UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

“COMPARACIÓN DE LA EFICACIA DE DOS SELLADORES EN LA PREVENCIÓN DE LAS INFECCIONES INTRAMAMARIAS”

Por

PAGLIANO FALERO, Sebastián

MONTEVIDEO
URUGUAY
2016

TABLA DE CONTENIDO

Página

PÁGINA DE APROBACIÓN **2**

AGRADECIMIENTOS **3**

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS **5**

1. RESUMEN **6**

2. SUMMARY **7**

3. INTRODUCCIÓN **8**

3.1 Calidad de leche **9**

3.2 Mastitis **10**

3.3Importancia del sellado en el plan de control de Mastitis **14**

4. HIPÓTESIS **17**

5. OBJETIVO GENERAL **17**

6. MATERIALES Y MÉTODOS **17**

7. RESULTADOS **19**

7.1 Microorganismos aislados **20**

8. DISCUSIÓN **21**

9. CONCLUSIÓN **23**

10. BIBLIOGRAFÍA **24**

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

FIGURAS:

Figura 1: Incidencia de infecciones intramamarias por grupos sin discriminar establecimientos……..19

Figura 2 Incidencia de infecciones intramamarias en cada grupo por establecimiento……....19

TABLAS:

Tabla 1: Número de vacas por grupos de los establecimientos……..….18

Tabla 2: Frecuencia simple de los tres microorganismos más comunes aislados por establecimiento, por grupo y por mes…….……..…...20

Tabla 3: Microorganismos más frecuentemente aislados por grupo y por mes……..……..20

1. RESUMEN

En Uruguay la producción lechera constituye un importante sector dentro de la producción agropecuaria nacional. Teniendo en cuenta el perfil exportador de nuestro país, es imprescindible contar con un proceso continuo de mejora de la calidad de leche. En el marco de dicho proceso el objetivo de este trabajo fue comparar la eficacia de dos selladores en la prevención de infecciones intramamarias. Se seleccionaron 112 vacas de razas Holando y Holando por Jersey de tres establecimientos lecheros, ubicados en los departamentos de San José, Canelones y Florida. Los animales seleccionados debieron reunir las siguientes condiciones: el 1º recuento celular individual post parto (menos de 30 días postparto) debió ser menor o igual a 200.000 cels/mL en el caso de las vacas y menor o igual a 100.000 céls/mL para las vaquillonas y los cultivos de todos sus cuartos ser negativos. Las vacas y vaquillonas seleccionadas en cada uno de los establecimientos se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos: grupo 1 con sellador de barrera Armor® (composición: 4000ppm yodo, glicerina y agente formador de película protectora) y grupo 2 con sellador común Theratrate® (composición: 4000ppm yodo y glicerina) con igual número de vacas en cada uno. A las vacas de ambos grupos se les extrajo mensualmente una muestra de leche de cada uno de los cuartos individuales, de manera higiénica y aséptica, siguiendo las normas establecidas por el National Mastitis Council para aislamiento durante tres meses. Estas muestras se enviaron congeladas dentro del mes de extraídas al Laboratorio de la Asociación Rural de San José.

No se encontraron diferencias entre ambos selladores en lo que respecta a la eficacia en la prevención de infecciones intramamarias. La incidencia de infecciones fue menor en aquellos establecimientos donde se aplicaba un correcto plan de control de mastitis.

2. SUMMARY

In Uruguay dairy production represents an important sector in national agricultural production. Considering that ours is an exporting country, it is necessary to have a continuous quality improvement process. The objective of this work was to compare the effectiveness of two sealants in preventing intra-mammary infections. 112 cows Holstein Friesian and Holstein x Jersey breeds were selected in three dairy farms, located in the departments of San José, Canelones and Florida. Selected animals met the following conditions: 1 single postpartum somatic cell count (less than 30 days postpartum) it must be less than or equal to 200,000 cells / mL; in the case of cows and less than or equal to 100,000 cells / mL for heifers and all quarters must have negative culture. Cows and heifers selected in each of the farms were randomized into two groups: group 1 with sealant barrier Armor® (composition: iodine, glycerin and protective film forming agent) and Group 2 with common sealant Theratrate® (composition: 4000ppm iodine and glycerin) with the same number of cows in each. A monthly milk sample was taken from all individual quarters of each cow during a three month period for both groups. Maintaining hygienic and aseptic conditions and following the rules established by the National Mastitis Council. These samples are then frozen and sent within one month to the Laboratory of the Rural Association of San José. There was no difference in the effectiveness of the sealants regarding intra-mammary infection prevention. Infection incidence was lower in the farms where the Mastitis Control Plan was correctly applied.

3. INTRODUCCIÓN

La producción lechera en Uruguay representa un importante sector dentro de la producción agropecuaria Nacional. Se destina a la lechería una superficie total de 794 mil hectáreas. El total de vacunos lecheros es de 773 mil cabezas. Existen 4.300 establecimientos lecheros, de los cuales 67% remiten a planta, con una producción anual de 2.240 millones de litros (L) (MGAP; DIEA, 2015).
Nuestro país se ubica en el primer lugar de América Latina tanto en la producción de leche por habitante y por año (412 L/hab/año) como en el consumo (264 L/hab/año). Desde principios de la década del ´60 nuestro país se autoabastece y se ha transformado en un fuerte exportador, el 70% de la leche que reciben las industrias se envía al mercado internacional, a unos 70 países (MGAP; DIEA, 2015).

El crecimiento de la lechería nacional y la consolidación del país como un exportador de productos lácteos han generado una mayor conciencia en cuanto a garantizar la aptitud industrial del producto. Esto ha sido el resultado de un exitoso plan de trabajo para considerar la calidad de la leche tanto en el proceso de producción como en el producto final.
La calidad de la leche es un atributo que se desagrega en distintas variables, entre ellos la calidad higiénico – sanitaria la que se evalúa mediante recuento bacteriano y recuento de células somáticas (RCS) (Calvinho, 2012).
Desde los comienzos de los ´90 se inició un fuerte proceso de mejora de la calidad a través del Sistema Nacional de Calidad de la Leche. En el año 1995 el decreto del Poder Ejecutivo Nº 90/995 dictado el 21 de febrero, fijó una normativa genérica para el establecimiento de un Sistema Nacional de Calidad de la Leche, en dicho Decreto, se estableció que durante un año se realizarán los análisis de recuento bacteriano y celular. La información se divulgó a los productores pero no se aplicó la nueva reglamentación hasta 1997, cuando entró en vigencia el Sistema Nacional de Pago por Calidad, que se modificó en ese mismo año. La Junta Nacional de la Leche recomendó posteriormente efectuar ajustes al Sistema a partir del 1º de marzo de 1999 y entró en vigencia el Sistema Nacional de Calidad de la Leche.

En la actualidad rige el decreto 359/013 dictado el 6 de noviembre del 2013, que establece un sistema de calidad de la leche a los efectos de determinar las exigencias mínimas y obligatorias para su posterior procesamiento, las exigencias varían a medida que pasa el tiempo de vigencia del decreto, desde la entrada en vigencia se exige 500.000 UFC/mL y 800.000 cels/mL, al año de la misma, 300.000 UFC/mL y 600.000 cels/mL y a los tres años de entrado en vigencia 100.000 UFC/mL y 400.000 cels/mL (MGAP, archivo. presidencia, 2013).

3.1 Calidad de leche

La calidad sanitaria de la leche, está relacionada a la salud de la ubre y se define como el número de células somáticas por mililitro (céls/mL) en una muestra de leche, que puede ser de tanque, de vaca individual o de un cuarto (Dohoo y Meek, 1982; Reneau, 1986).

