



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Postgrado de la Facultad de Veterinaria (PPFV)

“Estudio de la evolución del recuento celular y el aislamiento bacteriano durante la lactancia en vacas lecheras”

Dra. Elena María de Torres Tajés DMTV

Campo Experimental Nº2 - Facultad de Veterinaria
Director de Tesis: Jacqueline Maisonnave

TESIS DE MAESTRIA EN PRODUCCIÓN ANIMAL

URUGUAY
2010



UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA

Programa de Postgrado de la Facultad de Veterinaria (PPFV)

“Estudio de la evolución del recuento celular y el aislamiento bacteriano durante la lactancia en vacas lecheras”

Dra. Elena María de Torres Tajés

Jacqueline Maisonnave ; DMV, MSc, MPVM, PhD
Directora de Tesis

URUGUAY

2010

AGRADECIMIENTOS

- A Jorge, Lucía y Cecilia, que me quieren ,me acompañan, me apoyan y desean lo mejor para mí.
- A mis padres que siempre están.
- A la Dra. Jacqueline Maissonave, por su apoyo y dedicación y al Dr. Hernán Carol, mi primer tutor
- Al equipo del Departamento de Estadística, en especial al Dr. José Piaggio
- Al Laboratorio COLAVECO, por la financiación de los análisis.
- A la Dra. Mette Bouman por su apoyo en el trabajo.
- A la Facultad de Veterinaria
- Al Equipo de trabajo del tambo de la Facultad de Veterinaria, en especial a: Adriana Cazard y flia. y a Wilman Pacheco y flia., que hicieron posible que pudiera dedicar el tiempo necesario para llevar adelante este trabajo.
- A la Dra Lía Vilaró, que me ayudó con el registro de la información imprescindible para realizar este trabajo.
- A los compañeros del curso de Postgrado, en especial a Virginia, Alejandra y Anabela.
- Al Ing Agr. Alejandro Mendoza por su invaluable apoyo en el tramo final de la presentación de este trabajo.
- A la Dra Elsa Garófalo
- A todos los integrantes del tribunal de defensa de la tesis, por sus valiosos comentarios y sugerencias, que posibilitaron la mejora de este trabajo respecto al manuscrito original

INDICE

Contenido	Página
1. INTRODUCCION	5
1.1 Producción Lechera	5
1.2 Mastitis	6
1.3 Microorganismos causantes de mastitis	8
1.3.1 Patógenos contagiosos	8
1.3.2 Patógenos ambientales	10
1.3.3 Patógenos oportunistas	12
2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS	13
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS	13
3.1 Hipótesis	14
3.2 Objetivo general	14
3.3 Objetivos específicos	14
4. ESTRATEGIA DE LA INVESTIGACION	15
5. MATERIALES Y METODOS	15
5.1 Características del establecimiento	15
5.2 Animales	16
5.3 Muestreo para recuento celular y aislamiento bacteriano	17
5.3.1 Recuento de células somáticas por cuarto y por vaca	17
5.3.2 Aislamiento bacteriano	17
5.4 Análisis estadístico	18
6. RESULTADOS	19
6.1 Recuento celular individual por vaca y por cuarto	19
6.2 Cultivo bacteriano	19
6.3 Recuento celular por cuarto y aislamiento bacteriano	20
6.4 Microorganismo aislado y recuento celular por cuarto	21
6.5 Evolución del recuento celular por cuarto en la lactancia y aislamiento	22
6.6 Relación del recuento celular por cuarto con el aislamiento bacteriano, el número de lactancia, etapa de lactancia y número de cuarto	25
6.7 Recuento celular por vaca y aislamiento	27
7. DISCUSION	28
7.1 Recuento celular individual por vaca y por cuarto	28
7.2 Cultivo bacteriano	28
7.3 Recuento celular por cuarto y aislamiento bacteriano	30
7.4 Evolución del recuento celular por cuarto en la lactancia y aislamiento	31
7.5 Relación del recuento celular por cuarto con el aislamiento bacteriano, el número de lactancia, etapa de lactancia y número de cuarto	31
7.6 Recuento celular por vaca y aislamiento	32
8. CONCLUSIONES	33
9. ANEXOS	35
10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	38

LISTA DE CUADROS Y GRAFICAS

	Página
Cuadro I	21
Cuadro II	21
Cuadro III	22
Cuadro IV	23
Cuadro V	26
Cuadro VI	27
Cuadro VII	28
GRAFICA 1	20
GRAFICA 2	24
GRAFICA 3	24
GRAFICA 4	25

RESUMEN

La mastitis es la enfermedad más común y de mayor importancia económica del ganado lechero del Uruguay. El objetivo de este trabajo fue conocer respuesta inflamatoria de la glándula mamaria en relación a la colonización por diferentes tipos de microorganismos, al número de lactancia, a la etapa de la misma y a la ubicación del cuarto. El estudio se llevó a cabo durante un año en un establecimiento lechero. Se utilizaron 34 vacas lecheras de raza Holando y cruza Holando por Jersey. Se tomaron muestras mensualmente para aislamiento, recuento celular por cuarto y recuento celular individual. El rodeo donde se realizó este estudio es un rodeo sano, ya que la mayoría de los animales estudiados tuvieron recuentos celulares menores o iguales a 200.000 cel/ml. Los microorganismos más frecuentemente aislados fueron el *Corynebacterium bovis* y el *Staphylococcus aureus*. Este último fue el único patógeno que se aisló en los casos considerados como infección crónica. Se determinó que el aislamiento positivo fue el factor más importante que afectó el recuento celular. El incremento en el número de células fue más pronunciado para patógenos mayores. En relación al número de lactancia no hubo diferencia significativa en el número de células por cuarto ni en los aislamientos en las sucesivas lactancias. No se encontraron diferencias en el recuento celular por cuarto de acuerdo a la ubicación del mismo. En lo que tiene que ver con la etapa de lactancia, se encontraron más aislamientos a medida que progresa la misma de forma significativa. En ningún muestreo el promedio del recuento celular de las muestras sin aislamiento fue mayor a 200.000 cel/ml.

Se encontró que al considerar el recuento celular por vaca, cuando el recuento es mayor a 200.000 cel/ml, la probabilidad de tener un cultivo positivo en alguno de sus cuartos es casi el doble que si el recuento es menor o igual a 200.000 cel/ml. Este resultado muestra la practicidad del uso del recuento celular individual como test diagnóstico para identificar vacas con cultivo positivo.

SUMMARY

Mastitis is the most common disease of dairy cattle in Uruguay and causes large economic losses. The objective of this study was to contribute with information about somatic cell count and bacterial isolation and its relationship with the number and stage of lactation and quarter position. The study was done during a year with 34 dairy cows Holstein Freisian, and cross Holstein by Jersey. Monthly samples were taken for isolation, quarter cell count and individual cell count. The herd was a healthy one, as most of the animals had individual somatic cell count below or equal to 200.000 cell/ml. The microorganisms most frequently isolated were *Corynebacterium bovis* and *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*). In chronic mastitis the only pathogen isolated was *S.aureus*. The isolation of a pathogen was the factor that caused more increase in somatic cell count. The cell count was greater for major pathogens. There was no difference in quarter somatic cell count and pathogen isolation in regards to the number of lactation. The quarter position did not influence the cell count. As the lactation progresses significantly more isolations were found. Always the samples with negative isolation had somatic cell counts below 200.000 cell/ml. If the individual cell count is more than 200.000 cell/ml the probability of positive isolation in one quarter is double than if the individual somatic cell count is less than 200.000 cell/ml.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Producción Lechera y Calidad de Leche

La producción lechera en Uruguay representa un importante sector dentro de la producción agropecuaria nacional. Se destina una superficie total de 849.000 hectáreas para dicha producción, el total de vacunos lecheros es de 744.000 cabezas. Existen 4.592 productores lecheros, de los cuales 3.474 remiten a planta, con una producción anual de 1.531 millones de litros. (MGAP; DIEA, 2009). La producción de leche ha crecido constantemente en los últimos 25 años, a una tasa promedio anual del 5%, cifra que se elevó a 6% en la década de los '90. Uruguay se ubica en el primer lugar de América Latina tanto en la producción de leche por habitante y por año (412 lts/hab/año) como en el consumo (228 lts/hab/año). Desde principios de la década del '60 nuestro país se autoabastece y se ha transformado en un fuerte exportador. El 60% de la leche que reciben las industrias se envía al mercado internacional llegando a unos 70 países.

