterium renale</i>	0	0	1	1
<i>Lactobacillus spp.</i>	0	0	1	1
<i>Bacillus cereus</i>	0	0	1	1
<i>Micrococcus spp.</i>	0	0	1	1

8.5 Diversidad de agentes patógenos causantes de mastitis clínica en cada establecimiento lechero

En 2014, teniendo en cuenta sólo los establecimientos que tuvieron dos o más muestras de mastitis clínicas positivas, representado por un total de 132 establecimientos, se determinó que en el 16 % (n=21) se aisló un solo microorganismo y en el 84 % se aislaron dos o más microorganismos (en el 24 % solo dos, en el 27 % tres y en el 33 % cuatro o más). Con el mismo criterio en 2015 los establecimientos (n= 77) con aislamiento de un solo microorganismo representaron el 12 % (n=9) y con dos o más aislamientos el 88 % (36 % dos microorganismos, 18 % tres y 34 % cuatro o más).

9. DISCUSIÓN

En nuestro trabajo las muestras que no presentaron desarrollo de agentes patógenos fueron el 26 % y 31 % del total de muestras para el año 2014 y 2015 respectivamente. Estos porcentajes de no desarrollo coinciden con lo reportado en otros trabajos donde se estudia la frecuencia de agentes patógenos causantes de mastitis clínica, Gianneechini y col. (2002; 2005a) tuvo un 32.5 % y 35 % de muestras sin desarrollo de dos regiones de Uruguay evaluadas, Bradley y col. (2007) un 26,5 % y Oliveira y col. (2013) un 27,3 %. El no desarrollo en muestras de leche se puede deber a varias razones: curación espontánea de la infección, tratamientos antibióticos recientes al momento de toma de la muestra, baja cantidad de bacterias viables en la muestra, patrón de eliminación intermitente (Barkema y col., 2006), muerte bacteriana durante el transporte (Zorah y col., 1993; Sargeant y col., 1998), no sobrevivencia de la bacteria en la muestra congelada (Schukken y col., 1989), patógenos que no crecen en medios de cultivo estándar (Taponen y col., 2009).

Con respecto a los porcentajes de muestras contaminadas obtenidas en nuestro trabajo representaron el 5 % (n=69) en el 2014 y el 2 % (n=21) en el 2015, estos resultados son similares a los encontrados en trabajos realizados por Unnerstad y col. (2009) y Olde Riekerink y col. (2008) en los cuales reportan porcentajes de muestras contaminadas de 4,9 % y 8,6 % del total de muestras respectivamente. Estas muestras en las que se desarrollan más de dos microorganismos se debe a que los procedimientos en la toma de muestra no fueron los adecuados.

9.1 Frecuencias de microorganismos causantes de mastitis clínica

En este estudio la frecuencia con la que se halló *S. aureus* fue 27,5 % en 2014 y 28,8 % en 2015, destacándose como el patógeno mayormente encontrado en ambos años y coincidiendo con los trabajos nacionales anteriores como el microorganismo más frecuente en casos de mastitis clínica. En los cuales para la región Litoral Oeste los principales microorganismos fueron *S. aureus* (37,5%) y *E. coli* (12,5%), y para la cuenca lechera Tradicional del sur *S. aureus* (23,1%) y *Str. dysgalactiae* (14%) fueron los principales (Gianneechini y col., 2002; 2005b).

La frecuencia con que se encuentra *Str. dysgalactiae* en 2014 y 2015 en nuestro trabajo es similar entre años y con los obtenidos por de Torres y col., (2015) para los años 2012 y 2013, lo mismo ocurre con SCN que se encuentra con una frecuencia alrededor del 10 %. *Str. uberis* se ha encontrado en Uruguay con frecuencias alrededor del 4 al 12 %, ya que presentó una frecuencia de 7,1 % en 2015, menor al 12,6 % con el que se encontró en 2014 pero similares al 4,6 % y 9,1 % observado por de Torres y col., (2015) en 2012 y 2013 respectivamente. *Str. agalactiae* ha presentado una menor frecuencia en 2014 y 2015, 1,4 % y 2,1 % respectivamente en comparación con el 16,4 % y 9,9 % reportado por de Torres y col., (2015) en 2012 y 2013 respectivamente. Lo contrario ocurre con las frecuencias de *E. coli*, la

cual fue de 3,5 % en 2012 y 6,5 % en 2013 (de Torres y col., 2015) y nuestro trabajo demuestra que aumentó su frecuencia a 12,0 % en 2014 y 21,7 % en 2015.

De 137 especies de microorganismos identificados por Watts (1988) como posibles responsables de mastitis, solo 5 especies son las responsables de casi el 80 % de mastitis (*S. aureus*, *E. coli*, *Str. dysgalactiae*, *Str. uberis*, *Str. agalactiae*). Según nuestros resultados si a estas 5 especies le agregamos los SCN observamos que en 2014 estos microorganismos fueron los responsables del 84,1 % de mastitis clínica y en 2015 del 88,1 %. Entre los diversos estudios a nivel nacional (Giannechini, 2002, 2005a y 2005b; De Torres, 2015) observamos que los principales microorganismos causantes de mastitis clínica en Uruguay son un limitado número de especies, coincidiendo con estudios de varias partes del mundo, con variaciones en sus frecuencias entre años y trabajos pero que se deben a diferencias en la metodología de cada trabajo (número de muestras, año de realizado, localización y número de establecimientos muestreados, etc.). En una revisión sobre la distribución de los agentes causantes de mastitis clínica en Europa, EE.UU., Canadá y Nueva Zelanda realizado en 11 trabajos, más del 80 % de los aislamientos de muestras de mastitis clínica fueron *S. aureus*, *Str. agalactiae*, SCN, *Streptococcus* ambientales y coliformes (Ruegg, 2012).

