

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**ESTUDIO DE LA RELACION ENTRE LA SALUD DE LA UBRE EN EL SECADO Y
EN LA LACTANCIA TEMPRANA EN VACAS LECHERAS**

por

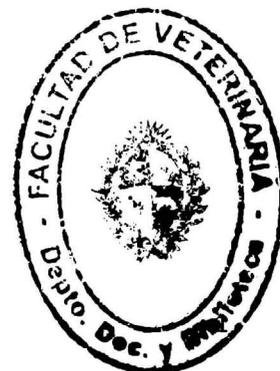
**BARCELO FANLORD, María Centanie
LAPAZ LA PAZ, Cynthia Carolina
MALAN NEGRIN, María Joaquina**

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



MODALIDAD: Ensayo Experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2017**



PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:



Presidente de mesa:

Dr. MSc. Ruben Giannecchini

Segundo miembro (Tutor):



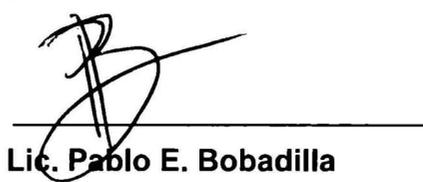
Dra. MSc. Elena de Torres

Tercer miembro:



Dra. Elena Cardozo Benia

Co – Tutores:



Lic. Pablo E. Bobadilla

Fecha:

22/12/2017

Autores:



Br. María Centanie BARCELÓ FANLORD



Br. Cynthia Carolina LAPAZ LA PAZ



Br. María Joaquina MALAN NEGRIN

AGRADECIMIENTOS

A la familia y amigos, porque gracias a su apoyo e incentivo nos hicieron el camino más fácil.

A los compañeros y amigos que conocimos en Facultad, gracias por las experiencias y conocimientos compartidos.

A la Dr. Elena de Torres y Lic. Pablo Bobadilla por su orientación, paciencia y dedicación.

A las funcionarias de Biblioteca de facultad, Rosina y Alejandra por su colaboración.

A todos los que de una manera u otra colaboraron con el desarrollo de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

	Página
PAGINA DE APROBACION.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.....	6
1. RESUMEN.....	7
2. SUMMARY.....	8
3. INTRODUCCION.....	10
3.1 Consideraciones generales de la lechería en Uruguay.....	10
3.2 Situación y perspectivas de la Lechería Uruguaya.....	11
4. REVISION BIBLIOGRAFICA.....	12
4.1 Generalidades de la mastitis.....	12
4.2 Patogénesis.....	12
4.3 Agentes causales de mastitis.....	13
4.3.1 Etiología.....	13
4.3.2 Clasificación.....	13
4.3.3 Microorganismos Contagiosos.....	14
4.3.4 Microorganismos Ambientales.....	14
4.3.5 Microorganismos Oportunistas.....	14
4.4 Microorganismos que causan mastitis.....	14
4.4.1 Mastitis causada por Staphylococcus aureus.....	14
4.4.2 Mastitis causada por Mycoplasma.....	15
4.4.3 Mastitis causada por Streptococcus agalactiae.....	15
4.4.4 Mastitis causada por Corynebacterium bovis.....	16
4.4.5 Mastitis causada por Coliformes.....	16
4.4.6 Mastitis causada por Streptococcus ambientales.....	17
4.4.7 Mastitis causada por Streptococcus dysgalactiae.....	17
4.4.8 Mastitis causada por Streptococcus uberis.....	17
4.4.9 Mastitis causada por Levaduras.....	18
4.4.10 Mastitis causada por Staphylococcus coagulasa negativos.....	18
4.5 Prevalencia de los agentes causales de mastitis en Uruguay....	18
4.6 Etapa de transición en la vaca lechera y su relación con la mastitis...	18
4.7 Susceptibilidad a la mastitis durante el periodo seco.....	19
5. HIPOTESIS.....	21
6. OBJETIVOS.....	22
6.1 Objetivos General.....	22
6.2 Objetivos Específicos.....	22
7. MATERIALES Y METODOS.....	23
7.1 Toma de muestras del ensayo experimental.....	23
7.2 Registro de Datos.....	23
8. RESULTADOS.....	25

8.1 Resultado de los aislamientos microbianos al secado y al posparto...	25
8.2 Numero de cuartos infectados por vaca en el secado y posparto...	26
8.3 Prevalencia de mastitis en el trimestre presecado según recuento celular	27
8.4 Prevalencia de mastitis en el trimestre posparto según recuento celular	27
8.5 Relación entre Aislamiento bacteriano y RCS.....	28
8.6 Evolución de recuento celular en el presecado y posparto según límites establecidos.....	28
8.7 Evolución de aislamiento bacteriano y recuento celular entre el presecado y posparto.....	29
9. DISCUSION.....	30
9.1 Aislamientos microbianos al secado y al posparto.....	30
9.2 Número de cuartos infectados por vaca en el secado y posparto...	31
9.3 Evolución del recuento celular en el presecado y posparto según los límites establecidos.....	31
9.4 Relación entre aislamiento bacteriano y recuento celular.....	32
9.5 Evolución de aislamiento bacteriano y recuento de células somáticas entre en presecado y posparto.....	32
10. CONCLUSIONES.....	34
11. BIBLIOGRAFIA.....	35

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS.

FIGURA 1. Número de remitentes y volumen de leche medio diario por remitente

FIGURA 2. Número de vacas con 1, 2, 3 y/o 4 cuartos afectados al secado y posparto.

TABLA I. Microorganismos encontrados en los aislamientos al secado.

TABLA II. Prevalencia microbiana por vaca al secado.

TABLA III. Microorganismos encontrados en los aislamientos al posparto.

TABLA IV. Prevalencia microbiana por vaca al posparto

TABLA V. Prevalencia según recuento celular individual en el trimestre presecado para los límites establecidos.

TABLA VI. Prevalencia según recuento celular individual en el trimestre posparto para los límites establecidos.

TABLA VII. Tasa de curación considerando recuento celular para trimestre presecado y posparto.

TABLA VIII. Tasa de curación considerando recuento celular y cultivo bacteriano para trimestre presecado y posparto.

TABLA IX. Tasa de curación considerando recuento celular y cultivo bacteriano para los meses -1 y +1.

1. RESUMEN

En este ensayo fueron seleccionados dos establecimientos lecheros para estudiar si el estado de salud de la ubre en el primer tercio de la lactancia está influenciado por la salud de la ubre al momento del secado. El ensayo evaluó 29 vacas de Holando y su craza Jersey, multíparas, y en ordeño con una producción promedio por lactancia de 6000 litros. Se evaluaron 116 cuartos mamarios, tomando muestras al secado y al parto, para determinar los microorganismos presentes en dichos momentos. Además se tomaron muestras mensuales durante el trimestre previo al secado y durante el mismo período luego del parto, para determinar los recuentos celulares individuales. Las muestras obtenidas se analizaron en laboratorios privados y los resultados fueron ordenados y asociados al animal y establecimiento que correspondían. Con la información obtenida se determinó qué microorganismo estaba presente al momento del secado y en las primeras horas posparto, evaluando la prevalencia de cada microorganismo por cuarto y por vaca, así como también las asociaciones de los mismos y el número de cuartos afectados por vaca. También se determinó la prevalencia de mastitis de acuerdo a dos límites planteados para RCS en el trimestre previo al secado y en el trimestre posterior al parto (≤ 200.000 cél/ml y ≤ 250.000 cél/ml). Se determinó que la prevalencia de microorganismos en el secado fue del 72% y del 38% en el posparto temprano. El microorganismo más frecuentemente aislado por cuarto en el secado fue *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (35%) y *Staphylococcus coagulasa negativo* (SCN) (35%) en el posparto. El microorganismo más prevalente por vaca también fue *S. aureus* (20%) y al posparto también el más prevalente por vaca fue SCN (14%). En cuanto a las asociaciones microbianas en la misma vaca, se observó que, la asociación más frecuente al secado fue *S. aureus* + SCN (10%). Al posparto se presentaron dos asociaciones en la misma proporción, SCN + *Levadura* (3%) y *Bacilo Gram- fermentador* + *Streptococcus spp.* (3%). Para RCS, se vio que considerando el primer límite (≤ 200.000 cél /ml) la prevalencia de mastitis subclínica fue del 69%, mientras que para el otro límite (≤ 250.000 cél /ml) la prevalencia fue del 59%. La prevalencia de mastitis subclínica según RCS en el posparto fue de 52% de acuerdo al límite de ≤ 200.000 cél/ml y de 48% para el límite ≤ 250.000 cél/ml. Cuando observamos la evolución de los recuentos celulares, las tasas de curación para los dos límites planteados fueron 0.45 (≤ 200.000 cél /ml) y 0.41 (≤ 250.000 cél /ml). Si además de los recuentos celulares sumamos los aislamientos bacterianos, tomando en cuenta para RCS los trimestres presecado y posparto las tasas disminuyen 0.27 (≤ 200.000 cél /ml) y 0.23 (≤ 250.000 cél /ml). Al cambiar la unidad de tiempo a RCS en el mes previo secado (-1) y el mes posterior al parto (+1) las tasas varían aun más, 0.50 (≤ 200.000 cél /ml) y 0.60 (≤ 250.000 cél /ml). Se presentan mayor número de infecciones intramamarias al final de la lactancia. Lo mismo ocurre con la prevalencia de mastitis subclínica considerando los recuentos celulares para los dos límites planteados, siendo esta mayor para el presecado. Las vacas presentaron en su mayoría, respuesta celular elevada como consecuencia de una infección bacteriana. Cuando observamos la evolución de la salud de la ubre de la vaca, relacionando presencia de aislamiento microbiano y respuesta celular (para los dos límites fijados), obtuvimos que la tasa de curación fue mayor si contemplábamos como unidad de tiempo el mes previo al secado y el mes posterior al parto.

2. SUMMARY

In this essay, two dairy farms were selected to study whether the udder health status in the first third of lactation is influenced by the udder health at the time of dry off. The essay evaluated 29 Holstein-Friesian cows and their Jersey crossbreed, multiparous, and in milking with an average production per lactation of 6000 liters. A total of 116 mammary quarters were evaluated, taking samples at drying off and calving, to determine the microorganisms present at those moments. In addition, monthly samples were taken during the trimester prior to drying off and during the same period after calving, to determine the individual cell counts. The samples obtained were analyzed in private laboratories and the results were ordered and associated to the animal and farm that corresponded. With the information obtained it was determined which microorganism was present at the time of drying off and in the first postpartum hours, evaluating the prevalence of each microorganism per quarter and per cow, as well as their associations and the number of quarters affected per cow. The prevalence of mastitis was also determined according to two limits established for SCC in the trimester prior to drying off and in the trimester after calving ($\leq 200,000$ cells/ml and $\leq 250,000$ cells/ml) It was determined that the prevalence of microorganisms at drying off was 72% and 38% in the early postpartum period. The microorganism most frequently isolated per quarter at drying off was *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) (35%) and *Coagulase Negative Staphylococci* (*CNS*) (35%) at the postpartum period. The most prevalent microorganism per cow was also *S. aureus* (20%) and postpartum also the most prevalent per cow was *CNS* (14%). Regarding the microbial associations in the same cow, it was observed that the most frequent association at drying off was *S. aureus* + *CNS* (10%). At postpartum, two associations were presented in the same proportion, *CNS* + *Yeast* (3%) and *Bacillus Gram-fermenter* + *Streptococcus spp.* (3%). For SCC, it was found that considering the first limit ($\leq 200,000$ cells/ml) the prevalence of subclinical mastitis was 69%, while for the other limit ($\leq 250,000$ cells/ml) the prevalence was 59%. The prevalence of subclinical mastitis according to SCC at postpartum was 52% according to the limit of $\leq 200,000$ cells/ml and 48% for the limit $\leq 250,000$ cells / ml. When we observed the evolution of cell counts, the cure rates for the two proposed limits were 0.45 ($\leq 200,000$ cells/ml) and 0.41 ($\leq 250,000$ cells/ml). If, in addition to the cell counts, we add the bacterial isolates, taking into account for SCC the pre-dry off trimester and the post-partum trimester, the rates decrease 0.27 ($\leq 200,000$ cells/ml) and 0.23 ($\leq 250,000$ cells/ml). When the unit of time was changed to SCC in the month prior drying off (-1) and the month after calving (+1), the rates vary even further, 0.50 ($\leq 200,000$ cells/ml) and 0.60 ($\leq 250,000$ cells/ml). There are more intramammary infections at the end of lactation. The same occurs with the prevalence of subclinical mastitis considering cell counts for the two proposed limits, this being greater for pre-drying off. The cows presented in their majority, high cellular response as a consequence of a bacterial infection. When we observed the evolution of the udder health of the cow, relating the presence of microbial isolation and cellular

response (for the two fixed limits), we obtained that the cure rate was higher if we contemplated as unit of time the month prior to dry off and the month after calving.