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. El resultado ha sido un exitoso plan de trabajo para considerar la calidad de la leche tanto en el proceso de producción como en el producto final (www.uruguayxxi.gub.uy). 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 N° 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, (Cuadro 1, Anexo) que se modificó en ese mismo año (Cuadro 2, Anexo). La Junta Nacional de la Leche recomendó posteriormente efectuar ajustes al Sistema a partir del 1° de marzo de 1999 y entró en vigencia el Sistema Nacional de Calidad de la Leche actualmente vigente (última modificación 1999, Cuadro 3, Anexo). Este sistema deja librado a la Industria la posibilidad de crear categorías superiores con bonificaciones extraordinarias. Por ejemplo CONAPROLE: menos de 50×10^3 UFC/ml de recuento bacteriano (RB) y 400×10^3 cel/ml de recuento de células somáticas (RCS) bonifica un 18% sobre la leche industria. Entre 51 y 100×10^3 UFC/ml de RB y entre 401 y 600×10^3 cel/ml de RCS tiene una bonificación variable; entre 101 hasta 200×10^3 UFC/ml de RB y entre 601 y 800×10^3 cel/ml de RCS no recibe bonificación y con más de 200×10^3 UFC/ml y más de 800×10^3 cel/ml comienzan las penalizaciones (Cuadro 4, Anexo).

Los Estados Unidos de América (EUA) y la Comunidad Económica Europea (CEE), poseen decretos que regulan el límite superior de RCS permitidos para recibir leche en las plantas industrializadoras, la CEE (ordenanza 92/46/CEE) ha establecido un límite de 400×10^3 células/ml, mientras que en

los EUA la Ordenanza de Leche Pasteurizada (PMO) ha establecido el límite en 750×10^3 cel/ml (citado por Giannechini *et al.*, 2002).

El recuento celular en cel/ml mide la calidad sanitaria de la leche, y está en relación con la presencia de mastitis.

La causa más importante de variación en el RCS es el estatus de infección (Harmon, 1994; Brolund, 1985; Laevens *et al.*, 1997; Schepers *et al.*, 1997).

2. ANTECEDENTES ESPECÍFICOS

2.1 Mastitis

La inflamación de la glándula mamaria (mastitis) es la enfermedad más común del ganado lechero y la de mayor importancia económica en el mundo. Esto es así, ya sea por su influencia en la obtención de una leche de calidad, y por tanto en el precio final obtenido por el productor, sino también por las pérdidas directas e indirectas que provoca la mastitis en la producción de leche (Eberhart *et al.*, 1987; Harmon, 1994; Taponen, 1995). Además de las pérdidas económicas directas, existen efectos indirectos relacionados al aumento de las células somáticas que incluyen pérdidas de producción (Swinkels *et al.*, 2005), potencial diseminación de patógenos a las vacas que no están infectadas (Zadoks *et al.*, 2001; Barkema *et al.*, 2006), y reducción de la fertilidad en la lactancia temprana (Schrick *et al.*, 2001; Barkema *et al.*, 2006). En Uruguay se estarían produciendo pérdidas anuales de USD 26 millones debido a la mastitis (Giannechini *et al.*, 2002).

La inflamación de la glándula mamaria produce alteraciones no sólo en la producción sino también en la composición de la leche y sus propiedades físico-químicas. Estos cambios en el contenido de proteína, grasa, lactosa, iones y enzimas que componen la leche son producidos por la afectación de la actividad de síntesis del epitelio de la glándula mamaria (Heeschen & Reichmuth, 1995) con el aumento de la permeabilidad de los vasos sanguíneos que se produce durante el proceso de la inflamación dando lugar al pasaje de componentes de la sangre desde la circulación hacia el acino secretor (Korhonen & Kaartinen, 1995). Ha sido reportado hasta un descenso del 10% en el contenido de lactosa, 9% en el contenido graso, y hasta un 18% en el porcentaje de caseína (Harmon, 1994). Estos cambios son de importancia para determinar el valor nutricional del producto y de gran significancia tecnológica para la obtención de los diferentes subproductos de la leche. Está ampliamente aceptado que la causa predominante de mastitis es la infección intramamaria por un microorganismo, por lo general una bacteria. La infección, que resulta de la entrada de las bacterias a través de la teta a la ubre ha sido considerada como el proceso primario de las mastitis (Dohoo & Meek, 1982). La respuesta inflamatoria de la glándula mamaria (mastitis) se inicia con la entrada de los microorganismos a la glándula mamaria a través del canal de la teta y su multiplicación en la leche (Bramley *et al.*, 1996). Los microorganismos tienen un efecto directo en la función del epitelio mamario pero también interactúan con las células en la leche, sobretudo macrófagos

y estimulan la producción de numerosos mediadores de la inflamación que están directamente involucrados en la patogénesis de la enfermedad (Gallin *et al.*, 1992; Zeconni & Smith, 2000). Uno de los componentes iniciales de la respuesta inflamatoria es la migración de leucocitos polimorfonucleares (PMN) al tejido mamario (Paape *et al.*, 1979; Harmon & Heald, 1982; Nickerson & Pankey, 1984; Craven & Williams, 1985) produciendo un aumento del RCS de la leche. Si consideramos el RCS por vaca o por cuarto en vacas o cuartos no inflamados, éste está generalmente por debajo de 200×10^3 cel/ml en el caso de animales de más de una lactancia y por debajo de 100×10^3 cel/ml para el caso de vaquillonas (Harmon, 2001). Se ha estimado que el 80% de las vacas que no tienen infección tienen RCS por debajo de 200×10^3 cel/ml (Eberhart *et al.*, 1982). No existe evidencia que indique que la secreción normal de cuartos sin infección puedan afectarse significativamente (aumentar su recuento por encima de 200×10^3 cel/ml) por circunstancias distintas a la infección intramamaria (Harmon, 2001). Asimismo un recuento celular individual por vaca mayor a 200×10^3 cel/ml se considera indicador de infección bacteriana (Brolund, 1985; Schepers *et al.*, 1997), con una sensibilidad de este límite entre 74.5% y 83.4% (Schepers *et al.*, 1997).

Por tanto, el RCS por cuarto o por vaca es utilizado para la detección de inflamación intramamaria. (Dohoo & Meek 1982; Brolund, 1985; Reneau, 1986; Harmon, 1994; Pyorala, 2003). Debemos aclarar que la unidad desde el punto de vista de la salud de la ubre es el cuarto por lo que este estudio considera el recuento celular y el aislamiento por cuarto. Sin embargo, el RCS individual es el que comúnmente se utiliza para evaluar la salud del rodeo por lo que también se tomaron muestras en el mismo momento para recuento individual por vaca.

La inflamación puede, en un menor número de casos, resultar en daño de los tejidos provocado por un traumatismo o mal funcionamiento de la máquina ordeñadora y por tanto por lo menos, en una primera etapa no existe en estos casos infección bacteriana (Saran & Chaffer 2000). Como consecuencia de esto, los conceptos de infección e inflamación, no siempre deben considerarse juntos.

Entre el 25% y el 40% de las muestras de cuartos con mastitis clínica o subclínica no presentan crecimiento en el cultivo. Esta realidad hace que sea necesario repetir las muestras para cultivo para establecer si la etiología es infecciosa o no. Los casos de mastitis infecciosas con cultivos que dan negativos, se atribuirían a diferentes causas, una de ellas la excreción irregular, que tienen algunos microorganismos como *Mycoplasma*, *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) y *coliformes*. (Hogan & Col, 1999).

1.3 Microorganismos causantes de mastitis

Diferentes tipos de microorganismos son fuente de infección para la ubre a través de su penetración por el orificio de la teta, por tanto para abordar la salud de la ubre debemos considerar al cuarto mamario como unidad para el estudio.

Los microorganismos que causan mastitis se pueden agrupar en contagiosos, ambientales u oportunistas (Blowey & Edmonson, 1995) o mayores o menores (Hassan, 2009). Estas clasificaciones están basadas en el modo de transmisión del patógeno y en los efectos observados en el animal respectivamente. Los patógenos mayores tienen en general una respuesta celular más alta medida en número de cel/ml que los patógenos menores y son frecuentemente causa de mastitis clínica. Los patógenos mayores incluyen microorganismos contagiosos y ambientales *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), *Streptococcus uberis*, (*Str.uberis*) *Streptococcus agalactiae*, (*Str.agalactiae*) *Streptococcus dysgalactiae*, (*Str.dysgalactiae*), *Escherichia coli*, (*E.coli*), *Klebsiella spp* y *Arcanobacterium pyogenes* (*A.pyogenes*) Los patógenos menores incluyen *Staphylococcus coagulasa negativos* (*SNC*) y *Corynebacterium bovis* (*C.bovis*). y producen una respuesta celular menor que la producida por los patógenos mayores produciendo mastitis clínica con menos frecuencia (Bodoh *et al.*, 1976; Harmon, 1994).