La distribución de los patógenos causantes de mastitis clínica varía entre países, e incluso en estudios dentro de un mismo país (Olde Riekerink y col., 2008), debido en parte al diferente manejo en los sistemas de producción (Unnerstad y col., 2009).

Para las muestras en que crecen dos microorganismos, denominadas muestras mixtas, en este trabajo la proporción para el año 2014 fue de 1,5 % (n=20) y 1,8 % (n=18) para el año 2015 sobre el total de muestras. En estudios realizados por Bradley y col. (2007) y Olde Riekerink y col. (2008) de muestras de mastitis clínicas se reportaron porcentajes de 4,2 % y 2,7 % respectivamente de muestras mixtas, más elevados que los que obtuvimos en nuestro trabajo.

La implementación a partir de la década de los '60 del plan de los cinco puntos de control de mastitis: desinfección post-ordeño de los pezones, terapia de secado con antibiótico en todos los cuartos de todas las vacas, tratamiento apropiado de los casos de mastitis clínica, mantenimiento periódico de la máquina de ordeño y refugio de vacas crónicamente infectadas (Neave y col., 1966), ha significado una reducción significativa de la mastitis causada por microorganismos contagiosos como *S. aureus* y *Str. agalactiae* (Booth, 1997; Bradley, 2002). Estudios realizados fuera de EE.UU. tienden a reportar una mayor prevalencia de mastitis clínica causada por *S. aureus* en comparación con estudios de EE.UU. (Ruegg, 2012). Macoveck y Ruegg (2003) estudiaron las muestras de leche enviadas al Laboratorio de Diagnóstico Veterinario de Wisconsin entre 1994 y el 2001, el diagnóstico de aislamiento de *S. aureus* descendió de 17,7 % en 1994 a 9,7 % en 2001, al igual que los aislamientos de *Str. agalactiae* que pasaron del 8,1 % en 1994 al 3,0 % en 2001. La disminución en la prevalencia de estos microorganismos se le atribuyó a la

exitosa implementación de los procedimientos de control y a los cambios en el número de establecimientos lecheros, ya que pasó de 29.000 en 1994 a 21.000 en 2001 y deduciendo que los establecimientos que abandonaron la industria lechera no pudieron controlar los microorganismos contagiosos causantes de mastitis. En este estudio no se encontró asociación entre años y los aislamientos de coliformes. En nuestro trabajo se ve como la prevalencia de *Str. agalactiae* es baja pero no así la de *S. aureus*, aunque sí ha aumentado la prevalencia de *E. coli*, de acuerdo a los autores antes citados esta situación demostraría una incorrecta implementación del Plan de Control de Mastitis.

Nuestro estudio presenta la frecuencia de los diferentes microorganismos causantes de mastitis clínica en Uruguay, trabajos a nivel nacional demuestran que *S. aureus* es el microorganismo con mayor frecuencia de aislamiento en muestras de mastitis clínica (Giannechini y col., 2002 y 2005b; De Torres y col., 2015), coincidiendo con nuestros resultados donde fue el más aislado con el 27,5 % y 28,8 % en 2014 y 2015 respectivamente. Estos resultados se asemejan a investigaciones realizadas en Canadá (Olde Riekerink y col., 2008) y Suecia (Unnerstad, 2009), donde *S. aureus* es el patógeno predominante como causa de mastitis clínica; pero difiere en estudios realizados en Reino Unido y Gales (Bradley y col., 2007) y Estados Unidos (Oliveira y col., 2013).

El hecho que el *S. aureus* continúe siendo el principal microorganismo como causa de mastitis clínica en Uruguay se puede deber a que es una bacteria que causa infecciones crónicas (Harmon, 1996), que tiene la habilidad de sobrevivir intracelularmente dentro de PMN donde se protege de la acción de los antibióticos resultando en pobre respuesta al tratamiento (Owens, 1999), forma además biofilms para permanecer en la glándula mamaria (Hulsen y col., 2013) y donde el control radica en la prevención de nuevas infecciones a través de la eliminación de animales crónicos e implementación de medidas profilácticas durante el ordeño (Almeida, 2014).

La transmisión de patógenos contagiosos ocurre principalmente durante el ordeño (Fox y col., 1993). La técnica de ordeño y la máquina de ordeño afectan la susceptibilidad de la glándula mamaria a la infección, así como el riesgo de exposición a patógenos causantes de mastitis. Es importante que todos los ordeñadores, mantengan un correcto funcionamiento de la máquina. Se ha demostrado los efectos de la desinfección post-ordeño de los pezones en la prevención de la mastitis, incluyendo la mastitis causada por *Staphylococcus* y *Streptococcus*. El tratamiento de la mastitis puede contribuir a reducir la transmisión de la infección, pero el tratamiento antimicrobiano de la mastitis no siempre tiene éxito. Cuando el tratamiento falla, el descarte del animal infectado puede ser esencial para prevenir la transmisión contagiosa. Es importante que se asigne un orden de ordeño (animales libres de la infección en primer lugar y animales infectados últimos). La segregación de las vacas con mastitis clínica o alto RCS y el

uso adecuado del corral para los enfermos (Barkema, 2009). Si el estricto orden de ordeño no se logra, la propagación de bacterias contagiosas, como *S. aureus*, no se puede controlar en cualquier sistema de producción (Unnerstad y col., 2009).

En el año 2015 *E.coli* fue el segundo patógeno más aislado (21,7 %), además con mayor frecuencia con respecto al año 2014, donde fue el 5° microorganismo más prevalente (12,0 %).