El RCS indica el recuento de leucocitos (95%) y células epiteliales exfoliadas del epitelio mamario (5%) por mililitro de leche de un cuarto, de una vaca o del tanque (Harmon, 2001). Para considerar si una vaca está sana se establece un umbral de 200.000 céls/mL para multíparas y 100.000 céls/mL para primíparas. Si un animal tiene un recuento celular por encima de dichos umbrales se clasifica como enferma .El incremento del recuento de células somáticas está relacionado con un incremento de las infecciones intramamarias (Eberhart y col. 1987; Fox, 1985; Harmon, 2001). La reducción en producción de leche atribuida a mastitis subclínica ocasiona un 70- 80 % del total de las pérdidas (Gianneechini y col., 2002).

Por tanto el recuento celular está relacionado a la presencia de mastitis. La mastitis es la enfermedad más común del ganado lechero y de mayor importancia económica en el sector. Influye en la obtención de una leche de calidad, repercutiendo en el precio final obtenido por el productor y por las pérdidas económicas que provoca (Eberhart y col. 1987; Harmon, 1994; Taponen, 1995). Con respecto a las pérdidas económicas, existen efectos relacionados al aumento de las células somáticas que incluyen pérdidas de producción (Saran y Chaffer, 2000; Swinkels y col., 2005), potencial diseminación de patógenos a las vacas que no están infectadas (Zadoks y col., 2001; Barkema y col., 2006), y reducción de la fertilidad en la lactancia temprana (Barkemay col., 2006); en relación a esto, en Uruguay se estarían produciendo pérdidas anuales de US$ 26 millones debido a la mastitis (Gianneechini y col., 2002).

3.2 Mastitis

La mastitis es la inflamación de la glándula mamaria, la cual junto con cambios físicos, químicos y microbiológicos se caracteriza por un incremento en el número de células somáticas en la leche y por cambios patológicos en los tejidos mamarios (International Dairy Federation, 1987). El 80% de los casos de mastitis son ocasionados por la entrada de microorganismos patógenos específicos a través de los pezones y tejidos de la ubre; los casos restantes son resultados de lesiones traumáticas, con o sin invasión de microorganismos (Blanco, 2001).

La mastitis se puede clasificar en dos grandes grupos de acuerdo a la manifestación o no de sintomatología clínica. Se denomina mastitis clínicas aquellas en las cuales las alteraciones en la ubre y en la secreción láctea son claramente observables. Las subclínicas son aquellas donde no se detectan cambios inflamatorios en la ubre ni anomalías en leche, pudiendo evidenciarse mediante el aumento del RCS (Radostits y col., 2002).

La etiología de la mastitis puede ser de origen infeccioso y no infeccioso, dentro de las causas infecciosas las principales son de origen bacteriano (microorganismos contagiosos, ambientales y oportunistas) y las no infecciosas pueden ser de etiología variable tales como traumáticas, toxicas o químicas (Menzies y Ramanoon, 2001; Riffon y col., 2001, Saran y Chaffer, 2000).

La mastitis de etiología infecciosa se clasifica según Fox y col., 1991 en: contagiosa, ambiental y oportunista. Las mastitis Contagiosas: son aquellas infecciones intramamarias trasmisibles vaca a vaca que se producen durante el ordeño.

Dentro de los microorganismos contagiosos más importantes se hallan:

-*Staphylococcus aureus (S. aureus)*
-*Streptococcus agalactiae (S. agalactiae)*
-*Corynebacterium bovis (C. bovis)*
-*Mycoplasma* spp.

El establecimiento de una infección intramamaria es generalmente precedido por la contaminación de la piel de la punta del pezón con un organismo patógeno y su posterior penetración a través del canal del pezón. El número y tipo de bacterias en la piel del pezón guarda relación con la incidencia y tipo de infección intramamaria, consecuentemente, la desinfección del pezón post-ordeñe con un agente germicida es una de las medidas más efectivas para prevenir las mismas (Fox y col., 1991).

Las mastitis ambientales son aquellas en las que el patógeno proviene del ambiente donde se desarrolla la actividad de la vaca lechera.

Los microorganismos ambientales de mayor importancia económica son:

Streptococcus uberis (Str. uberis)
Streptococcus dysgalactiae (Str. dygalactiae)
Enterococcus faecalis (E. faecalis)

Enterococcus faecium (E. faecium)
Enterococcus spp*.*
Escherichia coli (E. coli)
Archanobacterium pyogenes.
Pseudomonas spp*.*

.

Este tipo de infección está influenciada sobre todo por el factor ambiente (temperatura, humedad), animal (etapa de lactancia, parto) y manejo (tambos estabulados) (Murdough y Pankey, 1993).

Las mastitis oportunistas se producen en general por una rutina de ordeñe deficiente sobre todo en lo que tiene que ver con la higiene y el sellado de los pezones. El microorganismo oportunista más común son los *Staphylococcus coagulasa negativo* (SCN) (Murdough y Pankey, 1993).

Los microorganismos que causan mastitis se clasifican también como patógenos mayores (principales) y menores (secundarios) según el grado de inflamación que estos producen en la glándula mamaria. Los mayores son responsables de las mastitis clínicas, con altos RCS, comprenden *al S. aureus, Str. uberis, Str. agalactiae, Str. dysgalactiae y* coliformes. Los patógenos menores son los microorganismos que infectan la glándula mamaria, causando conteos moderados de células somáticas, pero generalmente no cursan con signos clínicos. Estas infecciones, son especialmente frecuentes, debidas a *SCN* (principalmente *Sthaphylococcus chromogenes, Sthaphylococcus hyicus, Sthaphylococcus epidermidis, y Shaphylococcus xylosus)* o por *C. bovis* (Ariznabarreta y col., 2002).

En la cuenca sur de Uruguay se estudió la prevalencia de microorganismos en casos de mastitis clínica y subclínica. Los patógenos principalmente aislados de muestras de leche de casos de mastitis clínica fueron *S. aureus* (23,1 %), *Str. dysgalactiae* (14,9 %), *SCN* (5 %), *Str. uberis* (4 %), *E. coli* (1,5 %), *Enterococcus spp* (1,2 %), *Str. agalactiae (0,6 %)* y 4.7 % de infecciones mixtas *(S. aureus* con diferentes especies del genero *Streptococcus)*. En cambio el patógeno más frecuentemente aislado de cuartos con mastitis sub-clínica fue *S. aureus (19,8%)*, seguido por *SCN (6%), Str. uberis (4,8%), Str. dysgalactiae (4,1), Str. agalactiae (2,8), Enterococcus spp (0,2) y 1,8 %* de infecciones mixtas *(S. aureus* con diferentes especies del genero *Streptococcus)* (Gianneechini y col., 2014).

El *S. aureus* se transmite de una vaca infectada a una no infectada durante el ordeño a través de pezoneras contaminadas, de las manos de los ordeñadores o de toallas y trapos de lavado usados en forma colectiva. Debido a la producción de toxinas, puede causar problemas de mastitis que van desde infecciones sin manifestaciones clínicas a infecciones clínicas o gangrenosas que pueden matar a la vaca. Una vez que la bacteria alcanza la glándula mamaria, invadirá profundamente los tejidos celulares y conductos secretores de la misma. Producen abscesos que pueden abrirse en cualquier momento provocando una reaparición de los síntomas clínicos o una elevación del recuento de células somáticas. El tejido cicatrizal y los micros abscesos pueden limitar en forma permanente la habilidad de un cuarto mamario para producir leche y para responder a los tratamientos. La leche producida

por los cuartos infectados será de diferente color, tendrá copos y coágulos (Mellenberger y Kirk, 2001).