De acuerdo a su epidemiología los patógenos a considerar son: contagiosos, ambientales y oportunistas.

1.3.1. Patógenos contagiosos

La fuente primaria de infección para los patógenos contagiosos es la glándula mamaria infectada, desde donde los patógenos son diseminados principalmente durante el ordeño (Smith & Hogan, 1995).

Los microorganismos contagiosos son: El *S.aureus*, *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae*, *C. bovis*, (Saran & Chaffer, 2000), y *Mycoplasma spp.* (Fox & Gay, 1993; Smith & Hogan, 1995). La infección intramamaria causada por estos patógenos de la ubre es transmitida de vaca a vaca (Fox & Gay, 1993). Una característica común de los patógenos contagiosos es su habilidad para colonizar y crecer sobre la piel y dentro del canal de la teta (Smith & Hogan, 1995). El *S. aureus* es la bacteria Gram positiva que más frecuentemente causa mastitis en la mayoría de los sistemas de Producción (Barkema *et al.*, 1998). *S. aureus* es la causa más prevalente de infecciones intramamarias en el Uruguay, mientras que la prevalencia de *Str. agalactiae* ha sido notoriamente reducida desde la aplicación de las medidas de control tales como: buena higiene durante el ordeño, sellado de los pezones después del ordeño y terapia con antibióticos (Fox & Gay, 1993; Giannechini, 2005). Esto se comprueba si se comparan los datos obtenidos por Laborde en 1981 con los actuales que registró Giannechini *et al.* (2005). En el estudio de Giannechini, realizado en Uruguay en la cuenca tradicional, la prevalencia de mastitis subclínica fue de 50% a nivel de vacas y el 48% de los

aislamientos de esas mastitis subclínicas fueron por *S. aureus*, con un 6% adicional de *S. aureus* en combinación con estreptococos. De los casos de mastitis clínica, el 47% de los aislamientos fueron *S. aureus*, con un 13% adicional de *S. aureus* en combinación con otros patógenos.

S. aureus y *Str. agalactiae* causan incremento en el recuento de células somáticas (RCS) con un importante impacto económico (Honkanen-Buzalski & Pyörälä, 1995). Según Smith & Hogan (1995), las infecciones causadas por *S. aureus* y *Str. agalactiae* frecuentemente derivan en mastitis subclínica, mientras el 40% de las infecciones podrían desarrollar síntomas clínicos.

El *Str. agalactiae* causa, la mayoría de las veces mastitis subclínica con recuentos celulares muy altos y es altamente susceptible a la penicilina (Honkanen-Buzalski & Pyörälä, 1995) lo que contribuye a hacer factible la erradicación del mismo de los rodeos lecheros. Este último, provoca aumentos sustanciales en el recuento celular promedio Mc Ewen (1947), Ward (1972).

McDonald (1984), afirma que *S. aureus*, en contraste, es dificultoso de controlar una vez que ha comenzado su diseminación y un número determinado de glándulas están infectadas dentro de un rodeo.

Esta bacteria puede vivir por varios meses en lesiones de la teta y en otras localizaciones del cuerpo de la vaca tales como la vagina y las amígdalas.

El *Str. dysgalactiae*, algunas veces es considerado como un patógeno contagioso y otra como un patógeno medioambiental (Fox & Gay, 1993). Este estreptococo está muy asociado a las lesiones de la piel del pezón, se adhiere a las células epiteliales y las invade y, puede asimismo, sobrevivir en el ambiente (Calvinho, 1998). Es probable que en Uruguay se comporte más como contagioso, dado la frecuencia de lesiones del pezón sobretodo en invierno.

El *C. bovis* se considera como un patógeno menor; supuestamente causa poco daño y una leve inflamación. El aumento del recuento celular es moderado ($300-400 \times 10^3$ cel/ml) y es altamente contagioso. La sensibilidad a todos los antibióticos es buena, y por tanto, el secado con poma elimina la infección. Sin embargo, la re-infección es muy común, ya que se trata de un microorganismo muy contagioso.

El *Mycoplasma spp.*, causa principalmente mastitis clínicas y la infección es frecuentemente hallada en varios cuartos a la vez (Smith & Hogan, 1995).

1.3.2. Patógenos ambientales

Los patógenos ambientales responsables de infecciones intramamarias son *Str. uberis*, *Enterococcus faecalis* (*Ent. faecalis*) *Enterococcus Faecium* (*Ent. Faecium*), *Enterococcus spp.*, *E. coli*, *A. pyogenes* y *Pseudomonas* (Smith & Hogan, 1995; Honkanen-Buzalski & Pyörälä, 1995; Philpot & Nickerson, 1991).

La fuente de patógenos medioambientales en rodeos lecheros son el barro, los restos de silo, y henos en los piquetes o corrales. Los estreptococos medioambientales y bacterias coliformes sobreviven y se desarrollan en esos materiales (Hogan *et al.*, 1989b). Para la infección por *Pseudomonas* el agua contaminada y los detergentes usados para la limpieza del equipo de ordeño también son fuentes potenciales ya que estas bacterias también pueden desarrollarse en ellos (Honkanen-Buzalski & Pyörälä, 1995). Estos patógenos causan por lo general infecciones de corta duración en comparación con los patógenos contagiosos.

Todhunter *et al* (1991), analizaron infecciones por estreptococos durante 7 años en un rodeo estabulado (374 casos) y casi la mitad de las infecciones tuvieron lugar durante el período seco, encontraron además que el 46% de las infecciones se eliminaron sin tratamiento.

Los estreptococos ambientales pueden causar infecciones crónicas al igual que los microorganismos contagiosos. Aproximadamente un 20% de las infecciones intramamarias a estreptococos medioambientales (*Str. uberis* y *Str. dysgalactiae*) excederían los 100 días de duración lo que determinaría una infección crónica. Del 40% al 50% de las infecciones están asociadas con síntomas clínicos.

En recientes estudios se ha demostrado que algunas cepas de *Str. uberis* tienen un comportamiento epidemiológico más complejo de lo que se pensaba, ya que Zadoks *et al.*, (2001) y Phuektes *et al.* (2001), encontraron evidencias de transmisión directa (vaca a vaca) de este patógeno.

Puede suceder que la fuente primaria de infección sea el ambiente, pero una vez que se produce la infección en el animal este puede contagiar a otro a través de la rutina de ordeño o la máquina ordeñadora.

El índice y prevalencia de infecciones intramamarias por patógenos medioambientales son más elevados en vacas estabuladas que en vacas a pastoreo (Goldberg *et al.*, 1992), porque los sistemas pastoriles minimizan la contaminación bacteriana de las tetas y la población de patógenos medioambientales sobre el esfínter de la teta.

Los índices de infecciones intramamarias y la incidencia de casos de mastitis clínica causados por patógenos medioambientales, se incrementan durante los meses de verano en rodeos lecheros estabulados (Hogan *et al.* 1989a; 1989b), sin embargo en otros sistemas de producción durante la estación de

lluvias se produce un incremento de este tipo de mastitis (Smith & Hogan, 1995).

Los índices de infecciones intramamarias causadas por patógenos medioambientales, son generalmente altos durante el período seco de la vaca. Los niveles de infecciones intramamarias son elevados durante las 2 primeras semanas seguidas al secado y las 2 semanas antes del parto (Todhunter *et al.*, 1991). Cuando la involución es completa (luego de las dos semanas del secado), la ubre se vuelve más resistente a las infecciones. La lactoferrina es una proteína secuestradora de hierro secretada por las células epiteliales y fagocitos; la presencia de esta proteína produce una reducción de la cantidad de hierro disponible. Este es el nutriente limitante más importante que regula el crecimiento de bacterias aeróbicas, principalmente coliformes por lo que se reduce el riesgo de infecciones por estos patógenos (Sandholm & Korhonen, 1995; Sandholm & Pyörala, 1995). El efecto del sistema de lactoferrinas en leche es óptimo en el período seco de la vaca y previene el crecimiento bacteriano. Sin embargo cuando se acerca el momento del parto, las funciones inmunes están deprimidas debido al aumento de corticoides y aumenta el riesgo de nuevas infecciones (Persson Waller, 2000).

