



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**EFFECTO DE LA CARGA Y MANEJO DE LA PASTURA SOBRE
LA SALUD DE LA UBRE EN VACAS PRIMÍPARAS Y
MULTÍPARAS**

FELIPE PEÑA MOSCA

TESIS DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL

**URUGUAY
AÑO 2019**



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Posgrados

**EFFECTO DE LA CARGA Y MANEJO DE LA PASTURA SOBRE
LA SALUD DE LA UBRE EN VACAS PRIMÍPARAS Y
MULTÍPARAS**

FELIPE PEÑA MOSCA

Dra. PhD. Ana Meikle

Director de Tesis

Dra. MSc. Elena de Torres

Co-director de Tesis

AÑO 2019

**INTEGRACIÓN DEL TRIBUNAL
DE DEFENSA DE TESIS**

**Dr. PhD. Andrés Gil,
Universidad de la República,
Facultad de Veterinaria**

**Dr. MSc. Edgardo Giannechini
Universidad de la República
Facultad de Veterinaria**

**Dr. PhD. Marcos Muñoz,
Universidad de Concepción,
Facultad de Veterinaria**



ACTA DE EXAMEN

CURSO: Defensa de Tesis de Maestría

LUGAR Y FECHA DE LA DEFENSA: Montevideo, 8 de mayo de 2019

TRIBUNAL: Dr. Andrés Gil, Dr. Edgardo Giannechini, Dr. Marcos Muñoz

CI ESTUDIANTE	NOMBRE	CALIFICACIÓN	NOTA
4.496.167-0	PEÑA MOSCA, Felipe	S S S	12

PRESENTADOS	NO PRESENTADOS	APROBADOS	APLAZADOS	INSCRIPTOS
1	0	1	0	1

TRIBUNAL

Dr. Andrés Gil (Presidente)

Dr. Edgardo Giannechini

Dr. Marcos Muñoz

FIRMA

NOTA: Las calificaciones de aprobación de la Tesis de Maestría pueden ser:
B.B.B. - 6 , o S.S.S. - 12



**FACULTAD DE VETERINARIA
Programa de Posgrados**

**ACTA DE APROBACIÓN DE TESIS
DE MAESTRÍA EN SALUD ANIMAL**

**EFFECTO DE LA CARGA Y MANEJO DE LA PASTURA SOBRE
LA SALUD DE LA UBRE EN VACAS PRIMÍPARAS Y
MULTÍPARAS**

Por: Dr. Felipe PEÑA MOSCA

Directora de Tesis: Dra. Ana Meikle

Codirectora de Tesis: Dra. Elena De Torres

Tribunal

Presidente: Dr. Andrés Gil

Segundo Miembro: Dr. Edgardo Gianneechini

Tercer Miembro: Dr. Marcos Muñoz

Fallo del Tribunal:

**Anfiteatro de Anatomía
Miércoles 8 de mayo de 2019**

El Fallo de aprobación de la Tesis puede ser: Aprobada (corresponde a la nota BBB- en el Acta), o Aprobada con Mención (corresponde a la nota SSS- 12 en el Acta)

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi familia por acompañarme y ayudarme en todo momento.

A todos los amigos y compañeros por los momentos compartidos y el apoyo en este largo camino.

A la Dra. Ana Meikle por su ayuda en el diseño análisis y escritura de los datos.

A la Dra. Elena de Torres por su paciencia y ayuda en el análisis y redacción de esta tesis y por iniciarme en mi rol como asesor e investigador en el área de la salud mamaria.

Agradezco a Pablo Chilibroste, Ricardo, Gastón, Tatiana, Murad, Yesica, Pablo Cracco, Chefa, Diego, Mariana, Matías, Elizabeth, Nicolás, Cristian y toda la gente que en un momento u otro estuvo involucrada en la operativa del tambo en Centro Regional Sur, por su ayuda en las determinaciones experimentales y potenciar mis conocimientos.

A Isabel y Claudia del laboratorio de endocrinología y metabolismo animal por su ayuda en el procesamiento de muestras para análisis de metabolitos.

INDÍCE

AGRADECIMIENTOS.....	i
INDÍCE.....	ii
RESUMEN.....	iii
SUMMARY.....	iv
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	2
Producción lechera en Uruguay.....	2
Mastitis.....	2
Técnicas diagnósticas para mastitis.....	3
Factores predisponentes para la aparición de mastitis.....	4
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	9
MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
Diseño experimental.....	10
Determinaciones en los animales.....	11
Análisis estadístico.....	13
RESULTADOS.....	14
Manejo animal durante el período experimental.....	14
Prevalencia de microorganismos por cuarto al parto.....	14
Prevalencia de mastitis subclínica mediante recuento celular individual por vaca al comienzo del período experimental.....	15
Tasa de incidencia e incidencia acumulada de infecciones intramamarias	15
Tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto e incidencia acumulada mastitis clínica	16
Score de suciedad.....	16
Teat score.....	17
Concentraciones de ácidos grasos no esterificados, beta-hidroxibutirato y colesterol.....	18
Concentraciones de calcio y magnesio.....	19
DISCUSIÓN.....	20
Prevalencia de microorganismos por cuarto al parto.....	20
Prevalencia mastitis subclínica mediante recuento celular individual por vaca al comienzo del período experimental.....	21
Categoría.....	22
Carga y manejo del pastoreo.....	24
CONCLUSIONES.....	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30

RESUMEN

En la presente tesis se estudió si la carga y el manejo de la pastura afectan parámetros del bienestar animal, metabolismo e indicadores de salud de ubre en vacas primíparas y multíparas. Al parto, se encontraron mayor proporción de aislamientos positivos en vacas primíparas con respecto a multíparas, siendo los más importantes: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa* negativos y bacilos gram-negativos. La prevalencia de mastitis subclínica mediante recuento celular individual al comienzo del período experimental fue mayor en vacas primíparas con respecto a vacas multíparas. La tasa de incidencia e incidencia acumulada de infecciones intramamarias fue mayor en vacas primíparas con respecto a vacas multíparas. Esto se encontró asociado a una mayor movilización de reservas (concentraciones de ácidos grasos no esterificados y beta-hidroxibutirato) en vacas primíparas previo al parto. Sin embargo, no se encontraron diferencias en la tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto e incidencia acumulada de mastitis clínica entre vacas primíparas y multíparas, lo cual posiblemente tenga su génesis en la epidemiología de la enfermedad en dicho predio con predominio de agentes contagiosos y oportunistas. Por otro lado, las vacas multíparas tuvieron una mayor prevalencia de cetosis subclínica postparto, mayor proporción de animales con score de suciedad 3 y 4 (ubre sucia), mayor proporción animales con tetas con anillo rugoso o muy rugoso y animales con tetas secas o agrietadas, los cuales son factores de riesgo para la aparición de mastitis. No se encontraron diferencias en la salud mamaria entre diferentes cargas y manejos del pastoreo. Sin embargo, se encontró una mayor tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto y mayor incidencia acumulada de mastitis clínica en el manejo intenso dentro de los animales con una carga de 1,5 vacas en ordeño por hectárea. Esto se encontró además asociado a una mayor proporción de animales con concentraciones elevadas de ácidos grasos no esterificados postparto y menores concentraciones de colesterol en el manejo intenso y una mayor prevalencia de cetosis subclínica postparto en el manejo intenso con respecto al laxo en los animales con una carga de 1,5 vacas en ordeño por hectárea. Simultáneamente, la proporción de animales con score de suciedad 3 y 4 (ubre sucia) tendieron a ser mayores en el manejo intenso dentro de los animales con 1,5 vacas en ordeño por hectárea lo que posiblemente afectó la salud mamaria de dicho grupo experimental. En conclusión, la categoría animal fue un factor determinante para la salud de ubre: las vacas primíparas presentaron una mayor movilización de reservas preparto (ácidos grasos no esterificados y beta-hidroxibutirato), una mayor prevalencia de mastitis subclínica al comienzo del período experimental y mayor tasa de incidencia e incidencia acumulada de infecciones intramamarias durante el mismo. No se encontraron diferencias entre diferentes cargas y manejos del pastoreo sobre la tasa de incidencia e incidencia acumulada de infecciones intramamarias e indicadores de mastitis clínica. Sin embargo, los datos sugieren que el ambiente fue un factor relevante, lo que se observa en el score de suciedad, ya que la interacción entre la carga y el manejo en dicha variable fue significativa. El manejo del pastoreo intenso se asoció con un peor balance energético (mayor proporción de animales con alta concentraciones de ácidos grasos no esterificados y menor concentración de colesterol) que se encontró relacionado parcialmente con las medidas de salud de ubre.

SUMMARY

In this thesis it was studied if stocking rate and grazing management affect animal welfare parameters, metabolism and udder health indicators in primiparous and multiparous cows. At calving, a higher proportion of positive isolations were found in primiparous cows than in multiparous cows, the most prevalent pathogens were: *Staphylococcus aureus*, coagulase negative *Staphylococci* and gram-negative bacilli. The prevalence of subclinical mastitis measured by somatic cell count at the beginning of the trial was higher in primiparous cows than in multiparous cows. The incidence rate and cumulative incidence of intramammary infections was higher in primiparous cows than in multiparous cows. This was associated with a greater mobilization of reserves (concentrations of non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate) in primiparous cows prior to parturition. However, no differences were found in the incidence rate of clinical mastitis per quarter and the cumulative incidence of clinical mastitis between primiparous and multiparous cows, which may have its genesis in the epidemiology of the disease in this dairy farm with a predominance of contagious and opportunistic agents. On the other hand, multiparous cows had a higher prevalence of postpartum subclinical ketosis, a greater proportion of animals with a hygiene score 3 and 4 (dirty udder), a higher proportion of animals with teat ends with rough or very rough ring and more cows with dry or cracked teats, which are risk factors for mastitis. No differences were found between different stocking rates and grazing managements. However, a higher incidence rate of clinical mastitis per quarter and a higher cumulative incidence of clinical mastitis were found in intense grazing management within animals with a stocking rate of 1,5 milking cows per hectare. This was also associated with a higher proportion of animals with high concentrations of postpartum non-esterified fatty acids and lower concentrations of cholesterol in intense grazing management and a higher prevalence of subclinical postpartum ketosis in intense with regard to lax grazing management in cows which had a stocking rate of 1,5 milking cows per hectare. Simultaneously, the proportion of animals with hygiene score 3 and 4 (dirty udder) tended to be higher in the intense management within the animals with a stocking rate of 1,5 milking cows per hectare which possibly affected the udder health of this experimental group. In conclusion, animal category was a determinant factor in udder health: primiparous cows showed a greater mobilization of reserves prior to calving (non-esterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate), a higher prevalence of subclinical mastitis at the beginning of the experimental period and higher incidence of intramammary infections during the trial. No differences were between different stocking rates and grazing managements in incidence rate and cumulative incidence of intramammary infections and clinical mastitis indicators. However, the data suggest that the environment was a relevant factor, what is observed in the hygiene score, since the interaction between the stocking rate and grazing management in this variable was significant. The intense grazing was associated with a worse energy balance (higher proportion of animals with high concentrations of non-esterified fatty acids and lower cholesterol concentrations) which was partially associated with udder health measures.

INTRODUCCIÓN

El sector lácteo ocupa un rol importante en la estructura económica de Uruguay, cuenta con una totalidad de 3873 establecimientos lecheros de los cuales 2717 son remitentes en una superficie total de 763.000 hectáreas y con 767.000 animales, lo cual tiene como resultado una producción anual de 2026 millones de litros y una remisión de leche a plantas de 1816 millones de litros (DIEA, 2017). Uruguay exporta un 70% de su producción (INALE, 2018) y dentro de ese contexto la calidad sanitaria de la leche es vital para cumplir con las normativas internacionales (Europa-tex, 2004) y obtener un producto de buena calidad y competitivo.

En la última década existió un importante aumento en la producción de leche a nivel nacional, este aumento ha sido en base a un aumento en la carga animal y a un aumento en la producción por vaca en ordeño (VO) (DIEA, 2017). El aumento en la producción de leche por VO tiene un gran impacto en la salud animal encontrándose un aumento en la susceptibilidad a enfermar de mastitis (Schukken et al., 1990; Hansen et al., 2002; Carlen et al., 2004; Windig et al., 2006; Parker et al., 2007), esto se encuentra asociado a las mayores exigencias metabólicas del ganado de alta producción y por tanto una mayor susceptibilidad a enfermar (Ingvarsen y Moyes, 2012). Por otro lado, los aumentos en la carga animal podrían afectar la salud de ubre (Hogan y Smith, 2012), en la medida que los sistemas de producción con cargas altas implican accesos a encierros para suplementación, ya que las pasturas varían su oferta de alimento a lo largo del año. Esta situación da lugar a una mayor concentración de animales en áreas comunes (caminos y encierros) pudiendo esto afectar la salud mamaria de dichos animales (Lacy-Hubert et al., 2006; Ruegg, 2006; Lopez-Benavides et al., 2007; Parker et al., 2007). Los cambios en el manejo del pastoreo podrían también afectar la salud de ubre. Los pastoreos más intensos dan lugar a una mayor concentración de animales por unidad de superficie, presencia de barro y mayor contaminación ambiental (Lopez-Benavides et al., 2007). Esta situación da lugar además a cambios en el comportamiento (Chen et al., 2017) que afectan el bienestar animal y por tanto, potencialmente la salud de ubre (Ruegg, 2006; Hogan y Smith, 2012).

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Producción lechera en Uruguay

Uruguay tiene un sistema semipastoril con encierros a cielo abierto y una dieta donde el 50% es pastura (cosecha directa), 25% reservas forrajeras y 25% concentrados (INALE, 2015). Con respecto a las razas y biotipos presentes el 83 % es Holstein de origen americano y canadiense, 6 % Holstein neozelandés, 9% cruza, 1 % Jersey y 1 % Normando (INALE, 2015). En la última década ha existido un aumento sostenido en la producción total de leche en Uruguay y por unidad de superficie, explicado por un incremento en la producción por vaca (4255 litros anuales/vaca masa vs. 4768 litros anuales/vaca masa) y aumentos en la carga (742.000 animales en 879.900 hectáreas vs. 767.000 animales en 764.000 hectáreas) (DIEA, 2017). De acuerdo a Fariña y Chilbroste (2018) se dispone de mayor número de animales en instalaciones de ordeño con caminos, encierros y prepartos sub-dimensionados, lo que da lugar a mayores tiempos de ordeño y peor estado de los caminos y lugares de encierro. Estos problemas de infraestructura tendrían impacto sobre el sistema de producción en su conjunto y en la salud animal en particular.

Uruguay posee un consumo de 230 litros de leche per cápita (más del doble del consumo mundial promedio) y es el séptimo mayor exportador mundial de leche, con un 70 % de la leche recibida por la industria exportada a más de 60 países (INALE, 2018). En dicho contexto, la calidad de la leche producida adquiere un rol fundamental, lo que motivó la instauración del Sistema Nacional de Calidad de leche en 1995 (IMPO, 1995). Este sistema ha tenido sucesivas modificaciones y desde noviembre 2016, el límite de recibo para las industrias para células somáticas es de 400.000 células somáticas por mililitro y para recuento bacteriano de 100.000 unidades formadoras de colonia por mililitro (IMPO, 2013).