3. INTRODUCCION

3.1 Consideraciones generales de la lechería en Uruguay

En Uruguay, la producción de leche se ha incrementado en los últimos 30 años; sin embargo, el número de productores ha descendido significativamente, desapareciendo más de 2000 productores en los últimos 20 años, concomitantemente con un aumento de la escala de los tambos en términos de número de vacas en ordeño (DIEA, 2016). Actualmente, según los datos de DIEA 2016 hay un total de 3919 establecimientos lecheros de los cuales 2.879 remiten a industria.

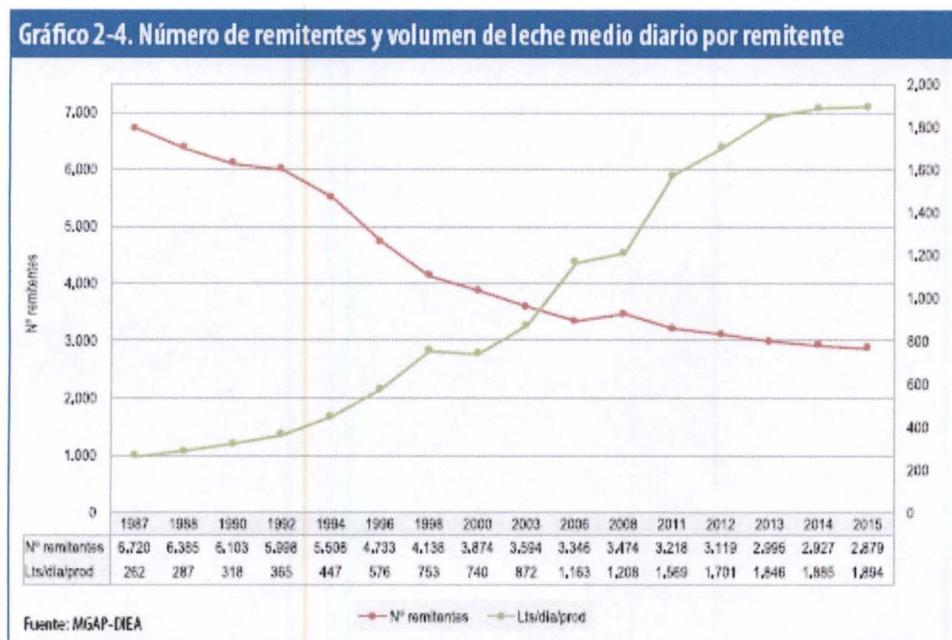


FIGURA 1. Número de remitentes y volumen de leche medio diario por remitente (Tomado de Anuario Estadístico Agropecuario 2016, DIEA- MGAP).

Las exportaciones de productos lácteos se aproximan al 70% en relación al volumen total producido. De acuerdo a los datos del Anuario Estadístico Agropecuario recabados en el año 2016 un total de 3919 productores uruguayos remiten leche a la industria, 1.414 productores producen quesos artesanales produciéndose un total de 2.182 millones de litros de leche anualmente. En cuanto al destino de la leche producida, 2015 (millones de litros) tienen como destino la remisión y venta directa, 92 (millones de litros) la elaboración de productos en el predio, 9 (millones de litros) consumo humano en el predio y 67 (millones de litros) consumo animal en el predio (DIEA, 2016). Del total de leche producida, un 70% se destina a exportación y un 30% a consumo interno (DIEA, 2016).

En nuestro país se consumen anualmente 230 litros de leche per cápita, esto corresponde a más del doble del consumo mundial promedio (INALE 2017) y la exportación se realiza a más de 60 mercados, con los estándares de calidad más exigentes.

Según datos de INALE la productividad arrojó un promedio de 4.000 litros por hectárea de superficie lechera. El crecimiento de la producción en el período 2007-2014 fue de

una tasa del 7% acumulativo anual, frente a un crecimiento de 5% del período 1977-2007.

Los predios que tienen como rubro principal la lechería, 800 de estos poseen menos de 50 hectáreas, 1800 poseen entre 50 y 500 hectáreas y 200 predios poseen más de 500 hectáreas (DIEA, 2016).

En relación al tipo de ganado y cría se cuantificó que el 83% del ganado es de raza Holando de origen americano y canadiense. En promedio el 70% de los productores cuenta con reemplazo suficiente y no se distinguen comportamientos diferentes según el tamaño (INALE, 2014).

3.2 Situación y perspectivas de la Lechería Uruguaya.

La lechería atraviesa varios años de una coyuntura desfavorable a nivel internacional y doméstico. A nivel internacional, los bajos precios de referencia dieron lugar a ajustes a la baja de la oferta. A nivel local, a los bajos precios se sumaron condiciones climáticas adversas en 2015 (sequía) y en 2016 (exceso hídrico). Así, luego de haber aumentado a una tasa promedio anual de 6% entre 2007 y 2013, la remisión de leche a plantas se contrae desde 2014. Sin embargo, actualmente se vislumbran señales más favorables en los mercados internacionales: ajustes de la producción y perspectivas de mayor demanda desde China, dieron lugar a un fortalecimiento de precios de referencia, que acumulan tres trimestres de suba. De todas maneras, si bien este aumento de los precios es un alivio para los productores, las señales de recuperación deben leerse con cautela, mientras que los fundamentos de mercado no muestren ser sólidos (Anuario OPYPA, 2016)

A nivel local, la recuperación de los precios observada a lo largo de 2016 es un aliciente para el sector y permite recomponer, al menos en parte, el deterioro de la rentabilidad y de la situación financiera de la lechería. En la medida en que esta recomposición de los precios y de la rentabilidad sea significativa, es posible esperar una recuperación de la remisión de leche, aunque en principio seguramente será moderada. (Anuario OPYPA, 2016)

La recuperación de los precios al productor depende fundamentalmente de lo que ocurra en materia de precios internacionales y de precios de exportación de la industria uruguaya. (Anuario OPYPA, 2016)

4. REVISION BIBLIOGRAFICA

4.1 Generalidades de la mastitis.

La mastitis se define como la inflamación de la glándula mamaria caracterizada por un aumento en el recuento de células somáticas (RCS) en la leche y por cambios patológicos en los tejidos mamaros (International Dairy Federation, 1987). Esta reacción inflamatoria ocurre como consecuencia de la respuesta de los tejidos a lesiones traumáticas, a sustancias irritantes o la presencia de agentes infecciosos y sus toxinas que han logrado colonizar el tejido secretor. Su impacto se ve reflejado en la producción animal, bienestar y la calidad de la leche producida (Hillerton y Berry, 2005).

Es la más costosa de las enfermedades infecciosas endémicas que afecta a las vacas y otras especies lecheras. En Uruguay se estarían produciendo pérdidas anuales de U\$D 26 millones por pérdidas de producción debido a mastitis (Giannechini y col. 2002).

Se trata de una enfermedad multifactorial que no solo implica al propio animal y el tipo de microorganismo, sino también el medio ambiente y el manejo que se realiza sobre ese animal. En porcentajes se consideran los siguientes factores como responsables de mastitis: 47% manejo, 25% alojamiento y ambiente, 20% genética y 6% máquina de ordeño (Philpot, 2001)

En la mastitis subclínica, la ubre de la vaca permanece aparentemente sana, la leche que produce, a simple vista, es una leche normal, pero una infección incipiente puede estar dañando el tejido glandular y provocando por lo tanto una alteración en la leche que esta produce. En los casos de mastitis clínica la infección puede provocar inflamación de uno, varios cuartos o de toda la glándula, aumento de la temperatura en el área afectada, así como enrojecimiento de la zona, dolor, y/o alteración de la leche producida. Estos eventos provocan que el sistema inmune del animal actúe tratando de aliviar el problema, además de lograr la mayoría de las veces mantener la infección únicamente en el área afectada sin alterar otros órganos o sistemas del animal. Los síntomas clínicos incluyen una disminución en la producción de leche, aumento en el número de leucocitos, composición y apariencia alterada (grumos) de la leche, fiebre, cuartos mamaros enrojecidos, hinchados y calientes (Bedolla, 2004; Hillerton y Berry, 2005).

La mastitis, tanto clínica como subclínica, influye de manera considerable sobre la calidad de la leche. La inflamación y los disturbios secretorios de la glándula mamaria podrán conducir a una alteración tanto de la composición como de las propiedades físico químicas de la leche. Se aprecia una disminución de la lactosa de hasta 10%, hasta un 9% del contenido graso y hasta un 18% la caseína (Harmon, 1994). También hay una marcada disminución en la producción láctea, en los sólidos totales, marcado deterioro de las propiedades organolépticas, disminución del valor nutritivo e incremento en el riesgo para la salud humana (Korhonen y Kaartinen, 1995).

4.2 Patogénesis

La glándula mamaria consta de mecanismos de defensa clasificados como inmunidad innata e inmunidad específica. La inmunidad innata está compuesta por el extremo del pezón, leucocitos como macrófagos y neutrófilos, células natural killers y otros factores solubles (Sordillo y col., 1997).

La leche de por sí cuenta con lacteninas, que actúan inhibiendo los agentes bacterianos, y las ya mencionadas células fagocíticas. Anticuerpos como la IgA son secretadas por células del tejido mamario, por el suero y mediante un mecanismo de transporte activo pasa a la leche la IgG (Tizard, 1998).

El pezón cuenta en su extremo con un esfínter muscular que mantiene cerrado el canal del pezón, esta es la primera línea de defensa de la glándula. En el límite entre el canal del pezón y la cisterna de este se encuentra la roseta de Füstemberg, esta forma una barrera física y también gracias a la queratinización del epitelio permite formar una capa lactosada que es bactericida. Este tapón de queratina se elimina en cada ordeño pero reaparece 2 a 3 horas postordeño (Wolter y col., 2004); el esfínter del pezón también permanece abierto por 1 a 2 horas después del ordeño, estos factores aumentan la probabilidad de infecciones porque facilitan el ingreso de agentes patógenos a la glándula mamaria.

Durante el ordeño el pezón se expone al contacto con bacterias, ya sea por suciedad o humedad, lesiones provocadas por traumatismos en el pezón, también mala higiene de los equipos de ordeño y erróneos procedimientos a la preparación de la vaca. Problemas en el ordeño mismo, por ejemplo, pérdidas de vacío porque resbalan pezoneras, fluctuaciones de vacío por ineficaz funcionamiento de la máquina de ordeño, al igual que incorrecta alineación de pezoneras o pezoneras en mal estado pueden provocar que el colector impulse la leche con alta fuerza de impacto hacia el pezón, haciendo entrar agentes bacterianos al canal del pezón.