Si consideramos en el período de lactancia la incidencia de casos de mastitis clínicas causadas por los patógenos medioambientales, es más alta durante los primeros meses de lactación, luego declinan progresivamente hacia el final de la misma. El efecto de la etapa de lactancia es generalmente más pronunciado con las bacterias coliformes que con los estreptococos medioambientales (Smith & Hogan, 1995).

Las infecciones intramamarias a *E. coli* son más prevalentes durante los 7 primeros días de lactación (Todhunter *et al.*, 1991; Smith & Hogan, 1995).

Las infecciones causadas por *A. pyogenes*, están generalmente presentes en menos de 1% de los cuartos de un rodeo lechero. Estas infecciones causan frecuentemente severos casos de mastitis clínicas que son refractarios a la terapia con antibióticos (Smith & Hogan, 1995).

Las medidas que se instrumentan para controlar las infecciones causadas por microorganismos contagiosos, no son efectivas en el control de la infección por patógenos ambientales ya que los reservorios de estos microorganismos no son afectados directamente. Las medidas en estos casos, estarán basadas sobre disminuir la exposición de la punta de las tetas a los patógenos e incrementar la resistencia de las vacas a las infecciones intramamarias a través de un status inmunitario adecuado (Smith & Hogan, 1995).

1.3.3. Patógenos oportunistas

Como patógenos oportunistas han sido descritos los SCN, (Philpot & Nickerson, 1991). Las especies más importantes de SCN aislados en infecciones intramamarias son *Staphylococcus chromogenes* (*S. chromogenes*), *Staphylococcus hyicus* (*S. hyicus*), *Staphylococcus warnery* (*S. warnery*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*), *Staphylococcus simulans* (*S. simulans*), *Staphylococcus xylosum* (*S. xylosum*), *Staphylococcus sciuri* (*S. sciuri*) y *Staphylococcus haemolyticus* (*S. haemolyticus*), (Jarp, 1991; Birgersson *et al.*, 1992; Smith & Hogan, 1995). Estos microorganismos son considerados patógenos menores y son parte de la flora normal de la piel de los bovinos, pueden ser aislados de las fosas nasales, los pelos, la vagina, piel de los pezones, canal del pezón y muestras de leche y su afinidad por las células epiteliales de la ubre no es muy grande (Smith & Hogan, 1995). Sin embargo, los SCN estuvieron presentes en el 11% de los casos de mastitis clínica y el 15% de los aislamientos de mastitis subclínica en el estudio de Giannechini *et al.*, 2005.

Los SCN se aíslan frecuentemente en casos de mastitis clínica y subclínica en diversos sistemas de producción. La mastitis producida por estos microorganismos puede ocurrir esporádicamente o en forma de brotes epidémicos. En un estudio reciente en Alemania, en 35% de los cuartos con mastitis subclínica se aislaron SCN (Tenhagen *et al.*, 2006). En un estudio realizado en USA y Canadá, el 15% de las nuevas infecciones intramamarias postparto se debieron a SCN (Dingwell *et al.*, 2003).

El incremento de las infecciones intramamarias causadas por SCN se ha producido en los últimos años en los establecimientos lecheros donde son implementadas las medidas de control contra los patógenos contagiosos ya que éstas, son menos efectivas en el control de este otro tipo de microorganismos (Myllys *et al.*, 1994; 1998).

Entre los SCN, el *S. chromogenes* y el *S. hyicus* son los de mayor prevalencia en los aislamientos obtenidos de casos clínicos (Smith & Hogan, 1995).

La prevalencia de las infecciones causadas por SCN han sido reportadas entre un 4% hasta un 28% en casos de mastitis clínicas en rodeos lecheros (Bartlett *et al.*, 1992; Miltenburg *et al.*, 1996; Shpigel *et al.*, 1998; Sargeant *et al.*, 1998). Según Smith & Hogan (1995), la incidencia de casos clínicos causados por SCN fueron más del doble en rodeos con RCS bajos que en aquellos que tenían RCS altos.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS

La calidad sanitaria de la leche que se produce en nuestro país debe ser mejorada para evitar las pérdidas que esta situación acarrea al Sistema de Producción Lechera.

El Sistema de Pago por Calidad, ha estimulado a los productores a producir leche con recuentos celulares cada vez más bajos decreciendo sensiblemente de 545.8×10^3 cel/ml (promedio de RCS de la leche recibida en plantas industrializadoras) en 1996 a 385.4×10^3 cel/ml en 2003. (OPYPA, 2003). Desde ese momento no existen datos oficiales disponibles sobre recuentos celulares de la leche recibida en plantas industrializadoras y los datos presentados en la Jornada de Actualización Técnica en Lechería (Delucci *et al.*, 2008), muestran que el recuento celular de las muestras recibidas de la leche de tanque en el Laboratorio de Calidad de leche de INIA La Estanzuela de Julio de 2006 a Julio 2008, varió desde 304×10^3 cel/ml a 424×10^3 cel/ml. Estos resultados nos dan una idea más actualizada de cuál es la calidad sanitaria de la leche producida en el país. Estos datos muestran que desde 2003 a 2008, no se ha mejorado la calidad sanitaria (medida por el recuento celular en el tanque) de la leche producida en el país. Es necesario tener en cuenta, que recuentos en el tanque de 400×10^3 cel/ml dan lugar a pérdidas en producción de entre 5% y 6%, vinculadas principalmente a la menor producción de las vacas con mastitis tanto clínica como subclínica (Sandholm *et al.*, 1995).

Para prevenir dichas pérdidas es necesario tener un rodeo sano, con un recuento celular en el tanque menor a 250×10^3 cel/ml y una proporción de cuartos infectados menor al 10% (Sandholm, 1995).

Esta realidad justifica el desarrollo de líneas de trabajo que generen conocimiento y permitan prevenir las pérdidas que se producen por la obtención de leche con una inadecuada calidad sanitaria.

En los primeros trabajos que se realizaron en Uruguay sobre mastitis (Del Balgivi *et al.*, 1976), el *Str. agalactiae* (53.4%) y *S. aureus* (28.8%) fueron los principales patógenos aislados. En el mismo año, Laborde *et al.*, (1981), utilizando el California Mastitis Test (CMT), (Schalm & Noorlander, 1957) en muestras de leche de tanque del 75% de establecimientos lecheros remitentes en el país, reportaron que el 55% de las muestras fueron CMT grado 2 ($800 - 5.000 \times 10^3$ cel/ml) y CMT grado 3 ($> 5.000 \times 10^3$ cel/ml).

Los trabajos de Giannechini *et al.* (2002, 2005), nos muestran una realidad más actualizada en relación a los microorganismos productores de mastitis clínica y sub-clínica en el país, pero no disponemos de información acerca de cómo es la respuesta celular a esas infecciones causadas por los diferentes microorganismos. Se ha demostrado en otros sistemas de producción que esa respuesta no es igual para los diferentes microorganismos (Barkema *et al.*, 1998; Eberhart *et al.*, 1982; Ohtani S, 1994; Dang A. & Anand S., 2007). De acuerdo a Reksen (2008), el cultivo bacteriano se usa rutinariamente para el diagnóstico de mastitis, esos resultados se usan frecuentemente como base para la evaluación de la calidad y la magnitud de un problema de rodeo; por lo que es imprescindible comenzar a aprender cual es el verdadero valor de un cultivo positivo.

Otros estudios, como el de Olde *et. al.*, (2007), demuestran la importancia del aislamiento bacteriano y la diferenciación de los diferentes patógenos para evaluar el efecto de la estación del año en el recuento celular.

Otra de las cuestiones a resolver tiene que ver con el establecimiento de un límite de recuento celular por cuarto y por vaca a partir del cual consideraríamos un cuarto o una vaca con inflamación intramamaria. Para ello, en este estudio tomaremos el criterio propuesto por Sheldrake *et. al.*, (1983), Eberhart (1982) y Jones (1984) de 200×10^3 cel/ml para discriminar entre cuartos y vacas sanas y enfermas, para ser validado en nuestras condiciones.

3.1 Hipótesis

La respuesta inmune medida por el recuento celular por vaca o por cuarto varía de acuerdo al microorganismo que coloniza la glándula mamaria, al número de lactancia, a la etapa de la misma y a la ubicación del cuarto mamario.