Mastitis

La mastitis es la enfermedad de mayor impacto económico que afecta al ganado lechero (Seegers et al., 2003; Hogeveen, 2005). Dentro de los factores que causan pérdidas económicas el que mayor peso posee es la pérdida en la producción potencial de leche (Seegers et al., 2003). Esta producción no solo disminuye en el momento que se desarrollan los casos de mastitis clínica, sino que permanece por debajo de su potencial incluso después de la remisión de los síntomas clínicos (Grohn et al., 2004; Hogeveen, 2005). Estudios que compararon diferentes vías y duraciones de tratamientos y el beneficio de los mismos en las pérdidas provocadas por mastitis determinaron que el factor que tenía más peso económico es el riesgo de nuevas infecciones, seguidos por la baja tasa de cura bacteriológica y la pérdida de potencial genético por descartes (Down et al., 2013), estableciendo así la gran importancia de la prevención como pilar fundamental en la salud de ubre. Existen además marcadas pérdidas en casos de mastitis subclínica,

tanto en cantidad como en calidad de la leche producida (Hortet y Seegers, 1998; Koldeweij et al., 1999).

Técnicas diagnósticas para mastitis

Recuento celular individual

El recuento de células somáticas (RCS) en leche es ampliamente utilizado en el diagnóstico de mastitis a nivel individual y poblacional (tanque). Las células cuantificadas corresponden principalmente a leucocitos, siendo en animales sanos en gran proporción macrófagos, mientras que en cuartos infectados aumentan notoriamente en proporción los neutrófilos. Se ha comprobado que el principal factor que provoca variaciones del RCS es la infección del tejido mamario siendo otros factores de menor importancia (Reneau, 1986).

Aislamiento bacteriológico

El aislamiento bacteriológico ha sido tradicionalmente la técnica de referencia para el diagnóstico de infecciones intramamarias con la cual se comparan otras técnicas, sin embargo, el mismo varía su sensibilidad y especificidad según el microorganismo, tipo de muestra (individual o de tanque), condición de la muestra (refrigerada o congelada), duración de la infección, patrón de liberación de microorganismo en leche, volumen de muestra y frecuencia de muestreo (Kelton y Godkin, 2000).

Los microorganismos causantes de mastitis pueden ser divididos según su epidemiología en patógenos contagiosos, ambientales u oportunistas (Blowey y Edmonson, 2010). También pueden ser clasificados en patógenos mayores y menores según la repercusión de los mismos a nivel del animal (Harmon, 1994). La epidemiología molecular ha permitido conocer que en realidad esta división no es tan clara existiendo cepas con comportamiento diferencial dentro de mismas especies de patógenos (Zadoks y Fitzpatrick, 2009).

Los patógenos contagiosos son aquellos que tienen su reservorio en la glándula mamaria y la piel del pezón (Blowey y Edmonson, 2010). Los mismos se transmiten de animal a animal durante el ordeño, dentro de dicho grupo se encuentran *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Corynebacterium bovis* y *Mycoplasma spp.* (Philpot, 1992; Saran y Chaffer, 2000; Blowey y Edmonson, 2010). Los mismos causan grandes pérdidas productivas, estableciendo infecciones que tienden a la cronicidad y altos recuentos celulares (Saran y Chaffer, 2000; Blowey y Edmonson, 2010).

Los patógenos ambientales son aquellos cuyo reservorio principal se encuentra en el ambiente donde están las vacas y no en los cuartos infectados (Smith et al., 1985; Blowey y Edmonson, 2010). Entre ellos se encuentra especies de *Streptococcus* (principalmente *uberis* y *dysgalactiae*) y múltiples especies de bacterias gram-negativas (principalmente

coliformes) (Smith et al., 1985). La transmisión de los mismos se produce entre los ordeños directamente desde el ambiente, o en ciertas ocasiones por uso de productos contaminados en tetas (sellador) o por malas condiciones de higiene cuando se aplican antibióticos intramamarios (Smith et al., 1985). A diferencia de otros microorganismos ambientales *Streptococcus uberis* y particularmente *Streptococcus dysgalactiae* pueden a su vez transmitirse de vaca a vaca en ciertas condiciones durante el ordeño comportándose de esta manera también como microorganismos contagiosos (Zadoks y Schukken, 2003).

Los patógenos oportunistas, entre los cuales se encuentran los *Staphylococcus* coagulasa negativos (SCN) y *Corynebacterium bovis* son categorizados tradicionalmente como patógenos menores (Harmon, 1994). Dentro de los SCN las principales especies aisladas son *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus haemolyticus* y *Staphylococcus epidermidis* (Vanderhaeghen et al., 2014). Los SCN son una causa emergente de mastitis, poseen una menor patogenicidad que *Staphylococcus aureus* y una mayor tasa de curación clínica, permaneciendo la infección mayormente subclínica (Pyorala y Taponen, 2009), sin embargo, en muchos casos son capaces de generar infecciones crónicas (Thorberg et al., 2009; Pyorala y Taponen, 2009). Por otro lado, *Corynebacterium bovis* provoca un aumento moderado del recuento celular y es altamente contagioso. La sensibilidad a la terapia antibiótica es buena y por tanto el tratamiento antibiótico durante el secado cura la infección. Sin embargo, la reinfección es muy común por su alta contagiosidad (Hogan et al., 1999; De Torres, 2010).

Los relevamientos realizados a nivel nacional determinaron que entre los diferentes microorganismos causantes de mastitis clínica y subclínica el de mayor prevalencia es *Staphylococcus aureus* (Gianneecchini et al., 2002; De Torres et al., 2014; Gianneecchini et al., 2014, Larumbe y Vidart, 2016) con gran tendencia a la cronicidad y baja tasa de curación. Por otra parte, *Streptococcus dysgalactiae* y *Streptococcus uberis* son dos grupos bacterianos de alta prevalencia en los últimos relevamientos realizados procedentes de vacas con mastitis clínica al igual que los SCN (Gianneecchini et al., 2014; Larumbe y Vidart, 2016).

Factores predisponentes para la aparición de mastitis

Factores relacionados al animal

Producción

El aumento en la producción de leche por vaca en ordeño ha sido asociado a una mayor susceptibilidad a enfermar de mastitis (Hansen et al., 2002; Carlen et al., 2004; Windig et al., 2006), esto es atribuido a la gran presión metabólica que implican los altos niveles de producción de leche los cuales se encuentran desfasados con la capacidad de ingesta requerida (Meikle et al., 2013), dando lugar a la existencia de un balance energético negativo (BEN) (Meikle et al., 2004, 2013; Roche et al., 2009). El BEN implica una gran movilización lipídica que se refleja en un aumento en la concentración ácidos grasos no esterificados (NEFA) y beta-hidroxibutirato (BHB) alrededor del parto (Grummer et

al., 1995; Meikle et al., 2004). Aumentos exacerbados de los mismos implican un mayor riesgo a enfermar de mastitis (Meléndez et al., 2009), lo cual parecería estar explicado por una alteración directa de los NEFA y BHB en la respuesta de las células del sistema inmune, provocando de esta manera una mayor susceptibilidad a enfermar (Suriyasathaporn et al., 2000; Ingvarsen y Moyes, 2012; Cheng et al., 2014). Además, durante este período existe una marcada disminución en las concentraciones circulantes de colesterol (Cavestany et al., 2005; Rupechter et al., 2018), el cual sigue el patrón de consumo de alimento postparto (Guretzky, 2006), menores concentraciones de colesterol se asocian a una mayor incidencia de enfermedades durante el periodo de transición (Sevulpeda-Varas et al., 2015; Rupechter et al., 2018). También existen alteraciones a nivel de la fórmula leucocitaria en el parto observándose neutrofilia y leucopenia (Klinkon y Zadnik, 1999) y una disminución en la capacidad de los linfocitos de responder a agentes patógenos (Kehrlí et al., 1989), así como una disminución en las concentraciones circulantes de inmunoglobulinas en dicho período (Herr et al., 2011). Todo esto se refleja en la marcada inmunosupresión que existe alrededor del parto la que disminuye la capacidad del sistema inmune de responder ante posibles agentes patógenos (Sordillo, 2014).

El aumento en la producción por vaca ha promovido la aparición de patologías relacionadas a la producción como la hipocalcemia, donde las grandes demandas de calcio de la vaca en transición asociadas a la producción de leche causan una alteración en las capacidades homeostáticas del calcio, resultando en una disminución de las concentraciones serológicas del mismo (Goff, 2008). La hipocalcemia causa alteraciones en la función muscular y nerviosa, provocando una disminución en el consumo de alimento, en la producción y un aumento en la susceptibilidad a enfermar de mastitis al comprometer además la contractilidad del esfínter de la punta de la teta (Goff, 2008). Más aún se ha descubierto que altera directamente la función del sistema inmune (Kimura et al., 2006).

Etapa de lactancia

Existen dos momentos críticos donde las vacas tienen mayor riesgo a enfermar de mastitis, que son el momento del secado y el período de transición (3 semanas previo al parto y 3 semanas posterior al mismo) (Oliver y Sordillo, 1988; Green et al., 2002). Durante el secado los animales dejan de ordeñarse y de esta manera la presión intramamaria aumenta (Pyorala, 2008). Estas circunstancias, sumadas al retraso en la formación del tapón de queratina (que contiene sustancias bactericidas que sellan la teta) que culmina su formación recién entre la primera y segunda semana posterior al secado (Dingwell et al., 2004) favorecen la aparición de infecciones en dicho período. Así mismo, la producción al secado tiene gran importancia ya que producciones mayores a 12,5 litros al momento del secado aumentan el riesgo de infección (Rajala-Shultz et al., 2005).

Durante el período de transición el sistema inmune del animal se ve comprometido (Ingvarsen y Moyes, 2012; Sordillo, 2014). Los animales en este momento deberían estar

en un lugar confortable, limpio y con un adecuado manejo nutricional (Green et al., 2007; Pyorala, 2008), sin embargo es un lugar al que se le da relativamente poca importancia en nuestros sistemas de producción. Peor aún, el aumento en la cantidad de animales ordeñados (aumentos en la carga) y la aplicación de nuevas tecnologías que redundan en una gran concentración de partos en ciertos momentos del año lo que ha provocado que en nuestros sistemas el estado del potrero preparto no sea el adecuado. Por otro parte, hacia el final del período seco el efecto preventivo de los pomos de secado con antibióticos (en caso de ser usados) está en la gran mayoría de los productos ausente (Oliver et al., 1990). Todo esto redundando en que el período de transición sea un momento de gran riesgo para la adquisición de nuevas infecciones intramamarias (Green et al., 2002; Pyorala, 2008).

La incidencia de mastitis clínica al comienzo de lactancia es más alta con respecto al resto de la misma (Green et al., 2002; Pyorala, 2008). Gran parte de los casos clínicos que se manifiestan a comienzo de lactancia se deben a infecciones desarrolladas durante el período seco (Green et al., 2002). Esto tiene gran trascendencia ya que la mastitis clínica en esta etapa tiene repercusión en la producción en la lactancia que comienza existiendo efectos que perduran gran tiempo después del caso clínico (Grohn et al., 2004; Hogeveen, 2005).

Paridad

La paridad tiene un gran efecto en la salud de ubre, la incidencia de mastitis clínica en comienzo de lactancia es mayor en vaquillonas que en vacas (McDougall et al., 2007a). Esto muchas veces se encuentra relacionado al manejo conjunto entre primíparas y múltiparas (Parker et al., 2007), el hecho de que las vaquillonas están comenzando su lactancia por primera vez y aún están creciendo (De Vliegher et al., 2012) y una mayor incidencia de edema de ubre en primíparas (Mitchel et al., 1976). Peor aún en nuestras condiciones muchas veces la pérdida de condición corporal en transición es más abrupta en las mismas con respecto a las múltiparas (Adrien et al., 2011). No obstante, la respuesta al tratamiento durante lactancia y al secado es notoriamente mayor en primíparas con respecto a múltiparas (Sol et al., 1994, 2000; Ziesch y Kromker, 2016).

Teat score

El estado de salud de las tetas es de gran importancia para la salud de la ubre, estas pueden ser evaluadas de manera rutinaria mediante el teat score (Mein et al., 2001). Dentro del mismo, el estado en la piel de la teta incide en la posibilidad de enfermar (Oltenucu et al., 1990). La piel de la teta tiene un manto protector de ácidos grasos que retarda el crecimiento bacteriano, sin embargo, las condiciones frías, húmedas o fangosas inducen endurecimiento o engrosamiento de la piel de las tetas (Fox, 1995; Mein et al., 2001). Dichos factores remueven dicha cubierta protectora y la hacen más susceptible de ser colonizada (Fox, 1995; Mein et al., 2001) por lo que aumenta el riesgo de nuevas infecciones intramamarias (Artegoitia, 2005); esto se asocia con una mayor incidencia de mastitis subclínica y clínica cuando la piel de la teta se encontraba seca o agrietada (Artegoitia, 2005). Por otro lado, la integridad de la punta de la teta posee un papel

sumamente importante por ser la primera barrera de defensa. Factores inherentes a la vaca como forma, posición y largo de las tetas, producción leche, etapa de lactancia y número de lactancias están asociados con alteraciones en la punta de la teta (Neijenhuis, 2004). La punta de la teta puede ser clasificada en normal, anillo liso, anillo rugoso y punta florecida (Mein et al., 2001). Un anillo liso puede reflejar un equilibrio entre el grado de descamación por ordeño y la tasa de regeneración de la queratina dentro del canal del pezón y ha sido asociado con una reducción en la incidencia de mastitis clínica (Neijenhuis et al., 2004). Los anillos rugosos o muy rugosos reflejan una tasa de rotación de queratina demasiado alta y un compromiso de la punta de la teta y está asociado a una mayor incidencia de mastitis clínica (Neijenhuis et al., 2001) y mayor proporción de aislamientos de *Staphylococcus aureus* (Artegoitia, 2005).

Factores relacionados al ambiente

La evaluación objetiva de factores en ambiente es de gran dificultad. Por esto se prefiere usar factores sobre el animal que denotan como son las condiciones ambientales en las que están los mismos.

Score de suciedad

El score suciedad es una forma de clasificar de manera objetiva la suciedad presente en los animales al momento del ordeño. Esta, puede ser evaluada en ubre, patas, flancos y abdomen (Sant'Anna y Paranhos, 2011). Dentro de ellos, la evaluación de score de suciedad en ubre es el más usado y que mayor asociación tiene con la salud mamaria de los animales (Schreiner y Ruegg, 2003). La suciedad presente en la ubre afecta la cantidad y tipo de bacterias presentes en la superficies de las tetas resultando así en una mayor exposición a patógenos causantes de mastitis y un aumento en la incidencia de la misma (Schreiner y Ruegg, 2003). Se encontró un mayor recuento celular de tanque en rodeos en los cuales la ubre se encontraba sucia al ser ordeñada (Barkema et al., 1999b). Por otro lado, trabajos que utilizaron una escala de 1 a 5 determinaron que existía un aumento en el recuento celular de 50 mil células por cada grado que aumentaba el score de suciedad (Reneau, 2003). Más aun, utilizando una escala de score de suciedad de 1 a 4, se determinó que vacas con un score de 3 y 4 tienen una probabilidad 1,5 veces mayor de aislar patógenos mayores, mayores recuentos celulares y mayor cantidad de nuevas infecciones, tanto en patógenos ambientales como contagiosos con respecto a vacas con score 1 y 2 (Schreiner y Ruegg, 2003).