Cuando ocurre la invasión por bacterias, en los vasos sanguíneos aumentan el número de granulocitos, y como consecuencia aumentan en la leche los recuentos de células somáticas. Los mediadores químicos desencadenan una respuesta inflamatoria (Sordillo col., 1997; Wolter y Kloppert., 2004). Las citoquinas son mediadores y moduladores de la respuesta del hospedador a la mastitis (Erskine, 1998)

Los neutrófilos son los principales participantes de la defensa natural de la glándula, migran rápidamente al sitio de la infección (Roillet y col., 2000).

Las toxinas bacterianas más los mediadores de la inflamación terminan dañando el tejido productor de leche demostrándose en una importante caída de la producción láctea.

4.3 Agentes causales de mastitis

4.3.1 Etiología

La inflamación de la glándula mamaria puede ser causada por agentes infecciosos y sus toxinas, traumas, y productos químicos irritantes. (National Mastitis Council, 1996), pero indudablemente la causa más frecuente de mastitis es la invasión y multiplicación bacteriana (Bramley y col., 1996). Aproximadamente 140 especies de microorganismos son causantes de mastitis.

4.3.2 Clasificación

Tres grandes grupos son considerados epidemiológicamente como patógenos causales de mastitis: contagiosos, medioambientales y oportunistas. (Saran A. y Chaffer M., 2000).

4.3.3 Microorganismos Contagiosos

Este grupo de patógenos se transmiten de un cuarto infectado a otro sano y de una vaca infectada a una sana, el principal reservorio de este grupo es la vaca y la ubre infectada. Estos microorganismos presentan como característica en común la habilidad de colonizar y crecer en la piel de la ubre y dentro del canal del pezón (Saran A. y Chaffer M., 2000). Los animales sanos se exponen a los patógenos presentes en la leche provenientes de aquellos infectados, la cual se presenta en las unidades de ordeño, en los utensilios que se utilicen en la rutina de ordeño o en la mano de ordeñadores (Zambrano, 2017).

Dentro de los patógenos contagiosos se incluyen a los considerados patógenos mayores *Streptococcus agalactiae* (*Str. agalactiae*) y *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus dysgalactiae* (*Str. dysgalactiae*), *Mycoplasma* spp y *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*) Esta clasificación, como mayores, se debe a la severidad de la enfermedad (Contreras y Rodriguez, 2011), con respecto al aumento en RCS y la aparición de casos de mastitis clínica. También son responsables de las mayores pérdidas económicas debido a la prevalencia de animales crónicos y la dificultad del diagnóstico. (Saran A. y Chaffer M., 2000)

4.3.4 Microorganismos Ambientales

Los patógenos ambientales son transmitidos a la vaca en los intervalos entre ordeño, o sea fuera de la sala. Los microorganismos que componen este grupo son principalmente de tipo coliforme como la *Escherichia coli* (*E. coli*), algunas especies de *Klebsiella* spp y algunos *Streptococcus ambientales*, como *Streptococcus uberis* (*Str. Uberis*) y el *Streptococcus dysgalactiae* (*Str. dysgalactiae*) La mastitis causada por coliformes es normalmente de duración corta y un pequeño porcentaje de los animales afectados pueden desarrollar infecciones subclínicas de naturaleza crónica, Las infecciones causadas por *Streptococcus* generalmente resultan en infecciones subclínicas con episodios clínicos periódicos. En estos casos los factores de riesgo se asocian con situaciones medioambientales como la excesiva humedad, el encharcamiento de potreros, la contaminación de origen fecal en los sitios de aglomeración sea en potreros o estabulados, ya que estos son los principales reservorios de este tipo de patógenos (Saran A. y Chaffer M., 2000).

4.3.5 Microorganismos Oportunistas

Este grupo está constituido por varias especies de microorganismos llamados SCN (no forman coágulos en respuesta a la prueba de coagulasa y la mayoría son hemolíticos), son también considerados por algunos autores, patógenos menores. (Taponen y col. 2017).

4.4 Microorganismos que causan mastitis

4.4.1 Mastitis causada por *Staphylococcus aureus*

La mastitis causada por *S. aureus* es generalmente catalogada como contagiosa, es un microorganismo Gram positivo y provoca principalmente infecciones subclínicas e infecciones que a menudo se convierten en crónicas (Zadoks, 2011; Middleton, 2013).

Los signos clínicos van desde la presencia de leche anormal a mastitis gangrenosa (Middleton, 2013).

S. aureus presenta una variedad de factores de virulencia como proteínas pro-inflamatorias, toxinas citolíticas, factores antifagocíticos, cápsula de polisacáridos, proteínas inhibidoras de la quimiotaxis, factores anti-complementarios entre otros, los cuales inducen una infección persistente dentro de los tejidos del hospedador (Almeida, 2014).

La ubre de la vaca lactante es considerada el principal reservorio de la infección por *S. aureus*, el modo principal de transmisión es de vaca a vaca a través de la unidad de ordeño en el momento del ordeño (Capurro, 2010; Middleton, 2013; Moroni, 2014). Aunque la glándula mamaria es la fuente más importante, también puede tener una fuente/reservorio ambiental, aunque de menor importancia epidemiológica (Roberson, 1999).

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

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

Al seleccionar candidatos para el tratamiento, la duración de la infección es la clave, y una de las mejores oportunidades para mejorar los resultados del tratamiento es a través de la detección temprana de candidatos para el tratamiento. Cuanto mayor sea la edad de la vaca, el número de cuartos infectados, la duración de la infección, o el nivel de RCS antes del tratamiento, menor es la probabilidad de cura (Barkema, 2006). La herramienta más eficiente para su control es la prevención de nuevas infecciones, que se logra a través de la eliminación de animales crónicos y la implementación de medidas profilácticas durante el ordeño (Almeida, 2014).

4.4.2 Mastitis causada por *Mycoplasma*

Este conjunto está compuesto al menos por siete especies, aunque el más prevalente es *Mycoplasma bovis*. Producen una mastitis muy contagiosa afectando a vacas de todas las edades y en diferentes etapas de lactación, incluyendo vacas secas. Estos microorganismos puede permanecer en los cuartos afectados del animal sin producir enfermedad pero diseminándose en el momento del ordeño. También ha sido aislado de vías respiratorias altas y vagina abarcando más vías de transmisión. (Radostis, 2002)

El tratamiento con antibióticos suele ser ineficaz, y junto con el descenso brusco en la producción láctea son las causas de descarte de vacas infectadas con *Mycoplasma*.

4.4.3 Mastitis causada por *Streptococcus agalactiae*

El *Str. agalactiae* causa mastitis contagiosa, aunque es el agente contagioso con menos patogenicidad. Es un coco Gram positivo, infecta la cisterna y los tubos lactíferos de la glándula mamaria, esta es su principal reservorio, por eso el ordeño y el ordeñador son los principales diseminadores de la enfermedad (Keefe, 2012).

La infección causada por *S. agalactiae* es asociada con altos recuentos de células somáticas y altos recuentos bacterianos en tanque debido a la liberación del

microorganismo por la glándula mamaria (National Mastitis Council, 1996), también afecta en cantidad y calidad de la leche producida (Keefe, 1997), debido a que destruye el tejido mamario, sin embargo se encuentran pocos casos clínicos (APHIS, 2008).

El tratamiento y control de este microorganismo es relativamente sencillo, debido a que *Str. agalactiae* presenta alta susceptibilidad a antimicrobianos (Makovec y Ruegg, 1994-2001). Medidas como sellado post ordeño y tratamiento al momento del secado han ayudado a la eliminación del agente en unos pocos años.

Si se busca la erradicación se instalan protocolos de tratamiento con seguimiento por aislamientos microbiano denominado "blitz-terapia" (Farnsworth y col, 2003), las vacas que son refractarias al tratamiento deberán ser descartadas del rodeo. Medidas de bioseguridad al momento de reintroducir animales al lote son eficaces para evitar la propagación de este agente (Keefe, 2012).

4.4.4 Mastitis causada por *Corinebacterium bovis*

Este microorganismo es considerado un patógeno menor contagioso (Bramley y col. 1996), vive como un comensal en el canal del pezón, causa inflamación leve que aumenta los recuentos de células somáticas, aunque no es responsable de altos recuentos de células somáticas en tanque (Bexiga R. y col., 2011). Un adecuado manejo de desinfección de pezones y el tratamiento al momento del secado controlan la infección con *C. bovis*. Ciertos estudios demuestran que los cuartos afectados con este agente aportan resistencia a infecciones con *S. aureus*, aunque aumenta la susceptibilidad de infecciones con *S. agalactiae*. (Pankey, J. W y col., 1985)

4.4.5 Mastitis causada por Coliformes

Escherichia coli y otras bacterias Gram negativas como *Pasteurella*, *Proteus*, *Pseudomonas* o *Serratia* son considerados agentes de mastitis ambientales, las cuales tienen mayor prevalencia en animales en estabulación que en rebaños pastoriles. La *E. coli* causa mastitis en animales en lactación, también en vacas secas y vaquillonas antes del parto. Las dos semanas posteriores al secado y las dos semanas anteriores al parto son las de mayor índice de infección intramamaria. (Radostis, 2002). La infección con *E. coli* puede sobrellevarse solo con mecanismos de defensas propios de la ubre, pero esto se compromete al comienzo de la lactancia debido a que la eficiencia y la rapidez de respuesta de los neutrófilos esta disminuida (Bradley y Green, 2001).

Estos microorganismos pueden provocar mastitis clínicas de muy severas, siendo fulminantes a mastitis agudas, esto depende de la liberación de endotoxinas durante la respuesta inmune del animal (Hogan y Smith, 2012).

El control de las mastitis causadas por coliformes debe enfocarse al periodo entre ordeños, ya que es en ese momento que se da el contagio, las camas de los animales, por ejemplo materiales como el aserrín son un gran reservorio de estas bacterias. El clima influye bastante en la proliferación de estos microorganismos como periodos de lluvias, presencia de barro y humedad en el ambiente. Se ha comprobado que un método de control efectivo ha sido el sellado y el secado de pezones antes del ordeño (Eberhart R. J., 1984).

4.4.6 Mastitis causada por *Streptococcus* ambientales

Estos organismos constituyen un grupo heterogéneo de géneros y especies bacterianas, siendo los más frecuentes aislados los *Streptococcus* y las bacterias coliformes. Los estreptococos ambientales causantes de mastitis bovina incluyen *Streptococcus uberis*, *Str. dysgalactiae*, *Streptococcus equinus* (anteriormente caracterizado como *Streptococcus bovis*), *Streptococcus equi*, *Streptococcus parauberis*, *Streptococcus canis*. Dentro de estos el *Str. uberis* y *Str. dysgalactiae* son los más prevalentes, causando infección intramamaria cuando se dan condiciones favorables. *Str. dysgalactiae* puede comportarse tanto como un patógeno ambiental como contagioso.

Los estreptococos ambientales son frecuentemente aislados tanto de muestras de mastitis subclínica como clínica.

La exposición de los pezones a estos agentes puede ocurrir tanto durante el ordeño, entre ordeños, durante el periodo de vaca seca así como antes del parto en vaquillonas primíparas. Los estreptococos ambientales y *Streptococcus uberis* en particular, han sido aislado de material de cama de ganado, suelo, rumen, materia fecal, vulva, labios, ollares, pezones y glándulas mamarias. También los forrajes, como los ensilados, pueden ser una fuente de contaminación para estos patógenos. (Calvinho, 2005).