3.2 Objetivo General

Estudiar de la respuesta inflamatoria de la glándula mamaria en relación a la colonización por diferentes tipos de microorganismos, al número de lactancia, a la etapa de la misma y a la ubicación del cuarto.

3.3 Objetivos Específicos

- Determinar el recuento celular por cuarto y por vaca a lo largo de la lactancia.
- Aislar e identificar los microorganismos que colonizaron la glándula mamaria en las lactancias consideradas
- Estudiar la relación entre el recuento celular por cuarto, la etapa de lactancia, los microorganismos aislados, el número de lactancia y la ubicación del cuarto.
- Evaluar la factibilidad de uso del recuento celular individual como test diagnóstico para identificar vacas con cultivo positivo.

4. ESTRATEGIA DE LA INVESTIGACIÓN

El estudio se realizó en el Campo Experimental N°2 de la Facultad de Veterinaria ubicado en la cuenca lechera tradicional del país. Se estudiaron las lactancias completas de las 34 vacas que parieron en otoño en condiciones pastoriles de producción. En el Uruguay el mayor porcentaje de vacas lecheras paren en esa época del año. (www.mejoramientolechero.org.uy).

Las muestras se tomaron por cuarto y por vaca ya que la unidad desde el punto de vista de la salud de la ubre es el cuarto pero el recuento celular individual por vaca es la determinación que comúnmente se utiliza para

evaluar la salud de un rodeo. La etapa analítica se realizó en el Laboratorio COLAVECO

A través de este estudio esperamos contar con información que nos permita mejorar el Plan de Control de Mastitis y utilizar adecuadamente el recuento celular individual por vaca que es una herramienta de uso corriente en nuestro país.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo durante un año (febrero de 2003 a enero de 2004) en el Campo Experimental N° 2 de la Facultad de Veterinaria, departamento de San José, al sur oeste de la República Oriental del Uruguay (R.O.U), dentro de la cuenca lechera tradicional del país.

5.1 Características del establecimiento

- Es un rodeo con recuento celular de la leche mezcla inferior a 250.000 cel/ml en el año previo al estudio.
- Existe un Plan de Control de Mastitis
- Los animales tienen un régimen de alimentación de base pastoril
- Los animales se ordeñan dos veces por día.
- Las pariciones son desde febrero a noviembre, con el 65% de los partos en otoño.
- El personal encargado de los animales es el mismo desde hace cuatro años.
- Existe un Plan sanitario con vacunaciones y desparasitaciones establecidas.
- Las vacas se secan dos meses previos al parto o cuando dan menos de 8 lts por día.
- Luego del parto los animales permanecen con sus terneros entre 20 y 24 horas.
- El primer parto de las vaquillonas es en promedio a los 27 meses.
- El porcentaje de abortos es menor al 5%.

5.2 Animales

Se seleccionaron 34 vacas Holando y cruza Holando por Jersey, las razas mayoritarias en el país, que parieron entre febrero y junio de 2003 con peso entre 480 y 540 kilos, con una condición corporal entre 3 y 3,5 de acuerdo a la escala de 5 puntos de Edmonson (1989). Durante el período de estudio la condición se mantuvo entre 2,5 y 3,5. Tanto la condición al parto como la que se mantuvo durante el ensayo son evaluadas como las que no provocan alteraciones en la salud de los animales (Roche, 2009), (Breen *et. al.*, 2009).

Este es un rodeo estabilizado en cuanto al número de vacas en ordeño ya que el porcentaje de vaquillonas coincide con el porcentaje de refugo.

De los animales seleccionados el 20% (7) fueron vaquillonas de primer cría y el resto estaban entre segunda y quinta lactancia (8 de 2ª lactancia, 12 de

3ª lactancia, 4 de 4ª lactancia y 3 de 5ª lactancia). El porcentaje de vaquillonas de primera cría en los animales seleccionados coincide con el porcentaje de las mismas en el rodeo donde se realizó el trabajo.

En relación a la producción de leche de las vacas y la de las madres de las vaquillonas seleccionadas, no tenían diferencias significativas si se evalúan sus producciones por lactancia corregidas.

Ninguno de los animales seleccionados presentó enfermedad clínica con afectación del estado general.

Una de las vacas seleccionadas tenía un cuarto fibrosado que no producía leche y estuvo sólo en 4 muestreos, ya que murió al quinto mes de parida.

5.3 Toma de muestras y análisis

Se tomaron muestras mensualmente de las vacas que habían parido hasta ese momento. A cada vaca se le muestreaba mensualmente desde el parto hasta el secado. (Cuadro 5, Anexo)

Se tomaron muestras por vaca y por cuarto.

Las muestras por vaca eran muestras de leche compuestas de los cuatro cuartos tomadas del medidor individual de leche (The True Test Ltd. Auckland, New Zealand). Estas muestras fueron preservadas con 0,02 bronopol % (The Boots Co. PLC, Nottingham, England).

Previo al ordeño y luego de la eliminación de los primeros chorros se tomaron muestras de leche por cuarto en frascos estériles de acuerdo a las normas establecidas por el National Mastitis Council (NMC, 1999), se congelaron y se procesaron según Barkema *et. al.*, (1997) dentro del mes de recolectadas.

En el Laboratorio COLAVECO las muestras de leche compuestas por vaca y por cuarto se procesaron para determinar el recuento celular. En la misma muestra tomada por cuarto se realizó el recuento celular y se hizo el cultivo bacteriano. Las muestras de leche tomadas por cuarto (10 µl) fueron sembradas sobre placas de agar sangre bovina (Oxoid, Basingstoke, England, y medio Edwards, (Oxoid) suplementado con 5% de sangre bovina e incubadas bajo condiciones aeróbicas a 37°C y observadas a las 24 y 48 horas.

Los aislamientos se clasificaron según lo describe el National Mastitis Council: *S. aureus*, *SCN*, *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae*, *Str. uberis*, *C. bovis*, *A. pyogenes* y *E. coli*. Los microorganismos aislados fueron analizados e identificados por morfología de la colonia, tipo de hemólisis, tinción de Gram, test de catalasa y de hidróxido de potasio (KOH 3%).

Los patógenos aislados en el cultivo se clasificaron en mayores (*S. aureus*, *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae*, *Str. uberis*, *E. coli*. y *A. pyogenes*) y menores (*C. bovis*, *SCN*)

Como en el trabajo de Sheldrake, 1983; los cuartos que estaban infectados simultáneamente con *S. aureus* y un patógeno menor (*SCN* ó *C. bovis*) se consideraron infectados por *S. aureus*.

El crecimiento de más de tres especies bacterianas fue considerado una muestra contaminada (Breen, 2009).

Se consideró como infección crónica: dos aislamientos seguidos de un patógeno mayor en la lactancia, tres aislamientos del mismo patógeno mayor aunque no sean seguidos, dos aislamientos de patógeno mayor, por

lo menos uno de ellos, con aumento en el número de células (por encima de 200.000 cel/ml) y tres aislamientos de patógenos mayores con por lo menos un aumento de células (recuento mayor a 200.000 cel/ml).

Para el recuento celular de las muestras individuales de las vacas y los cuartos se utilizó un contador de células automático (Somacount 300, Bentley). El Somacount utiliza la citometría de flujo para el análisis, tecnología láser que utiliza bromuro de ethidium para teñir el ADN de los glóbulos blancos y hace uso de las características de fluorescencia de este colorante para que un sistema óptico automático, sensible a la fluorescencia, cuente células. Se pueden tomar muestras al comienzo del ordeño o muestras compuestas durante el ordeño para recuento celular porque existe una alta correlación ($r= 0.86$) entre ambas fuentes de muestras (Harmon, 2001), por tanto en nuestro trabajo los resultados de recuento celular por vaca que se tomaron de muestras compuestas durante el ordeño y los resultados de las muestras de los cuartos que son muestras tomadas al comienzo del ordeño están altamente correlacionadas.

5.4 Análisis estadístico

Para el análisis de los resultados del recuento celular se consideró el recuento de células somáticas por vaca y por cuarto en dos categorías: menor o igual a 200.000 cel/ml (vacas o cuartos sanos) y mayores a 200.000 cel/ml (vacas o cuartos enfermos), (Eberhart y col. 1982, Jones y col., 1984 y Barkema y col. 1998, Sheldrake y col. 1983).