Carga animal

Los aumentos en la carga animal provocan cambios en los sistemas pudiendo alterar la salud animal y favoreciendo la aparición de mastitis, dichos aumentos provocan cambios en el ambiente y en el manejo con un menor tiempo en pastoreo y más tiempo en encierro para suplementación. El confinamiento ha sido asociado con una mayor incidencia de mastitis clínica (OR=1,8) (Washburn et al., 2002), esto se encuentra asociado a la mayor concentración de animales en dichos sistemas, resultando en una mayor contaminación ambiental (Ruegg, 2006) y un mayor score de suciedad con respecto a los sistemas

pastoriles (Ellis et al., 2006; Kivling, 2012). En Uruguay los sistemas de producción lechera son diferentes y los encierros son a cielo abierto, por lo que las condiciones ambientales juegan un rol fundamental (Sant'Anna y Paranhos, 2011), entre ellas son de gran importancia el estrés calórico (Roman-Ponce et al., 1977; Arcaro et al., 2013) y las precipitaciones (Sant'Anna y Paranhos, 2011). En Uruguay los momentos de mayores lluvias se concentran en otoño e invierno, período en el la baja irradiación solar podría provocar una mayor supervivencia de patógenos en ambiente (Lopez-Benavides et al., 2007). Además, en este período gran parte de nuestros animales están en período de transición lo cual aumenta la exposición a microorganismos causantes de mastitis y afecta el bienestar animal (Sant'Anna y Paranhos, 2011; Chen et al., 2017) en un momento de alta susceptibilidad a enfermar (Ingvarsen y Moyes, 2012).

En esta situación la infraestructura juega un rol fundamental, siendo los caminos y los lugares de concentración de animales (caminos (Lopez-Benavides et al., 2007), encierros (Washburn et al., 2002; Kivling, 2012) y prepartos (Green et al., 2007)) lugares de alto riesgo, los que en muchos casos carecen de tamaño y drenaje adecuado para la cantidad de animales con los que dichos sistemas de producción trabajan en la actualidad. Esto podría afectar la salud mamaria de dichos animales, siendo la alta carga instantánea, falta de limpieza y mantenimiento factores de riesgo para un mayor score de suciedad y una mayor exposición a agentes patógenos, aumentando así el riesgo de enfermar de mastitis (Ruegg, 2006).

Como se mencionó anteriormente, el aumento en la carga animal en las últimas décadas ha caracterizado el crecimiento en la producción en nuestro país y esto no ha ido de la mano de la inversión necesaria en infraestructura (Fariña y Chilibroste, 2018).

Manejo del pastoreo

Existe muy poca información de cómo el manejo del pastoreo puede afectar la salud de ubre. Algunos autores plantean que la intensificación en el pastoreo podría estar asociada con una mayor contaminación ambiental a nivel de los sitios de pastoreo (Hogan y Smith, 2012; Lopez-Benavides et al., 2007), lo que podría estar relacionado con la mayor concentración de animales (Ruegg, 2006) que resultaría en una mayor contaminación ambiental (Lopez-Benavides et al., 2007) y una mayor formación de barro a nivel de la misma por una mayor descubrimiento del suelo desnudo lo que podría alterar el comportamiento animal (Chen et al., 2017) y afectar la salud de ubre de esos animales.

HIPÓTESIS

La carga y el manejo de la pastura afectan parámetros del bienestar animal, metabolismo e indicadores de salud de ubre en vacas primíparas y multíparas.

OBJETIVOS

Objetivo General

Contribuir al conocimiento de las relaciones entre salud de ubre, metabolismo y bienestar animal en vacas primíparas y multíparas sometidas a diferentes cargas y manejos de pastoreo.

Objetivos Específicos

En vacas primíparas y multíparas manejadas con una carga de 1,5/VO/ha o 2,0/VO/ha de plataforma de pastoreo y con dos manejos de pastoreo diferentes (intenso o laxo) se determinará:

- la salud mamaria mediante el recuento celular individual por vaca y la incidencia de mastitis clínica.
- el bienestar animal a través del score de suciedad y el teat score.
- el status metabólico a través de las concentraciones de NEFA, BHB, colesterol.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

El ensayo fue realizado en 2017 en Centro Regional Sur (CRS) Facultad de Agronomía, Universidad de la República. Se seleccionaron 96 vacas Holstein (75%) y sus cruizas (25%) (50% multíparas, 50% primíparas) con partos de otoño y se bloquearon según peso vivo, producción lactancia anterior ajustada a 305 días, número de lactancias, fecha probable de parto, antecedentes de mastitis subclínica (recuento celular individual en los últimos 4 meses de lactancia) con posterior asignación a un factorial 2 x 2 siendo carga uno de los factores (1,5 vs. 2,0 animales/hectárea (ha) de plataforma pastoreo) y el manejo diferencial de pastura otro (intenso vs. laxo) desde el momento del parto hasta el día 75 postparto. Se excluyeron del ensayo aquellas vacas multíparas que tuvieron de los últimos 4 recuentos celulares individuales al menos 3 con recuentos celulares mayores a 700.000 células somáticas por mililitro (Sol et al., 1994; Ziesch y Kromker, 2016).

El secado se realizó en todos los animales entre 45 y 60 días previos a la fecha probable de parto o con producciones diarias menores a 8 litros por día y más de 6 meses de preñez con pomos intramamarios con antibiótico (rifaximina) y sin sellador interno. El manejo en el momento del secado fue el siguiente: si la vaca a secar producía menos de 15 litros/día, el secado era brusco; en el caso de que producción fuera superior a 15 litros se realizaba una restricción energética por un período entre 3 a 5 días para posteriormente realizar el secado de los mismos.

El manejo preparto fue similar para todos los lotes y se realizaba en conjunto con el resto de los animales del establecimiento. Formaban parte del mismo lote vacas y vaquillonas. Al ingresar al tambo los animales eran ordeñados dos veces por día 5:00 y 15:00 asignándose 3 veces por semana a sus respectivos lotes experimentales.

Manejo animales, dieta y determinaciones nutricionales

Se determinó composición alimentos una vez por mes mediante muestras compuestas de dos muestreos. Se determinó disponibilidad mediante doble muestreo (Haydock y Shaw, 1975) con cortes cada 15 días por cada recurso forrajero (verdeos y praderas) realizando la determinación de la disponibilidad por hectárea de potrero (kg materia seca/ha) y estimación según altura en las semanas restantes. De acuerdo al stock de pastura (kg materia seca/ha) y la tasa de crecimiento entre las semanas se realizó la toma de decisión de pastorear o encerrar los animales para suplementarlos. La dieta fue formulada estableciendo los requerimientos mediante el software NRC (2001), utilizando el pastoreo directo del recurso forrajero en la mayor proporción posible, que permitiera asignar a cada uno de los sistemas, el concentrado fue fijo para todos los grupos y el resto se cubrió mediante el uso de reservas.

Manejo del pastoreo

La entrada a pastoreo en *Dactylis spp.* se realizó cuando el mismo alcanzaba las 3 hojas. La salida dependió del tipo de manejo: en el manejo intenso con 6 centímetros (cm) de altura en verano, 4 cm en otoño, invierno y primavera; en manejo laxo con 12 cm. de altura en verano, 9 cm en primavera, 6 cm en otoño e invierno. Para la alfalfa el manejo fue similar en ambos tratamientos, entrada en otoño con 12 nudos, invierno primavera y verano con 9 nudos; salida en otoño e invierno con 6cm y primavera-verano con 4 cm.

Determinaciones en los animales

Recuento celular individual

Se tomaron muestras de leche para dos veces por semana para recuento celular individual por vaca. Estas muestras se enviaron en tubos con bronopol (Broad Spectrum Micro tabs II, D & F Control Systems Inc, Chaska, MN, USA) como conservante y se procesaron en el Laboratorio de Calidad de Leche del INIA “La Estanzuela” a través de Citrometría de flujo laminar por medio de un contador de células automático (Fossomatic 90). Como método diagnóstico estima que a nivel individual 200.000 células somáticas por mililitro como valor límite para determinar animales infectados con una sensibilidad y especificidad que en los diferentes experimentos se encuentra alrededor de un 80 % (Pyorala y, 2003; De Torres, 2010; Sharma et al., 2011). En vaquillonas el umbral para determinar una infección intramamaria se encuentra en 100.000 células somáticas por mililitro (Piepers et al., 2013). Estos niveles umbrales diferenciales acorde a la paridad fueron utilizados para la determinación de una infección intramamaria.

Se realizó el cálculo de prevalencia de mastitis subclínica mediante RCS al comienzo del período experimental (días 5 a 11 postparto) utilizando dichos umbrales. Por otro lado aquellos animales que tuvieron su primer recuento celular individual por encima de los umbrales establecidos pero los dos siguientes por debajo de los mismos (12 a 18 postparto y 19 a 25 postparto) fueron igualmente considerados sanos. Esto se basa en el reporte realizado por algunos autores que determinaron que el recuento se encuentra aumentado en los primeros días posteriores al parto (Dohoo, 1993), lo que es más marcado en vacas enfermas con respecto a vacas sanas (Barkema et al., 1999a) y en primíparas con respecto a múltíparas (Laevens et al., 1997) lo que podría alterar la sensibilidad del uso de recuento celular en dicho momento como técnica diagnóstica hasta el día 10 a 12 postparto (Dohoo, 1993). Para asegurar que dichos animales sea efectivamente sanos al comienzo del período experimental se utilizó el recuento celular individual en paralelo (dos recuentos celulares consecutivos por debajo del umbral establecido) lo que aumenta la sensibilidad de dicho método diagnóstico (Dohoo et al., 2003).

Utilizando únicamente animales sanos al parto se realizó el cálculo de la incidencia acumulada de infecciones intramamarias (vacas que adquirieron una nueva infección durante el período experimental/vacas susceptibles al comienzo del período

experimental) y de la tasa de incidencia de infecciones intramamarias (número nuevas infecciones durante período experimental/número de animales-semanas en riesgo)

Mastitis Clínica

Se realizó el diagnóstico de mastitis clínica mediante el despunte previo al ordeño considerando como caso de mastitis clínica todo animal con alteraciones macroscópicas en la leche proveniente de alguno de sus cuartos.

Utilizando todos los animales presentes en el ensayo se realizó el cálculo de la incidencia acumulada de mastitis clínica (vacas que enfermaron de mastitis clínica durante el período experimental/total de vacas) y de la tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto (cuartos que enfermaron de mastitis clínica/número de cuartos-semanas en riesgo).

Aislamiento bacteriológico

Dentro de las 48 horas posteriores al parto cada uno de los animales del ensayo fueron muestreados por cuarto para aislamiento bacteriológico mediante métodos asépticos (Hogan et al., 1999), al igual que todos los casos de mastitis clínica. Dichas muestras fueron congeladas y enviadas dentro del mes de su extracción al laboratorio de Asociación Rural de San José, donde fueron procesadas mediante metodología descrita en National Mastitis Council Laboratory Handbook on Bovine Mastitis (Hogan et al., 1999).

Score de suciedad y teat score

Se determinaron 2 veces por semana: el score de suciedad (Ruegg, 2002) con una escala de 1 a 4 según la suciedad presente en la ubre previo al ordeño y el teat score, específicamente evaluándose piel de teta (sana (1), seca (2) o agrietada (3)) y punta de la misma (sin alteraciones (1), anillo liso (2), anillo rugoso (3), anillo muy rugoso (4)) (Mein, 2001).

Metabolitos

La sangre (sin anticoagulante) fue centrifugada 15 minutos a 4500 rpm para separación de suero y el mismo fue congelado a -20 grados para posteriormente ser remitido al laboratorio de endocrinología y metabolismo animal. Todos los metabolitos fueron procesados en equipo espectrofotómetro A-25 utilizando kits comerciales.

El umbral para establecer: altos valores de NEFA en preparto fue de 0,4 mM (LeBlanc, 2010) y de 0,6 mM postparto (Ospina et al., 2010), para cetosis subclínica postparto fue de 1,2 mM de BHB (Nydham et al., 2014, Suthar et al., 2013; Brunner et al., 2018) e hipocalcemia subclínica al parto (<5 días postparto) fue de 2,0 mM calcio (Goff, 2008).

Análisis estadístico

Se analizó la prevalencia al parto de los diferentes microorganismos, prevalencia de mastitis subclínica al comienzo del período experimental (RCS), cantidad de turnos de pastoreo/encierro mediante software Epidat 3.1 analizando los factores carga, manejo del pastoreo y categoría animal.

Se analizó incidencia acumulada de mastitis subclínica, incidencia acumulada de mastitis clínica score de suciedad (proporción ubres sucias), estado punta de teta (proporción vacas con tetas con punta con anillo rugoso o muy rugoso), estado piel de teta (proporción vacas con tetas con piel seca o agrietada) mediante métodos no paramétricos (Proc Genmod SAS) utilizando como efectos fijos: carga, manejo, categoría, período y las interacciones que fueran significativas.

Se realizó el cálculo de la tasa de incidencia de infecciones intramamarias y tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto en cada uno de los grupos experimentales, para posteriormente ser analizada mediante el software Epidat 3.1 analizando los factores, carga, manejo y categoría animal.

Se analizó las concentraciones de NEFA, BHB, colesterol mediante un modelo mixto (Proc Mixed SAS) usando como efectos fijos carga, manejo, categoría, período y la interacción categoría*período y efectos aleatorios efecto bloque.

Se analizó las concentraciones de calcio y magnesio mediante un modelo mixto (Proc Mixed SAS) usando como efectos fijos carga, manejo, categoría, período y la interacción categoría*período y efectos aleatorios efecto bloque.

Se analizó la proporción de animales con concentraciones elevadas de NEFA preparto ($\geq 0,4$ mM) y postparto ($\geq 0,6$ mM) y la proporción de animales con cetosis subclínica (BHB $>1,2$ mM), mediante métodos no paramétricos (Proc Genmod SAS) utilizando como efectos fijos: carga, manejo, categoría, período.

Se analizó la proporción animales con hipocalcemia subclínica (Ca $<2,0$ mM) mediante Proc Genmod (SAS) utilizando como efectos fijos: carga, manejo y categoría.

Se consideró diferencias significativas con $p < 0,05$ y tendencia $p < 0,10$.

RESULTADOS

Manejo animal durante el período experimental

Los tratamientos provocaron diferencias en el acceso a pastoreo entre los diferentes grupos experimentales es así que la carga 1,5 VO/ha tuvo un mayor acceso al pastoreo con respecto a la carga 2,0 VO/ha ($p < 0,05$, 71 % vs. 53%). No se encontraron diferencias en el tiempo de acceso al pastoreo entre diferentes manejos de pastoreo. La proporción de turnos de pastoreo tendió a ser mayor en el manejo laxo dentro de los grupos con 2,0 VO/ha ($p < 0,10$). Complementariamente los grupos con mayor acceso al pastoreo tuvieron menor acceso a encierros (Tabla 1).

Tabla 1. Proporción de turnos de pastoreo y encierro durante el período experimental en diferentes cargas y manejos del pastoreo

Tratamiento	Turnos de pastoreo	Turnos de encierro	Total
1,5VO/ha, Manejo Intenso (A)	292 (73%) ^a	106 (27%) ^a	398
1,5VO/ha Manejo Laxo (B)	271 (68%) ^a	127 (32%) ^a	398
2,0 VO/ha Manejo Intenso (A)	196 (49%) ^{bx}	202 (51%) ^{bx}	398
2,0 VO/ha Manejo Laxo (B)	222 (56%) ^{by}	176 (44%) ^{by}	398

^{a,b} indica diferencias significativas ($p < 0,05$). ^{x,y} indica tendencias ($p < 0,10$). VO/ha= vacas en ordeño por hectárea.

Prevalencia microorganismos por cuarto al parto

La prevalencia al parto de mastitis subclínica al parto por cuarto fue de 28,5%: siendo de 9,8% para *Staphylococcus aureus*, 8,3% para SCN, 6,8 % para bacilos gram-negativos, 2,7 % para *Corynebacterium bovis* y 0,9 % para bacilos gram-positivos. Un 0,5 % de las muestras resultó contaminada.