El *Str. agalactiae*, es un patógeno contagioso obligatorio de la glándula mamaria. La transmisión se produce principalmente por pezoneras y manos del ordeñador, la supervivencia en el ambiente es breve (Saran y Chaffer, 2000). Las vacas que presentan mastitis por este microorganismo generalmente tienen RCS elevado pero la leche se ve normal. El RCS aumenta de 10 a 100 veces con respeto al valor normal (Radostits, 2002). Los animales infectados pueden eliminar grandes cantidades de esta bacteria en el tanque y generar altos recuentos de ufc en placa (Ruegg, 2005). En Uruguay la prevalencia de mastitis causada por *Str. agalactiae* en casos subclínicos es de 7% y 0.6% de casos clínicos (Gianneechini y col., 2014).

El *C. bovis* se aísla de glándulas mamarias de vacas infectadas de mastitis. Produce un ligero aumento del recuento de células somáticas (Hommez y col., 1999). Se asocia con la reducción de la producción de leche (Watts y Rossbach., 2000).

Mycoplasma spp origina brotes de mastitis clínica, se transmite cuando existe medidas de higiene deficiente y afecta vacas de todas las edades. Los signos clínicos que presentan es tumefacción de la ubre, descenso de la producción, secreción de leche con anomalías hasta atrofia de la ubre (Radostits, 2002).

Str. dysgalactiae, este microorganismo se encuentra en el ambiente (camas, agua estancada, tierra) ingresa al pezón, coloniza y persiste en la glándula mamaria, por tanto a veces es clasificada como ambiental y otras veces como contagiosa, se ha aislado en la piel del pezón (Saran A. y Chaffer M., 2000). El *Str. dysgalactiae* es una de las variedades bacterianas más importantes aislada en la mastitis bovina. El de la variedad hemolítica, es un patógeno muy común en la mastitis clínica y subclínica (Vasi y col., 2000).

Str. uberis, este bacteria el animal también la toma del ambiente para luego colonizar y persistir en la glándula mamaria, por eso esta bacteria a veces es calificada como contagiosa y otras veces como ambiental. Este microorganismos puede frecuentemente ser aislado en casos de mastitis subclínica en la lactancia temprana (McDougall, 1998), y también al final de la lactancia (Williamson y col., 1995; Pankey y col., 1996). Es de gran importancia en los sistemas estabulados donde se encuentra en la cama, asimismo se aísla en patas y piel de la ubre de la vaca. Los factores de virulencia de este microorganismo dificultan su fagocitosis, siendo el porcentaje de curación menor que el resto de los estreptococos (Saran y Chaffer, 2000).

La presentación de mastitis por coliformes se da sobre todo en vacas estabuladas o recintos pequeños, la contaminación de la piel de la ubre se produce entre ordeñes cuando la vaca está en contacto con el lecho contaminado. La enfermedad es más común en los tres primeros meses de lactancia. En el caso de *E. coli* está asociada a mastitis clínica siendo poco frecuente su presentación subclínica (Saran y Chaffer, 2000).

Los SCN, son microorganismos oportunistas, colonizan la piel del pezón y penetran en el tejido secretor. Se encuentran en piel sana del pezón y manos del ordeñador. Son patógenos menores, causan la mayoría de las veces mastitis subclínica (Navarro, 2010). La incidencia de infecciones por SCN es alta durante el periodo seco, cuando la piel del pezón no está expuesta a los desinfectantes, por esto el porcentaje de cuartos afectados es alto en el parto (Bonetto, 2014). Varios estudios han sugerido que los SCN se consideren patógenos emergentes causantes de mastitis y poseer factores de virulencia como producción de biofilm (Pyörälä y Taponen, 2009).

La implementación de un control de mastitis, pone en práctica un conjunto de medidas, cuyo objetivo final es reducir la prevalencia de la enfermedad. Para esto fue elaborado un plan de control de mastitis recomendado por el NIRD (National Instiute Research Dairying) y adoptado por el NMC (National Mastitis Council), el mismo consta de cinco puntos:

1. Higiene de la ubre y métodos apropiados de ordeño.
2. Instalación, funcionamiento y mantenimiento adecuados del equipo de ordeño.
3. Manejo y terapéutica durante el período seco.
4. Terapéutica apropiada de la mastitis durante la lactación.
5. Descarte de las vacas infectadas crónicamente.

Este programa se ha actualizado convirtiéndose en un plan de diez puntos, en el que se añaden:

6. Mantenimiento de un ambiente apropiado.
7. Registro de los datos.
8. Vigilancia del estado de salud de la ubre.
9. Revisión periódica del manejo de la salud de la ubre.
10. Definición de los objetivos del estado de salud de la ubre (Bonetto, 2014; NMC, 2009).

El mantenimiento saludable de la piel y punta del pezón es una parte clave de cualquier programa efectivo de control de mastitis. Cambios en el tejido del pezón, aumentan el riesgo de nuevas infecciones, aumentando el tiempo de ordeñe y disminuyendo la producción de leche (Jackson, 1970; McKinzie y Hemling, 1995; Neijenhuis y col., 2001). A través de la punta del pezón generalmente ingresan los microorganismos patógenos que colonizan la glándula mamaria causando mastitis. Las lesiones en la piel la hacen más susceptible de ser colonizada por bacterias debido a que la piel en estas condiciones proporciona más lugares donde permanecer y sobrevivir, por lo que aumenta el riesgo de nuevas infecciones intramamarias (Jackson, 1970; Fox y col., 1991). Existen muchos agentes y mecanismos que causan cierto número de traumas o lesiones que pueden afectar la condición de los pezones. Es posible clasificar los mismos en factores infecciosos (virus, bacterias y hongos) y no infecciosos (máquina de ordeñar, ambientales y

anatomo fisiológicos de la vaca). Las infecciones virales producen lesiones primarias, las infecciones bacterianas pueden ocasionar lesiones primarias o secundarias a un trauma o lesión viral preexistente. Con respecto a los no infecciosos el trauma inicial es posible que se produzca por la máquina de ordeñar o factores ambientales (climáticos, daños químicos, alambres, etc.). Los factores de la vaca como la forma de la punta del pezón, la posición del pezón, el largo del pezón, producción de leche, etapa de lactación y partos están asociados con el grado de hiperqueratosis de la punta del pezón (Neijenhuis, 2001).

Las lesiones infecciosas de la piel del pezón pueden indicar el estándar de las prácticas de higiene, así como el manejo empleado en el tambo con respecto a la prevención de mastitis y calidad de leche (Hillerton y col., 2001). Además permite evaluar la exposición a las condiciones ambientales injuriantes al bienestar de las vacas. Cualquier deterioro de la condición de la piel del pezón puede influir adversamente en la calidad de leche, sanidad de las ubres, constituir un riesgo para la salud y seguridad del personal de ordeño.
La evaluación de la condición del pezón puede identificar pezones que tienen un mayor riesgo de colonización bacteriana, esta puede ser una herramienta de manejo útil para monitorear e intervenir mediante nuevas estrategias de prevención de mastitis (Burmeister, 1995).

Por lo tanto un pezón en buenas condiciones, es un importante factor de resistencia para evitar la colonización de bacterias en la glándula mamaria, la forma de la punta del pezón, posee un componente genético e interviene en los mecanismos de defensa, y juega un importante rol en la prevención del acceso de bacterias al canal de la misma (Chrystal y col., 1999; Chrystal y col., 2001).
La prevención es la clave para controlar la mastitis, no el tratamiento. El tratamiento es un intento de eliminar una infección que ya se ha producido. La prevención se basa en la reducción del número de bacterias a las que está expuesta la punta del pezón; para patógenos contagiosos esto implica la reducción de la propagación de vaca a vaca (Harmon, 1996).