El análisis estadístico de los datos se hizo con el software Stata Corp. 2009. Para el análisis de la relación entre los resultados de recuento celular por cuarto y por vaca, con aislamiento bacteriano, número de lactancia, número de cuarto y etapa de lactancia, se utilizó un modelo mixto multinivel de regresión logística donde se consideran medidas repetidas. Este modelo considera la vaca, y los cuartos dentro de la vaca. Para el análisis de los recuentos celulares por cuarto la variable de respuesta es el recuento celular y vale 0 si el recuento es menor o igual a 200.000 cel/ml y 1 si es mayor a 200.000 cel/ml.

Las variables independientes son n° de lactancia, etapa de lactancia (etapa 1: hasta 3 meses del parto, etapa 2: entre 3 y 6 meses y etapa 3: más de 6 meses del parto) n° de cuarto y patógenos que tiene 3 categorías: sin aislamiento, aislamiento de patógenos menores y aislamiento de patógenos mayores

Este un modelo de efectos mixto para respuestas binarias. Para analizar la relación entre el recuento celular por cuarto y los resultados de los aislamientos se compararon los cuartos con aislamientos de patógenos mayores y menores con los cuartos sin aislamiento, para el número de cuarto: se comparó el resto de los cuartos con el cuarto 1 (el anterior izquierdo), para el número de lactancia se comparó lo que pasaba en la 2^a, 3^a, 4^a y 5^a lactancia con la 1^a y para etapa de lactancia se comparó lo que pasaba en la 2^a y 3^a etapa de lactancia con lo que ocurría en la 1^a.

Para el análisis de los resultados del aislamiento por cuarto se utilizó también un modelo mixto multinivel de regresión logística donde se

consideran medidas repetidas. La variable de respuesta es el aislamiento bacteriano y las variables independientes son el logaritmo del recuento celular por cuarto, nº de lactancia, nº de cuarto y etapa de lactancia.

Para el análisis de los resultados de recuento celular por vaca se utilizó un Modelo mixto de regresión logística con la vaca como efecto aleatorio donde el aislamiento es la respuesta. Esta fue codificada como 0 cuando no hubo aislamiento y 1 cuando se presentó aislamiento de patógeno mayor o menor. La variable independiente es recuento celular por vaca codificada como 1 mayor a 200.000 cel/ml y 0 menor o igual a 200.000 cel/ml.

El nivel de significación utilizado fue del 5% ($\alpha=0.05$) o sea que cuando el valor $P<0.05$ las diferencias observadas son consideradas significativas.

6. RESULTADOS

6.1. Recuento celular individual por vaca y por cuarto

Se realizaron 325 recuentos celulares por vaca y 1300 recuentos celulares por cuarto a lo largo del período de estudio.

En el 75% de los muestreos, las vacas con recuentos menores o iguales a 200.000 cel/ml (animales sanos) fueron más del 50%.

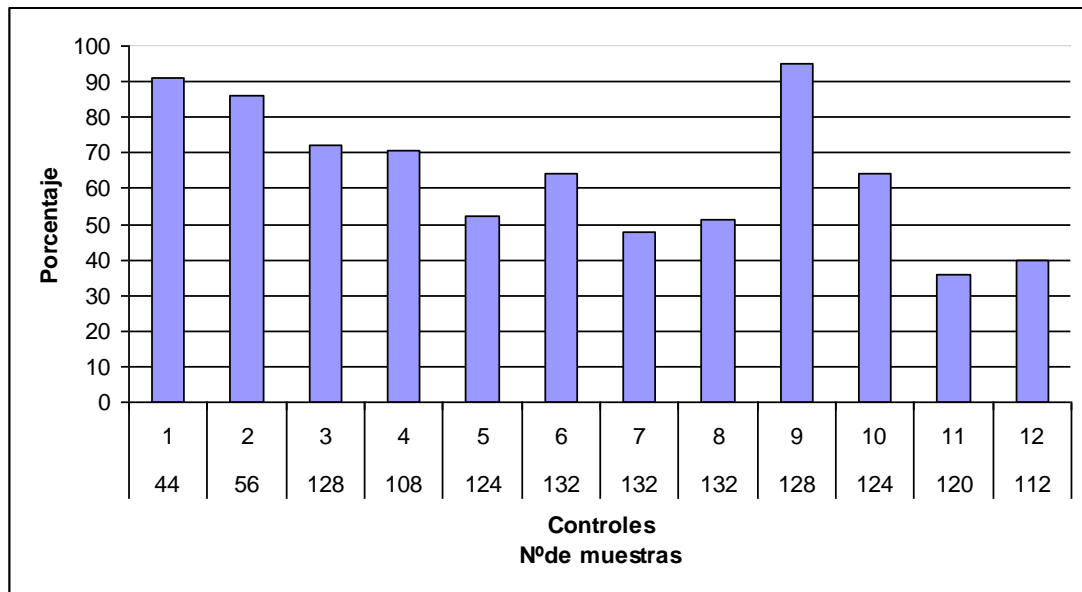
El 65% de las muestras procesadas para recuento celular por vaca (325) tuvieron recuentos celulares menores o iguales a 200.000 cel/ml.

El 74% de las muestras por cuarto procesadas (1300) tuvieron un recuento celular menor o igual a 200.000 cel/ml (968 muestras).

6.2 Cultivo bacteriano

Se procesaron 1300 muestras (provenientes de cuartos individuales) para cultivo bacteriano. De estas muestras no hubo cultivo positivo en 812 muestras, 62% del total.

El porcentaje de muestras sin crecimiento mes a mes varió entre el 36% en el muestreo número 11 (diciembre) y el 95% en el muestreo 9 (octubre), de acuerdo a lo presentado en la Gráfica 1



Gráfica 1 - Porcentaje de muestras sin crecimiento en los muestreos durante la lactancia.

En las muestras (488) que presentaron crecimiento, el 37,5% (183) fueron patógenos mayores: *S.aureus*, *Str. agalactiae* y coliformes mientras que el 62,5% fueron patógenos menores: *C.bovis* y SCN. De estos aislamientos positivos el 57% (277 aislamientos de los 488 positivos) correspondieron a *C.bovis* y el 24%(119 de los 488 aislamientos) a *S. aureus*.

En 49 cuartos (10% de los cultivos positivos) se aisló *C.bovis* y en el siguiente muestreo se aisló *S. aureus*. Se aislaron *C.bovis* y *S. aureus* en la misma muestra en 55 cuartos (11% de los cultivos positivos).

Si consideramos como infección crónica dos aislamientos seguidos de un patógeno mayor en la lactancia, serían 22 vacas de las 35 (63%) las catalogadas como con infección crónica.

Si en cambio consideramos el criterio de tres aislamientos del mismo patógeno mayor aunque no sean seguidos, serían 25 las vacas crónicas (71%).

Si el criterio fuera dos aislamientos de patógeno mayor por lo menos uno de ellos con aumento en el número de células (por encima de 200.000 cel/ml), las vacas con estas características serían 11 (31%).

El único patógeno mayor que se encontró en los casos considerados como infección crónica fue *S. aureus*.

Si aplicamos los mismos criterios de definición de vacas crónicas para los aislamientos de patógenos menores, encontramos que para los aislamientos de *C.bovis* hubo 2 seguidos en 29 vacas (85%) y 3 aislamientos seguidos en 30 vacas (88%), ninguno de ellos con aumento de células por encima de 200.000 cel/ml. Sólo el 0,02% de los cuartos con cultivos positivos (8 cuartos) presentaron sólo SCN. La asociación de SCN y *C.bovis* se dio en 15 cuartos (0,003 % de los cultivos positivos) y sólo se presentaron 5 cuartos con cultivo mixto de *S.aureus* y SCN.

En el caso de SCN solo en una vaca hubo 2 aislamientos seguidos (0,03%) y en dos vacas con 3 aislamientos seguidos (0,06 %) también en este caso sin aumento de células por encima de 200.000 cel/ml.

6.3 Recuento celular por cuarto y aislamiento bacteriano

Si consideramos las muestras de los cuartos con recuentos celulares menores o iguales a 200.000 cel/ml (973), el 69% de las muestras fueron negativas al cultivo (673) y el 31% presentaron aislamiento. Los microorganismos que se aislaron con mayor frecuencia fueron *C.bovis* en el 61,4% de las muestras y *S. aureus* en el 31,5% de las mismas(Cuadro I).