La prevalencia de mastitis subclínica al parto por cuarto fue mayor en primíparas que en multíparas ($p < 0,05$). La prevalencia y proporción de aislamientos positivos de *Staphylococcus aureus* fue mayor en vacas primíparas con respecto a multíparas ($p < 0,05$). La prevalencia de SCN fue mayor en vacas primíparas con respecto a multíparas ($p < 0,05$), sin embargo, no se encontraron diferencias en la proporción de SCN de los aislamientos positivos entre diferentes categorías. No se encontraron diferencias entre la prevalencia y proporción de aislamientos positivos de *Staphylococcus aureus* y SCN en vacas primíparas. No se encontraron diferencias en la prevalencia y proporción de aislamientos positivos de bacilos gram-negativos entre vacas primíparas y multíparas. La prevalencia y proporción de aislamientos positivos de *Corynebacterium bovis* fue mayor en vacas multíparas con respecto a vacas primíparas ($p < 0,05$) (Tabla 2).

Tabla 2. Prevalencia (P) de microorganismos al parto y proporción del total de aislamientos positivos en primíparas (L1) (n=169) y multíparas (n=168) (L2) por cuarto

Microorganismo	P L1 (%) (n)	Proporción (%)	P L2 (%) (n)	Proporción (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	16,6 (28)	42,4	3,0 (5)	16,7
SCN	12,4 (21)	31,8	4,2 (7)	23,3
Bacilos gram-negativos	7,7 (13)	19,7	6,0 (10)	33,3
<i>Corynebacterium bovis</i>	0,6 (1)	1,5	4,8 (8)	26,7
Bacilos gram-positivos	1,8 (3)	4,5	0 (0)	0
Aislamientos negativos	60,9 (103)		82,1 (138)	
Total	169		168	

SCN= *Staphylococcus coagulasa* negativos.

Prevalencia de mastitis subclínica mediante recuento celular individual por vaca al comienzo del período experimental

No se encontraron diferencias significativas en la prevalencia de mastitis subclínica al comienzo del período experimental entre diferentes cargas y manejo del pastoreo tanto en primíparas como en multíparas. La prevalencia de mastitis subclínica fue mayor en vacas primíparas con respecto a multíparas (47,8 % vs. 18,2 % respectivamente, $p < 0,05$, Tabla 3).

Tabla 3. Prevalencia de mastitis subclínica mediante recuento celular individual por vaca al comienzo del período experimental

Categoría	Infectadas	Susceptibles	Total
Primíparas	22	24	46
Multíparas	8	36	44
Total	30	60	90

Tasa de incidencia e incidencia acumulada de infecciones intramamarias

No se encontraron diferencias significativas en la tasa de incidencia e incidencia acumulada de infecciones intramamarias entre las diferentes cargas y manejos de pastoreo. Las vacas primíparas tuvieron mayor tasa de incidencia e incidencia acumulada de infecciones intramamarias ($p < 0,05$, Tabla 4).

Tabla 4. Tasa de incidencia e incidencia de infecciones intramamarias en vacas primíparas y multíparas

Tratamiento	Tasa de incidencia (%)	Incidencia acumulada (%)
Primíparas	24,5 ^a	87,5 (21/24) ^a
Multíparas	11,9 ^b	61,1 (22/36) ^b

^{a,b} indica diferencias significativas ($p < 0,05$).

Tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto e incidencia acumulada de mastitis clínica

No se encontraron diferencias en la tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto, pero la misma fue mayor en el manejo intenso respecto del laxo en la carga de 1,5 VO/ha ($p < 0,05$, Tabla 5).

No se encontraron diferencias significativas en la incidencia acumulada de mastitis clínica acorde a la carga, los manejos del pastoreo y la interacción entre ambos efectos no alcanzó a ser significativa ($p = 0,12$ y $p = 0,13$ respectivamente). La incidencia acumulada de mastitis clínica tendió a ser mayor en el manejo intenso respecto del laxo en la carga 1,5 VO/ha ($p < 0,10$, Tabla 5).

Tabla 5. Tasa de incidencia de mastitis clínica (TIMC) por cuarto e incidencia acumulada mastitis clínica en diferentes cargas y manejos del pastoreo

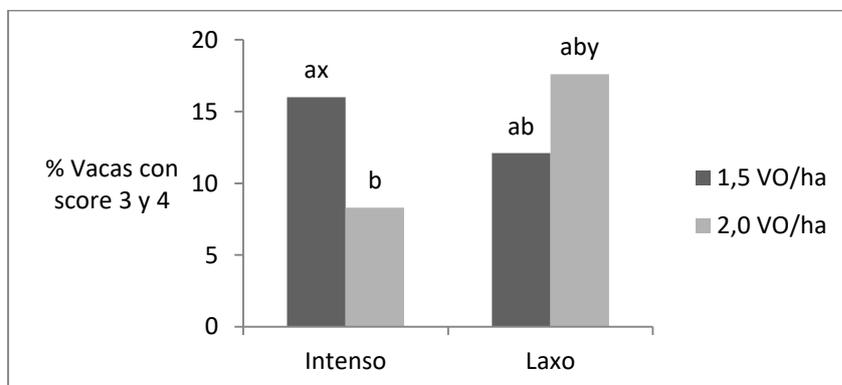
Tratamiento	TIMC por cuarto (%)	Incidencia acumulada (%)
1,5 VO/ha, Intenso (A)	3,3 ^a	58,3 (14/24) ^{ax}
1,5 VO/ha, Laxo (B)	1,4 ^b	31,8 (7/22) ^{ay}
2,0 VO/ha, Intenso (A)	2,7 ^{ab}	50,0 (10/20) ^a
2,0 VO/ha, Laxo (B)	2,9 ^{ab}	54,2 (13/24) ^a

^{a,b} indica diferencias significativas ($p < 0,05$). ^{x,y} indica tendencias ($p < 0,10$). VO/ha= vacas en ordeño por hectárea.

No se encontraron diferencias significativas en la tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto e incidencia acumulada de mastitis clínica entre vacas primíparas y multíparas (2,9% vs. 2,2% y 54% vs. 43% respectivamente).

Score de suciedad

La proporción de vacas con determinaciones score 3 y 4 (ubre sucia) fue afectada por la carga animal ($p < 0,05$), siendo mayor en la carga 1,5 VO/ha con respecto a 2,0 VO/ha y el manejo del pastoreo ($p < 0,001$), observándose mayor proporción de determinaciones con score 3 y 4 (ubre sucia) en manejo laxo con respecto a manejo intenso (Gráfica 1).



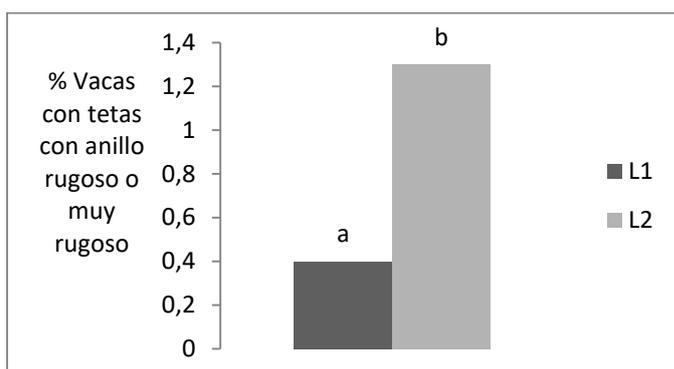
Gráfica 1. Proporción de vacas con score de suciedad 3 y 4 (ubre sucia) en diferentes cargas y manejos de pastoreo. ^{a,b} indica diferencias significativas ($p < 0,05$). ^{x,y} indica tendencias ($p < 0,10$). VO/ha= vacas en ordeño por hectárea.

La proporción de vacas con score de suciedad 3 y 4 (ubre sucia) fue mayor en vacas multíparas con respecto a primíparas (20,1% vs. 6,0% respectivamente, $p < 0,05$).

Teat score

Punta de teta

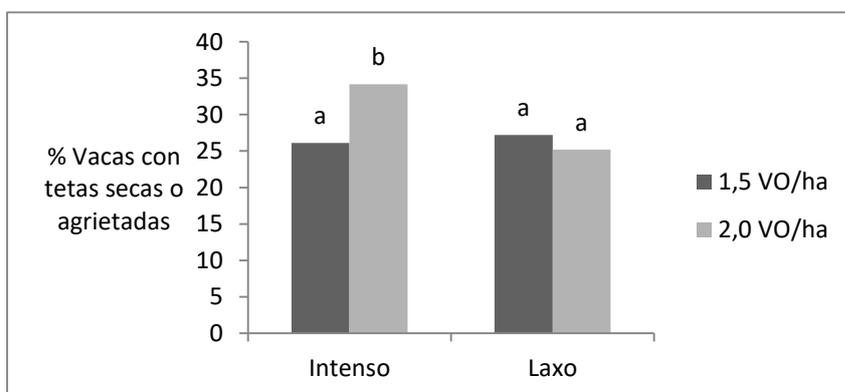
No se encontraron diferencias significativas en la proporción de vacas con tetas con anillo rugoso o muy rugoso entre las diferentes cargas y manejos del pastoreo. La proporción de vacas con tetas con anillo rugoso o muy rugoso fue mayor en vacas multíparas con respecto a primíparas ($p < 0,01$, Gráfica 2).



Gráfica 2. Proporción de vacas primíparas (L1) y multíparas (L2) con tetas con anillo rugoso o muy rugoso. ^{a,b} indica diferencias significativas ($p < 0,05$).

Piel de teta

No se encontraron diferencias significativas en la proporción de vacas con tetas secas o agrietadas entre las diferentes cargas. El manejo intenso tuvo mayor proporción tetas secas o agrietadas con respecto a manejo laxo ($p < 0,01$). La interacción entre carga y manejo del pastoreo fue significativa ($p < 0,05$). El grupo con 2,0 VO/ha y manejo intenso tuvo mayor proporción de tetas secas o agrietadas con respecto al resto de los grupos experimentales ($p < 0,05$, Gráfica 3).

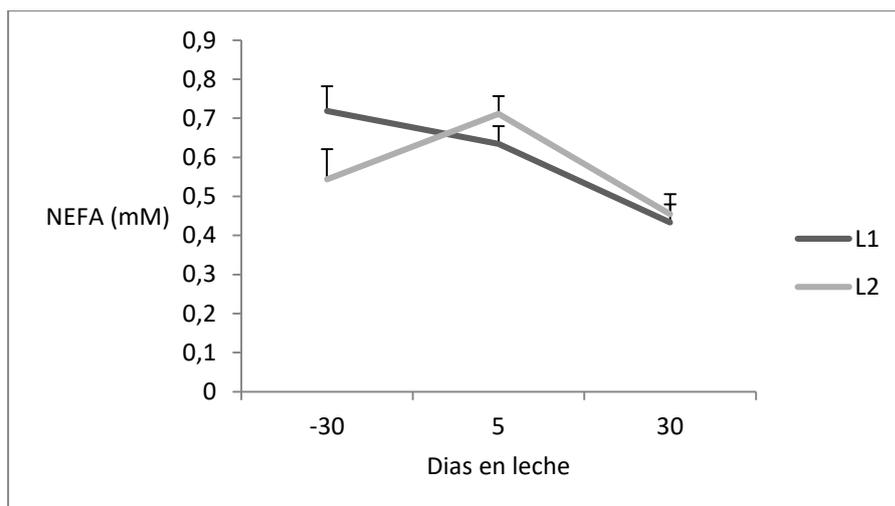


Gráfica 3. Proporción de vacas con tetas secas o agrietadas en diferentes cargas y manejos de pastoreo. ^{a,b} indica diferencias significativas ($p < 0,05$). VO/ha= vacas en ordeño por hectárea.

Las vacas multíparas tuvieron mayor proporción de determinaciones con tetas secas o agrietadas con respecto a primíparas (30,5 % vs. 25,8 % respectivamente, $p < 0,05$).

Concentraciones de ácidos grasos no esterificados (NEFA), beta-hidroxibutirato (BHB) y colesterol

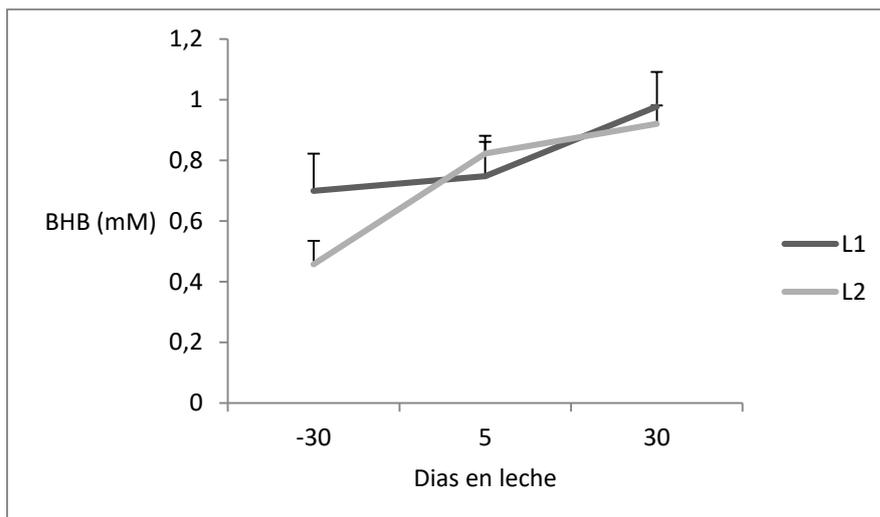
No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de NEFA entre diferentes cargas y manejos del pastoreo. Sin embargo, durante el parto las concentraciones de NEFA tendieron a ser mayores en primíparas ($p < 0,10$, Gráfica 4).



Gráfica 4. Concentraciones NEFA (ácidos grasos no esterificados) en vacas primíparas (L1) y multíparas (L2) durante el periodo de transición.

No se encontraron diferencias significativas entre la proporción de animales con concentraciones de NEFA mayores a 0,4 mM en el muestreo preparto (-30 DEL) entre diferentes cargas, manejos de pastoreo y categorías (86,0% vs. 79,8% en primíparas y multíparas, respectivamente). Tampoco se encontraron diferencias en la proporción de animales con concentraciones de NEFA mayores a 0,6 mM en el postparto entre las diferentes cargas y categorías. Sin embargo, la proporción de animales con determinaciones de NEFA mayores a 0,6 mM en las determinaciones postparto fue mayor en el manejo intenso con respecto al manejo laxo (35,8% y 21,6% respectivamente, $p < 0,05$).

No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de BHB entre las diferentes cargas, manejos del pastoreo y categorías. Sin embargo las concentraciones de BHB durante el parto tendieron a ser mayores en vacas primíparas con respecto a multíparas ($p < 0,10$, Gráfica 5).



Gráfica 5. Concentraciones de BHB (beta hidroxibutirato) en vacas primíparas (L1) y multíparas (L2) durante el periodo de transición.

No se encontraron diferencias en la prevalencia de cetosis subclínica postparto (BHB > 1,2 mM) entre diferentes cargas y manejos del pastoreo. La interacción entre carga y manejo del pastoreo tendió a ser significativa ($p < 0,10$), ya que tendió a ser mayor en el manejo intenso dentro de la carga 1,5 VO/ha ($p = 0,06$). La prevalencia de cetosis subclínica postparto fue mayor en vacas multíparas con respecto a vacas primíparas (10,2 % vs. 2,4 % respectivamente, $p < 0,05$).

No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones circulantes de colesterol entre diferentes cargas y categorías. Las concentraciones de colesterol tendieron a ser menores en el manejo intenso con respecto al manejo laxo ($3,11 \pm 0,49$ mM vs. $3,37 \pm 0,50$ mM respectivamente, $p < 0,10$).

Concentraciones de Calcio y Magnesio

No se encontraron diferencias en las concentraciones circulantes de calcio, magnesio y en la prevalencia de hipocalcemia subclínica entre diferentes cargas, manejos del pastoreo y categorías (Tabla 5).