3.3 Importancia del sellado en el plan de control de Mastitis

Dentro de los puntos considerados en un Plan de Control de Mastitis una rutina de ordeñe adecuada que incluya el sellado de los pezones post ordeño, es uno de los aspectos principales para lograr el control de la enfermedad en los rodeos lecheros (Kingwill, y col., 1970).

El sellado tiene como objetivo la desinfección de la piel del pezón y la conservación de la condición de la misma (Fernández y col., 2008). Consiste en aplicar una solución desinfectante y emoliente inmediatamente después del ordeñe, es la práctica más eficaz de higiene para la prevención de nuevas infecciones (Bramley, 1981; Bennett, 1982), reduce la nueva tasa de infección por al menos 50 a 70 % para patógenos contagiosos como *S. aureus y Str. agalactiae* (Pankey y col., 1985; Nickerson y col., 1986; Boddie y Nickerson, 1997). Para patógenos ambientales tales como *Str. uberis y E. coli* logra efectos variables (Schultze y Smith, 1972; Oliver y Mitchell, 1984; Galton, 2004), incluso en algunos estudios la reducción no se produjo debido a que el efecto bactericida del antiséptico aplicado

sobre el pezón desaparece (Pankey y col., 1984; Hogan y Smith; 1995). De todos modos algunos productos pueden llegar a reducir un 90% la tasa de nuevas infecciones (Nickerson, 2001). Existen estudios con selladores yodados que han demostrado que en exposición natural a patógenos causantes de mastitis, la eficacia de los mismos contra *S. aureus* llega a reducir entre un 40 y un 90 % la incidencia de nuevos casos de infecciones intramamarias (Schultze y col., 1976; Schultze y Smith, 1970).

El sellado presenta una serie de particularidades en su empleo, en primer lugar no es un tratamiento contra las infecciones intramamarias ya existentes; en segundo lugar otorga una protección desigual contra diferentes gérmenes, protege más contra microrganismos contagiosos que ambientales (Pankey y col., 1984).

Los productos para sellado (dipping) se pueden aplicar mediante inmersión o aspersión de la solución desinfectante. La inmersión, es la forma convencional de aplicación, consiste en sumergir los pezones en un recipiente o aplicador apropiado que contenga la solución desinfectante. Este método, tiene la ventaja que permite cubrir la mayor parte del pezón, especialmente cuando existen heridas en él (Hogan y Smith, 1995). Sin embargo, con el uso inadecuado del dipping por inmersión existe el riesgo de contaminación de la solución desinfectante con materia orgánica y la eventual inactivación del agente germicida (Westfall y col., 1987). La aspersión es una nueva modalidad de aplicación, se ha implementado debido al incremento en el número de vacas en los rebaños lecheros ya que permite acelerar la rutina del dipping y acortar el tiempo de ordeñe. También reduce los riesgos de inactivación del desinfectante por contaminación con materia orgánica y por contacto con las manos del ordeñador (Chaffaux y Steffan, 1985; Westfall y col., 1987). Los rociadores, pueden ser manuales o automáticos, están ubicados en sitios estratégicos de la sala de ordeñe. Tiene como desventaja el alto costo de inversión en instalaciones automáticas y resulta ser menos eficiente que el método por inmersión, ya que muchas veces es aplicado de frente a los pezones rociando solamente una cara y dejando gran parte de la superficie sin cubrir (Pankey y col., 1984, Chaffaux y Steffan, 1985; Hogan y Smith, 1995).

Los selladores destruyen los microorganismos por acción química o biológica, elimina las bacterias de la piel del pezón de manera rápida y eficaz. Sin embargo, en la mayoría de los casos la persistencia de la actividad germicida es limitada y se reduce con la presencia de materia orgánica (Hogan y Smith, 1995). Existen varias clases de germicidas de pezones que varían ampliamente en su composición.

1. Los compuestos yodóforos son agentes fuertemente oxidantes, actúan sobre los microorganismos por un mecanismo de óxido – reducción, se caracterizan por ser buenos germicidas (Boddie y Nickerson, 1997). Aunque son menos efectivos para reducir las infecciones por gérmenes del medio ambiente debido a la corta persistencia del principio activo sobre la piel del pezón (Chaffaux y Steffan, 1985). La mayoría de los yodóforos contienen emolientes como glicerina y lanolina para mejorar y conservar la condición de los pezones. El poder tintorial del yodo permite identificar aquellos pezones que han sido tratados (Pankey y col., 1984).
2. Los compuestos basados en Clorhexidina se utilizan ampliamente y son más eficaces que los anteriores en presencia de materia orgánica, tienen un amplio espectro de actividad antimicrobiana y una persistencia excelente en la piel del pezón. Estos productos son formulados con un colorante para que

sea visible y con glicerina para minimizar la irritación de la piel del pezón (Drechsler y col., 1993).

3. Los productos LDBSA (linear dodecyl benzene sulfonic acid) son germicidas de inmersión derivados de ácido dodecilbencenosulfónico lineal, están formulados por un surfactante aniónico ácido como ingrediente activo, contiene una concentración de aproximadamente 2 %, un ácido orgánico que funciona como un buffer de pH bajo y glicerina u otro emoliente (Radostits, 2002). Las hipótesis del mecanismo de acción más comúnmente citadas son: desnaturalización de las proteínas, inactivación de enzimas esenciales y rotura de la membrana de la célula resultando en alteraciones en la permeabilidad de la misma (Yamada, 1979). Como ventaja son tolerantes a la materia orgánica y menos irritante que la mayoría de los otros productos. Presentan una buena eficacia contra bacterias Gram positivas y levaduras, elimina eficientemente a *S. aureus y Str. agalactiae* hasta pH 5. La desventaja es su baja efectividad frente a bacterias gram negativas (coliformes) a pH alrededor de 3.5-4.0 (Pankey y col., 1983).
4. Los Amonios Cuaternarios, Alkil dimetil benzil cloruro de amonio y alkil dimetil benzil bromuro de amonio se emplean como germicidas, sus formulaciones están compuestas generalmente por emolientes, agentes colorantes solubles en agua, agentes espesantes y transportadores. El mecanismo de acción es la alteración de la permeabilidad de la membrana celular de las bacterias, desnaturalización de las proteínas de las células, inhibición de la actividad enzimática. (Pankey y col., 1984).
5. El hipoclorito de sodio, no incluyen emolientes porque provocan problemas en la formulación (Bramley y col., 1981). El hipoclorito es un agente oxidante fuerte y destruye las proteínas enzimáticas de la célula bacteriana. A altas concentraciones se observa irritación de los pezones, cuarteaduras en las manos de los ordeñadores. Las ventajas consisten en su eficacia y bajo costo y sus desventajas incluyen un olor desagradable y su inactivación por materia orgánica (Radostits, 2002).

Los selladores más frecuentemente utilizados en nuestro medio son yodóforos, debido a la amplia disponibilidad en el mercado. Su eficacia extendida a hongos y virus, su capacidad de colorear la piel donde se aplica, indica si el pezón quedó bien cubierto y su costo accesible.

4. HIPOTESIS

Existen diferencias en la efectividad de los selladores usados para la prevención de infecciones intramamarias.

5. OBJETIVO GENERAL

Comparar la eficacia de dos selladores que se diferencian en la prevención de infecciones intramamarias en el post parto temprano.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Para este estudio se seleccionaron tres establecimientos ubicados en los departamentos de San José (Ruta 1 km 42; Facultad de Veterinaria), Canelones (Ruta 5, Juanico; Facultad de Agronomía) y Florida (Cardal, establecimiento particular) con un total de vacas en ordeñe de 135, 140 y 400 respectivamente en promedio. Todos los establecimientos remiten leche de calidad superior de acuerdo a la categorización más exigente de las plantas industrializadoras, recuentos de células somáticas menores a 300.000 céls/mL promedio y recuentos bacterianos menores a 50.000 UFC/mL promedio, esto fue exclúyete a la hora de seleccionarlos para el ensayo.