Cuadro I - Microorganismos aislados en las muestras por cuarto con recuentos iguales o menores a 200.000 cel/ml

microorganismo	Nº de muestras	% del total de muestras positivas
<i>C.bovis</i>	185	61,4
<i>S.aureus</i>	94	31,5
SCN	16	5,3
<i>Str.agalactiae</i>	3	1,0
Coliformes	2	0,7

De las muestras con recuentos celulares por cuarto mayores a 200.000 cel/ml (327) sólo el 41 % fueron negativas al aislamiento. En los cultivos positivos de las muestras con recuentos celulares altos (mayores a 200.000 cel/ml) los microorganismos que se encontraron con mayor frecuencia fueron *C.bovis* en el 49,5% de las mismas y *S. aureus* en el 42,2% Cuadro II.

Cuadro II - Microorganismos aislados en las muestras por cuarto con recuentos mayores 200.000 cel/ml

microorganismo	Nº de muestras	% del total de muestras positivas
<i>C. bovis</i>	94	49,5
<i>S. aureus</i>	80	42,2
SCN	12	6,3
<i>Str. agalactiae</i>	2	1,0
Coliformes	2	1,0

6.4 Microorganismo aislado y recuento celular por cuarto

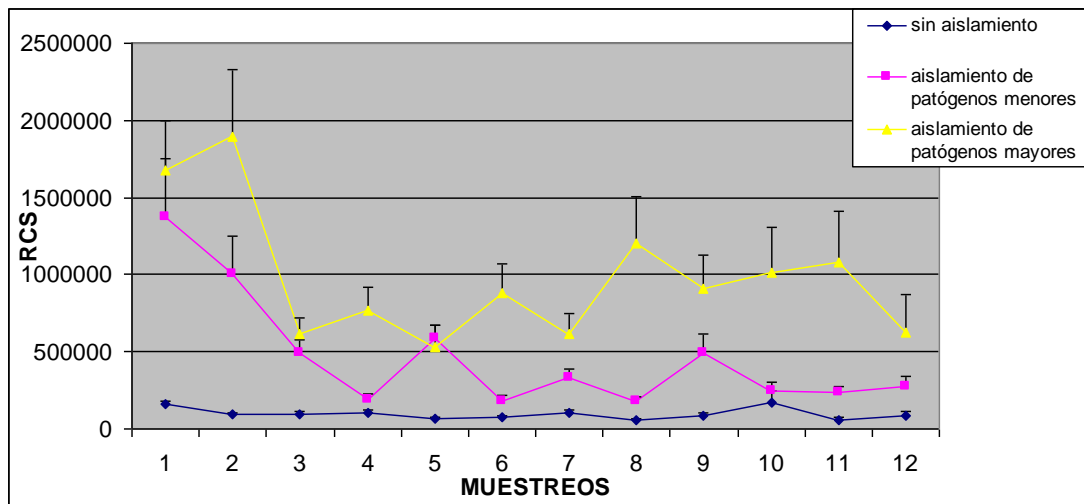
El cuadro N° III muestra para cada microorganismo aislado, el número de cuartos con ese cultivo y el porcentaje de esas muestras con recuentos celulares menores o iguales a 200.00 cel/ml y mayores a 200.000 cel/ml

Cuadro III - Microorganismos aislados en las muestras por cuarto y recuento celular

microorganismo	Nº de cuartos	%	Recuento celular por cuarto
<i>C. bovis</i>	277	66%	< 200.000 cel/ml
		34%	> 200.000 cel/ml
<i>S. aureus</i>	174	54%	< 200.000 cel/ml
		46%	> 200.000 cel/ml
SCN	28	57%	< 200.000 cel/ml
		43%	> 200.000 cel/ml
<i>Str. agalactiae</i>	5	60%	< 200.000 cel/ml
		40%	> 200.000 cel/ml
coliformes	4	50%	< 200.000 cel/ml
		50%	> 200.000 cel/ml

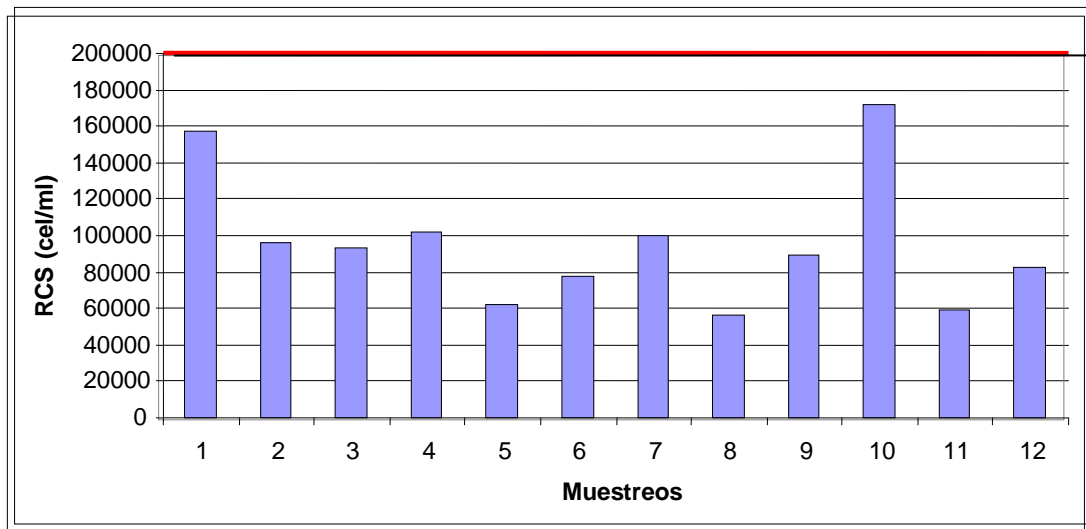
6.5 Evolución del recuento celular por cuarto en la lactancia y aislamiento

La Gráfica 2 muestra la evolución de la media de recuento celular para cada una de las categorías (sin aislamiento, con aislamiento de patógeno menor o con patógeno mayor) a lo largo del período estudiado.



Gráfica 2 - Evolución de la media de recuentos celulares por cuarto de las muestras sin aislamiento, con aislamiento de patógenos menores y con aislamiento de patógenos mayores.

Es importante destacar que en ningún muestreo el promedio mensual del recuento celular por cuarto de las muestras sin aislamiento a lo largo del estudio fue mayor a 200.000 cel/ml. (Gráfica 3)



Gráfica 3 - Evolución del recuento celular promedio de los cuartos sin aislamiento. La línea roja indica el límite establecido entre cuartos sanos y enfermos (200.000 cel/ml).

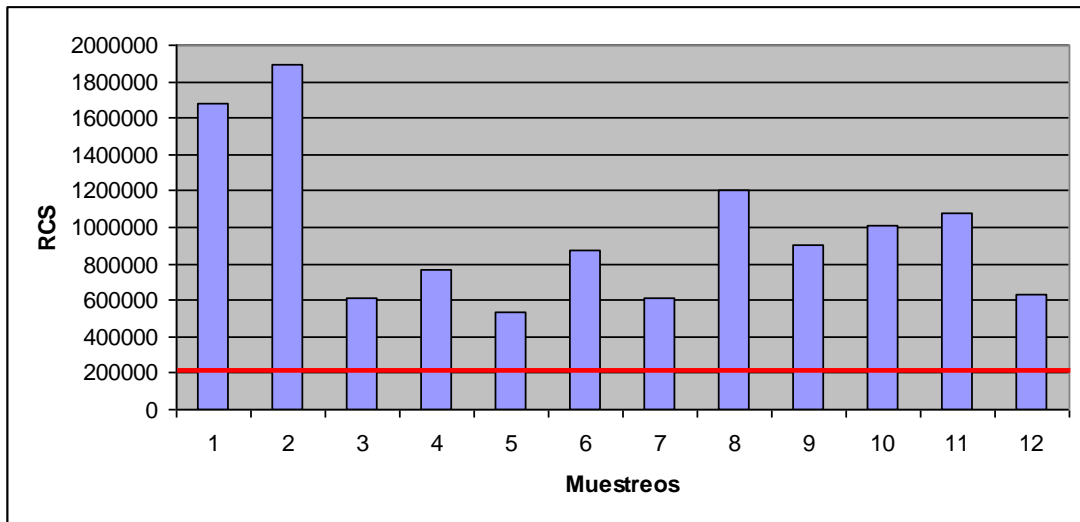
La Gráfica 4 muestra la evolución del recuento celular promedio de las muestras donde se aisló un patógeno menor.