Tabla 5. Concentraciones de calcio, magnesio y prevalencia hipocalcemia subclínica (PHSC) al parto (<5 días en leche)

Tratamiento	Calcio (mM)	Magnesio (mM)	PHSC (<2.0 mM) (%)
Primíparas	$1,80 \pm 0,14^a$	$0,56 \pm 0,64^a$	78,6 ^a
Multíparas	$1,97 \pm 0,14^a$	$0,74 \pm 0,27^a$	81,6 ^a

^{a,b} indica diferencias significativas ($p < 0,05$).

DISCUSIÓN

Prevalencia de microorganismos por cuarto al parto

La gran mayoría de los casos de mastitis clínica que se manifiestan a comienzo de lactancia tienen su origen en el período seco (Green et al., 2002) el cual es de gran riesgo para la adquisición de nuevas infecciones intramamarias (Oliver y Sordillo, 1988; Green et al., 2002; Blowey y Edmonson, 2010). Es así que consideramos de vital importancia conocer la salud mamaria del rodeo experimental al parto.

La prevalencia de *Staphylococcus aureus* al parto fue de 9,8%, la cual es mayor a la encontrada por trabajos similares realizados en Uruguay que tuvieron una prevalencia de 2% en vacas primíparas y de 1% en multíparas (Facal et al., 2015) y a trabajos realizados en otros sistemas de producción que tuvieron una prevalencia de *Staphylococcus aureus* de aproximadamente 2% (Green et al., 2002; Petzer et al., 2016). La aplicación del plan de control de 5 puntos (Neave et al., 1969) llevó a que en muchos predios la prevalencia de patógenos contagiosos como *Streptococcus agalactiae* y *Staphylococcus aureus* bajara (Hillerton y Booth, 2018), lo que explicaría los resultados encontrados por otros autores y denotaría deficiencias en la aplicación de dicho plan de control en el establecimiento donde se llevó adelante el estudio. La prevalencia de *Staphylococcus aureus* al parto en vacas primíparas (16,6%) fue mayor a la encontrada en vacas multíparas (3,0%). En el trabajo de Facal et al. (2015), la prevalencia al parto en vacas primíparas fue marcadamente menor (2%) y coincidente con la encontrada en otros trabajos que oscilan entre 0 y 8% (De Vlieghe et al., 2012). Se ha comprobado que *Haematobia irritans* podría ser un vector de *Staphylococcus aureus* (Gillespie et al., 1999) siendo de esta manera la ausencia de control de moscas e insectos en dicho predio experimental un factor de riesgo para la aparición de infecciones intramamarias por dicho microorganismo (Oliver et al., 2004). La alimentación con leche procedente de vacas con mastitis clínica a terneras ha sido considerado tradicionalmente como un factor de riesgo para la aparición de mastitis en primíparas (Martin-Richard, 2001). Sin embargo, trabajos más recientes no encontraron diferencias en prevalencia de mastitis subclínica y prevalencia de *Staphylococcus aureus* al parto entre terneras alimentadas con leche procedente de vacas con mastitis conteniendo *Staphylococcus aureus* y terneras alimentadas con leche procedente de vacas con mastitis por *Staphylococcus aureus* que posteriormente fue pasteurizada (Abb-Schwedler et al., 2014). Finalmente, dentro de las vacas multíparas que ingresaron al ensayo se excluyeron aquellas que tuvieran al menos 3 de los 4 últimos recuentos celulares individuales previos al secado por encima de 700.000 células somáticas por mililitro lo que seguramente disminuyó la prevalencia de mastitis subclínica al parto en vacas multíparas y la prevalencia al parto de *Staphylococcus aureus* en esta categoría (Sol et al., 1994; Blowey y Edmonson, 2010).

La prevalencia de SCN al parto fue de 8,3% siendo menor al 16,8% reportado por Petzer et al. (2016) y mayor al 4,3% encontrado por Green et al. (2002). La prevalencia de SCN en primíparas (12,4%) fue mayor a la encontrada en multíparas (4,2%), lo que concuerda

con otros trabajos (De Vlieghe et al. 2012; Facal et al., 2015). Sin embargo, la prevalencia de SCN en primíparas fue menor a la encontrada por otros autores cuya prevalencia al parto osciló entre 27,9% y 43 % (Cook et al., 1992, Oliver et al., 1992; Roberson et al., 1994, Nickerson et al., 1995) y similar al 11,4% reportado por Pankey (1991). Un factor común en todos los trabajos que han estudiado la prevalencia de microorganismos al parto en primíparas es la alta prevalencia al parto de SCN con respecto a otros microorganismos (De Vlieghe et al., 2012) lo que es coherente con el mayor aislamiento en caso de mastitis clínica por este agente causal en el postparto temprano en primíparas (McDougall et al., 2007b). Esto difiere con nuestro estudio donde no se encontraron diferencias en la prevalencia de *Staphylococcus aureus* con respecto a la SCN en primíparas. Estos resultados tienen relación con la deficiente aplicación del plan de control de mastitis en este establecimiento y la alta presencia de factores de riesgo para la aparición de mastitis en vaquillonas y particularmente *Staphylococcus aureus* (Gillespie et al., 1999; Parker et al., 2007; De Vlieghe et al., 2012).

La prevalencia de bacilos gram-negativos al parto fue de 6,8% similar a la encontrada por Green et al. (2002) (7,2%) y menor a la encontrada por ensayos realizados en Uruguay con prevalencias de bacilos gram-negativos de 8% (Facal et al., 2015). No se encontraron diferencias significativas en la prevalencia (7,7% y 6,0% respectivamente) y proporción de aislamientos positivos al parto de bacilos gram-negativos entre primíparas y multíparas. La alta proporción de aislamientos positivos de bacilos gram-negativos en multíparas (33,4%) posiblemente tenga que ver con la inadecuada condición de parto (Green et al., 2007) y no uso de sellador interno al momento del secado (Huxley et al., 2002).

Un 0,5 % de las muestras resultaron contaminadas, porcentaje inferior al objetivo planteado por National Mastitis Council (NMC, 1999) (menos de 5% de muestras contaminadas) lo que refleja un adecuado procedimiento al momento de extracción de muestras de leche para aislamiento bacteriológico.

Prevalencia mastitis subclínica mediante recuento celular individual por vaca al comienzo del período experimental

No se encontraron diferencias significativas entre las diferentes cargas y manejos de pastoreo en la prevalencia de mastitis subclínica al comienzo del período experimental mediante el uso de RCS tanto en primíparas como en multíparas. Sin embargo, la misma fue mayor en primíparas con respecto a multíparas, encontrándose además por encima de los objetivos planteados por Ruegg (2010) (<10% en primíparas, <5% en multíparas). Esto denota que nos encontramos en presencia de un rodeo enfermo. Más aun, la prevalencia al parto en primíparas es particularmente alta (47,8%) y notablemente mayor a la encontrada por otros autores, 18,1 % (Santman-Berends et al. 2012), 35 % (De Vlieghe et al., 2001), lo que se asocia a carencias dentro del plan de control de mastitis en el rodeo general durante el período seco (Green et al., 2002, 2007) y la presencia de

numerosos factores de riesgo para la aparición de mastitis en vacas primíparas en el rodeo experimental como será discutido a continuación.

Categoría

La tasa de incidencia e incidencia acumulada de infecciones intramamarias fue mayor en vacas primíparas con respecto a multíparas, mostrando que dicha categoría fue una categoría crítica dentro del rodeo experimental, la que no solamente tuvo una alta prevalencia de mastitis subclínica al parto sino que también una mayor incidencia posterior al mismo. El manejo durante el período seco tiene gran influencia sobre las infecciones que se manifiestan a comienzo de lactancia (Green et al., 2002, 2007). En nuestro estudio el manejo nutricional durante el período seco temprano parece no haber sido adecuado dado que el 86,0% y 79,8% de las vacas primíparas y multíparas respectivamente se encontraron por encima del límite establecido por LeBlanc (2010) para NEFA en preparto ($\geq 0,4\text{mM}$), reflejando una alta movilización de reservas. Estos valores superan el objetivo planteado por Nydam et al. (2014) de no más de 15% de animales con alta movilización preparto. Más aun, la alta movilización preparto reflejada en mayores concentraciones circulantes de NEFA y BHB en primíparas respecto a multíparas es consistente con los datos mencionados anteriormente y refleja la situación crítica de esta categoría. Esto concuerda con lo encontrado por otros autores (Meikle et al., 2004; Wathes et al., 2007) que encontraron un peor status energético en primíparas con respecto a multíparas previo al parto. Esta categoría bajo condiciones de pastoreo está sujeta a efectos de dominancia por disponibilidad de alimento (Grant y Albright, 2001), siendo probablemente esta mayor en nuestro estudio, por la baja disponibilidad de alimentos que llevó a una movilización de reservas importantes antes del parto (concentraciones de NEFA y BHB).

Además en el período seco cercano (preparto) el manejo fue conjunto entre primíparas y multíparas, lo que ha sido relacionado con una mayor incidencia de mastitis clínica en primíparas en postparto (Parker et al., 2007) y podría estar relacionado también con una mayor competencia (Grant y Albright, 2001; De Vlieghe et al., 2012). Por otro lado, las áreas preparto en nuestros sistemas frecuentemente carecen del tamaño y el drenaje adecuado para la cantidad de vacas que se ordeñan y dicho predio no es la excepción. Esto provoca que los animales se encuentren frecuentemente en ambientes inadecuados en los que se ve afectado el bienestar animal (Chen et al., 2017), se reduce la ingesta de alimento (Grant y Albright, 2001) y se ven expuestos a una mayor carga bacteriana (Lopez-Benavides et al., 2007). Estos son factores de riesgo para la salud de ubre del rodeo en general y particularmente de las primíparas. Al mismo tiempo los altos recuentos de células somáticas a nivel de rodeo (Martin-Richard, 2001) y alta proporción de animales enfermos (Svensson et al., 2006) como los encontrados en este experimento. Sin embargo, no se encontraron diferencias en la tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto e incidencia acumulada de mastitis clínica acorde a la categoría. La alta proporción de agentes causales de mastitis al parto con predominio de agentes contagiosos y oportunistas (34,4% y 29,1% de proporción de aislamientos de *Staphylococcus aureus* y

SCN respectivamente) capaces de establecer infecciones con predominio subclínico y de larga duración (*Staphylococcus aureus*) (Blowey y Edmonson, 2010) explicaría que se hayan encontrado diferencias en indicadores de mastitis subclínica pero no necesariamente en mastitis clínica. La ausencia de diferencias en la incidencia de mastitis clínica entre vacas primíparas y multíparas en comienzo de lactancia no concuerda con lo reportado por otros autores que encontraron una mayor incidencia de mastitis clínica en vaquillonas con respecto a vacas en el postparto temprano (McDougall et al., 2007a). Las vacas multíparas se vieron expuestas a otros factores de riesgo para la aparición de mastitis durante el postparto en mayor magnitud que las vacas primíparas, ya que tuvieron una mayor proporción de ubres sucias (score 3 y 4), esto concuerda con lo encontrado por Sandrucci et al. (2014) y estaría relacionado a diferencias en la conformación de ubre y distancia de tetas al suelo entre primíparas y multíparas. El mayor score de suciedad y particularmente la presencia de barro provocan lesiones a nivel de la piel de la teta (Fox, 1995; Mein et al. 2001), es así que vacas multíparas tuvieron además mayor proporción de animales con tetas secas o agrietadas con respecto a vacas primíparas (Sandrucci et al., 2014). Las vacas multíparas tuvieron también una mayor proporción de animales con tetas con anillo rugoso o muy rugoso, lo cual es similar a lo reportado por Sandrucci et al. (2014), lo que se encontraría asociado a la mayor producción de leche en vacas multíparas con respecto a primíparas y por tanto mayor duración de período de ordeño y diferencias en la conformación de ubre (Neijenhuis et al., 2001, 2004). Además, las vacas multíparas tuvieron una mayor prevalencia de cetosis subclínica postparto (BHB>1,2 mM) lo que podría asociarse a la mayor producción de leche en dicha categoría que ya ha sido reportada por diversos autores (Wathes et al., 2007; Adrien et al., 2011) lo que se refleja en una mayor movilización en la lactancia temprana con respecto a primíparas (Wathes et al., 2007). Esto concuerda con resultados de trabajos internacionales (Andersson, 1988; Duffield, 2000; Wathes et al., 2007; Brunner et al., 2018) donde multíparas tuvieron una mayor prevalencia de cetosis subclínica con respecto a primíparas. La prevalencia de cetosis subclínica (2,4% en L1, 10,2% en L2) es además menor a la encontrada por otros autores (Suthar et al. (2013) (21,8%), Sevulpeda-Varas et al. (2015) (16,6%), Ribeiro et al. (2013) (35,4%) y Brunner et al. (2018) (24,1%)). Dichas diferencias podrían ser atribuidas a diferencias en producción de leche, genética, manejo y alimentación entre los diferentes predios (Brunner et al., 2018).

No se encontraron diferencias en la prevalencia de hipocalcemia subclínica entre diferentes categorías (primíparas (L1) 78,6%, multíparas (L2) 81,6%) sin embargo, fue superior a los objetivos planteados por Goff (2008) (menos de 25% en L1, menos de 50% en L2). Por otro lado, la misma fue mayor a la encontrada por otros trabajos realizados a nivel nacional (38% L1 y 62% L2, Pereira et al., 2017)) e internacional (25% L1 y 47% L2, Reinhardt et al., 2011; 9,5% L1 y 43% L2, Rupechter et al., 2018; 20%, Ribeiro et al., 2013). La hipocalcemia se produce cuando las grandes demandas de calcio para la producción de leche causan una alteración en las capacidades homeostáticas del calcio, resultando en una disminución de las concentraciones serológicas del mismo (Goff, 2008), factores inherentes a la dieta preparto (balance catión-anión, contenido calcio, magnesio, fosforo en dieta), raza (mayor prevalencia en Jersey con respecto a Holstein)

afectan su aparición (Lean et al., 2006) siendo como ya fue mencionado previamente el manejo nutricional preparto deficiente en el predio de estudio, lo que pudo haber afectado la aparición de dicha patología. La hipocalcemia subclínica provoca una disminución del consumo de alimento (Goff, 2008) y ha sido asociada con un aumento en las concentraciones circulantes de NEFA al parto (Rienhardt et al., 2011) y así un peor balance energético durante la transición, al mismo tiempo que una afección directa de las funciones del sistema inmune (Kimura et al., 2006) y una menor contractilidad de músculos lisos (esfínter del pezón) lo que aumenta la susceptibilidad a enfermarse de mastitis y podría haber tenido un gran efecto en la salud mamaria del rodeo experimental. No se encontraron diferencias en las concentraciones circulantes de magnesio entre vacas primíparas y multíparas. El magnesio carece de mecanismos reguladores específicos (Martens et al., 2018), sin embargo tiene gran importancia en la homeostasis del calcio (Goff, 2008) es así que niveles subnormales de magnesio podrían haber afectado las concentraciones de calcio circulantes provocando un mayor riesgo de enfermarse de hipocalcemia.