4.4.7 Mastitis causada por *Streptococcus dysgalactiae*

Entre los estreptococos con el antígeno específico de pared celular C se presenta principalmente el *Str. dysgalactiae*. A diferencia de los estreptococos contagiosos (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus canis* y *L-estreptococos*) esta bacteria se encuentra frecuentemente fuera de la glándula mamaria. Debido a la buena capacidad para la adherencia al epitelio de la glándula mamaria, este patógeno puede causar mastitis subclínica y ocasionalmente mastitis clínica. La mastitis causada por *Str. dysgalactiae* se presenta esporádicamente y raramente tiene carácter contagioso, ha sido frecuentemente aislado de las infecciones intramamarias durante la lactancia y también durante el periodo seco (Calvinho, 2005).

4.4.8 Mastitis causada por *Streptococcus uberis*

El *Str. uberis* es un agente causal muy común de mastitis, sobre todo en el periodo seco de la vaca. Los factores de virulencia de este microorganismo dificultan su fagocitosis, siendo el porcentaje de curación menor que el resto de los *Streptococcus* (Saran A. y Chaffer M. 2000).

Aunque los mecanismos por los cuales el *S. uberis* genera las infecciones intramamarias durante el periodo seco o durante la lactancia no se conocen, la bacteria debe primero vencer las defensas del canal del pezón para luego entrar a la glándula mamaria. Durante la lactancia la desinfección de los pezones antes y después del ordeño, generalmente reduce la contaminación bacteriana, pero durante el periodo seco donde esa desinfección en el pezón falta en esos animales se ve incrementado el riesgo de contaminación por patógenos ambientales (Smith, K.L. 1983; Shearer, J. y Harmon, R. 1993).

4.4.9 Mastitis causada por Levaduras

Dentro del grupo de levaduras causales de mastitis tenemos principalmente a *Cryptococcus neoformans* y *Candida albicans*. Estas levaduras suelen aparecer principalmente como consecuencia de lesiones en los pezones y en el 80% de los casos relacionados con una terapia inmoderada de antibióticos. No existe una terapia efectiva. La infección suele ocurrir cuando, tras un tratamiento local con antibiótico no se toman las precauciones debidas de higiene, como ser desinfección de la punta del pezón. La tasa de curación terapéutica para estos patógenos causantes de mastitis es prácticamente cero, independientemente del tratamiento (McDougall y col., 2007). La curación de una vaca con mastitis por prototecas en general no es posible. Se recomienda sacrificar los animales infectados (Wolter y col., 2004).

4.4.10 Mastitis causada por *Staphylococcus coagulans* negativos

Más de 50 especies y subespecies conforman este grupo, caracterizado por no ser capaz de coagular plasma. Son bacterias Gram positivas, no tan patógenas como *S. aureus*, pero cuando persiste la infección provocan aumento en el recuento de células somáticas, también provocan alteraciones en la ubre bajando la calidad en la composición láctea. Más de 10 especies de SCN han sido aislados de muestras de leche de bovinos con mastitis, los más comunes han sido el *Staphylococcus chromogenes* y el *Staphylococcus simulans* (Trinidad y col., 1990; Matthews y col., 1992). *S. chromogenes* afecta mayormente a vaquillonas y vacas primíparas mientras que *S. simulans* ha sido aislado con mayor frecuencia de vacas múltiparas. También han sido aislados *Staphylococcus hyicus* y *Staphylococcus epidermidis* (Myllys, 1995; Thorberg y col., 2006). Son considerados patógenos menores ya que causan mastitis subclínicas. Las vacas y vaquillonas pueden contagiarse con estos agentes antes del periodo de lactación (Boddie y col., 1987; Trinidad y col., 1990; Green y col., 2005). Es difícil determinar cuáles especies dentro de los SCN se comportan como patógenos contagiosos o ambientales. Igualmente las medidas de control para patógenos contagiosos, como el sellado post ordeño disminuye la prevalencia de SCN en el rodeo.

4.5 Prevalencia de los agentes causales de mastitis en Uruguay

Según estudios realizados para el año 2015 el *S. aureus* fue el microorganismo más prevalente con el 28,8 %, seguido en mayor frecuencia por *E. coli* (21,7 %) y *Str. dysgalactiae* (14,3 %). *Str. agalactiae* represento el 2,1 %, *Str. uberis* (7,1 %).

En cuanto a otros microorganismos como ser *C. bovis*, levaduras y *Streptococcus* spp. la prevalencia no supero el 10%. (Larumbe y Vidart, 2016). Para Giannechini y col. (2014) el *S. aureus* fue el microorganismo más prevalente con el 23,1 %, seguido por *Str. dysgalactiae* (14,9%), SCN (5%), *Str. uberis* (4 %), *E. coli* (1,5 %), *Streptococcus* spp. (1,2%), *Str. agalactiae* (0,6%) y Levaduras (0,6%).

4.6 Etapa de transición en la vaca lechera y su relación con la mastitis

El periodo de transición es un periodo crítico de seis semanas, tres semanas antes y tres semanas después del parto. Este pasaje de estado preñado no lactante al no preñado lactante es un periodo de cambios drásticos para la vaca, la cual debe adaptar su metabolismo a las fuertes exigencias energéticas que le demanda la

producción de leche (Contreras, 2010), (Sordillo, 2009). La vaca necesita ajustar su metabolismo a una fuerte demanda de energía para producir leche, para la síntesis de lactosa se necesita una gran concentración de carbohidratos y a su vez toda la glucosa disponible en el organismo. Conjuntamente una semana antes del parto se manifiesta una falta de apetito fisiológico, el cual se puede demorar una semana posparto en recuperarse (Grummer, 2004), además se suma la disminución de ingesta de materia seca por un tema de volúmenes ruminales durante el parto. Estos factores provocan un balance energético negativo. El organismo tiene la necesidad de movilizar las reservas energéticas de los tejidos, siendo el tejido adiposo el principal. La baja en la concentración de glucosa en sangre provoca una disminución de la insulina, esto concluye en que la energía extraída del tejido adiposo se realice mediante lipólisis y produzca ácidos grasos libres no esterificados. Cuando hay altas concentraciones de ácidos grasos libres en sangre es muy probable que se presente una cetosis y un hígado graso (Herdt, 2000), esto se ve con frecuencia en vacas con una alta condición corporal, vacas obesas. (Kim y Shu, 2003).

Al mismo tiempo de los problemas metabólicos, el estado de preñez y el momento del parto provocan un aumento en muchas hormonas del estrés, las más importantes son las hormonas corticoesteroides que influyen negativamente en el nivel inmunológico del animal (Burton y Erskine, 2003).

La interacción entre los sistemas endocrino, metabólico y inmunitario (Stofkova, 2009; Pittman, 2011), provocan al momento del parto un aumento de la susceptibilidad del huésped a las infecciones (Trevisi y col., 2011). Es por todo esto que resulta fundamental realizar un buen manejo del animal durante el periodo de transición para asegurar la salud y una buena producción durante la lactancia.

4.7 Susceptibilidad a la mastitis durante el periodo seco

El periodo seco es el lapso de tiempo (60-90 días) en que la vaca lechera descansa de una lactancia a otra, la vaca seca tiene bajos requerimientos nutricionales y se prepara para el momento del parto y el reinicio de una nueva lactancia, sin embargo esta etapa es de suma importancia para el desarrollo reproductivo y productivo de la subsiguiente lactancia. El secado es fundamental para la regeneración y reactivación del epitelio secretor, y a su vez para generar defensas contra microorganismos causantes de mastitis. Al mismo tiempo permite la recuperación y mantenimiento de la condición corporal del animal (García, 2005).

El periodo seco lo podemos dividir en tres etapas, la primera etapa de involución, la fase de reposo o media, y la etapa de lactogénesis. La primera y la última etapa son las más críticas en cuanto a susceptibilidad frente a agentes causantes de mastitis (Oliver, 1988). La fase de reposo o media es la de mayor resistencia a infecciones, la mucosa de la cisterna del pezón secreta queratina, la cual brinda una protección mecánica y física, evitando así el ingreso de bacterias.

Los primeros 14 días luego del cese del ordeño corresponden a la etapa de involución de la glándula mamaria, se caracteriza por la disminución de la síntesis y secreción de componentes lácteos como grasa, caseína y lactosa. Contrastando el aumento de la concentración de inmunoglobulinas, lactoferrina, sodio, cloro, bicarbonato y albumina sérica. (Sordillo, 1988; Oliver, 1989). En este momento hay factores con respecto al pezón que facilitan la entrada de bacterias, como son la falta de arrastre que se producía durante el ordeño, la falta de desinfección del pezón al terminar el ordeño y el goteo que se puede producir en consecuencia a el aumento de presión intramamaria, el cual mantiene el esfínter abierto. La defensa tanto celular como

soluble de la glándula mamaria en ese momento está comprometida. Los neutrófilos y macrófagos presentes fagocitan bacterias junto con componentes de la leche como la grasa y caseína, pero la eliminación de las células epiteliales apoptóticas puede desviar la atención de estos y permitir la colonización de estos agentes. Conjuntamente al momento de la involución hay una baja concentración de citrato estando activa la lactoferrina y las inmunoglobulinas, sin embargo en la fase de lactogénesis la capacidad de captar el hierro de la lactoferrina se ve disminuida. (Sordillo, 1987; Oliver, 1989). En esta etapa final también influye la baja de inmunidad de la vaca en transición y finaliza la protección del antibiótico presente el pomo de secado.

Como medida profiláctica a infecciones en el periodo seco se utilizan antibióticos tanto intramamarios.

Se recomienda la aplicación junto con los pomos intramamarios con antibióticos de selladores internos, los que cierran de manera artificial y desde el interior el canal del pezón. El sellador es un ungüento, que se comercializa en forma de jeringa. A tienen como principio activo substrato de bismuto que simula el tapón de queratina y sella el canal y la cisterna del pezón mamario.

Más allá de los aspectos fisiológicos que ocurren en la glándula mamaria en el periodo seco, se debe de tomar en cuenta el momento en que se seca a la vaca. Si este no se realiza correctamente aumenta las posibilidades de encontrar recuento de células somáticas elevado dentro de la primera semana posparto. También el recuento de células somáticas tiende a aumentar a medida que se acerca el final de la lactancia, por un efecto de dilución mayoritariamente, la vaca disminuye la producción láctea y el número de células somáticas se concentra en un menor volumen de leche (Bedolla, 2008).

5. HIPÓTESIS

Existe una relación entre la salud de la ubre en el primer tercio de la lactancia y la salud de ubre en el momento del secado.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivos Generales

Estudiar la relación entre la salud de la ubre al momento del secado y en la lactancia temprana.

6.2 Objetivos Especificos

- Describir la ocurrencia de microorganismos causantes de mastitis por cuarto y prevalencia de microorganismos por vaca.
- Estudiar la prevalencia de mastitis en el trimestre previo al secado considerando como sanos aquellos animales con recuento de células somáticas menor o igual a 200.000 cel. /ml y menor o igual a 250.000 cel. /ml.
- Estudiar la prevalencia de mastitis en el primer trimestre posparto considerando como vacas sanas aquellas con un recuento de células somáticas menor o igual a 200.000 cel. /ml y menor o igual a 250.000 cel. /ml.
- Estudiar la evolución del recuento celular en el posparto y pre secado según los límites establecidos.
- Describir la evolución del aislamiento bacteriano y recuento de células somáticas entre el presecado y posparto.

7. MATERIALES Y METODOS.

El estudio se realizó en 2 establecimientos lecheros; ubicados en el departamento San José, Uruguay, uno con 145 vacas en ordeño con 5800 litros de leche promedio por lactancia, el otro con 117 vacas en ordeño con 6300 litros de leche promedio por lactancia. Se seleccionaron 29 vacas (n=29) multíparas. Se evaluaron 16 vacas del establecimiento Carreta Quemada en San José, y 13 vacas del Campo Experimental N°2 de la Facultad de Veterinaria en Libertad, San José.