A nivel nacional en la cuenca lechera Tradicional del sur, en base a 341 muestras de mastitis clínica provenientes de 53 establecimientos, *E. coli* fue hallado en el 1,5 % (Giannechini y col., 2005). De 40 muestras de leche de mastitis clínica provenientes de 29 establecimientos lecheros de la región litoral oeste de Uruguay *E. coli* fue aislado en el 12,5 % de las muestras (Giannechini y col., 2002). La diferencia de las frecuencias de *E. coli* encontradas en estos trabajos con el nuestro se pueden deber a que los resultados presentados por Giannechini y col., son calculados en base al número de muestras, mientras que en el presente trabajo las frecuencias de los microorganismos son calculados en base al número de aislamientos.

De Torres y col. (2015) determinaron la prevalencia para *E. coli* en 2012 de 3,5 %, a partir de 881 muestras de mastitis clínica de 139 establecimientos. Mientras que en 2013 la prevalencia fue de 6,5 % en base a 1237 muestras de 150 establecimientos lecheros. La base de datos de estos resultados se asemeja a los nuestros en cuanto al número de muestras y establecimientos, sin embargo, la frecuencia de *E. coli* para 2012 y 2013 es menor a la encontrada en 2014 (12,0 %) e incluso en mayor magnitud con respecto a 2015 (21,7 %).

En Suecia, en un estudio a nivel nacional realizado en 1994- 1995 sobre la etiología microbiana de casos de mastitis clínica reveló que *S. aureus*, *Streptococcus* y *E. coli* fueron los microorganismos predominantes. Otro estudio sueco, en base a muestras de 987 cuartos mamarios entre mayo de 2002 y abril de 2003, reveló que no se produjo un cambio en los microorganismos encontrados como responsables de mastitis clínica, la proporción de los dos patógenos más comunes, *S. aureus* y *E. coli*, fue casi idéntica en los estudios para los dos años. A pesar de algunos cambios que se produjeron en los sistemas de producción suecos entre estos períodos, como el aumento de sistemas de estabulación libre y el aumento en el número promedio de animales por establecimiento (Unnerstad y col., 2009).

En otros países los microorganismos ambientales son encontrados con mayor frecuencia en comparación con nuestro estudio en Uruguay. En Gran Bretaña, Bradley y col. (2007) seleccionaron aleatoriamente establecimientos lecheros de Inglaterra y Gales, obtuvieron 480 muestras de mastitis clínica de 97 productores y encontraron a *Str. uberis* y *E. coli* con el 23,5 % y el 19,8 % de las muestras respectivamente. *S. aureus* se encontró en el 3,3 %, *SCN* 8,1 % y *Str. agalactiae* no fue aislado. Esto demuestra una clara predominancia de los patógenos ambientales

y una baja prevalencia de *S. aureus* como causantes de mastitis clínica, diferente a nuestros resultados donde *S. aureus* es el principal agente; seguramente el aumento de las IIM causadas por microorganismos ambientales es debido a que el control direccional de patógenos contagiosos lleva a un aumento en los m.o provenientes del ambiente (Smith y Hogan, 2012). Con respecto a los agentes ambientales *E. coli* tuvo similar frecuencia en relación con nuestro estudio en el año 2015 y *Str. uberis* tuvo una menor frecuencia en Uruguay.

En Estados Unidos, Oliveira y col. (2013) demostraron en un estudio sobre 741 muestras de mastitis clínica de 50 establecimientos de Wisconsin, que hay un gran predominio de patógenos ambientales como causa de mastitis clínica; *E. coli* (22,5 %), seguido de *Streptococcus* ambientales (12,8 %), *Klebsiella* spp. (6,9 %) y SCN (6,1 %). Presentando *S. aureus* una frecuencia de 2,8 %, mucho menor a la obtenida en nuestro trabajo en 2014 y en 2015.

Los patógenos ambientales tienden a estar menos adaptados a la supervivencia en la ubre, y la infección intramamaria a menudo desencadena una respuesta inmune que da lugar a síntomas leves o clínicos moderados (Ruegg, 2012). Muchas vacas de alta producción son extremadamente sensible a infecciones por *E. coli* después del parto y durante la lactancia temprana.

El grupo SCN considerados patógenos oportunistas, se encuentran en la piel de la ubre, pezones y en las manos de los ordeñadores (Philpot y Nickerson, 1992). En nuestro estudio fue causa de mastitis clínica en porcentajes similares para los años 2014 y 2015, 15,1 % y 14,1 % respectivamente. En 2012 y 2013 se encontró en el 9 % y 10 % de los aislamientos respectivamente (de Torres y col., 2015). Giannechini y col. (2005a) encontraron a SCN en el 5 % de las 341 muestras analizadas de mastitis clínica. En diversos trabajos realizados en diferentes países ha sido el aislamiento dominante (Makovec y Ruegg, 2003; Pitkälä y col, 2004; Tenhagen y col., 2006; Pyörälä y Taponen, 2009; Sampimon y col., 2009). En un estudio realizado en Finlandia entre Enero de 2004 y Enero de 2006, se recolectaron los resultados bacteriológicos de muestras de leche de mastitis clínica y subclínica de diferentes laboratorios en todo el país, SCN fue la segunda causa de mastitis clínica con el 17,5 % de 14.190 casos analizados (Koivula y col., 2007). SCN puede causar RCS levemente elevados (Ruegg, 2009; Schukken y col, 2009) y casos de mastitis clínica (Ruegg, 2009)

En este trabajo la frecuencia en los aislamientos para *Str. uberis* en el año 2014 fue de 12,6 % y para el año 2015 de 7,1 % en Uruguay. En 2012 fue aislado en el 4,6 % de los aislamientos y en 2013 en el 9,1 % (De Torres, 2015). La baja prevalencia de este microorganismo en Uruguay en relación a otros países, puede deberse a que los sistemas de producción de leche de Uruguay son predominantemente sistemas pastoriles, donde el ambiente donde se encuentran las vacas es diferente a los sistemas estabulados donde el ambiente puede predisponer a mayores casos de mastitis por *Str. uberis* (Saran y Chaffer, 2000). Sin embargo, a diferencia de

Uruguay *Str. uberis* es la mayor causa de mastitis clínica en Nueva Zelanda (74,7 %) (Mc Dougall, 1998), que también tiene un sistema de producción de base pastoril.