Se utilizaron vacas Holando y cruza Holando por Jersey, primíparas y multíparas, de parición de otoño (marzo a junio).

Dentro del mes del parto se tomaron muestras para recuento celular individual por vaca. Las muestras fueron tomadas empleando medidores Tru Test, y se enviaron con conservante (Lactopol) al Laboratorio COLAVECO para su procesamiento.
Los animales que tuvieron en ese primer recuento celular individual post parto (menos de 30 días postparto) menor de 200.000 céls/mL en el caso de las vacas y menor o igual RCS a 100.000 céls/mL para las vaquillonas, se les sacaron muestras para aislamiento por cuarto.
Las muestras se tomaron siguiendo las normas establecidas por el Nacional Mastitis Council (Hogan y col., 1995).

Se identificaron los tubos en el momento de extracción con la fecha y número de cuarto. Estas muestras se congelaron a -20° C y dentro del mes de extraídas fueron remitidas y procesadas en el Laboratorio de la Asociación Rural de San José con el fin de aislar e identificar bacterias que producen mastitis. Las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, de las mismas se sembró 40 µL de leche en placas de medio Agar Triple Soja (OXOID) suplementado con 3 % de sangre estéril ovina. La incubación fue realizada bajo condiciones de aerobiosis a 37° C, y analizadas entre las 24 y 48 horas. En este medio podemos ver las diferentes hemólisis (alfa, beta y gama).
Las vacas y vaquillonas que resultaron negativos todos sus cuartos al aislamiento y que tuvieron RCS menor o igual a 200.000 céls/mL para vacas y menor o igual a 100.000 céls/mL fueron las seleccionadas para participar del ensayo.
El nombre de los establecimientos incluidos en el trabajo se aleatorizó en A, B y C.
En el establecimiento A ingresaron al ensayo 62 vacas, 29 animales en el B y 21 en el C respectivamente.

Las vacas y vaquillonas seleccionadas en cada uno de ellos se distribuyeron en dos grupos considerando el n° de partos, teniendo en cuenta esto la selección de los animales fue aleatoria de modo de balancear. En cada uno de estos grupos se utilizó un sellador diferente en la rutina: en el grupo 1 se utilizó el sellador de barrera Armor® (composición: 4000 ppm yodo, glicerina y agente formador de película protectora) y en el grupo 2 un sellador común Theratrate® (composición: 4000 ppm yodo y glicerina). El número de vacas en cada grupo en los distintos establecimientos fue el siguiente:

Tabla 1: Número de vacas por grupos de los establecimientos.

Establecimiento	Grupo 1	Grupo 2
1-A	31	31
2-B	15	14
3-C	11	10
Total	57	55

Las vacas de ambos grupos permanecieron con el resto de los animales en ordeñe de cada tambo, siendo tratadas y alimentadas de igual manera.

Se identificaron las vacas distinguiendo el grupo, las que se sellaban con el sellador de barrera se les colocaron cintas en la pata y las del otro grupo carecían de las mismas. El método empleado de sellado fueron copas, debidamente identificadas según el sellador que contenían.
A las vacas de ambos grupos se les extrajeron mensualmente durante 3 meses, muestras de leche por cuarto para aislamiento siguiendo las normas establecidas por el Nacional Mastitis Council. Estas muestras se enviaron para procesar en el Laboratorio de la Asociación Rural de San José. El proceso de toma de las muestras y cultivos, fue el mismo explicado anteriormente.

Se calcularon las frecuencias de animales que resultaron positivos al cultivo de microorganismos. A partir de esto se calculó la incidencia acumulada en el periodo de tres meses post-parto, para cada tratamiento y según establecimiento.
Se realizó una lista con los microorganismos con mayores ocurrencias, tomando como criterio aquellos microorganismos que tuvieran frecuencias simples mayores a 3.
Se realizó el Test Exacto de Fisher para determinar diferencias entre la Incidencia Acumulada entre los tratamientos.
También se realizó una prueba de Chi-cuadrado de Homogeneidad para determinar si existen diferencias entre las incidencias de cada establecimiento.
Los datos fueron procesados en el software estadístico Stata 13 (Stata Inc) y los gráficos y tablas realizados en Excel 2013.

7. RESULTADOS

La incidencia de las infecciones intramamarias fue similar en ambos grupos en los primeros 3 meses post parto, considerando los datos en su conjunto sin discriminar establecimiento (63 % grupo 1 y 60 % grupo 2). No hubo diferencias significativas en la prevención de infecciones intramamarias entre los dos selladores (**p = 0.05).** (Figura 1).

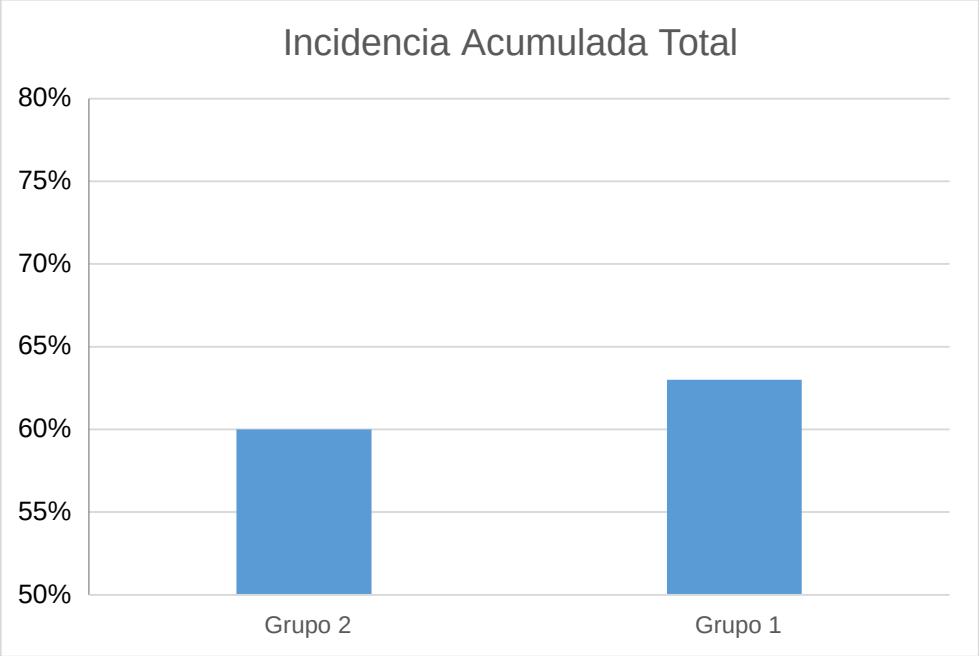

Figura 1: Incidencia de infecciones intramamarias por grupos sin discriminar establecimientos.

No se encontraron diferencias significativas (p=0.05) en la incidencia acumulada de infecciones intramamarias según grupo y establecimiento. (Figura 2).