Cabe destacar que a todas las vacas se secaron en promedio 57 días antes de la fecha de parto prevista. Los criterios de secado fueron que faltaran 60 días para el parto o que la producción diaria fuera menor a 8 lts. A todas las vacas se les aplicó pomo de secado con antibiótico. El producto utilizado en ambos establecimientos tiene en su composición Rifaximina al 0,1 g. y Parafina Líquida 5 ml.

7.1 Toma de muestras del ensayo experimental.

Se utilizaron para este estudio vacas Holando y cruce Holando por Jersey multíparas secadas desde febrero – agosto 2014, con parición desde marzo – octubre 2014.

A cada vaca se le tomó una muestra por cuarto, para aislamiento bacteriano en el momento del secado, y una segunda muestra por cuarto dentro de las 24 hs postparto. Las muestras se tomaron siguiendo las normas establecidas por el Nacional Mastitis Council (Hogan y col., 1999). Previo a la extracción de la muestra los pezones fueron lavados y secados, luego se eliminaron los primeros chorros de leche, los pezones y en especial el esfínter del pezón fueron higienizados con algodón humedecido en alcohol 70°. Luego se recolectaron de cada cuarto aproximadamente 10ml de leche en frasco estéril. Se identificaron las muestras con la fecha, número de cuarto y el número de identificación individual del animal propio del establecimiento. Se congelaron a -20°C y se enviaron al Laboratorio Veterinario de Diagnóstico Primario de la Asociación Rural de San José para su procesamiento, en un plazo máximo de un mes desde la fecha de extracción. Una vez llegadas al laboratorio las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, se sembró una muestra de 40µl en placa de medio agar triple soja (OXOID) suplementado con 3% de sangre estéril ovina. Se incubaron en un ambiente de aerobiosis a 37°C, y se analizaron en un rango de 24 y 48hs. Gracias a este medio de cultivo se pueden identificar las cepas hemolíticas α , β , γ . Cabe destacar que en nuestro país no se utilizan técnicas para el aislamiento de *Mycoplasma*.

Adicionalmente se tomaron muestras mensuales para recuento celular individual por vaca durante el trimestre previo al secado y durante el 1º trimestre postparto (5-90 días de lactancia). Estas se enviaron refrigeradas y con conservante (Bronopol) al Laboratorio COLAVECO.

Las vacas de las cuales se obtuvieron las muestras permanecieron en los establecimientos correspondientes respetando el manejo normal de los mismos.

7.2 Registro de Datos.

Los datos obtenidos se organizaron en planillas Excel (Microsoft Office Professional Plus 2010). Se calculó la prevalencia de vacas enfermas considerando enferma aquella que presentaba un RCS (recuento de células somáticas) igual o mayor a 200.000 cels/ml, se realizó una tabla para los tres meses previo al secado, y otra para

los tres meses posparto, contando la aparición de enferma por mes y por trimestre. Lo mismo se realizó con un límite entre sanas y enfermas de 250.000 cels/ml.

Se calcularon la frecuencia de animales que resultaron positivos al aislamiento bacteriano al momento del secado y al parto, considerando como enfermas aquellas que tuvieron al menos un aislamiento de algún microorganismo en alguno de sus cuartos. A su vez se analizó la prevalencia de los diferentes microorganismos causantes de mastitis. No se consideraron para este estudio las muestras contaminadas que fueron 1%

Se calculó también la prevalencia de vacas con un cuarto mamario infectado, con dos cuartos, tres cuartos y con los cuatro cuartos infectados, contabilizados al momento del secado y al momento del parto.

8. RESULTADOS

8.1. Resultado de los aislamientos microbianos al secado y al posparto.

En cuanto a la ocurrencia de microorganismos al secado se vio que, del total de muestras tomadas se aislaron 52 microorganismos, donde el microorganismo más frecuentemente aislado fue el *S. aureus* (35%)

TABLA I. MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN LOS AISLAMIENTOS AL SECADO.

MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN LOS AISLAMIENTOS AL SECADO		
Microorganismo	Número de microorganismos	Porcentaje
<i>S. aureus</i>	18	35%
SCN	15	29%
<i>C. bovis</i>	12	23%
<i>Str. dysgalactiae</i>	6	12%
<i>Bacilo G (-) fermentador</i>	1	2%
Total de microorganismos aislados	52	

De las 29 vacas muestreadas en el secado, 21 (72%) tuvieron aislamiento microbiano y 8 (28%) no tuvieron aislamiento. De las 21 que tuvieron cultivo, en 13 (62%) vacas se aisló solo un microorganismo y en 8 (38%) dos microorganismos.

El microorganismos más prevalente por vaca en los cultivos del secado fue *S. aureus* (20%).

En cuanto a las asociaciones de microorganismos aislados por vaca al secado se encontró que *S. aureus* + SCN (10%) fue la más frecuente.

TABLA II. PREVALENCIA MICROBIANA POR VACA AL SECADO.

PREVALENCIA MICROBIANA AL SECADO	
Microorganismos por vaca	N° de vacas
<i>S. aureus</i>	6
SCN	5
<i>C. bovis</i>	1
<i>Str. dysgalactiae</i>	1
Asociaciones de microorganismos por vaca	
<i>S.aureus</i> +SCN	3
<i>C.bovis</i> +SCN	2
<i>S. aureus</i> + <i>C.bovis</i>	1
<i>S.aureus</i> + <i>Str. dysgalactiae</i>	1
<i>Bacilo G(-)fermantador</i> + SCN	1
Vacas sin desarrollo bacteriano	
nd	8
TOTAL	29

En cuanto a la ocurrencia de microorganismos al posparto se vio que, del total de muestras tomadas se aislaron 20 microorganismos. En este caso el microorganismo más frecuentemente aislado fue SCN (35%).

TABLA III.. . MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN LOS AISLAMIENTOS AL POSPARTO.

MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN LOS AISLAMIENTOS AL POSPARTO		
Microorganismo	Número de microorganismos	Porcentaje
SCN	7	35%
<i>Bacilo G (-) fermentador</i>	6	30%
<i>Str. dysgalactiae</i>	5	25%
<i>Levadura</i>	1	5%
<i>S. aureus</i>	1	5%
Total de microorganismos aislados	20	

En lo que respecta al análisis de las muestras tomadas posparto, 12 (41%) del total de vacas del ensayo presentaron cultivo bacteriano positivo. De estas 12, en 10 (83%) se aisló solo un microorganismo y en 2 (17%) vacas dos microorganismos.

El microorganismo más prevalente en los cultivos del posparto fue SCN (14%).

En cuanto a las asociaciones de microorganismos aislados al posparto se encontraron solo 2 vacas, una con SCN + *Levadura* (3%) y otra con *Bacilo G- fermentador* + *Streptococcus spp* (3%).

TABLA IV. PREVALENCIA MICROBIANA POR VACA AL POSPARTO

PREVALENCIA MICROBIANA AL POSPARTO	
Microorganismos por vaca	Nº de vacas
SCN	4
Bacilo G- fermentador	3
<i>Str. dysgalactiae</i>	2
<i>S. aureus</i>	1
Asociaciones de microorganismos por vaca	
SCN+Levadura	1
<i>Bacilo G- fermentador</i> + <i>Streptococcus spp.</i>	1
Vacas sin desarrollo bacteriano	
nd	17
TOTAL	29

8.2. Numero de cuartos infectados por vaca en el secado y posparto

En lo que respecta al número de cuartos infectados, se determinó cuántos de ellos estaban infectados al secado y al posparto. En el secado, de las 21 vacas con cultivo positivo, el 29% solo tuvieron 1 cuarto infectado y un 71% tuvieron 2 o más cuartos infectados. En las muestras al posparto, de las 12 vacas infectadas, el 50% tenía solo un cuarto infectado, mientras que el 50% restante tenía 2 o más cuartos infectados.

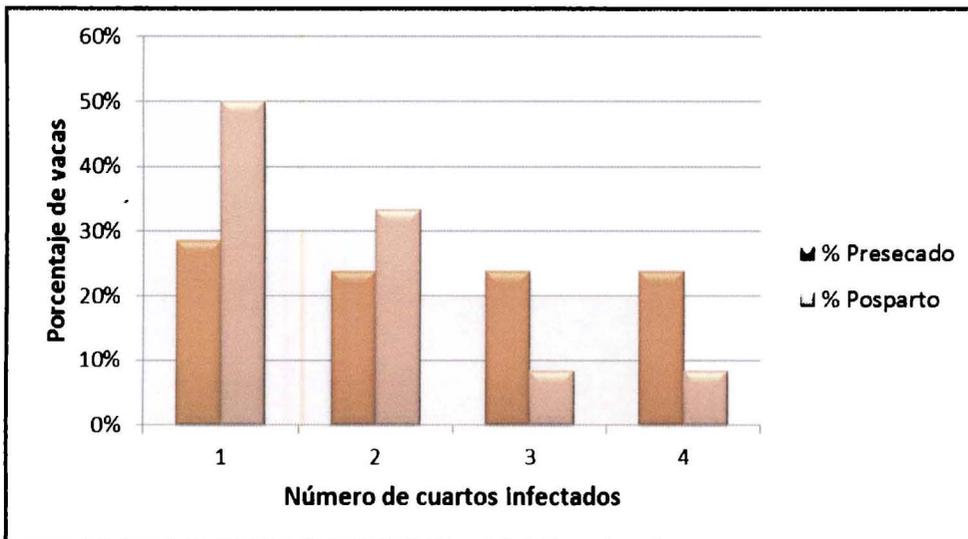


FIGURA 2. NÚMERO DE VACAS CON 1, 2, 3 Y/O 4 CUARTOS AFECTADOS AL SECADO Y POSPARTO.

8.3 Prevalencia de mastitis en el trimestre pre secado según recuento celular.

Cuando se consideró como límite 200.000 cel/ml se encontró que 20 (69%) vacas tuvieron al menos una muestra positiva en el trimestre pre secado. Para el límite de 250.000 cel/ml fueron 17 (59%) vacas positivas, como se muestra en la tabla IV.

TABLA V. PREVALENCIA SEGÚN RECuento CELULAR INDIVIDUAL EN EL TRIMESTRE PRESECADO PARA LOS LÍMITES ESTABLECIDOS.

Límites RCS	Presecado	
	≤200.000	≤250.000
Sanas	9	12
Enfermas	20	17
N° Vacas	29	29
Prevalencia	69%	59%

8.4 Prevalencia de mastitis en el trimestre posparto según recuento celular.

Al considerar como límite 200.000 cel/ml se encontró que 15 (52%) vacas tuvieron al menos una muestra positiva en el trimestre posparto, para el límite de 250.000 cel/ml fueron 14 (48%) los animales positivos, como se muestra en la tabla VI.

TABLA VI. PREVALENCIA SEGÚN RECUENTO CELULAR INDIVIDUAL EN EL TRIMESTRE POSPARTO PARA LOS LÍMITES ESTABLECIDOS.

Límites RCS	Posparto	
	≤200.000	≤250.000
Sanas	14	15
Enfermas	15	14
N° Vacas	29	29
Prevalencia	52%	48%

8.5 Relación entre aislamiento bacteriano y recuento celular

En cuanto a la relación entre recuento celular y cultivo bacteriano se encontró que de las 21 vacas con cultivo, en el secado 15 (71%) de estas presentaron a su vez RCS por encima de 200.000 cel/ml y 13 (62%) por encima de 250.000 cel/ml. En el caso del posparto, de las 12 vacas con cultivo positivo, 6 de ellas (50%) presentaron RCS por encima de 200.000 cel/ml y 5 (42%) por encima de 250.000 cel/ml.

A su vez se encontraron vacas con cultivo bacteriano positivo y sin respuesta celular. En el presecado 6 (28%) vacas tuvieron cultivo bacteriano positivo y RCS bajo para los dos límites (200.000 y 250.000 cel/ml), en el posparto de las 12 con aislamiento positivo 6 (50%) fueron sanas para los dos límites.