La incidencia acumulada de infecciones intramamarias durante el período experimental (primeros 75 días en leche) en el conjunto del rodeo experimental fue de 72 vacas cada 100 vacas en riesgo superando el valor meta propuesto por Ruegg (2010) de no más de un 5% de incidencia mensual. En primíparas, la incidencia acumulada de infecciones intramamarias fue de 88 vacas cada 100 vacas en riesgo superando ampliamente los valores encontrados por otros autores como Santman-Berends et al. (2012) que encontraron una incidencia de mastitis subclínica en primeros 100 días en leche en primíparas de 25,5%. Por otra parte, la incidencia de mastitis clínica durante el período experimental fue de 49 casos cada 100 vacas en riesgo y supera ampliamente los objetivos planteados por Ruegg (2010) para la que son no más de 25% por año y mayores a la incidencia de mastitis clínica anual reportada en otros trabajos a nivel internacional (23%, Olde Riekerink et al. 2008; 47%) Bradley et al., 2007) y nacional (41%, Pereira et al., 2017). Esta situación se encuentra fuertemente relacionada con alta prevalencia al parto de mastitis subclínica (37,5 %) y el deficiente manejo nutricional durante la transición. Por otro lado, la incidencia acumulada de mastitis clínica en primíparas fue de 54 vacas cada 100 vacas en riesgo y supera los valores encontrados por otros autores para primeros 4 meses de lactancia en primíparas en sistemas pastoriles (13,6%) (Parker et al., 2007). Todo esto demuestra que nos encontramos frente a un rodeo enfermo con grandes problemas en la salud mamaria de sus animales.

Carga y manejo del pastoreo

No se encontraron diferencias significativas entre las diferentes cargas en la en la tasa de incidencia e incidencia acumulada de infecciones intramamarias. Concordantemente, no se encontraron diferencias significativas entre las diferentes cargas en la tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto y en la incidencia acumulada de mastitis clínica. Estos resultados son similares a los encontrados por McCarthy et al. (2012) que no encontró diferencias significativas en RCS y en la incidencia de mastitis clínica entre

cargas de 2,51 vs. 2,92 vs. 3,12 VO/ha. Sin embargo, son diferentes a lo encontrado por Parker et al. (2007) donde predios lecheros con cargas mayores a 3,3 VO/ha tuvieron una mayor incidencia de mastitis clínica en vacas primíparas con respecto a aquellos con cargas por debajo de 3,3 VO/ha (Parker et al., 2007). Dichas cargas son notoriamente mayores a las manejadas bajo nuestras condiciones experimentales lo que sin duda pudo haber influenciado los resultados.

Los cambios en la carga tienen particular importancia por la magnitud de los cambios directos e indirectos que provocan dentro del sistema de producción. Existe una mayor circulación de animales y concentración en áreas comunes como parto, caminos y encierros (Parker et al., 2007), que son lugares de gran riesgo para la aparición de nuevas infecciones intramamarias en sistemas pastoriles (Washburn et al., 2002; Green et al., 2007; Lopez-Benavides et al., 2007; Kivling, 2012). En el predio experimental donde se realizó el ensayo, el manejo parto fue en conjunto entre los diferentes lotes y la caminería por la que circulaban los animales también fue la misma. Es así que lo que la única diferencia marcada entre lotes fueron los lugares de encierro de animales, el tiempo de pastoreo/encierro de cada uno de los lotes experimentales y la composición de la dieta (forraje cosechado vs. reservas). A pesar de esto la salud mamaria no se vio afectada entre las diferentes cargas (1,5 VO/ha vs. 2,0 VO/ha).

La proporción de animales con score de suciedad 3 y 4 (ubre sucia) fue mayor en la carga 1,5 VO/ha con respecto a 2,0 VO/ha y en manejo intenso con respecto al laxo. Sin embargo, la fuerte interacción carga y manejo ($p < 0,001$) denota que dichos resultados no se explican por la carga o el manejo como factores aislados, sino que por los grandes cambios en el ambiente y manejo entre los diferentes grupos experimentales. Es así que el manejo intenso tendió a tener una mayor proporción de animales con score 3 y 4 (ubre sucia) en el grupo de animales con 1,5 VO/ha y el manejo laxo tuvo mayor proporción de animales con score 3 y 4 (ubre sucia) en los animales con 2,0 VO/ha. Estas diferencias podrían estar asociadas a diferencias en el manejo de los lotes experimentales (tiempo pastoreo vs. tiempo encierro) y estado de los potreros de encierro de cada uno de los lotes experimentales, más que la carga o manejo en sí. El ensayo fue realizado entre los meses de marzo y setiembre de 2017 donde se concentran buena cantidad de las lluvias del año a nivel nacional. Por tanto en esta época del año las deficiencias de drenaje y falta de mantenimiento pueden llevar a una mayor presencia de barro, resultando en aumentos en el score de suciedad (Sant'Anna y Paranhos, 2011) y un aumento en la carga bacteriana (Lopez-Benavides et al., 2007).

Como ya fue mencionado previamente las condiciones ambientales adversas pueden afectar la salud de las tetas (Mein et al., 2001; Timms, 2004). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en la proporción de vacas con tetas con anillo rugoso o muy rugoso entre las diferentes cargas y manejos de pastoreo. Estos resultados podrían ser debidos a que si bien la punta de la teta puede verse afectada por factores ambientales como frío (Timms, 2004) o períodos con alta humedad ambiental y presencia de barro (Sandrucci et al., 2014), los factores que afectan mayormente el estado de la

punta de la teta tienen relación con la rutina de ordeño y funcionamiento de la máquina de ordeño (Mein et al., 2001). Particularmente, con la preparación de ubre previo al ordeño y lapso de tiempo entre estimulación y acople de pezoneras y regulación de punto de corte de saca pezoneras automáticos (Rasmussen et al., 1993). Estos factores podrían afectar aún más la punta de la teta si existe exceso de vacío (Hillerton et al., 1999) y sobreordeño (Olney et al., 1983). Las lesiones en la punta de la teta, salvo en caso de condiciones climáticas muy adversas requieren un tiempo prolongado para desarrollarse, por lo general de 2 a 8 semanas (Mein et al., 2001), lo que podría también explicar la falta de respuesta en este ensayo que se desarrolló solo durante 10 semanas. Más aún, considerando que la presencia de tetas con anillo rugoso o muy rugoso es menor en los primeros 100 días postparto con respecto al resto de la lactancia (Sandrucci et al., 2014), es importante destacar también que el estado de la punta de teta en todos los lotes experimentales cumplió con el objetivo planteado por “teat club international” de menos de 20% de tetas con anillo rugoso o muy rugoso (Mein et al., 2001).

No se encontraron diferencias significativas en la proporción de animales con tetas secas o agrietadas entre las diferentes cargas; pero la proporción de vacas con tetas secas o agrietadas fue mayor en manejo intenso con respecto a manejo laxo. Por otro lado, la interacción entre carga y manejo del pastoreo fue significativa, lo que se reflejó en que el grupo con manejo intenso y 1,5 VO/ha tuviera una mayor proporción de animales con tetas secas o agrietadas con respecto al resto de los grupos experimentales. Dicho grupo fue el que tuvo mayor porcentaje del tiempo de encierro y esta situación podría haber afectado el estado de la piel de la teta al exponerla a condiciones climáticas adversas con presencia de barro alterando la salud de la piel de las tetas (Mein et al., 2001). Sin embargo, la proporción de animales con score de suciedad 3 y 4 (ubre sucia) en dicho grupo experimental no fue mayor a la de otros grupos experimentales, lo que podría deberse a que la evaluación de score de suciedad en ubre se realiza tomando en cuenta el porcentaje de superficie con suciedad en ubre (Ruegg, 2002) y no tomando en cuenta necesariamente si las tetas estaban sucias o no. Por tanto, esto puede haber sido una de las causas por la que existan inconsistencias entre el score de suciedad en la ubre y el estado de la piel de la teta. Además, el período de estudio puede haber sido demasiado corto no permitiendo a los factores ambientales ejercer su efecto (Mein et al., 2001). Durante el período experimental hubo cambios de personal en los meses de marzo, junio y agosto. Esta realidad posiblemente hizo que la aplicación del plan de control de mastitis y especialmente el sellado post-ordeño no fuera adecuada durante el período de estudio. El sellado post-ordeño es uno de los puntos claves dentro del plan de control de mastitis por sus bactericidas y emolientes (Neave et al., 1969; Hemling, 2002). El uso de selladores sin componentes emolientes han sido relacionados con 10 veces más probabilidades de tener tetas agrietadas (Burmeister et al., 1995) lo que establece su importancia en el plan de control de mastitis y particularmente en el acondicionamiento del pezón.

No se encontraron diferencias significativas en las concentraciones de NEFA, BHB y colesterol entre diferentes cargas. Estos resultados son diferentes a los encontrados por McCarthy et al. (2012) donde cargas de 2,51 VO/ha tuvieron menores concentraciones

de BHB con respecto a cargas más elevadas, donde la asignación de asignación de alimento por animal fue una limitante. Esto difiere de nuestro diseño experimental donde la dieta fue formulada para cubrir los requerimientos y las deficiencias de forraje cubiertas mediante suplementación con reservas. Es así, que bajo nuestras condiciones experimentales si bien la carga provocó grandes cambios en el sistema con mayor concentración de animales (mayor tiempo de encierro y mayor circulación de animales por caminos) no fue capaz de provocar cambios por sí misma en la concentración de los metabolitos durante el período de transición.

No se encontraron diferencias significativas en la tasa de incidencia e incidencia acumulada de infecciones intramamarias entre los diferentes manejos. Similarmente no se encontraron diferencias en la tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto y la incidencia acumulada de mastitis clínica entre diferentes manejos del pastoreo. Esto no concuerda con lo planteado por algunos autores que proponen que el manejo del pastoreo podría afectar la salud de ubre (Lopez-Benavides et al., 2007; Hogan y Smith, 2012). Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en las concentraciones circulantes de NEFA y BHB entre diferentes manejos del pastoreo. Sin embargo, las concentraciones circulantes de colesterol tendieron a ser menores en el manejo intenso con respecto al manejo laxo, coherentemente el manejo intenso tuvo además una mayor proporción de determinaciones con concentraciones de NEFA elevadas postparto ($NEFA \geq 0,6$ mM) en una proporción similar a los valores encontrados en otros trabajos en sistemas de confinamiento (32%, Ospina et al., 2010) y en sistemas pastoriles (20,1%, $NEFA \geq 0,7$ mM, Ribeiro et al., 2013). Aun así, como ya fue mencionado previamente no se encontraron diferencias en la salud mamaria de los animales entre diferentes manejos de pastoreo. Esto puede deberse a que si bien el balance energético de los animales con manejo intenso fue mayor, la proporción de animales con score de suciedad 3 y 4 (ubre sucia) fue mayor en el manejo laxo con respecto al manejo intenso lo que refleja una mayor exposición microorganismos y una mayor probabilidad de enfermar (Schreiner y Ruegg, 2003) y que sin dudas tuvo también un gran efecto en la salud mamaria de los lotes experimentales.

La tasa de incidencia de mastitis clínica por cuarto fue mayor en el manejo intenso dentro de las vacas con 1,5 VO/ha, al mismo tiempo que la incidencia acumulada de mastitis clínica tendió a ser mayor en manejo intenso dentro de la carga 1,5 VO/ha ($p < 0,10$). El grupo experimental con manejo intenso y 1,5 VO/ha fue el que tuvo mayor acceso al pastoreo y circulación en los caminos (áreas de alto riesgo en sistemas pastoriles (Lopez-Benavides et al., 2007)) así como una tendencia a tener mayor proporción de determinaciones con score 3 y 4 (ubre sucia) con respecto al manejo laxo dentro de la carga 1,5 VO/ha. En estas condiciones la oferta de microorganismos pudo haber sido mayor (Schreiner y Ruegg, 2003). Por otro lado, la proporción de vacas con altas concentraciones de NEFA postparto ($NEFA \geq 0,6$ mM) fue mayor en el manejo intenso, al mismo tiempo que también tendieron a tener menores concentraciones circulantes de colesterol con respecto al manejo laxo. Lo que concuerda además con la mayor prevalencia de cetosis subclínica en el manejo intenso con respecto al laxo en animales

con 1,5 VO/ha. Altas concentraciones de NEFA y BHB han sido relacionadas con una menor actividad de las células del sistema inmune y así una dificultad de responder frente a agentes patógenos invasores lo que provoca una mayor susceptibilidad a enfermar (Ingvarsen y Moyes, 2012). Similarmente, menores concentraciones de colesterol durante el período de transición han sido también asociadas con una mayor probabilidad de enfermar (Sevulpeda-Varas et al., 2015; Rupechter et al., 2018) lo que sumado a la mayor oferta de patógenos (mayor proporción de determinaciones score 3 y 4 (ubre sucia), Schreiner y Ruegg, 2003) pudo haber tenido un gran efecto en la salud mamaria de dicho grupo experimental.

CONCLUSIONES

La categoría animal fue un factor determinante para la salud de ubre: las vacas primíparas fueron una categoría crítica presentando una mayor movilización de reservas preparto (concentraciones de NEFA y BHB) con respecto a multíparas, una mayor prevalencia de mastitis subclínica al comienzo del período experimental y una mayor tasa de incidencia e incidencia acumulada de infecciones intramamarias durante el mismo.

La carga y manejo del pastoreo no afectaron la salud mamaria del rodeo experimental, sin embargo, la fuerte interacción entre carga y manejo sobre el score de suciedad sugieren que el ambiente pudo haber sido la causa que explique las diferencias en estas variables.

El manejo del pastoreo intenso se asoció con menores concentraciones de colesterol y mayor proporción de animales con altas concentraciones de NEFA postparto, lo que sugiere un peor balance energético que se asoció parcialmente (en indicadores de mastitis clínica y dentro de vacas con 1,5 VO/ha) con las variables de salud de ubre.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abb-Schwedler, K., Maeschli, A., Boss, R., Graber, H., Steiner, A., & Klocke, P. (2014). Feeding mastitis milk to organic dairy calves: effect on health and performance during suckling and on udder health at first calving. *BMC Veterinary Research*, 10(1). doi: 10.1186/s12917-014-0267-7
2. Andersson, L. (1988). Subclinical Ketosis in Dairy Cows. *Veterinary Clinics Of North America: Food Animal Practice*, 4(2), 233-251. doi: 10.1016/s0749-0720(15)31046-x
3. Adrien, M., Mattiauda, D., Artegoita, V., Carriquiry, M., Motta, G., Bentancur, O., & Meikle, A. (2011). Nutritional regulation of body condition score at the initiation of the transition period in primiparous and multiparous dairy cows under grazing conditions: milk production, resumption of post-partum ovarian cyclicity and metabolic parameters. *Animal*, 6(02), 292-299. doi: 10.1017/s175173111100142x
4. Arcaro, J., Matarazzo, S., Pozzi, C., Arcaro Junior, I., Toledo, L., Costa, E., & Miranda, M. (2019). Effects of environmental modification on mastitis occurrence and hormonal changes in Holstein cows. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 33(6):826-830.
5. Artegoitia V. (2005). Condición y morfología de la teta y su relación con la salud de la ubre. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay.
6. Barkema, H., Deluyker, H., Schukken, Y., & Lam, T. (1999a). Quarter-milk somatic cell count at calving and at the first six milkings after calving. *Preventive Veterinary Medicine*, 38(1), 1-9. doi: 10.1016/s0167-5877(98)00142-1
7. Barkema, H., Schukken, Y., Lam, T., Beiboer, M., Benedictus, G., & Brand, A. (1999b). Management Practices Associated with the Incidence Rate of Clinical Mastitis. *Journal Of Dairy Science*, 82(8), 1643-1654. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(99)75393-2
8. Blowey R. & Edmonson P. (2010). *Mastitis Control in dairy herds*, 2nd edition. CAB International.
9. Bradley, A., Leach, K., Breen, J., Green, L., & Green, M. (2007). Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Veterinary Record*, 160(8), 253-258. doi: 10.1136/vr.160.8.253
10. Brunner, N., Groeger, S., Canelas Raposo, J., Bruckmaier, R., & Gross, J. (2018). Prevalence of subclinical ketosis and production diseases in dairy cows in Central and South America, Africa, Asia, Australia and New Zealand, and Eastern Europe. doi: 10.1101/314898
11. Burmeister, J., Fox, L., Hancock, D., Gay, C., Gay, J., Parish, S., & Tyler, J. (1995). Survey of Dairy Managers in the Pacific Northwest Identifying Factors Associated with Teat Chapping. *Journal Of Dairy Science*, 78(9), 2073-2082. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(95)76833-3