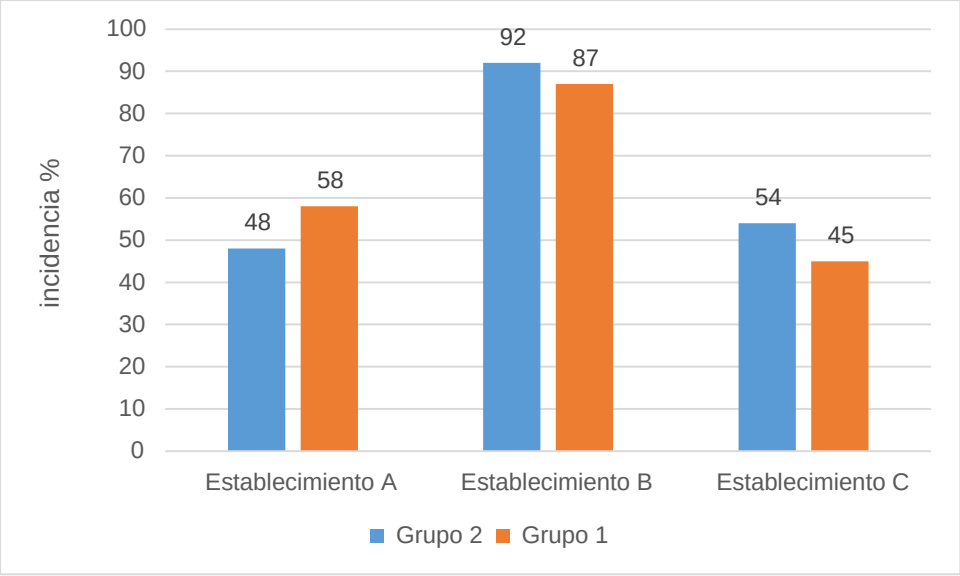

Figura 2: Incidencia de infecciones intramamarias en cada grupo por establecimiento

Si analizamos la incidencia por establecimiento vemos que a pesar de que no se encontraron diferencias significativas entre los grupos, los establecimientos A y C tuvieron incidencias cercanas al 50% y el B entorno al 90%, teniendo en cuenta esto se realizó una prueba de Chi-cuadrado de Homogeneidad cuyo resultado fue significativo ($p<0,05$). Teniendo en cuenta lo anterior el establecimiento B fue el que contribuyó con más animales en ambos grupos.

7.1 Microorganismos aislados

Los microorganismos que se aislaron fueron *Staphylococcus aureus, Staphylococcus Coagulasa Negativo (SCN) y Bacilo G (-),* (Tablas 2 y 3).

Tabla 2: Frecuencia simple de los tres microorganismos de mayor prevalencia aislados por establecimiento, por grupo y por mes.

Establecimiento	Microorganismos	Grupo 1			Grupo 2		
		1er mes	2do mes	3er mes	1er mes	2do mes	3er mes
A	S.aureus	0	8	6	0	5	7
	SCN	0	3	4	0	5	1
	Bacilo G(-)	0	0	4	0	0	3
B	S.aureus	2	6	1	0	7	8
	SCN	1	3	4	1	4	3
	Bacilo G(-)	0	0	0	1	2	1
C	S.aureus	0	0	0	1	0	0
	SCN	1	1	2	2	3	0
	Bacilo G(-)	0	1	0	0	0	0

Tabla 3: Microorganismos más frecuentemente aislados por grupo y por mes.

Microorganismos	Mes 1		Mes 2		Mes 3	
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 1	Grupo 2
S.aureus	2	1	14	12	7	15
SCN	2	3	7	12	10	4
Bacilo G (-)	0	1	1	2	4	4

8. DISCUSIÓN

La incidencia de las infecciones intramamarias fue similar en ambos grupos en los primeros 3 meses post parto, considerando los datos en su conjunto sin discriminar establecimiento (63 % grupo 1 y 60 % grupo 2). No hay diferencias significativas en la prevención de infecciones intramamarias entre los dos selladores. En los establecimientos A y C la incidencia de infecciones intramamarias en ambos establecimientos fue cercana al 50%, sin diferencia significativa entre grupos. Este resultado fue muy similar al obtenido por Williamson y Lacy, 2013, estos autores indican que el sellado reduce de un 50 a 70 % los patógenos contagiosos causantes de mastitis, pero logra efectos variables para patógenos ambientales. Considerando que en nuestro estudio los patógenos mayoritarios fueron contagiosos (*S. aureus* y SCN) es lógico encontrar que los resultados sean similares. Sin embargo la incidencia de mastitis fue mayor en el establecimiento B, en el cual el Plan de control de mastitis no estaba correctamente aplicado. En relación a esta situación (Pankey, 1984) expresa que un sellador eficaz, si se utiliza correctamente, reduce la incidencia de infecciones intramamarias al menos 50 a 90%; a excepción de limitantes que se presentan como tambos con poca higiene, rutina de ordeñe deficiente, máquina de ordeñe en mal estado causantes de deterioros de la condición física del pezón. Estos resultados concuerdan con los del establecimiento B donde la incidencia de infecciones intramamarias fue en el entorno del 90%, también sin diferencia entre grupos pero si mostrando diferencia significativa en relación a los establecimientos A y C. En ese establecimiento existían falencias en la aplicación del Plan de Control de Mastitis, sobretodo vinculadas a la rutina de ordeñe, debido a cambios de personal que surgieron en medio del ensayo.

Respecto a la diferencia en la protección conferida por diferentes selladores, en el trabajo realizado por Fernández y col., 2008, se comparó la eficiencia de un sellador convencional con 0,44 % de yodo metálico y un sellador de barrera con 0,26 % de yodo-povidona. El sellador de barrera resulto ser un 75 % más efectivo en la prevención de infecciones intramamarias que el sellador convencional, también observaron que el sellador de barrera disminuyo en un 66 % las infecciones causadas por *S. aureus* y en un 100 % las causadas por coliformes fecales. En nuestro trabajo los resultados fueron distintos al de Fernández y col., 2008, ya que no tuvimos diferencias significativas en la prevención de infecciones intramamarias entre ambos grupos. Los microorganismos aislados en cada grupo fueron los mismos, contagiosos como ambientales destacando que el sellador de barrera no fue más eficaz en la prevención contra microorganismos ambientales en relación al sellador convencional.

El ensayo de Foret y col., 2006 consistió en comprobar la eficacia de selladores pos ordeñe: uno convencional (12 a 16 ppm de yodo) y dos de barrera con diferentes proporciones de yodo libre (el barrera 1 de 14 a 20 ppm y barrera 2 de 8 a 14 ppm). Se observó que el de barrera 1 obtuvo una reducción del 21% de las nuevas infecciones intramamarias en comparación con el convencional. Se observó una

reducción significativa del 38% para la tasa de infección clínica para el de barrera 1 cuando se compara con barrera 2. Sin embargo, el de barrera 1 no redujo significativamente las infecciones intramamarias subclínicas cuando se compara con el de barrera 2. El de barrera 1 redujo significativamente las infecciones intramamarias clínica y subclínica combinadas en un 24% cuando se compara con el grupo control. El sellador de barrera 1 con la más alta concentración de yodo libre, dio los mejores resultados de eficacia, estos resultados se dieron principalmente por la reducción en aislamientos de *C. bovis.* Es de destacar que en este trabajo no se observó una reducción de patógenos ambientales en las vacas que se les aplicó sellador de barrera. Observando estos datos se concluye que los selladores de barrera independientemente de la concentración de yodo libre que presenten, pudieron proteger contra nuevas infecciones intramamarias en mayor proporción que un sellador convencional. En nuestro trabajo no obtuvimos los mismos resultados en relación a reducción de infecciones intramamarias por lo cual no podemos concluir lo mismo ya que la diferencia que se obtuvo entre sellador de barrera y convencional no fue significativa. Ambos trabajos coinciden en que no se evidenció una reducción de infecciones causadas por patógenos ambientales.

A diferencia de los ensayos citados anteriormente, Hogan y col. en 1995, realizaron un estudio durante doce meses a un rebaño de 125 vacas en lactancia para comparar la eficacia de dos selladores uno de barrera que contenía 0,55% de gluconato de clorhexidina (grupo experimental) y uno convencional cuya composición era yodóforo al 1% (grupo control). La incidencia de casos de mastitis clínicas causadas por *S. aureus, Str. ambientales, E. coli, Klebsiella* spp*., Serratia* spp. y *Pseudomonas* spp no fue diferente entre los dos grupos en estudio.
A pesar de que el sellador de barrera empleado es a base de clorhexidina, lo que hace diferente al empleado en nuestro trabajo, los resultados de incidencia de infecciones intramamarias fueron similares asemejándose a los resultados obtenidos en nuestro estudio.