Así mismo se encontraron vacas con cultivo bacteriano negativo y respuesta celular mayor a 200.000 y 250.000 cel/ml, al pre_secado de las 8 (27%) vacas sin cultivo bacteriano, 4 (50%) tuvieron RCS mayores para los dos límites. En el posparto de 17(58%) sin cultivo bacteriano 9 (52%) mostraron RCS mayor a los límites fijados.

8.6 Evolución de Recuento Celular en el Presecado y Posparto según límites establecidos

Si evaluamos la curación para recuento celular en los trimestres presecado y posparto vimos que, para el rango de 200.000 cel/ml de las 20 vacas que estaban enfermas, 9 estaban sanas en el posparto. Para el rango de 250.000cel/ml 17 vacas estaban enfermas en el presecado y 7 sanas en el posparto.

TABLA VII. TASA DE CURACIÓN CONSIDERANDO RECUENTO CELULAR PARA TRIMESTRE PRESECADO Y POSPARTO.

	ENFERMAS PRESECADO	SANAS POSPARTO	TASA DE CURACION
200.000 cel/ml	20	9	0,45
250.000 cel/ml	17	7	0,41



8.7. Evolución de aislamiento bacteriano y recuento celular entre el presecado y posparto

Cuando se evaluó la curación tomando en cuenta recuento de células somáticas en el trimestre presecado y trimestre posparto en conjunto con el aislamiento bacteriano vimos que, 15 vacas presentaron recuento celular por encima de 200.000 cel/ml y aislamiento positivo (enfermas). En el posparto, de estas, 4 estaban sanas para ambos criterios. Así mismo, 13 vacas presentaron recuento celular por encima de 250.000 cel/ml con aislamiento positivo. De estas, 3 vacas estaban sanas al posparto.

TABLA VIII. TASA DE CURACIÓN CONSIDERANDO RECuento CELULAR Y CULTIVO BACTERIANO PARA TRIMESTRE PRESECADO Y POSPARTO.

	ENFERMAS PRESECADO	SANAS POSPARTO	TASA DE CURACION
200.000 cel/ml	15	4	0,27
250.000 cel/ml	13	3	0,23

Se evaluó también la tasa de curación considerando recuento celular y aislamiento bacteriano evaluando sólo un mes previo al secado (-1) y un mes posterior al parto (+1). Vimos que para el primer rango (≤ 200.000 cel/ml) de recuento de células somáticas la tasa de curación fue del 0,50 y para el segundo (≤ 250.000 cel/ml) 0,60.

TABLA IX. TASA DE CURACIÓN CONSIDERANDO RECuento CELULAR Y CULTIVO BACTERIANO PARA LOS MESES -1 Y +1.

	ENFERMAS PRESECADO	SANAS POSPARTO	TASA DE CURACION
200.000 cel/ml	12	6	0,50
250.000 cel/ml	10	6	0,60

9. DISCUSION

9.1 Aislamientos microbianos al secado y al posparto.

La prevalencia de infecciones intramamarias por vaca obtenida fue del 72% en el secado y del 38% en el posparto temprano. Para Pinedo y col., (2012) la prevalencia de infecciones intramamarias al secado y al posparto fue de 19.2% y 12.9%, respectivamente, estos autores muestrearon 402 vacas y tomaron un pool de los cuatro cuartos. El porcentaje al posparto fue menor, igual que nuestro resultado. De Torres (2010) realizó aislamientos mensuales por cuarto a lo largo de la lactancia observando que aumentaban los aislamientos a medida que avanzaba la misma.

Varios microorganismos fueron hallados tanto al presecado como al posparto. Nuestros resultados no difieren en cuanto a los tipos de microorganismos encontrados de otros trabajos similares con mayor número de animales en estudio. (Pantoja y col, 2009; Pinedo y col, 2012; Bradley y col, 2015).

El microorganismo más frecuentemente encontrado al secado fue *S. aureus*. Este dato coincide con el estudio realizado por Bradley y col en el 2015, en el cual se tomaron muestras (n= 1816) al momento del secado provenientes de seis países de Europa. En nuestro ensayo los SCN fueron los microorganismos más prevalentes al momento del parto, lo que concuerda nuevamente con el trabajo de Bradley y col. 2015. Pantoja y col, (2009), encontró resultados semejantes, aunque en este último trabajo realizado en Wisconsin, Estados Unidos, no hubo aislamientos de *S. aureus*. Pinedo y col, (2012) al igual que nuestro ensayo, al secado, obtuvo más prevalencia de *S. aureus* (7.5%) y en el posparto los agentes más aislados fueron lo *Staphylococcus spp.* (5,6%). En este estudio se clasificaron las especies de *Staphylococcus* según su capacidad de coagular plasma, es por esto que podemos decir que en la clasificación *Staphylococcus spp.* entran los SCN, de esta manera los resultados son similares a los obtenidos en nuestro ensayo. Para el estudio realizado por Facal, (2015) en dos tambos en Uruguay, también los agentes más prevalentes al momento del posparto fueron los SCN (47%) junto con *Str. uberis* y *Str. dysgalactiae* (47% los dos sumados). Es válido mencionar que se muestrearon solamente vacas que al secado estaban sanas según RCS (≤ 200.000 cel/ml). Se confirma junto a otros autores que los SCN son el grupo de patógenos que más se ha aislado en vacas en lactación (Harmon y Langlois, 1986; Hogan y col., 1987; Timms y Schultz, 1987). Esto puede estar relacionado a que el ordeño mecanizado aumenta la prevalencia de los *Staphylococcus* (*S. aureus* y SCN), según Laborde, (1981).

Para Giannechini y col., (2002), *S. aureus* fue el patógeno más aislado de casos sub-clínicos en la cuenca lechera tradicional del sur (48.3%), seguido por SCN (15.2%). Los dos establecimientos analizados en nuestro ensayo forman parte de la citada cuenta sur. Estos resultados se siguen observando también en otros trabajos como el de Vidart y Larumbe (2016) los cuales estudiaron agentes causales de mastitis clínica, a diferencia que los nombrados anteriormente. Tanto para el año 2014 como para el 2015 el *S. aureus* fue el microorganismo más prevalente en nuestro país.

Las asociaciones más frecuentes en vacas en el secado fueron *S. aureus* + SCN (10%) y *C. bovis* + SCN (0.07%). Las prevalencias encontradas por De Torres (2010) fueron menores para estas asociaciones, *S. aureus* + SCN en un 0,001% y *C. bovis* + SCN en un 0,003%. Giannechini y col., (2002) obtuvieron en su ensayo. varias

asociaciones con *S. aureus*, la asociación de *S. aureus* + SCN obtuvo una prevalencia del 0,9%. Ciertos estudios demuestran que los cuartos afectados en asociación con *C. bovis* aportan resistencia a infecciones con *S. aureus*, aunque aumentan la susceptibilidad de infecciones con *Str. agalactiae*, pero no tenemos la certeza de cómo se comporta frente a una colonización de SCN. (Pankey y col., 1985). Matthews y col., (1991) estudió la incidencia de nuevas infecciones intramamarias con patógenos mayores en cuartos infectados con SCN y cuartos no infectados, no encontrando diferencias en el número de nuevas infecciones. En el posparto se observó la asociación de SCN + *Levadura* en una vaca y en otra *Bacilo G- fermentador* + *Streptococcus spp.* La asociación con *Levadura* o *Bacillus spp.* son considerados saprófitos por algunos autores, aunque a veces pueden ser productores de mastitis (Nickerson, 2009).

9.2 Número de cuartos infectados por vaca en el secado y posparto.

Si hablamos del número de cuarto infectado por vaca, en nuestros resultados vemos que la mayoría de las vacas están infectadas de más de un cuarto a la vez. En un estudio realizado por Shittu y col. (2012) en Nigeria, con cuatro razas de vacas, Holando y tres razas cebuinas, se recabaron datos de RCS por California Mastitis Test (CMT) a diferencia de nuestro trabajo que tomamos en cuenta aislamiento bacteriano. Igualmente encontraron que el 30.33% de las vacas tenían solo un cuarto con mastitis subclínica y el 53% tenían más de un cuarto afectado, asemejándose a nuestros resultados.

9.3 Evolución del recuento celular en el posparto y pre secado según los límites establecidos.

Tanto para el trimestre presecado como para el posparto se vio que los recuentos celulares para cada uno de los límites tuvieron diferencias cuantitativas, sin embargo no se puede aseverar la significancia de las mismas. Si se comparan los mismos límites al presecado con los del posparto si encontramos diferencias. En el presecado el 69% de las vacas tuvo valores por encima de 200.000 cel/ml. y el 59% por encima de 250.000 cel/ml. En cuanto al posparto la prevalencia fue menor; 52% y 48% respectivamente. Al igual que los mencionados resultados, Pantoja y col, (2009) uso como límite mayor o igual a 200.000 cel/ml. y también encontró que la prevalencia al posparto (37.4%) fue menor que al presecado (19,3%). Lo mismo ocurrió en un estudio realizado en Warnes (Bolivia) por Montero y col; 2002. En este se realizaron controles con CMT (lo cual evidencia de forma indirecta la presencia de células inflamatorias) a 443 vacas tomando en cuenta el periodo de lactancia. Se encontró mayor grado de positividad en vacas de 180 a 270 días de lactancia con 56%, al igual que nuestros resultados al presecado, mientras que las comprendidas entre 0 a 90 días de lactancia tuvieron un 44% de positividad, similar a los nuestros datos posparto. La diferencia entre los dos periodos muestreados son esperables, ya que los tratamientos al secado suelen eliminar las infecciones, por ende disminuir la repuesta inflamatoria. Según Schultz (1977) la principal razón para el aumento de células somáticas es el estado de infección de la glándula mamaria, cualquier otro factor tiene un efecto menor. En esto nos basamos para decir que hubo una infección al presecado y en el periodo seco curó gracias al tratamiento de secado. Debido a que contamos con información de la producción individual promedio en la que se secaron las vacas (8 l.), podemos desechar la teoría de Bedolla, (2008), el cual propone que al final de la lactancia, los

recuentos al momento del secado pueden mostrarse altos por concentración de células somáticas en bajo volumen de leche.

9.4 Relación entre aislamiento bacteriano y recuento celular

En nuestro estudio se presentaron casos tanto al presecado como al posparto en el que hubo recuentos de células somáticas elevados, vacas enfermas para este parámetro pero sin un aislamiento positivo. Cabe destacar que hay un desfase en la toma de muestra para el aislamiento bacteriano y la muestra de leche para el recuento de células somáticas, lo que nos hace suponer que puede que la infección no coincida con el momento de la extracción de leche para el cultivo bacteriológico. Hay evidencia de trabajos como el de De Torres (2010) que obtuvo en su estudio del total de recuentos celulares mayores a 200.000 cel/ml, un 41% sin aislamiento bacteriano. Giannechini y col (2002) en un trabajo realizado en el Litoral Oeste del Uruguay, encontró como nuestros resultados, una elevada proporción de cuartos con RCS por encima de 300 000 cel./ml, diagnosticados con mastitis subclínica sin desarrollo bacteriano (55.1%). Esto también es partidario a que los microorganismos pueden tener excreción intermitente en leche (Tuchscher y col, 2010). Algunos trabajos demuestran que el aumento en el recuento celular como consecuencia de una respuesta inflamatoria está influenciada por el patógeno que la causa (Eberhart y col, 1987; Schalm y col, 1971; Smith y col, 1985) y la persistencia de la infección, la etapa de la lactación (Hogan y col, 1987; Cullor, 1991), la edad de la vaca (Smith y col, 1985, Hogan y col, 1987), el estado inmunitario de la vaca (Cullor, 1991; Nickerson y col, 1993), la genética (Kehrli y col, 1991), y la nutrición de la misma, por ejemplo la deficiencia de selenio y vitamina E; haciendo estos factores variar la magnitud de la respuesta celular.