De acuerdo a los trabajos de Bradley, (2007) y Keefe, (2012) la prevalencia de *Str. agalactiae* ha bajado en países con programas de extensión en el control de este microorganismo. En nuestro trabajo para los años estudiados se observaron frecuencias de 1,4 % y 2,1 % en 2014 y 2015 siendo menor que en estudios realizados en Uruguay en años anteriores (Giannechini, 2002 y 2005b; De Torres, 2015), coincidiendo con lo planteado por los citados autores de que los programas de control sobre este microorganismo suelen ser exitosos como en Uruguay.

Str. dysgalactiae es una de las causas importantes de mastitis en el Uruguay ya que en 2012 y 2013 fue la tercer (11,6 %) y segunda (15,2 %) causa de mastitis clínica (de Torres y col., 2015). Nuestros resultados coinciden con estas frecuencias, ya que en 2014 fue el segundo microorganismos más frecuentemente aislado (15,4 %) y en 2015 el tercero (14,3 %). Estos resultados son similares a los obtenidos por Unnerstad y col. (2008) en Suecia, donde *Str. dysgalactiae* representó el 15,6 % de las muestras de mastitis clínica. En Canadá, de 3.033 muestras de mastitis clínica provenientes de 106 establecimientos lecheros de 10 provincias, presentaron una frecuencia de *Str. dysgalactiae* del 8,4 % de los aislamientos (Olde Riekerink y col., 2008).

C. bovis, Levaduras y *Streptococcus* spp. fueron aislados en porcentajes menores a 10 %, no siendo causa importante de mastitis clínica en Uruguay , al igual que otros microorganismos que en el presente estudio conforman el grupo denominado *Otros*, estas bajas frecuencias se encontraron también en trabajos realizados en Reino Unido (Levaduras 1 %,) y EE.UU (*Streptococcus* 12,8 % y Levaduras 3,1 %) (Bradley y col, 2007; Oliveira, 2013). Su frecuencia fue baja y no presentan una importancia epidemiológica relevante.

Los resultados obtenidos en los diferentes trabajos tienen relación con las regiones geográficas en que fue realizado cada trabajo, el año de efectuado, tipo de sistema de producción, características de la metodología, procedimientos de diagnóstico y clasificación de microorganismos aislados. Por este motivo hay que tener presente las características de cada estudio en el momento de comparar resultados.

9.2 Frecuencia de los diferentes microorganismos causantes de mastitis clínicas por estrato para cada año.

La estratificación de los establecimientos por número de vacas en ordeño es una característica innovadora en nuestro trabajo de la que no hay antecedentes de estudios similares en Uruguay. Se realizó con el fin de evaluar si hay diferencias o similitudes en la frecuencia de los agentes causantes de mastitis clínica en establecimientos con diferencias en el tamaño de rodeo en ordeño.

Se cuenta con un mayor número de aislamientos en el estrato de establecimientos con mayor número de vacas en ordeño con respecto a los de menor número, esto es lógico ya que los establecimientos de mayor número de vacas tienen más casos clínicos y necesitan mayor número de muestras para monitoreo epidemiológico de los microorganismos causantes de mastitis, este hecho se da por igual tanto en el 2014 como en el 2015.

Evaluando las frecuencias de los microorganismos en cada estrato observamos que para el 2014 y el 2015 *S. aureus* fue el de mayor frecuencia encontrada en todos los estratos, a excepción del estrato 3 en 2015 en el que fue el segundo de mayor frecuencia con una diferencia de 4,1 % con *E. coli*. Cabe destacar que en el estrato 1 y 2 *S. aureus* es el mayormente encontrado con una frecuencia muy superior con respecto al segundo microorganismo, esta característica se da en 2014 y se repite en 2015, dejando en evidencia la destacada prevalencia de este microorganismo en los establecimientos de pequeño (menos de 100 vacas en ordeño) y mediano tamaño (de 100 a 300 vacas en ordeño). En el estrato 3, *S. aureus* también se presenta como agente importante causante de mastitis clínica ya que fue el de mayor frecuencia en 2014 y el segundo microorganismo más frecuentemente aislado en 2015. Por lo tanto observamos que *S. aureus* es una importante causa de mastitis clínica en rodeos de diferente tamaño, y es de suponer que sus características de virulencia son las que le han permitido persistir con una alta prevalencia en los rodeos lecheros de Uruguay. Si analizamos un estudio realizado en EE.UU en el cual se buscaban agentes patógenos contagiosos en muestras de leche de tanque y clasificando los rodeos según el tamaño de rodeo clasificándolo en pequeños (menos de 100 vacas), medianos (100 a 499 vacas) y grandes (500 o más vacas) se encontró que *S. aureus* fue el microorganismo contagioso de mayor aislamiento (presente en 43 % de los establecimientos) y su prevalencia no estaba relacionada con el tamaño del rodeo (USDA, 2008).

El comportamiento de *E. coli* es diferente ya que aumenta su frecuencia de aislamiento a medida que aumenta el número de vacas en ordeño (del estrato 1 al estrato 3). En 2014 *E. coli* representó el 7,7 %, 10,6 % y 14 % de los aislamientos en el estrato 1, 2 y 3 respectivamente, similar a lo ocurrido en 2015 en el cual representó el 2,1 %, 5,7 % y 26,5 % en el estrato 1,2 y 3 respectivamente. Esta característica que se repite en ambos años nos lleva a concluir que en Uruguay la frecuencia de *E. coli* es mayor a medida que aumenta el tamaño del rodeo, aunque se necesitan más estudios epidemiológicos a nivel nacional para analizar este comportamiento.