12. Carlen, E., Strandberg, E., & Roth, A. (2004). Genetic Parameters for Clinical Mastitis, Somatic Cell Score, and Production in the First Three Lactations of Swedish Holstein Cows. *Journal Of Dairy Science*, 87(9), 3062-3070. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(04)73439-6
13. Cavestany, D., Blanc, J., Kulcsar, M., Uriarte, G., Chilibroste, P., & Meikle, A. H. Fébel, A. Ferraris, E. Krall (2005). Studies of the Transition Cow Under a Pasture-based Milk Production System: Metabolic Profiles. *Journal Of Veterinary Medicine Series A*, 52(1), 1-7. doi: 10.1111/j.1439-0442.2004.00679.x
14. Chen, J., Stull, C., Ledgerwood, D., & Tucker, C. (2017). Muddy conditions reduce hygiene and lying time in dairy cattle and increase time spent on concrete. *Journal Of Dairy Science*, 100(3), 2090-2103. doi: 10.3168/jds.2016-11972
15. Cheng, Z., Wickham, I., Morris, D. & Wathes, D.C. (2014). Increased beta-hydroxybutyrate production interrupts splenic immunity in dairy cows with postpartum negative energy balance. *BSAS Annual Conference, Nottingham*, Abstract 209.
16. Cook, W., Fiez E., & Fox L., (1992). Mastitis in first lactation southwest Idaho dairy cows. *Journal of Dairy Science* 75 (158).
17. De Torres E. (2010). Tesis de Maestría. Universidad de la República, Facultad de Veterinaria, Uruguay.
18. De Torres, E.; Giannechini, E.; Sierra, G.; Zorrilla, F.; Lanza, A., & Diana, V. (2014). Epidemiología de las infecciones intramamarias en Uruguay y líneas de investigación. *Actas del II congreso Red Latinoamericana de Investigación en Mastitis, Costa Rica*, 34-37.
19. De Vliegheer, S., Laevens H., Opsomer G., De Muêlenaere E. & de Kruif A. (2001). Somatic cell counts in dairy heifers during early lactation. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.* 70, 212–215.
20. De Vliegheer, S., Fox, L., Piepers, S., McDougall, S., & Barkema, H. (2012). Invited review: Mastitis in dairy heifers: Nature of the disease, potential impact, prevention, and control. *Journal Of Dairy Science*, 95(3), 1025-1040. doi: 10.3168/jds.2010-4074
21. Down, P., Green, M., & Hudson, C. (2013). Rate of transmission: A major determinant of the cost of clinical mastitis. *Journal Of Dairy Science*, 96(10), 6301-6314. doi: 10.3168/jds.2012-6470
22. DIEA. (2017). Anuario estadístico agropecuario, Ministerio Ganadería Agricultura y Pesca, Uruguay.
23. Dingwell, R., Leslie, K., Schukken, Y., Sargeant, J., Timms, L., & Duffield, T. et al. (2004). Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. *Preventive Veterinary Medicine*, 63(1-2), 75-89. doi: 10.1016/j.prevetmed.2004.01.012
24. Dohoo, I. (1993). An evaluation of the validity of individual cow somatic cell counts from cows in early lactation. *Preventive Veterinary Medicine*, 16(2), 103-110. doi: 10.1016/0167-5877(93)90080-d

25. Dohoo, I; Wayne M.; Stryhn, H (2003). Veterinary epidemiologic research. AVC Inc.
26. Duffield, T. (2000). Subclinical Ketosis in Lactating Dairy Cattle. *Veterinary Clinics Of North America: Food Animal Practice*, 16(2), 231-253. doi: 10.1016/s0749-0720(15)30103-1
27. Europa tex. (2004). Regulation (EC) No. 853/2004 of the European Parliament and of the Council of 29 April 2004 laying down specific hygiene rules for food of animal origin.(OJ L 226, 25.6.2004, 22.
28. Ellis, K., Mihm, M., Innicent, G., Cripps, P. McLean, W., Howard, C. & Grove-White, D. (2006). The effect of farming system on dairy cow cleanliness in the UK and the implications to udder health. *Aspects of Applied Biology* 79, 243-245
29. Facal F., Sierra G., Zorrilla F. & De Torres E. (2015). Uso del sellado de pezones en vacas lecheras durante el parto para prevención de Infecciones intramamarias. Red Latinoamericana de Investigación en Mastitis. II Reunión Anual, Puerto Varas, Chile.
30. Fariña S. & Chilibroste P. (2018). Foro INALE 2018, Tendencias y desafíos de la lechería mundial. <http://www.inale.org/innovaportal/file/6856/1/2pablofinal.pdf>
31. Fox, L. (1995). Colonization of *Staphylococcus aureus* on chapped teat skin. *Proc. 3rd International Mastitis Seminar, Tel Aviv, Israel.* 6, 51-55.
32. Giannechini, 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 Veterinaria Scandinavica.* 43, 221 -230.
33. Giannecchini E., Concha, C., Rivero, R., Delucci, I., Gil, J., Salvarrey L. & Rivero R. (2014) Mastitis bovina, reconocimiento de los patógenos y su resistencia antimicrobiana en la Cuenca Lechera del Sur de Uruguay. *Veterinaria.* 50(196), 4-32.
34. Gillespie, B., Owens, W., Nickerson, S., & Oliver, S. (1999). Deoxyribonucleic Acid Fingerprinting of *Staphylococcus aureus* from Heifer Mammary Secretions and from Horn Flies. *Journal Of Dairy Science*, 82(7), 1581-1585. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(99)75386-5
35. Goff, J. (2008). The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. *The Veterinary Journal*, 176(1), 50-57. doi: 10.1016/j.tvjl.2007.12.020
36. Grant, R., & Albright, J. (2001). Effect of Animal Grouping on Feeding Behavior and Intake of Dairy Cattle. *Journal Of Dairy Science*, 84, E156-E163. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(01)70210-x
37. Green, M., Green, L., Medley, G., Schukken, Y., & Bradley, A. (2002). Influence of Dry Period Bacterial Intramammary Infection on Clinical Mastitis in Dairy Cows. *Journal Of Dairy Science*, 85(10), 2589-2599. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(02)74343-9
38. Green, M., Bradley, A., Medley, G., & Browne, W. (2007). Cow, Farm, and Management Factors During the Dry Period that Determine the Rate of

- Clinical Mastitis After Calving. *Journal Of Dairy Science*, 90(8), 3764-3776. doi: 10.3168/jds.2007-0107
39. Grohn, Y., Wilson, D., González, R., Hertl, J., Schulte, H., Bennett, G., & Schukken, Y. (2004). Effect of Pathogen-Specific Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows. *Journal Of Dairy Science*, 87(10), 3358-3374. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(04)73472-4
 40. Grummer, R. (1995). Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. *Journal Of Animal Science*, 73(9), 2820. doi: 10.2527/1995.7392820x
 41. Guretzky, N., Carlson, D., Garrett, J., & Drackley, J. (2006). Lipid Metabolite Profiles and Milk Production for Holstein and Jersey Cows Fed Rumen-Protected Choline During the Periparturient Period. *Journal Of Dairy Science*, 89(1), 188-200. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(06)72083-5
 42. Hansen, M., Lund, M., Sørensen, M., & Christensen, L. (2002). Genetic Parameters of Dairy Character, Protein Yield, Clinical Mastitis, and Other Diseases in the Danish Holstein Cattle. *Journal Of Dairy Science*, 85(2), 445-452. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(02)74093-9
 43. Harmon, R. (1994). Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *Journal Of Dairy Science*, 77(7), 2103-2112. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(94)77153-8
 44. Herr, M., Bostedt, H., & Failing, K. (2011). IgG and IgM levels in dairy cows during the periparturient period. *Theriogenology*, 75(2), 377-385. doi: 10.1016/j.theriogenology.2010.09.009
 45. Haydock K.P. & Shaw N.H. (1975).The comparative yield method for estimating dry matter yield of pasture *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*. 15, 663-670. <http://dx.doi.org/10.1071/EA9750663>
 46. Hemling T. (2002) Teat condition- Prevention and cure through teat dips. *Proceedings of the British Mastitis Conference (2002) Brockworth*, 1-14
 47. Hillerton, J.E., Pankey J.W. & Pankey P. (1999). Effects of machine milking on teat condition. *National Mastitis Council 38th Annual Meeting Proceedings, Arlington, Virginia, USA*, 202-203.
 48. Hillerton J. & Booth J. (2018) The Five-Point Mastitis Control Plan- A Revisory Tutorial!. *National Mastitis Council 57th Annual Meeting Proceedings, Tucson, Arizona*.
 49. Hogan, J.S, Gonzalez R.N., Harmon R.J., Nickerson S.J., Oliver S.P., Pankey J.W., & Smith K.L. (1999). *Laboratory Handbook on Bovine Mastitis*. Madison, Wisconsin: National Mastitis Council.
 50. Hogan, J. & Smith L.K. (2012). Managing Environmental Mastitis. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice*. 28(2):217-24. doi: 10.1016/j.cvfa.2012.03.009.
 51. Hogeveen H. (2005) “Mastitis is an economic problem”. *Proceedings of the British Mastitis Conference, Stoneleigh, United Kingdom*. 1-13.

52. Hortet, P., & Seegers, H. (1998). Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine*, 37(1-4), 1-20. doi: 10.1016/s0167-5877(98)00104-4
53. Huxley, J., Green, M., Green, L., & Bradley, A. (2002). Evaluation of the Efficacy of an Internal Teat Sealer During the Dry Period. *Journal Of Dairy Science*, 85(3), 551-561. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(02)74108-8
54. IMPO. Normativa y Avisos Legales del Uruguay. (1995). Decreto 90/1995. <http://www.impo.com.uy/bases/decretos/90-1995>
55. IMPO. Normativa y Avisos Legales del Uruguay. (2013). Decreto 459/2013. <http://www.impo.com.uy/bases/decretos/359-2013>
56. INALE (2015). Encuesta lechera INALE 2014, Resultados preliminares. <http://www.inale.org/innovaportal/file/4086/1/encuesta-lechera-2014--presentacion-resultados-preliminares-foro.pdf>
57. INALE (2018). Datos del Uruguay Lechero. <http://www.inale.org/innovaportal/file/6394/1/triptico-inale-web.pdf>
58. Ingvarsen, K., & Moyes, K. (2012). Nutrition, immune function and health of dairy cattle. *Animal*, 7(s1), 112-122. doi: 10.1017/s175173111200170x
59. Kelton D. & Goodkin A. (2000). Mastitis culture programs for dairy herds. *National Mastitis Council 39th Annual Meeting Proceedings* 55-62
60. Kimura, K., Reinhardt, T., & Goff, J. (2006). Parturition and Hypocalcemia Blunts Calcium Signals in Immune Cells of Dairy Cattle. *Journal Of Dairy Science*, 89(7), 2588-2595. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(06)72335-9
61. Kehrli M., Nonnecke B. & Roth J. (1989) Alterations in bovine lymphocyte function during the periparturient period. *American Journal of Veterinary Research*, 50(2), 215-220.
62. Kivling S., (2012). Effect of grazing and housing system on dairy cows' hygiene, claw and leg health. Master Thesis. Swedish University of agricultural sciences, Sweden.
63. Klinkon M. & Zadnik T. (1999). Dynamics of red and white blood picture in dairy cows during the periparturient period. *Comparative Haematology International* September 1999, Volume 9(3), 156–161
64. Koldewej E., Emmanuelson U. & Janson L. (1999). Relation of milk production loss to milk somatic cell count. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 40(1), 47–56.
65. Lacy-Hulbert J., Benavides M.L. & Williamson J. (2006). Ecology of *Streptococcus uberis* within a pasture-based dairying system. *Proceeding of the 45th Annual Meeting of the National Mastitis Council*. Tampa, Florida, 134–144.
66. Laevens, H., Deluyker, H., Schukken, Y., De Meulemeester, L., Vandermeersch, R., De Muêlenaere, E., & De Kruif, A. (1997). Influence of Parity and Stage of Lactation on the Somatic Cell Count in Bacteriologically Negative Dairy Cows. *Journal Of Dairy Science*, 80(12), 3219-3226. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(97)76295-7

67. Larumbe R. & Vidart M. (2016). Agentes patógenos causantes de mastitis clínica en vacas lecheras en Uruguay años 2014 y 2015. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, Uruguay.
68. Lean, I., DeGaris, P., McNeil, D., & Block, E. (2006). Hypocalcemia in Dairy Cows: Meta-analysis and Dietary Cation Anion Difference Theory Revisited. *Journal Of Dairy Science*, 89(2), 669-684. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(06)72130-0
69. LeBlanc, S., (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transition period. *Journal of Reproduction and Development* 56,29–35.
70. Lopez-Benavides, M., Williamson, J., Pullinger, G., Lacy-Hulbert, S., Cursons, R., & Leigh, J. (2007). Field Observations on the Variation of *Streptococcus uberis* Populations in a Pasture-Based Dairy Farm. *Journal Of Dairy Science*, 90(12), 5558-5566. doi: 10.3168/jds.2007-0194
71. Martens, H., Leonhard-Marek, S., Röntgen, M., & Stumpff, F. (2018). Magnesium homeostasis in cattle: absorption and excretion. *Nutrition Research Reviews*, 31(01), 114-130. doi: 10.1017/s0954422417000257
72. Martin-Richard. 2001. Prevalencia de mastitis en vaquillonas y factores de riesgo asociados. 3er Simposio de Calidad de Leche y Seguridad Alimentaria.
73. McCarthy, B., Pierce, K., Delaby, L., Brennan, A., & Horan, B. (2012). The effect of stocking rate and calving date on reproductive performance, body state, and metabolic and health parameters of Holstein-Friesian dairy cows. *Journal Of Dairy Science*, 95(3), 1337-1348. doi: 10.3168/jds.2011-4783
74. McDougall, S., Agnew, K., Cursons, R., Hou, X., & Compton, C. (2007a). Parenteral Treatment of Clinical Mastitis with Tylosin Base or Penethamate Hydriodide in Dairy Cattle. *Journal Of Dairy Science*, 90(2), 779-789. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(07)71562-x
75. McDougall, S., Arthur, D., Bryan, M., Vermunt, J., & Weir, A. (2007b). Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. *New Zealand Veterinary Journal*, 55(4), 161-170. doi: 10.1080/00480169.2007.36762
76. Mein G.A., Neijenhuis .F, Morgan W.F, Reinemann D.J., Hillerton J.E., Baines J.R., Ohnstad I., Rasmussen M.D., Timms L., Britt J.S., Farnsworth R., Cook N. & Hemling T. (2001). Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: noninfectious factors. *Proceedings, AABP-NMC International Symposium on Mastitis and Milk Quality*, Vancouver, BC, Canada. 347-351.
77. Meikle, A., Kulcsar, M., Chilliard, Y., Febel, H., Delavaud, C., Cavestany, D., & Chilibroste, P. (2004). Effects of parity and body condition at parturition on endocrine and reproductive parameters of the cow. *Reproduction*, 127(6), 727-737. doi: 10.1530/rep.1.00080
78. Meikle A., Cavestany D. , Carriquiry M. , Adrien M. L. , Artegoitia V. , Pereira I., Rupprechter G. , Pessina P. , Rama G., Fernández A. , Breijo M. , Laborde D. , Pritsch O., Ramos J. M., De Torres E. , Nicolini P. , Mendoza A. , Dutour J. , Fajardo M. , Astessiano Ana L. , Olazábal L. , Mattiauda D., & Chilibroste P. (2013). Avances en el conocimiento de la vaca lechera durante el