Por el contrario hubo casos en que vacas con cultivo bacteriano positivo no demostraron respuesta celular. De Torres, (2010) también obtuvo casos de vacas con recuentos celulares menores o iguales a 200.000 cel/ml con aislamientos positivos (31%). En este estudio se le atribuyo al *C. bovis* esta situación, por ser un patógeno menor que no provoca una respuesta celular mayor al límite establecido (Pyörälä y Taponen, 2009). Como en nuestro estudio hubo alta prevalencia para *S. aureus* se cree que estos casos pueden deberse a que en infecciones tempranas con este patógeno no se encuentra respuesta celular, el mismo evita la respuesta inmune para lograr la permanencia intracelular (Tuchscher y col, 2010).

9.5 Evolución de aislamiento bacteriano y recuento de células somáticas entre el presecado y posparto.

Si se observa la evolución de las vacas en el periodo en estudio considerando solo los recuentos celulares individuales, para el límite menor o igual a 200.000 cel/ml. la tasa de curación fue del 0.45, y para el límite menor o igual a 250.000 cel/ml la tasa fue de 0.41. Algunos autores han considerado que cuando se seca un cuarto inflamado, o sea recuentos celulares mayores a 200.000 cel/ml., hay más probabilidad de tener una infección subclínica en el posparto temprano (Pantoja y col., 2009; Gundelach y col., 2011), esto se relaciona con la baja tasa de curación obtenida en nuestro trabajo.

Sin embargo si además de tomar en cuenta los recuentos celulares, nos fijamos en los aislamientos bacterianos positivos, las tasas de curación cambian. Tomando como periodo de tiempo el trimestre presecado y el trimestre posparto, para el límite menor

o igual a 200.000 cel/ml. obtenemos una tasa de 0.27 y para el otro límite menor o igual a 250.000 cel/ml. la tasa fue de 0.23. La baja tasa de curación la adjudicamos a la unidad de tiempo tomada, ya que cuando la cambiamos por los recuentos celulares en el último mes presecado y el primer mes posparto la curación aumenta. Para el límite menor o igual a 200.000 cel/ml la tasa fue de 0,50 y para el límite menor o igual a 250.000 cel/ml fue de 0.60. Estos últimos resultados en cuanto a curación nos parecen más adecuados, las vacas en estudio fueron tratadas al momento del secado y según Nickerson, (2009), los tratamientos al momento del secado son más eficientes que durante la lactancia. Gundelach y col., (2011) encontró que la tasa de curación en el periodo seco fue mayor para vacas multíparas con edad avanzada, como las que contamos en nuestro estudio, que para vacas jóvenes.

10. CONCLUSIONES

- Las vacas presentaron mayor número de microorganismos al final de la lactancia (secado) que al comienzo de la misma (posparto). *S. aureus* fue el microorganismo más frecuentemente aislado al secado y *SCN* al posparto. La mayoría de las vacas con aislamiento presentó un solo tipo de microorganismo tanto al secado como al posparto. Las infecciones bacterianas se presentaron, en la mayoría de las vacas, en más de un cuarto mamario.
- Hubo más vacas con mastitis subclínica en el trimestre presecado que en el trimestre posparto para los dos límites considerados según RCS.
- La mayoría de las vacas presentan recuentos celulares altos como consecuencia de una infección bacteriana intramamaria.
- La tasa de curación fue mejor si tomamos en cuenta la ausencia de aislamiento bacteriano y RCS menores a los límites fijados, considerando como unidad de tiempo el mes previo al secado y el mes posterior al parto. Debido a la tasa de curación obtenida concluimos que las vacas no tenían infecciones crónicas con *S. aureus*.

11. BIBLIOGRAFIA

1. Almeida RA. (2014). Patogénesis de la mastitis bovina. Actas del II congreso Red Latinoamericana de Investigación en Mastitis, Costa Rica. Pp.23.
2. APHIS (2008) Prevalence of Contagious Mastitis Pathogens on U.S. Dairy Operations. Fort Collins, United States Department of Agriculture. Disponible en: https://www.aphis.usda.gov/animal_health/nahms/dairy/downloads/dairy07/Dairy07_i_s_ContMastitis.pdf. Fecha de consulta: 17/07/2017.
3. Barkema HW, Schukken YH, Zadoks RN. (2006). Invited Review: The Role of Cow, Pathogen, and Treatment Regimen in the Therapeutic Success of Bovine *Staphylococcus aureus* Mastitis. *J. Dairy Sci.* 89: 1877–1895.
4. Bedolla, CC. (2004). Métodos de detección de la mastitis bovina. *REDVET* 8(9) Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n090907/090702.pdf> Fecha de consulta: 22/11/17.
5. Bedolla CC. (2008). Importancia del conteo de las células somáticas en la calidad de la leche bovina. Disponible en: http://www.monografias.com/trabajos57/celulas-somaticas_bovina/celulas-somaticas-bovina2.shtml#ixzz4zI3DK4uW. Fecha de consulta: 27/08/2017.
6. Bedolla, CC. (2008). Pérdidas económicas ocasionadas por la mastitis bovina en la industria lechera. *REDVET* 9(4) Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n040408/040805.pdf> Fecha de consulta: 22/11/17.
7. Bexiga R, Pereira H, Pereira O, Leitão A, Carneiro C, Ellis KA, viela, CL (2011). Observed reduction in recovery of *Corynebacterium* spp. From bovine milk samples by use of trat cannula. *J Dairy Res* 78:9-14.
8. Boddie RL, Nickerson SC, Owens WE, Watts JL, (1987). Udder microflora in nonlactating heifers. *Agric. Pract.* 8: 22–25.
9. Bradley A, Green M (2001). Adaptation of *Escherichia coli* to the bovine mammary gland. *J Clin Microbiol*, 38: 1845-1849.
10. Bradley A, De Vlieghe S, Green M J, Larrosa P, Payne B, Van de Leemput E S, Samson O, Valckenier D, Van Werven T, W. Waldeck H , White H, Goby L (2015). An investigation of the dynamics of intramammary infections acquired during the dry period on European dairy farms. *J. Dairy Sci.* 98:6029–6047.
11. Bramley A, Cullor J, Erskine R, Fox L, Harmon R, Hogan J, Nickerson S, Oliver S, Smith K, Sordillo L (1996). *Current Concepts of Bovine Mastitis*. 4a ed. Madison, National Mastitis Council, 64 p.
12. Burton JL, Erskine RJ, (2003). Immunity and mastitis. Some new ideas for an old disease. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 19: 1-45.

13. Calvinho L. (2005). Estreptococos ambientales causantes de Mastitis bovina. Jornada Técnica de Actualización en Mastitis, Montevideo, Uruguay, 20 de mayo de 2005. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/09-estreptococos_ambientales.pdf Fecha de consulta: 22/11/17.
14. Capurro A, Aspán A, Unnerstad HR, Waller KP, Artursson K. (2010). Identification of potential sources of Staphylococcus aureus mastitis problems. J. Dairy Sci. 93, 180-191.
15. Contreras GA, O'Boyle NJ, Herdt TH, Sordillo, LM (2010) Lipomobilization in periparturient dairy cows influences the composition of plasma nonesterified fatty acids and leukocyte phospholipid fatty acids. J Dairy Sci, 93 (6):2508–16.
16. Contreras GA, Rodriguez JM, (2011). Mastitis: Comparative and Epidemiology. J Mammary Gland Biol Neoplasia. 16:339-356
17. Cullor JS. (1991). The role of vaccines in prevention and moderation of clinical mastitis. 30 Annual meeting. National mastitis Council. Reno, Estados Unidos, p 68.
18. De Torres E. (2010). Estudio de la evolución del recuento celular y el aislamiento bacteriano durante la lactancia en vacas lecheras. Tesis de Maestría. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, 53 p.
19. DIEA (2016). Anuario Estadístico. Montevideo, Dirección de Estadísticas Agropecuarias, 198 p.
20. Eberhart RJ (1984). Coliform Mastitis. Vet Clin North Am Large Anim Pract. ;6(2):287-300
21. Eberhart RJ, Harmon RJ, Jasper DE, Natzke RP, Nickerson SC, Reneau JK, Row EH, Smith KL, Spencer SB. (1987). Current Concepts of Bovine Mastitis. 3ª ed. Arlington, VA, 47p.
22. Erskine RJ. (1998). Recombinant bovine interleukin-2 and dry cow therapy: efficacy to cure and prevent intramammary infections, safety, and effect on gestation. J. Dairy Sci. 81(1): 107-115.
23. Facal F. (2015). Uso del sellado de pezones en vacas lecheras durante el parto para prevención de infecciones intramamarias. Tesis de grado. Facultad de Veterinaria, Universidad de la República, 42 p.
24. Farnsworth R, Stewart S, Reid D. (2003). Dealing with Streptococcus agalactiae Mastitis. Seminars and Workshops. Disponible en: <https://www.qualitycounts.umn.edu/sites/qualitycounts.umn.edu/files/f-mc-2.pdf> Fecha de consulta: 22/11/17.
25. García G. (2005). Manejo del periodo seco y su influencia en la producción y reproducción. En: González-Stagnaro, C, Soto Beloso, E. Manual de Ganadería Doble Propósito. Maracaibo, Fundación Girarz, pp. 271-275.

26. Gianneechini R, Parietti I, De María P. (2002). Evaluación de pérdidas económicas relacionadas a mastitis para establecimientos lecheros en Uruguay. INIA Jornada de Lechería. Nº287, pp. 30-35.
27. Gianneechini R, Concha, C.; Rivero, R.; Delucchi, I.; Moreno López, J. (2002) Ocurrencia de mastitis clínica y subclínica en rodeos lecheros de la Región Litoral Oeste en Uruguay. Jornada de lechería, 2002, La Estanzuela, Colonia, Uruguay.
28. Gianneechini R, Concha C, 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 (Montevideo) 54 Disponible en: <http://www.revistasmvu.com.uy/ultimo-numero/74-cientificos/266-cientifico-mastitis-bovina-reconocimiento-de-los-patogenos-y-su-resistencia-antimicrobiana-en-la-cuenca-lechera-del-sur-de-uruguay.html> Fecha de consulta: 22/11/17.
29. Green MJ, Green LE, Bradley AJ, Burton PR, Schukken YH, Medley GF. (2005). Prevalence and associations between bacterial isolates from dry mammary glands of dairy cows. Vet. Rec. 156: 71–77.
30. Grummer RR, Mashek DG, Hayirli A. (2004). Dry matter intake and energy balance in transition period. Vet Clin North Am Food Anim Pract; 20 (3):447–70.
31. Gundelach Y, Kalscheuer E, Hamann H, Hoedemaker M. (2011) Risk factors associated with bacteriological cure, new infection, and incidence of clinical mastitis after dry cow therapy with three different antibiotics. J. Vet. Sci. 12(3): 227-233
32. Harmon RJ, Langlois BE. (1986). Prevalence of minor mastitis pathogens and associated somatic cell counts. Annual meeting. National Mastitis. Columbus, Estados Unidos, 25:11.
33. Harmon, RJ. (1994). Symposium: mastitis and genetic evaluation for somatic cell count. J Dairy Sci. 77:2103-2112.
34. Herdt TH. (2000) Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. Vet Clin North Am Food Anim Pract; 16(2):215–30.
35. Hillerton J, Berry E. (2005). Treating mastitis in the cow- a tradition or an archaism. J Appl Microbiol. 98:1250-1255.
36. Hogan JS, Pankey JW, Smith KL. (1987). Staphylococcus species other than Staphylococcus aureus. Annual meeting. National Mastitis Council. Verona, Estados Unidos, p. 21.
37. Hogan JS, Gonzalez RN, Harmon RJ, Nickerson SC, Oliver SP, Pankey JW, Smith KL. (1999). Laboratory handbook on bovine mastitis. Madison, National Mastitis Council, 222 p.