Bradley y col., (2007) en un estudio realizado en establecimientos lecheros de Inglaterra y Gales con tamaños de rodeos de alrededor de 137 vacas encontraron que los microorganismos más frecuentemente encontrados en muestras de mastitis clínica fueron *Str. uberis* (23,5%) y *E. coli* (19,8%), mientras que *S. aureus* se encontró en el 3,3 %, resultados que difieren a los encontrados en rodeos de tamaño similar en Uruguay.

Con respecto a otros microorganismos encontramos que para los 3 estratos los de importancia epidemiológica son el *Str. dysgalactiae*, SCN, *Str. uberis*, *Streptococcus* spp., *Str. agalactiae* y *C. bovis*. Estos presentan diferentes frecuencias entre estratos y entre años que varían entre 1,0 % y 20 % y de los cuales no observamos un patrón de comportamiento epidemiológico que demuestre alguna diferencia de estos microorganismos entre los estratos.

9.3 Número de establecimientos con presencia de cada uno de los microorganismos causantes de mastitis por estrato para cada año

Evaluando la presencia de los microorganismos causantes de mastitis clínica en cada establecimiento encontramos a *S. aureus* en el 63,4 % (n=153) y 73,1 % (n=93) de los establecimientos estudiados en 2014 y 2015 respectivamente, siendo el de mayor distribución en ambos años e incluso fue el agente más encontrado en cada uno de los estratos en los dos años de estudio. Este hallazgo es lógico, ya que *S. aureus* fue el de mayor frecuencia encontrada en nuestro trabajo para el año 2014 y 2015, estos resultados verifican y confirman la gran distribución y prevalencia que presenta *S. aureus* entre los establecimientos lecheros del Uruguay.

En Estados Unidos en un trabajo realizado por la USDA (2008) hay reportes de presencia de *S. aureus* en el 43 % de los establecimientos, aunque en este trabajo se determinó la presencia en base a cultivos de muestras de tanque.

E. coli se encontró en este estudio con mayor frecuencia en los estratos de establecimientos con mayor número de vacas. En base a estos resultados podríamos indicar que *E. coli* tiene una mayor frecuencia como causa de mastitis clínica en establecimientos con mayores números de vacas en ordeño, aunque se necesitan más estudios a nivel nacional para verificar este comportamiento epidemiológico.

Con respecto a *Str. agalactiae*, se encontró en 2014 en el 7,2 % de los establecimientos y en el 2015 en el 6,2 %. Analizando su distribución entre los estratos, en 2014 se encontró con similares frecuencias en cada estrato (7,3 %, 6,1 % y 7,9 % en el estrato 1, 2 y 3 respectivamente), en 2015 no se encontró en ningún establecimiento del estrato 1 y en el estrato 2 y 3 se halló en el 13 % y 6 % respectivamente. Otros microorganismos encontrados presentaron variadas frecuencias entre los estratos y entre años sin un patrón de comportamiento en determinado estrato.

10. CONCLUSIONES

S. aureus fue el microorganismo más prevalente como causa de mastitis clínica en Uruguay para los años 2014 y 2015.

En los dos años de estudio *S. aureus* fue el patógeno con mayor número de aislamientos en cada estrato, a excepción del estrato 3 en 2015 donde fue el segundo patógeno de mayor aislamiento. En los rodeos de menor número de vacas en ordeño presentó frecuencias más altas que en los rodeos de mayor tamaño.

En los tres estratos considerados *S. aureus* fue el microorganismo que se encontró en mayor cantidad de establecimientos tanto en el año 2014 y 2015.

En la mayoría de los establecimientos (84 %) existen por lo menos dos microorganismos como causantes de mastitis clínica y no pertenecen a un grupo determinado de los mismos (ambiental o contagioso) por lo que en Uruguay los programas de control de mastitis deben ser desarrollados en base a la epidemiología de microorganismos contagiosos y ambientales.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Almeida, R.A. (2014). Patogénesis de la mastitis bovina. Actas del II congreso Red Latinoamericana de Investigación en Mastitis, Costa Rica. Pp.23.
2. APHIS, United States Department of Agriculture (2008). Prevalence of Contagious Mastitis Pathogens on U.S. Dairy Operations, 2007 Disponible en: https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07_is_ContMastitis.pdf
3. Barkema, H.W; Schukken, Y.H; Zadoks , R.N. (2006). Invited Review: The Role of Cow, Pathogen, and Treatment Regimen in the Therapeutic Success of Bovine Staphylococcus aureus Mastitis. J. Dairy Sci. 89: 1877–1895.
4. Barkema, H.W; Green, J; Bradley, A.J; Zadoks, R.N.(2009) Invited review: the role of contagious disease in udder health. J. Dairy Sci. 92: 4717–4729.
5. Blowey, R; Edmonson, P. (1995). Mastitis Control in Dairy Herds An illustrated and practical guide. Ipswich, Ed Farming Press Book, pp. 31-67.
6. Booth, J. (1997). Progress in mastitis control—an evolving problem. Proc. Br. Mastitis Conf. Stoneleigh, UK. pp. 3.
7. Bradley, A.; Green, M. (2001). Adaptation of Escherichia coli to the bovine mammary gland. Journal of clinical Microbiology, 38: 1845-1849.
8. Bradley, A. J. (2002). Bovine Mastitis: An Evolving Disease. The Veterinary Journal, 163: 1-13.
9. Bradley, A.J.; Leach, K.A.; Breen, J.E.; Green, L.E.; Green, M.J. (2007). Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. Veterinary Record 160: 253-258.
10. Bradley, A.J. (2014). Coliform mastitis control. Actas del II congreso Red Latinoamericana de Investigación en Mastitis, Costa Rica. Pp 27.
11. Breen J.; Bradley E.; Green M. (2009). Quarter and cow risk factor associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. J. Dairy Sci. 92: 2551- 2561.
12. Calvino, L.F.; Tirante, L. (2005). Prevalencia de microorganismos patógenos de mastitis bovina y evolución del estado de salud de la glándula mamaria en argentina en los últimos 25 años. Rev. FAVE, Sección Ciencias Veterinarias. Vol 4 (1): 29-40.
13. Calvino L.F.; Tarabla H.D. (2007), Enfermedades. En: Taverna, M A. Manual de Referencias técnicas para el logro de leche de calidad. 3ra. Ed. Buenos Aires, Ediciones INTA, pp. 77-111.