- período de transición en Uruguay: un enfoque multidisciplinario. *Agrociencia*, 17(1),141-152.
79. Melendez, P., Marin, M., Robles, J., Rios, C., Duchens, M., & Archbald, L. (2009). Relationship between serum nonesterified fatty acids at calving and the incidence of periparturient diseases in Holstein dairy cows. *Theriogenology*, 72(6), 826-833. doi: 10.1016/j.theriogenology.2009.06.001
 80. Mitchell, R., Mather, R., Swallow, W., & Randy, H. (1976). Effects of a Corticosteroid and Diuretic Agent on Udder Edema and Milk Yield in Dairy Cows. *Journal Of Dairy Science*, 59(1), 109-112. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(76)84164-1
 81. Neave, F., Dodd, F., Kingwill, R., & Westgarth, D. (1969). Control of Mastitis in the Dairy Herd by Hygiene and Management. *Journal Of Dairy Science*, 52(5), 696-707. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(69)86632-4
 82. Neijenhuis, F., Barkema, H., Hogeveen, H., & Noordhuizen, J. (2001). Relationship Between Teat-End Callosity and Occurrence of Clinical Mastitis. *Journal Of Dairy Science*, 84(12), 2664-2672. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(01)74720-0
 83. Neijenhuis F. (2004) Doctoral Thesis. Utrecht University, Netherlands.
 84. Nickerson, S., Owens, W., & Boddie, R. (1995). Mastitis in Dairy Heifers: Initial Studies on Prevalence and Control. *Journal Of Dairy Science*, 78(7), 1607-1618. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(95)76785-6
 85. NRC, 2001. Nutrient requirements of dairy cattle. 7th Revised Edition, Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition, Committee on Animal Nutrition, Board on Agriculture and Natural Resources, National Research Council, National Academy Press, Washington, D.C.
 86. Nydam D., Ospina P., McArt J., & Overton T. (2014). Monitoring Negative Energy Balance in Transition Cows for Better Dairy Herd Results. Western Dairy Management Conference. Reno, Nevada.
 87. Olde Riekerink, R., Barkema, H., Kelton, D., & Scholl, D. (2008). Incidence Rate of Clinical Mastitis on Canadian Dairy Farms. *Journal Of Dairy Science*, 91(4), 1366-1377. doi: 10.3168/jds.2007-0757
 88. Oliver, S., & Sordillo, L. (1988). Udder Health in the Periparturient Period. *Journal Of Dairy Science*, 71(9), 2584-2606. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(88)79847-1
 89. Oliver, S., Lewis, T., Lewis, M., Dowlen, H., & Maki, J. (1990). Persistence of antibiotics in bovine mammary secretions following intramammary infusion at cessation of milking. *Preventive Veterinary Medicine*, 9(4), 301-311. doi: 10.1016/0167-5877(90)90076-t
 90. Oliver, S., Lewis, M., Gillespie, B., & Dowlen, H. (1992). Influence of Prepartum Antibiotic Therapy on Intramammary Infections in Primigravid Heifers During Early Lactation. *Journal Of Dairy Science*, 75(2), 406-414. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(92)77776-5

91. Oliver, S., Gillespie, B., Headrick, S., Lewis, M. & Dowlen, H. (2004) Heifer mastitis: Prevalence, risk factors and control strategies. National Mastitis Council 43rd Annual Meeting Proceedings.
92. Olney, G., & Mitchell, R. (1983). Effect of milking machine factors on the somatic cell count of milk from cows free of intramammary infection: II. Vacuum level and overmilking. *Journal Of Dairy Research*, 50(02), 141. doi: 10.1017/s0022029900022937
93. Oltenacu P.A., Bendixen P.H., & Vilson B., Ekesbo I. (1990). Tramped teats – Clinical mastitis disease complex in tied cows. Environmental risk factors and interrelationships with other diseases. *Acta Veterinaria Scandinavica*; 31(4), 471-478.
94. Ospina, P., Nydam, D., Stokol, T., & Overton, T. (2010). Associations of elevated nonesterified fatty acids and β -hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. *Journal Of Dairy Science*, 93(4), 1596-1603. doi: 10.3168/jds.2009-2852.
95. Pankey, J., Drechsler, P., & Wildman, E. (1991). Mastitis Prevalence in Primigravid Heifers at Parturition. *Journal Of Dairy Science*, 74(5), 1550-1552. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(91)78316-1
96. Parker, K., Compton, C., Annis, F., Weir, A., & McDougall, S. (2007). Management of dairy heifers and its relationships with the incidence of clinical mastitis. *New Zealand Veterinary Journal*, 55(5), 208-216. doi: 10.1080/00480169.2007.36770
97. Pereira I. Cruz I., Ruprechter G., & Meikle A. (2017) Salud y eficiencia reproductiva de vacas lecheras en sistemas de base pastoril de florida: Resultados preliminares del monitoreo. <http://www.spluy.com/documentos/articulos/salud/Pereira2017.pdf>
98. Petzer I.M., Lourens D.C., van der Schans T.J., Watermeyer J.C., van Reenen R., Rautenbach J.H., & Thompson P. (2009). Intramammary infection rate during the dry period in cows that received blanket dry cow therapy: efficacy of 6 different dry-cow intra-mammary antimicrobial products. *Journal of South African Veterinary Association*.80(1), 23-30.
99. Philpot W.N, & Nickerson S.C. (1991). Mastitis: Counter attack. Babson bros (Westfalia-surge), Naperville, Illinois, United States.
100. Piepers, S., Schukken, Y., Passchyn, P., & De Vlieghe, S. (2013). The effect of intramammary infection with coagulase-negative staphylococci in early lactating heifers on milk yield throughout first lactation revisited. *Journal Of Dairy Science*, 96(8), 5095-5105. doi: 10.3168/jds.2013-6644
101. Pyorala S. (2003) Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research*, 34(5), 565-578. doi: 10.1051/vetres:2003026
102. Pyorala S. (2008) Mastitis in Post-Partum Dairy Cows. *Reproduction In Domestic Animals*, 43, 252-259. doi: 10.1111/j.1439-0531.2008.01170.x

103. Pyorala S., & Taponen, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci—Emerging mastitis pathogens. *Veterinary Microbiology*, 134(1-2), 3-8. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.09.015
104. Rajala-Schultz, P., Hogan, J., & Smith L.K. (2005). Short Communication: Association Between Milk Yield at Dry-Off and Probability of Intramammary Infections at Calving. *Journal Of Dairy Science*, 88(2), 577-579. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(05)72720-x
105. Rasmussen, M. (1993). Influence of switch level of automatic cluster removers on milking performance and udder health. *Journal Of Dairy Research*, 60(03), 287. doi: 10.1017/s0022029900027631.
106. Reinhardt, T., Lippolis, J., McCluskey, B., Goff, J., & Horst, R. (2011). Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal*, 188(1), 122-124. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.03.025
107. Reneau, J. (1986). Effective Use of Dairy Herd Improvement Somatic Cell Counts in Mastitis Control. *Journal Of Dairy Science*, 69(6), 1708-1720. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(86)80590-2
108. Reneau, J., Seykora A.J. & Heins B.J. (2003). Relationship of cow hygiene scores and SCC. Pages 362–363 in *National Mastitis Council 42nd Annual Meeting Proceedings*, Madison, Wisconsin.
109. Ribeiro, E., Lima, F., Greco, L., Bisinotto, R., Monteiro, A., & Favoreto, M. et al. (2013). Prevalence of periparturient diseases and effects on fertility of seasonally calving grazing dairy cows supplemented with concentrates. *Journal Of Dairy Science*, 96(9), 5682-5697. doi: 10.3168/jds.2012-6335
110. Reinhardt, T., Lippolis, J., McCluskey, B., Goff, J., & Horst, R. (2011). Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. *The Veterinary Journal*, 188(1), 122-124. doi: 10.1016/j.tvjl.2010.03.025
110. Roberson, J., Fox, L., Hancock, D., Gay, C., & Besser, T. (1994). Coagulase-Positive Staphylococcus Intramammary Infections in Primiparous Dairy Cows. *Journal Of Dairy Science*, 77(4), 958-969. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(94)77032-6
111. Roche, J., Friggens, N., Kay, J., Fisher, M., Stafford, K., & Berry, D. (2009). Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal Of Dairy Science*, 92(12), 5769-5801. doi: 10.3168/jds.2009-2431
112. Roman-Ponce, H., Thatcher, W., Buffington, D., Wilcox, C., & Van Horn, H. (1977). Physiological and Production Responses of Dairy Cattle to a Shade Structure in a Subtropical Environment. *Journal Of Dairy Science*, 60(3), 424-430. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(77)83882-4
113. Ruegg P. (2002) Udder hygiene scoring chart. Madison-Wisconsin University, Madison, United States. <http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/udder-hygiene-scoring-chart.pdf>
114. Ruegg P. (2006). The role of hygiene on efficient milking. *WCDS Advances in Dairy Technology*. 18, 285-293.

115. Ruegg P. (2010). A Practical Look at Monitoring Mastitis Control Plans. Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina. Avila, Spain.
116. Rupprechter, G., Adrien, M., Larriestra, A., Meotti, O., Batista, C., Meikle, A., & Noro, M. (2018). Metabolic predictors of peri-partum diseases and their association with parity in dairy cows. *Research In Veterinary Science*, 118, 191-198. doi: 10.1016/j.rvsc.2018.02.005
117. Sandrucci A., Bava L., Zucali M., & Tamburini A. (2014) Management factors and cow traits influencing milk somatic cell counts and teat hyperkeratosis during different seasons. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 43(9):505-511. <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-35982014000900008>
118. Sant'Anna, A. C., & Paranhos da Costa M.J. (2011). The relationship between dairy cow hygiene and somatic cell count in milk. *Journal Of Dairy Science*, 94(8), 3835-3844. doi: 10.3168/jds.2010-3951
119. Santman-Berends, I., Olde Riekerink, R., Sampimon, O., van Schaik, G., & Lam, T. (2012). Incidence of subclinical mastitis in Dutch dairy heifers in the first 100 days in lactation and associated risk factors. *Journal Of Dairy Science*, 95(5), 2476-2484. doi: 10.3168/jds.2011-4766
120. Saran, A. & Chaffer, M. (2000). Mastitis y calidad de la leche. Buenos Aires, Argentina, Editorial Intermedica.
121. Schreiner, D., & Ruegg, P. (2003). Relationship Between Udder and Leg Hygiene Scores and Subclinical Mastitis. *Journal Of Dairy Science*, 86(11), 3460-3465. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(03)73950-2.
122. Schukken, Y., Grommers, F., Van De Geer, D., Erb, H., & Brand, A. (1990). Risk Factors for Clinical Mastitis in Herds with a Low Bulk Milk Somatic Cell Count. 1. Data and Risk Factors for All Cases. *Journal Of Dairy Science*, 73(12), 3463-3471. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(90)79045-5
123. Seegers, H., Fourichon, C., & Beaudeau, F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research*, 34(5), 475-491. doi: 10.1051/vetres:2003027
124. Sepúlveda-Varas, P., Weary, D., Noro, M., & von Keyserlingk, M. (2015). Transition Diseases in Grazing Dairy Cows Are Related to Serum Cholesterol and Other Analytes. *PLOS ONE*, 10(3), e0122317. doi: 10.1371/journal.pone.0122317
125. Sharma, N., Singh, N., & Bhadwal, M. (2011). Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. *Asian-Australasian Journal Of Animal Sciences*, 24(3), 429-438. doi: 10.5713/ajas.2011.10233
126. Smith, K., Todhunter, D., & Schoenberger, P. (1985). Environmental Mastitis: Cause, Prevalence, Prevention. *Journal Of Dairy Science*, 68(6), 1531-1553. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(85)80993-0
127. Sol, J., Sampimon, O., Snoep, J., & Schukken, Y. (1994). Factors Associated with Bacteriological Cure After Dry Cow Treatment of Subclinical Staphylococcal Mastitis with Antibiotics. *Journal Of Dairy Science*, 77(1), 75-79. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(94)76930-7

128. Sol, J., Sampimon, O., Barkema, H., & Schukken, Y. (2000). Factors Associated with Cure after Therapy of Clinical Mastitis Caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal Of Dairy Science*, 83(2), 278-284. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(00)74875-2
129. Sordillo, L. (2014). Immune dysfunction in peri-parturient dairy cows: evidence, causes, and ramifications. Cornell Nutrition Conference, Ithaca, United States.
130. Suriyasathaporn, W., Heuer, C., Noordhuizen-Stassen, E., & Schukken, Y. (2000). Hyperketonemia and the impairment of udder defense: a review. *Veterinary Research*, 31(4), 397-412. doi: 10.1051/vetres:2000128
131. Suthar, V., Canelas-Raposo, J., Deniz, A., & Heuwieser, W. (2013). Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. *Journal Of Dairy Science*, 96(5), 2925-2938. doi: 10.3168/jds.2012-6035
132. Svensson, C., Nyman, A., Waller, K., & Emanuelson, U. (2006). Effects of Housing, Management, and Health of Dairy Heifers on First-Lactation Udder Health in Southwest Sweden. *Journal Of Dairy Science*, 89(6), 1990-1999. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(06)72266-4
133. Timms L. (2004) Winter conditions and teat health: Why and what to do. National Mastitis Council 43rd Annual Meeting Proceedings.
134. Thorberg, B., Danielsson-Tham, M., Emanuelson, U., & Persson Waller, K. (2009). Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. *Journal Of Dairy Science*, 92(10), 4962-4970. doi: 10.3168/jds.2009-2184
135. Vanderhaeghen, W., Piepers, S., Leroy, F., Van Coillie, E., Haesebrouck, F., & De Vliegher, S. (2014). Invited review: Effect, persistence, and virulence of coagulase-negative *Staphylococcus* species associated with ruminant udder health. *Journal Of Dairy Science*, 97(9), 5275-5293. doi: 10.3168/jds.2013-7775
136. Waage, S., Sviland, S., & Ødegaard, S. (1998). Identification of Risk Factors for Clinical Mastitis in Dairy Heifers. *Journal Of Dairy Science*, 81(5), 1275-1284. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(98)75689-9
137. Washburn, S., White, S., Green, J., & Benson, G. (2002). Reproduction, Mastitis, and Body Condition of Seasonally Calved Holstein and Jersey Cows in Confinement or Pasture Systems. *Journal Of Dairy Science*, 85(1), 105-111. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(02)74058-7
138. Wathes, D., Cheng, Z., Bourne, N., Taylor, V., Coffey, M., & Brotherstone, S. (2007). Differences between primiparous and multiparous dairy cows in the inter-relationships between metabolic traits, milk yield and body condition score in the periparturient period. *Domestic Animal Endocrinology*, 33(2), 203-225. doi: 10.1016/j.domaniend.2006.05.004
139. Windig, J., Calus, M., Beerda, B., & Veerkamp, R. (2006). Genetic Correlations Between Milk Production and Health and Fertility Depending on Herd Environment. *Journal Of Dairy Science*, 89(5), 1765-1775. doi: 10.3168/jds.s0022-0302(06)72245-7

- 140.** Zadoks R.N., & Schukken. Y.H.(2003). Streptococcus uberis: environmental or contagious pathogen? National Mastitis Council 42nd Annual Meeting Proceedings,. Fort Worth, Texas, United States, 61-67.
- 141.** Zadoks, R., & Fitzpatrick, J. (2009). Changing trends in mastitis. Irish Veterinary Journal, 62(S4). doi: 10.1186/2046-0481-62-s4-s59
- 142.** Ziesch M., & Kromker V.(2016) Factors influencing bacteriological cure after antibiotic therapy of clinical mastitis. Milk Science International (69) 2016