38. Hogan, JS, Smith KL. (2012). Managing Environmental Mastitis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 28:217–224.
39. International Dairy Federation. (1987). Bovine mastitis: Definition and guidelines for diagnosis. Bulletin No. 211/1987, 24 p.
40. Keefe G. (1997). *Streptococcus agalactiae* mastitis: a review. *Can Vet J*; 38(7):429–37.
41. Keefe G. (2012). Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim Pract*, 28: 203-216.
42. Kehrli ME, Weigel KA, Freeman AE, Thurston JE, and Kelley DH (1991). Bovine sire effects on daughter's in vitro blood neutrophil functions, lymphocyte blastogenesis, serum complement, and congenitally levels. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 27: 303-319.
43. Kim IH, Suh GH. (2003). Effect of the amount of body condition loss from the dry to near calving periods on the subsequent body condition change, occurrence of postpartum diseases, metabolic parameters and reproductive performance in Holstein dairy cows. *Theriogenology*; 60(8):1445–56.
44. Korhonen H, Kaartinen L (1995). Changes in the composition of milk induced by mastitis. En: Sandholm M, Honkanen-Buzalski T, Kaartinen L, Pyri S, ed. *The bovine udder and mastitis*. Helsinki, University of Helsinki, pp. 76–82.
45. Laborde M, Barriola J, Bermudez J, Bonilla M. (1981). Mastitis subclínica: etiología y distribución de la infección en cuartos mamarios de vacas ordeñadas manual y mecanizadamente. *Veterinaria* 76: 75-80.
46. 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, 32 p.
47. Makovec JA, Ruegg PL. (2003) Antimicrobial resistance of bacteria isolated from dairy cow milk samples submitted for bacterial culture: 8,905 samples. *J Am Vet Med Assoc*; 222:1582–9.
48. Matthews KR, Harmon RJ, Langlois BE. (1991). Effect of naturally occurring coagulase-negative staphylococci infections on new infections by mastitis pathogens in the bovine. *J. Dairy Sci.* 74: 1855-1859.
49. Matthews KR, Harmon RJ, Langlois BE. (1992). Prevalence of *Staphylococcus* species during the periparturient period in primiparous and multiparous cows. *J. Dairy Sci.* 75: 1835–1839.
50. McDougall S, Arthur DG, Bryan MA, Vermunt JJ, Weir AM. (2007). Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. *Vet J* 55:161-170.

51. Middleton JR. (2013). Staphylococcus aureus Mastitis: have we learned anything in the last 50 years. National Mastitis Council Proceedings. Disponible en: <http://www.nmconline.org/articles/staphaureus50.pdf> Fecha de consulta: 23/09/2017
52. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (2016) Anuario OPYPA. Montevideo, Oficina de Planeamiento y Producción Agropecuaria. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/unidad-ejecutora/oficina-de-programacion-y-politicas-agropecuarias/publicaciones/anuarios-opypa/2016> Fecha de consulta: 20/10/2017.
53. Montero R, Ortiz J, Burela E. (2002). Determinación de mastitis subclínica en vacas lecheras (Canton Tocomechi Provincia Warnes). Tesis de grado. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UAGRM, 14 p.
54. Moroni P. (2014). *Staphylococcus aureus*: epidemiology, treatment, prevention and then. Actas del II congreso Red Latinoamericana de investigación en Mastitis, Ciudad Costa Rica. Pp 61-63.
55. Myllys V. (1995). Staphylococci in heifer mastitis before and after parturition. J. Dairy Res. 62: 51–60.
56. National Mastitis Council. (1996). Current Concepts of Bovine Mastitis. 4^a ed. Madison, WI. NMC. 64 p.
57. Nickerson SC, Owens WE, Boddie RL (1993). Effect of a *Staphylococcus aureus* bacterin on serum antibody, new infection, and mammary histology in nonlactating dairy cows. J. Dairy Sci. 76:1290-1297.
58. Nickerson SC. (2009). Control of heifer mastitis: antimicrobial treatment-an overview. Vet Microbiol. 134(1-2):128-35.
59. Oliver SP, Sordillo LM (1988). Udder health in the periparturient period. J Dairy Sci, 71(9):2584-606.
60. Oliver SP, Sordillo LM (1989). Approaches to the manipulation of mammary involution. J Dairy Sci, 72(6):1647-64.
61. Owens WE, Oliver SP, Gillespie BE, Ray CH, Nickerson SC. (1998). Role of horn flies (*Haematobia irritans*) in *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in dairy heifers. Am. J. Vet. Res 59(9) 1122-1124
62. Pankey JW, Nickerson C, Boddie L, Hogan S. (1985). Effects of *Corynebacterium bovis* Infection on Susceptibility to Major Mastitis Pathogens. J Dairy Sci 68:2684-2693.
63. Pantoja JCF, Hulland C, Ruegg PL. (2009) Dynamics of somatic cell counts and intramammary infections across the dry period. Prev Vet Med 90:43–54.
64. Philpot WN, Nickerson SC. (1991). Mastitis: Counter Attack. A strategy to combat mastitis. Naperville, Babson Bros, 150p.

65. Philpot, N. (2001). Importancia de la cuenta de células somáticas y los factores que la afectan. III Congreso Nacional de control de Mastitis y Calidad de la Leche. León Guanajuato, Mexico. 26 p.
66. Pinedo PJ, Fleming C, Risco CA. (2012). Events occurring during the previous lactation, the dry period, and peripartum as risk factors for early lactation mastitis in cows receiving 2 different intramammary dry cow therapies. *J. Dairy Sci.* 95 :7015–7026.
67. Pittman DQJ. (2011). A neuro-endocrine-immune symphony. *J. Neuroendocrinol.* 23: 1296–1297.
68. Pyörälä S, Taponen S. (2009) Coagulase-negative staphylococci–Emerging mastitis pathogens. *Vet Microbiol.* 134(1–2):3–8.
69. Radostis OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. (2002). Mastitis, En: Radostis, O.M.; Gay, C. C.; Blood, D. C., Hinchcliff, K. W. *Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado bovino, ovino, porcino, caprino y equino.* 9ª ed. Madrid, Interamericana, Vol. 1, pp 711-716.
70. Riollet C, Rainard P, Poutrel B. (2000). Differential induction of complement fragment C5a and inflammatory cytokines during intramammary infections with *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Clin Diagn Lab Immunol.* 7(2):161-167.
71. Roberson JR. (1999). The Epidemiology of *Staphylococcus aureus* on Dairy Farms. Annual Meeting National Mastitis Council Annual, Arlington, Estados Unidos, 38 p.
72. Ruegg P. (2005). Estafilococos aureus en español. Milk Quality Factsheet. Disponible en: http://milkquality.wisc.edu/wp-content/uploads/2011/09/estafilococos-aureus_spanish.pdf Fecha de consulta: 10/03/2016.
73. Saran A, Chaffer M. (2000). Agentes causantes de Mastitis. En: Saran, A., Chaffer, M. *Mastitis y calidad de la leche.* Buenos Aires, Intermédica, pp 11-26.
74. Schalm W, Carroll EJ, Jain NC. (1971). *Bovine Mastitis.* Philadelphia, Lea & Febiger, 360 p.
75. Schultz LH. (1977). Somatic cell counting of milk in production testing programs as a mastitis control technique. *J. Am. vet. med. Ass.* 170: 1244-1246.
76. Shearer J, Harmon R. (1993). Mastitis in heifers. *Vet. Clin. North Am. Food Anim Pract,* 9: 583-595.
77. Shittu A, Abdullahi J, Jibril A, Mohammed AA, Fasina FO. (2012). Sub-clinical mastitis and associated risk factors on lactating cows in the Savannah Region of Nigeria. *BMC Vet Res,* 8:134
78. Smith KL. (1983). Mastitis control: A discussion. *J. Dairy Sci.* 66:1790–1794.

79. Smith KL, Todhunter DA, Schoenberger PS. (1985). Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. *J. Dairy Sci.* 68:1531-1553.
80. Sordillo LM, Nickerson SC, Akers RM, Oliver SP. (1987). Secretion composition during bovine mammary involution and the relationship with mastitis. *Int J Biochem.* 19(12): 1165-72.
81. Sordillo LM, Nickerson SC (1988). Morphologic changes in the bovine mammary gland during involution and lactogenesis. *Am J Vet Res.* 49(7):1112-20.
82. Sordillo LM, Shafer-Weaver K, De Rosa D. (1997). Immunobiology of the mammary gland. *J Dairy Sci*; 80(8):1851- 1865.
83. Sordillo LM, Contreras GA, Aitken SL. (2009). Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. *Anim Health Res Rev* ;10(1):53-63.
84. Stofkova A. (2009). Leptin and adiponectin: from energy and metabolic dysbalance to inflammation and autoimmunity. *Endocr. Regul.* 43:157-168.
85. Taponen S, Salmikivi L, Simojoki H, Koskinen MT, Pyörälä S. (2009). Real-time polymerase chain reaction based identification of bacteria in milk samples from bovine mastitis with no growth in conventional culturing. *J. Dairy. Sci.* 92: 2610-2617.
86. Taponen SS, Simijoki HK. (2014) Update on opportunistic pathogens: coagulase-negative Staphylococci. Disponible en: <http://nmconline.omnibooksonline.com/57129-nmc-1.240505/t-001-1.1241183/f-012-1.1241193/a-012-1.1241194?qr=1> Fecha de consulta: 15/10/2017.
87. Thorberg BM, Kuhn I, Aarestrup FM, Brandstrom B, Jonsson P, Nielsson-Tham ML. (2006). Pheno- and genotyping of *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine milk and human skin. *Vet. Microbiol.* 115:163–172.
88. Timms LL, Schultz LH. (1987). Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. *J Dairy Sci.* 70:2648-2657.
89. Tizard IR. (1998). *Inmunología veterinaria*. 5ª ed. Mexico, McGrawhill, 567p.
90. Trevisi E, Amadori M, Archetti I, Lacetera N, Bertoni G. (2011). Inflammatory response and acute phase proteins in the transition period of high-yielding dairy cows. Disponible en: <http://cdn.intechweb.org/pdfs/21681.pdf> Fecha de consulta: 23/11/17.
91. Trinidad P, Nickerson SC, Alley TK, (1990). Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 73:107–114.
92. Tuchscher L, Löffler B, Buzzola FR, Sordelli DO. (2010) *Staphylococcus aureus* adaptation to the host and persistence: role of loss of capsular polysaccharide expression. *Future Microbiol.* 5:1823-32.

93. Wolter W, Castañeda H, Kloppert B, Zschöck M. (2004). Mastitis bovina. Prevención, diagnóstico y tratamiento. Zapopan, Universidad de Guadalajara, 146 p.
94. Wolter W, Kloppert B. (2004). Interpretación de los resultados del conteo celular y de la aplicación de la terapia. Avances en el Diagnóstico y Control de la Mastitis Bovina. Guadalajara. Editorial Universitaria. 5 p.
95. Zadoks RN, Middleton JR, McDougall S, Katholm J, Schukken YH. (2011). Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle y comparative relevance to humans. J. Mammary Gland. Biol. Neoplasia 16, 357-372.
96. Zambrano JL. (2017). Aproximación epidemiológica para el diagnóstico de la Mastitis Bovina. Disponible en: http://www.redlactea.org/wp-content/uploads/2014/10/Aproximaci%C3%B3n_epidemiol%C3%B3gica_Dx_Mastitis_JZ.pdf Fecha de consulta: 23/11/17.