14. Calvinho L.F, Neder, V. (2013). Infecciones resistentes en el tambo. Mycoplasmas en el rodeo lechero. *Producir XXI*, BsAs., 21 (263):18-22.
15. Capurro, A; Aspan, A; Unnerstad, E.H; Waller, P.K; Artusson, K.(2009). Identification of potential sources of *Staphylococcus aureus* in herds with mastitis problems. *J.Dairy Sci.* 93: 180-191.
16. Chaffer, M. (1999). Aspectos epidemiológicos de la mastitis. *Jornadas de salud de ubre*. Nueva Helvecia, Uruguay, pp 35.
17. Crawshaw, W.M; Mac Donald, N.R; Duncan, G. (2005). Outbreak of *Candida rugosa* mastitis in a dairy herd after intramammary antibiotic treatment. *Veterinary Record* 156: 812-813.
18. Da Costa, G.M; Da Silva, N; Rosa, C.A; Pereira, C.H; De Padua, U. (2008). Mastitis caused by yeasts in dairy herds in the South of the Minas Gerais State, Brazil. *Cienc. Rural.* 38 (7): 1938-1942.
19. Delucci, I., Cabrera, J.M., Cartaya, A. (2008). Calidad de la leche: Resultados de análisis de muestras durante el periodo Julio 2006 – Julio 2008. *Jornada de Actualización Técnica en lechería, para una lechería eficiente*, Florida, Uruguay, pp. 63.
20. De Torres E. (2015) Calidad Higiénica y Sanitaria de la leche. Disponible en: www.fvet.edu.uy/sites/default/files/bovinos/CALIDAD%20HIGIÉNICA%20Y%20SANITARIA%20DE%20LA%20LECHE%202015%20AREA%207.pdf Fecha de Consulta: 08/03/16
21. Dufour, S.; Dohoo, I. R.; Barkema, W.; DesCoteaux, L.; DeVries, T. J.; Reyher, K. K.; Roy, J. P. y Scholl, D. T. (2012). Epidemiology of coagulase-negative staphylococci intramammary infection in dairy cattle and the effect of bacteriological culture misclassification. *J. Dairy Sci.* 95: 3110–3124.
22. Fox, L.K, Gay, J.M. (1993). Contagious mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 9: 475–487.
23. Gianneechini, R. E.; Concha, C.; Rivero, R.; Delucci, I.; Moreno - López J. (2002). Occurrence of clinical and subclinical mastitis in dairy herd in the west litoral region of Uruguay. *Acta Vet.Scand*; 43 pp:221 -230.
24. Gianneechini, R. E.; Concha, C.; Rivero, R.; Gil, J.; Delucci, I.; Moreno Lopez, J. (2005) Dinámica de los casos de mastitis clínica en la cuenca lechera Sur de Uruguay. XII Congreso Latinoamericano de Buiatría y VII Jornadas Chilenas de Buiatría. Valdivia, Chile, pp 315 - 316.
25. Harmon, R. J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 77: 2103-2112.
26. Harmon, R.J. (1996). Controlling contagious Mastitis. Disponible en: <http://www.nmconline.org/articles/contagious.htm> Fecha de consulta: 10/03/2016.

27. Hogan J.S., Smith K.L. (1987). A Practical Look at Environmental Mastitis. Disponible en: <https://nmconline.org/environmental.htm> Fecha de consulta: 25/06/2016.
28. Hogan, J., González, R.; Harmon, R.; Nickerson, S.; Oliver S., Pankey, J.; Smith, K. (1999). Laboratory handbook on bovine mastitis. 2ª Ed. Rev. Ed. National Mastitis Council, Madison, WI. Pp. 222.
29. Hogan, J, Smith L.K. (2012). Managing Environmental Mastitis. Vet.Clin.North.Am.Food.Anim.Pract. 28: 217-224.
30. Hulsén J.; Lam T., Schukken Y. H., (2013). Salud de la ubre. Una guía práctica para la mejora de la salud de la ubre. Cow Signals. Hipra.
31. IMPO. Normativa y Avisos Legales del Uruguay. Disponible en: <http://www.impo.com.uy/bases/decretos/90-1995> Fecha de consulta: 29/1/2016.
32. IMPO Normativa y Avisos Legales del Uruguay. Disponible en: <http://www.impo.com.uy/bases/decretos/57-1999> Fecha de consulta: 29/1/2016.
33. IMPO Normativa y Avisos Legales del Uruguay. Disponible en: <http://www.impo.com.uy/bases/decretos/359-2013> Fecha de consulta: 29/1/2016.
34. INALE (2015) Encuesta lechera inale 2014 Resultados preliminares. Disponible en: <http://www.inale.org/innovaportal/file/4086/1/encuesta-lechera-2014--presentacion-resultados-preliminares-foro.pdf> Fecha de consulta: 5/4/2016.
35. Janus, A. (2009). Emerging mastitis pathogens. Veterinary World Vol.(2): 38-39.
36. Jones, G. M., Bailey, T. L. (2009). Understanding the Basics of Mastitis Disponible en: <https://pubs.ext.vt.edu/404/404-233/404-233.html> Fecha de consulta: 21/04/2016.
37. Keefe, G.P. (1997). *Streptococcus agalactiae* mastitis: A review. Can. Vet J. 38 (7): 464-470.
38. Keefe, G.P. (2012). Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. Vet. Clin. Food Anim. 28: 203-216.