Molina y col., 2014 evaluaron el efecto protector de un sellador de barrera artificial y un desinfectante a base de yodo. Se seleccionaron dos grupos de animales (25 por grupo), se extrajeron muestras de la superficie de la piel a través de hisopados. En cada uno de los grupos se evaluaron el número de Unidades Formadoras de Colonias por mililitro de leche (UFC/mL). Se demostró que el uso de un sellador de barrera disminuía más la cantidad de bacterias en la superficie del pezón que el desinfectante. Si bien en nuestro trabajo no se tomaron muestras del mismo modo, no hubo diferencias con respecto a los resultados de aislamiento obtenidos entre los selladores de barrera y convencional.

En nuestro trabajo se aislaron microorganismos contagiosos (*S. aureus),* ambientales (Bacilo G -) y oportunistas (SCN) sin obtener diferencias entre grupos (sellador de barrera o convencional). Estos microorganismos concuerdan con los microorganismos más frecuentemente aislados en Uruguay como productores de mastitis (Gianneechini, 2002, 2014; de Torres, 2014).

En los ensayos citados anteriormente se debe considerar que fueron realizados en otros países, bajo otras condiciones medio ambientales, diferentes tipos de manejo y

empleando selladores con diferentes concentraciones y/o composición en relación a los que se utilizaron en este estudio.

9. CONCLUSIÓN

En este estudio no se encontraron diferencias significativas en la eficacia de los selladores en estudio para la prevención de las infecciones intramamarias.

En ambos grupos (control y estudio) los microorganismos aislados fueron los mismos, contagiosos, ambientales y oportunistas; no existiendo diferencias significativas con respecto a la efectividad entre los selladores de barrera y convencional para la prevención de infecciones intramamarias por algún tipo de microorganismo.

Importante mencionar que los selladores en estudio presentan la misma concentración de desinfectante y emoliente, diferenciándose en la sustancia que crea la película protectora en el sellador de barrera.

Sería interesante a futuro repetir el ensayo, aumentando el número de animales por establecimiento así como el número de establecimientos participantes.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. Ariznabarreta, A.; Gonzalo, C.; San Primitivo, F. (2002). Microbiological Quality and Somatic Cell Count of Ewe Milk with Special Reference to Staphylococci. J. Dairy Sci. 85:1370-1375.

2. Armstrong, W.N. (1957). Surface active agents and cellular metabolism. I. The effects of cationic detergent on the production of acid and of carbon dioxide by bakers yeast. Arch. Biochem. 71:137.

3. Barkema, H.; Schukken Y.; Zadoks R. (2006). Invited review: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine Staphylococcus aureusmastitis. J. Dairy Sci. 89:1877-1895.

4. Bennett, R. H. (1982). Teat dip as a component of coliform mastitis control. Dairy Food Sanit. 2:110.

5. Blanco, M. (2001). Diagnóstico de la mastitis subclínica bovina. III Congreso Nacional de Control de Mastitis y Calidad de leche. Leon Gto, México Pp 1-7.

6. Boddie, R.; Nickerson, S. (1997). Evaluation of two iodophor teat germicides: Activity against Staphylococcus aureus and Streptococcus agalactiae. J. Dairy Sci. 80:1846-1850.

7. Bonetto, C. (2014). Mastitis bovina causada por Staphylococcus coagulasa negativos. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/40427/Documento_completo.pdf?sequence=1. Fecha de consulta: 11-11-2015.

8. Bramley, A. (1981). The role of hygiene in preventing intramammary infection. In Mastitis control and herd management. Tech. Bull. Natl. Inst. Res. Dairying, Reading, England. 4: 53.

9. Bramley, A.; Kevin, S.; Godinho; R; Grindal, J. (1981). Evidence of penetration of the bovine teat duct by E.coli in the interval between milkings.

28. Galton, D. (2004). Effects of an automatic post-milking teat dipping system on new intramammary infections and iodine in milk. J. Dairy Sci. 87: 225– 231.

29. GEA Farm Technologies (2014). Caracteristicas y beneficios de Theratrate® y Armor®. Disponible en: http://www.gea-farmtechnologies.com/ar/es/bu/farm_services/hygiene/animal_hygiene/udderhygiene/ . Fecha de consulta: 25-11-2014.

30. Gianneechini R.; Parietti I.; De María P. (2002). "Evaluación de pérdidas económicas relacionadas a mastitis para establecimientos lecheros en Uruguay". Jornada de Lechería, Junio 2002. INIA, La Estanzuela, Colonia - Uruguay. 287: 18-29.

31. Gianneechini R.; Concha, C.; Rivero R., Delucci, I.; Moreno-López, J. (2002). Ocurrence of clinical and subclinical mastitis in dairy herd in the west litoral region of Uruguay. Acta Vet Scand; 43:221-230.

32. 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. Rev. SMVU 50: 4-32.

33. Harmon R. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. J. Dairy Sci. 77:2103–2112.

34. Harmon, R. (1996). Controlling contagious mastitis. Disponible en: http://www.nmconline.org/articles/contagious.htm. Fecha de consulta: 18-02-2015.

35. Harmon, R. (2001). Somatic cell counts: a primer. 40th National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings. Reno, USA, p. 3-9. Disponible en: http://www.agweb.com/assets/import/files/sccprimer.pdf. Fecha de consulta: 24-11-2014.

36. Hicks, W.; Kennedy, T.; Keister, D.; Miller, M. (1981). Evaluation of a teat dip of chlorhexidine digluconate (.5%) with glycerin (6%). J. Dairy Sci. 64:2266-2269.

37. Hillerton J.; Bramley A.; Staker R.; Mc Kinnon C. (1995). Patterns of intramammary infection and clinical mastitis over a 5 year period in a closely monitored herd applying mastitis control measures. J. Dairy Res. 62:39–50.

38. Hillerton, J.; Mein, G.; Neijenhuis, F.; Morgan, W.; Rerinemann, D.; Hillerton, J.;, Baines, J.; Ohnstad, I.; Timms, L.; Farnsworh, R. (2001). Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: infectious factors and infections Proceedings, AABP-NMC International Symposium on Mastitis and Milk Quality, Vancouver, BC. Canadá pp 347-351.

39. Hogan, J.; Smith, K. (1995). Aspectos prácticos de la desinfección de pezones. Rev. Hoard's Dairy man. 3: 257-258.

40. Hogan, J.; Smith, K.; Todhunter, D.; Schoenberger, P. (1995). Efficacy of a Barrier Teat Dip Containing .55% Chlorhexidine for Prevention of Bovine Mastitis. J Dairy Sci. 78: 2502-2506.

41. Hommez, J.; Devriese, L.; Vaneechoutte, M.; Riegel, P.; Butaye, P.; Haesebrouck, F. (1999). Identification of Nonlipophilic Corynebacteria Isolated from Dairy Cows with Mastitis. J. of Clinical Microbiology. 37: 954-957.

42. International Dairy Federation (1987). Bovine Mastitis. Definitions and guidelines for diagnosis. Bull. Int. Dairy Fed. 211: 3-8.

43. Jackson, E. (1970). An outbreak of teat sores in a commercial dairy herd possibly associated with milking machine faults. Amer J Vet Res 87: 2-6.

44. Kingwill, R.; Neave, F.; Dodd, F.; Griffin, T.; Westgarth, D.; Wilson, C. (1970). The effect of a mastitis control system on levels of clinical and subclinical mastitis in two years. Vet. Rec. 84:94.