39. Koivula, M.; Pitakala, A.; Pyorala, S.; Mantysaari, E. A. (2007) Distribution of bacteria and seasonal and regional effects in a new database for mastitis pathogens in Finland. *Acta Agriculturae Scand Section A*, 57: 89-96.
40. Makovec, J.A; Ruegg, P.A. (2003). Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. *J. Dairy. Sci* 86: 3466-3472.
41. Mc Dougall. (1998). Prevalence of clinical mastitis in 38 Waikato dairy herds. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production* 58: pp. 76-78.
42. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (MGAP- DIEA). (2015). Anuario Estadístico Agropecuario Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-anuario-2015,o,es,o> Fecha de consulta: 27/01/2016
43. Middleton, J.R. (2013). *Staphylococcus aureus* Mastitis: have we learned anything in the last 50 years. *National Mastitis Council Proceedings*. Disponible en: <http://www.nmconline.org/articles/staphaureus50.pdf> Fecha de consulta: 10/03/2016
44. Middleton, J.R. (2014). Update on contagious mastitis: *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*. *National Mastitis Council Proceedings*.
45. Moroni, P. (2014). *Staphylococcus aureus*: epidemiology, treatment, prevention and then? *Actas del II congreso Red Latinoamericana de investigación en Mastitis, Costa Rica*. Pp 61-63.
46. National Animal Health Monitoring System (2008). Prevalence of contagious mastitis pathogens on U.S. dairy operations, 2007. Disponible en: http://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07_is_ContMastitis.pdf. Fecha de consulta: 14/03/2016
47. National Mastitis Council. Una práctica mirada a la Mastitis Contagiosa. Disponible en: http://www.nmconline.org/transl/contagmast_sp.pdf Fecha de consulta: 20/03/2016
48. National Mastitis Council (1996). *Current Concepts of Bovine Mastitis*, 4^a ed., Arlington, VA.
49. National Mastitis Council. Coagulase-negative Staphylococci infections. *National Mastitis Council Homepage* (1998). Disponible en: <http://www.nmconline.org/coagneg.htm> Fecha de consulta: 10/03/2016
50. National Mastitis Council (2011). Preguntas sobre calidad de la leche. Disponible en: <http://www.nmconline.org/transl/elLecheroContEnv.pdf> Fecha de consulta 23/02/2016
51. Neave, F.K.; Dodd, F.H.; Kingwill, R.G. (1966). A method of controlling udder disease. *Veterinary Record.*, 78: 521- 523.

52. Olde Riekerink, R.G.M.; Barkema, H.W.; Kelton, D.F.; Scholl, D.T. (2008). Incidence rate of clinical mastitis on Canadian Dairy farms. *J. Dairy.Sci.*, 91: 1366-1372.
53. Oliveira, L.; Hlland, C.; Ruegg, P. (2013). Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. *J.Dairy.Sci.*, 96, pp. 7538-7549.
54. OPYPA (2004). Anuario. Oficina de Planeamiento y Produccion Agropecuaria. Ministerio de Ganaderia Agricultura y Pesca, Montevideo-Uruguay. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,opypa,opypa-anuarios.O.es.0>, Fecha de consulta: 10/03/2016.
55. Owens, WE; Oliver, S.P; Gillespie, B.E; Ray, C.H; Nickerson, S.C. (1998). Role of horn flies (*Haematobia irritans*) in *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in dairy heifers. *Am. J. Vet. Res* 59(9) pp.1122-1124
56. Owens, W.E.; Nickerson, S.C.; Ray, C.H. (1999). Efficacy of parenterally or intramammarily administered tilmicosin or ceftiofur against *Staphylococcus aureus* mastitis during lactation. *J.Dairy. Sci* 82: 645-6647.
57. Petersson-Wolf, C. S.; Currin, J. (2012). *Streptococcus dysgalactiae*: A Practical Summary for Controlling Mastitis. Disponible en: https://pubs.ext.vt.edu/DASC/DASC-5P/DASC-5P_pdf.pdf Fecha de Consulta: 25/07/16.
58. Philpot, W.; Nickerson, S. (1992). Mastitis el contra ataque. Naperville, Illinois, Ed. Surge International Babson brothers Co, pp. 15-20.
59. Pitkälä, A; Haveri, M; Pyörälä, V; Honkanen - Buzalski, T. (2004). Bovine mastitis in Finland 2001- Prevalence, distribution of bacteria and antimicrobial resistance. *J Dairy Sci* 87: 2433-2441.
60. Pyörälä, S.; Taponen, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci emerging mastitis pathogens. *Vet. Microbiol.* 134: 3–8.
61. Radostitis, O. M.; Gay, C. C.; Blood, D. C. y Hinchcliff, K. W. (2002). Mastitis En: *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* 9a ed., Interamericana, Madrid. Vol. 1: pp 711-716.
62. Roberson J. R. (1999) The Epidemiology of *Staphylococcus aureus* on Dairy Farms. National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings, 38.
63. Ruegg, P.(2005). Estafilococos aureus en español. Milk Quality Factsheet. Disponible en: http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/estafilococos-aureus_spanish.pdf Fecha de consulta: 10/03/2016.

64. Ruegg, P. (2009). The quest for the perfect test: phenotypic versus genotypic identification of coagulase-negative Staphylococci associated with bovine mastitis. *Vet. Microbiology*, 134: 15 - 19.
65. Ruegg, P. (2012). New perspectives in udder health management. *Vet. Clin Food Anim* 28: 149-163.
66. Ruegg, P. (2014). Tratamiento de las Mastitis clínicas: Factores que influyen. Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina. Avila, España, pagina 5. Disponible en: <http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/El-tratamiento-de-las-Mastitis-CI%C3%ADnicas-ANEMBE-2011.pdf>. Fecha de consulta: 25/5/2016
67. Sampimon, O.; Barkema, H. W.; Berends, I.; Sol, J. y Lam, T. (2009). Prevalence of intramammary infection in Dutch dairy herds. *J. Dairy Res.* 76: 129–136.
68. Saran, A. y Chaffer, M. (2000). Agentes causantes de Mastitis En: Mastitis y calidad de la leche. Buenos Aires, Argentina, Ed. Intermédica, pp 11-26.
69. Sargeant, J.M; Morgan, H; Leslie, K; Ireland, M.J; Bushir, A. (1998). Clinical mastitis in dairy cattle in Ontario: Frequency of occurrence and bacteriological isolates. *Can. Vet. J*, 39: 33-38.
70. Scaccabarozzi L., Locatelli C., Pisoni G., Manarolla G., Casula A., Bronzo V. y Moroni P. (2011). Short communication: Epidemiology and genotyping of *Candida rugosa* strains responsible for persistent intramammary infections in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 94 : 4574–4577
71. 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. *J Dairy Sci* 80:1833–1840
72. Schukken, Y. H.; Grommers, F. J.; Smit, J. A.; van de Geer, D. y Brand. A. (1989). Effect of freezing on bacteriologic culturing of mastitis milk samples. *J. Dairy Sci.* 72: 1900–1906.
73. Schukken, Y.H.; Gonzalez, R.N.; Tikafsky, L.L.; Schulte, H.F.; Santiesteban, C.G.; Welcome, F.L.; Bennet, G.J.; Zurakowsky, M.J.; Zadoks, R.N. (2009). CNS mastitis: Nothing to worry about. *Vet. Microbiology* 134: 9 -14
74. Sector Agronegocios. Uruguay XXI (2015) Disponible en: <http://uruguayxxi.gub.uy/informacion/wp-content/upload/sites/9/2015/06/informe-agropecuario-junio-2015.pdf> Fecha de consulta 21/01/2016
75. Smith, J.T; Hogan, J.S. (1993a). Environmental mastitis. *Vet.Clin. North. Am.:Food Animal Practice.* 9(3): 489-498.

76. Smith, J.T; Hogan, J.S. (1993b). Characteristics of environmental mastitis. National Mastitis Council 32nd Annual Meeting, INC. Kansas city, Missouri, pp: 73-76.
77. Spanamberg, A; Cavallini, M.E; Santurio, J.M; Ferreiro, L. (2009). Mycotic mastitis in ruminants by yeasts. *Cienc. Rural.* 39 (1): 282-290.
78. Taponen, S; Salmikivi, L; Simojoki, H; Koskinen, M.T; Pyörälä, S. (2009). Real-time polymerase chain reaction based identification of bacteria in milk samples from bovine mastitis with no growth in conventional culturing. *J. Dairy. Sci.* 92: 2610-2617.
79. Taponen, S.S; Simijoki, H.K. (2014) Update on opportunistic pathogens: coagulase-negative Staphylococci. Disponible en: <http://nmconline.omnibooksonline.com/57129-nmc-1.240505/t-001-1.1241183/f-012-1.1241193/a-012-1.1241194?qr=1> Fecha de consulta: 10/03/2016
80. Tenhagen, B.A; Koster, G; Wallmann, J; Heuwieser, W. (2006). Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J Dairy Sci.* 89: 2542-2551
81. Tomazi, T.; Caixeta G.; Santos MV. (2015). Caracterización del perfil etiológico de mastitis clínica en rebaños lecheros de Brasil. Congreso Red Latinoamericana de investigación en mastitis, Chile.
82. Unnerstad, H.E.; Lindberg, A.; Waller, K.P.; Ekman, T.; Artursson, K.; Nilsson-Öst, M.; Bengtsson, B.(2009). Microbial Aetiology of Acute Clinical Mastitis and Agent-Specific Risk Factors. *Veterinary Microbiology*, Elsevier, 2009, 137(1-2): 90.
83. USDA (2008). Prevalence of contagious mastitis pathogens on U.S. Dairy operations, 2007. Disponible en: https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07_is_ContMastitis.pdf Fecha de Consulta: 1/8/2016
84. Watts J. L. (1988). Etiological Agents of Bovine Mastitis. *Veterinary Microbiology*, 16: 41-66
85. Zadoks, R.N; Allore, H.G; Barkema, H.W; Sampion, O.C; Gröhn, Y.T; Schukken, Y.H. (2001). Analysis of an outbreak of streptococcus uberis mastitis. *J Dairy Sci.* 84: 590-599
86. Zadoks, R.N y Middleton, J.R. (2011). Molecular Epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to Humans. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 16: 357-372.
87. Zorah, K. T.; Daniel, R. C. W.; Frost, A. J.(1993) Detection of bacterial antigens in milk samples from clinical cases of bovine mastitis in which culture is negative. *Vet. Rec.* 132: 208-210

12. ANEXOS

ANEXO 1. Planilla electrónica utilizada para registrar los datos.

Informe	Establecimiento	Estrato	N° Muestras	Positivas	No desarrolla	Contaminadas	Staphylococcus C(-)	S. aureus	Str. uberis	Str. agalactiae	C. bovis	Mixtas
1234	X	1	4	2	2	0	1					C. bovis + S. aureus
5678	X	1	3	3	0	0	1	2				
3416	X	2	8	5	2	1	1	2		1		S. aureus+ Str. agalactiae