45. McDougall, S. (1998). Efficacy of two antibiotic treatments in curing clinical and subclinical mastitis in lactating dairy cows. N.Z. Vet. J. 46: 226- 232.

46. McKinzie, M.; Hemling, T. (1995). The effect of teat skin condiction on milk yield and milk-out time. Proc An Mtg, Natl Mastitis Council 35: 166-167.

47. Mellenberger, R.; Kirk, J. (2001). Vacas lecheras infectadas con Staphilococus aureus. Disponible en: http://www.extension.org/pages/15900/vacas-lecheras-infectadas-con-staphilococus-aureus. Fecha de consulta: 3– 05-2015.

48. Menzies, P.; Ramanoon, S. (2001). Mastitis of sheep and goats. V C of North America: Food Animal Practice. 17:333-358.

49. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (2015). DIEA: Anuario estadístico 2015. Dirección de Estadísticas Agropecuarias Montevideo-Uruguay. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/portal/page.aspx?2,diea,diea-anuario-2015,O,es,0. Fecha de consulta: 01-04-2016.

50. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, decretos (2013). Disponible en: http://archivo.presidencia.gub.uy/sci/decretos/2013/11/mgap_212.pdf Fecha de consulta: 12-12-2014.

51. Molina, D.; Ángel, M.; Giraldo, J.; Durango, J.; Abreu, A.; Moncada, M.; Ramón, J. (2014). Efecto protector de un sellador de barrera artificial en el post-sellado de pezones de 50 vacas en ordeño mecánico en el Norte de Antioquia. J. Agric. Anim Sci. 3: 22-30.

52. Murdough P.; Pankey J. (1993) Evaluation of 57 teat Sanitizers Using Excised Cow Teats. J Dairy Sci. 67:1331-1335.

53. Navarro, C. (2010). Mastitis bovina causada por ECN. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infecciosas/bovinos_leche/43-mastitis_ecn.pdf. Fecha de consulta: 13-03-2015.

54. Neijenhuis, F.; Mein, G.; Morgan, W.; Reinemann, D.; Hillerton J.; Baines, J.; Ohnstad, I.; Britt, J.; Farnsworh, R.; Cook, N.; Hemling, T. (2001). Relationship

between teat-end callosity or hyperkeratosis and mastitis Proceedings, AABP.NMC International Symposium on Mastitis and milk Quality, Vancouver, BC. Canadá pp 362-366.

55. Nickerson S.; Watts,J.; Boddie,R; Pankey, J. (1986). Evaluation of 0,5 % and 1 % iodophor teat dips on commercial dairies. J. Dairy Sci. 69: 1693- 1698.

56. Nickerson, S. (2001). Choosing the best teat dip for mastitis control and quality. Disponible en: http://www.nmconline.org/articles/teatdip.htm. Fecha de consulta: 18-04-2015.

57. National Mastitis Council (2006). NMC Recommended Mastitis Control Program. Disponible en: http://nmconline.org/newsletters/UT29-06.pdf. Fecha de consulta: 11-11-2015.

58. Oliver, S.; Mitchell, B. (1984). Prevalence of mastitis pathogens in herds participating in a mastitis control program. J. Dairy Sci. 67: 2436- 2440.

59. Pankey, J.; Philpot, W.; Boddie, R.; Watts,J. (1983). Evaluation of nine teat dips under experimental challenge to Staphylococcus aureus y Streptococcus agalactiae J. Dairy Sci. 66: 161-167.

60. Pankey, J.; Eberhart, R.; Cuming, A. Daggett, R.; Farnsworth, R.; Mcduff, C. (1984). Update on postmilking teat antisepsis. J. Dairy Sci. 67: 1336 -1353.

61. Pankey J.; Boddie R.; Nickerson, S. (1985). Efficacy evaluation of two new teat dip formulations under experimental challenge. J. Dairy Sci. 68: 462- 465.

62. Pankey, J.; Pankey,P.; Barker, R.; Williamson, J.; Woolford, M. (1996). The prevalence of mastitis in primiparous heifers in eleven Waikato dairy herds.N.Z. Vet. J. 44: 41 - 44.

63. Pyörälä, S.; Taponen, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci—Emerging mastitis pathogens. Vet. Microbiol. 134: 3–8.

64. Radostits, O.; Gay, C.; Blood, D.; Hinchcliff, K. (2002). Mastitis. En: Radostits, O.; Gay, C.; Blood, D.; Hinchcliff, K. Medicina Veterinaria. 9ª ed. Madrid. Interamericana pp. 711-819.

65. Reneau, J. (1986). Effective use of Dairy Herd Improvement somatic cell counts in mastitis control. J. Dairy Sci. 69:1708-1720.

66. Riffon, R.; Sayasith, K.; Khalil, H.; Dubreuil, P.; Drolet, M. y Lagacé J. (2001). Development of a Rapid and Sensitive Testfor Identification of Major Pathogens in Bovine Mastitis by PCR. J. of Clinical Microbiology. 39:2584-2589.

67. Ruegg, P. (2001). Secreción de leche y estándares de calidad. Madison. University of Wisconsin. 35 p.

68. Ruegg, P. (2005). Milk quality factsheet. Disponible en: http://milkquality.wisc.edu/ Fecha de consulta: 30-03-2015.

69. Saran, A.; Chaffer, M. (2000). Mastitis y Calidad de la Leche. Buenos Aires. Inter-Medica. Pp 11-26.

70. Schultze, W.; Smith, J. (1972). Effectivenes of post- milking teat dips. J. Dairy Sci. 55: 426- 431.

71. Schultze, W.; Dowlen, H.; Moore, E.; Arapis, S.; Owen, J. (1976). Postmilking teat dipping in a herd of low infection incidence. J. Milk Food Technol. 10:671-674.

72. Schultze, W.; Smith, J. (1970). Effectiveness of chlorhexidine in a postmilking teat dip. J. Dairy Sci. 53:38-41.

73. Swinkels, J.; Hogeveen, H.; Zadocks, R. (2005). A partial budget model to estimate economic benefits of lactational treatment of subclinical Staphylococcus aureus mastitis. J. Dairy Sci. 88:4273-4287.

74. Taponen J.; Myllys V. (1995). The economic impact of mastitis. En: The bovine udder and mastitis. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine. Pp. 261-264.

75. Vasi, J.; Frykberg, L.; Carisson, L.; Lindberg, M.: Guss, B. (2000). M-like Proteins Streptococcus dysgalactiae. Infection and Immunity. 68: 294-302.

76. Watts, J.; Rossbach, S. (2000). Susceptibilities of Corynebacterium bovis and Corynebacterium amylocolatum Isolates from Bovine Mammary Glands to 15 Antimicrobial Agents. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 44:3476-3477.

77. Westfall, G.; Hinckley, W.; Daniels, H.; Decloux, J. (1987). Controlling mastitis with an aerosol teat disinfectant. Vet. Med. 82: 752 - 755.

78. Williamson, J.; Woolford, M.; Day, A. (1995). The prophylactic effect of a dry-cow antibiotic against Streptococcus-uberis. N.Z. Vet. J. 43: 228- 234.

79. Williamson, J.; Lacy Hulbert, S. (2013). Effect of desinfecting teats post-milking or pre-and post-milking on intramammary infection and somatic cell count. N.Z. Vet. J. 61: 262-268.

80. Yamada, J. (1979). Antimicrobial action of sodium laurylbenzene-sulfonate. Agric. Biol. Chem. 43: 2601-2602.

81. Zadoks R.; Allore H.; Barkema H.; Sampimon O.; Gröhn Y.; Schukken Y. (2001). Analysis of an outbreak of Streptococcus uberis Mastitis. J. Dairy Sci. 84:590-599.