En tres de los doce muestreos el promedio mensual estuvo por debajo de 200.000 cel/ml y el promedio anual fue de 328.949 cel/ml



Gráfica 4 - Evolución de los promedios de recuentos celulares por cuarto de las muestras con aislamientos de patógenos menores. La línea roja indica el límite establecido entre cuartos sanos y enfermos (200.000 cel/ml).

La Gráfica 5 muestra la evolución del recuento celular promedio de las muestras donde se aisló un patógeno mayor. En este caso los promedios mensuales de recuento celular por cuarto estuvieron siempre por encima de 200.000 cel/ml.



Gráfica 5 - Evolución de los promedios de recuentos celulares por cuarto de las muestras con aislamientos de patógenos mayores. La línea roja indica el límite establecido entre cuartos sanos y enfermos (200.000 cel/ml).

6.6 Relación del recuento celular por cuarto con el aislamiento bacteriano, el número de lactancia, etapa de lactancia y número de cuarto.

Cuando el recuento celular es la variable de respuesta si tengo un aislamiento positivo a un patógeno mayor en un cuarto hay 9 veces más posibilidades (Odds Ratio (OR) = 9,71) de que ese cuarto tenga un recuento mayor a 200.000 cel/ml, que si el aislamiento fuera negativo

De la misma manera si en el cultivo encontramos un patógeno menor es 4 veces más probable (OR=4.12) que el recuento celular por cuarto sea mayor a 200.000 cel/ml que si el cultivo fuera negativo Cualquiera de los dos resultados son significativos ($P < 0,001$). (Cuadro V)

En relación al número de lactancia no hay diferencia significativa en el número de células por cuarto en las sucesivas lactancias.(Cuadro VI)

En cuanto a la etapa de lactancia, si tengo un recuento celular mayor a 200.000 cel/ml es 1 vez y medio más probable (OR=1.58) que ese cuarto sea de una vaca en el primer tercio de lactancia que en el segundo (este resultado es significativo, $P = 0,004$). La última etapa de la lactancia no tiene diferencias (OR=0.96) en el número de células comparando con la primera etapa, aunque este resultado no es significativo ($P = 0,847$). Cuadro VII. Tampoco existe diferencia significativa en el número de células entre cuartos ($P = 0,779; 0,187; 0,665$), (Cuadro VIII).

Cuadro V – Relación entre la presencia de patógenos y el recuento celular por cuarto

Recuento celular por cuarto				
Patógenos	n	OR	IC 95%*	P
Sin aislamiento	812	1.00	Referencia	—
Menores	305	4.12	2.96 – 5.74	0.001
Mayores	183	9.71	6.81- 13.84	0.001

* IC 95% - Intervalo de Confianza 95%

Cuadro VI – Relación entre número de lactancia y el recuento celular por cuarto

Recuento celular por cuarto				
Número de lactancia	n	OR	IC 95%	P
1ª lactancia	268	1.00	Referencia	-
2ª lactancia	305	1.28	0.75 - 2.16	0.355
3ª lactancia	459	0.94	0.59 – 1.52	0.826
4ª lactancia	153	1.09	0.55 – 2.15	0.794
5ª lactancia	115	0.91	0.45 – 1.85	0,807

Cuadro VII – Relación entre la etapa de lactancia y el recuento celular por cuarto

Recuento celular por cuarto				
Etapa de lactancia	n	OR	IC 95%	P
1ª etapa	408	1.00	Referencia	-
2ª etapa	400	0.58	0.40 – 0.83	0.004
3ª etapa	492	0.96	0.69 – 1.35	0.847

Cuadro VIII – Relación entre número de cuarto y el recuento celular por cuarto

Recuento celular por cuarto				
Número de cuarto	n	OR	IC 95%	P
Cuarto 1	322	1.00	Referencia	-
Cuarto 2	326	1.05	0.71 – 1.56	0.779
Cuarto 3	326	1.29	0.88 – 1.90	0.187
Cuarto 4	326	0.91	0.61 – 1.35	0.665

Si como variable de respuesta utilizamos el aislamiento bacteriano en vez del recuento celular como hicimos para el análisis de los Cuadros V, VI, VII y VIII, las variables independientes son el logaritmo del recuento celular por cuarto, el número de lactancia, la etapa de lactancia y el número de cuarto. En lo relativo al recuento celular por cuarto, si tenemos un aislamiento positivo hay 1,7 probabilidades de cambio de una unidad en el recuento celular por cuarto expresado en unidades logarítmicas (Odds Ratio = 1.76). Esta diferencia es significativa ($P < 0,001$) (Cuadro IX)

Como se muestra en el Cuadro X no hay diferencia significativa respecto a la presencia de patógenos en las sucesivas lactancias.

En lo que tiene que ver con la etapa de lactancia, la 2ª (P = 0,002) y 3ª etapa (< 0,001) tienen diferencias significativas respecto a la presencia de patógenos, en relación a la 1ª etapa de lactancia, es decir encontramos más aislamientos positivos a medida que progresa la lactancia de forma significativa. (Cuadro XI)

No hay diferencia significativa respecto a la presencia de patógenos en los diferentes cuartos en relación al cuarto 1. (Cuadro XII)

Cuadro IX - Relación entre el logaritmo del recuento celular y los aislamientos por cuarto.

Aislamiento positivo				
RCS	n	OR	IC 95%	P
Log RCS ≤ a 200.000	973	1.00	Referencia	-
Log RCS > a 200.000	327	1.76	1.62 – 1.92	0.001

Cuadro X – Relación entre número de lactancia y los aislamientos por cuarto

Aislamiento positivo				
Número de lactancia	n	OR	IC 95%	P
1ª lactancia	268	1.00	Referencia	-
2ª lactancia	305	1.05	0.75 - 2.16	0.779
3ª lactancia	459	1.38	0.59 – 1.52	0.055
4ª lactancia	153	0.99	0.55 – 2.15	0.977
5ª lactancia	115	1.02	0.45 – 1.85	0,932

Cuadro XI – Relación entre la etapa de lactancia y los aislamientos por cuarto

Aislamiento positivo				
Etapa de lactancia	n	OR	IC 95%	P
1ª etapa	408	1.00	Referencia	-
2ª etapa	400	1.65	1.19 – 2.27	0.002
3ª etapa	492	1.86	1.38 – 2.52	0.001

Cuadro XII – Relación entre número de cuarto y los aislamientos

Aislamiento positivo				
Número de cuarto	n	OR	IC 95%	P
Cuarto 1	322	1.00	Referencia	-
Cuarto 2	326	0.77	0.54 – 1.10	0.158
Cuarto 3	326	0.78	0.55 – 1.10	0.167
Cuarto 4	326	0.99	0.70 – 1.40	0.983

6.7 Recuento celular por vaca y aislamiento

Debemos recordar que para este análisis se utilizó un modelo mixto de regresión logística donde la variable independiente era el recuento celular por vaca y el aislamiento la respuesta, como se ve en el Cuadro XIII.

Si una vaca tiene recuento celular mayor a 200.000 cel/ml la probabilidad de tener un cultivo positivo en alguno de sus cuartos es casi el doble (Odds Ratio = 1.92) que si el recuento es menor o igual a 200.000 cel/ml

Cuadro XIII – Relación entre el recuento celular por vaca y los aislamientos positivos

Aislamiento positivo				
RCS	n	OR	IC 95%	P
RCS ≤ a 200.000 cel/ml	211	1.00	Referencia	–
RCS > a 200.000 cel/ml	114	1.92	1.12 – 3.31	0.017

7. DISCUSIÓN

7.1 Recuento celular individual por vaca y por cuarto

Si analizamos el porcentaje de vacas y cuartos sanos (con recuento celular menor o igual a 200.000 cel/ml) en cada uno de los muestreos vemos que en la mayor parte de los mismos (75%) el porcentaje de vacas y cuartos sanos superó a las enfermas. Si consideramos el total de las muestras por vaca y por cuarto, el 66% de las muestras por vaca y el 75% de las muestras por cuarto tuvieron recuentos celulares menores o iguales a 200.000 cel/ml (vacas y cuartos sanos). Estos resultados concuerdan con los de Harmon, 1994 y Concha, 1998 que trabajaron con rodeos sanos

7.2 Cultivo bacteriano

En nuestro trabajo no hubo aislamientos positivos en 812 muestras, 62 % del total de muestras analizadas. Esta cifra es sensiblemente diferente que la del estudio de Breen (2009), donde el diagnóstico de “sin crecimiento” se registró en el 31,4% de las muestras, pero debemos considerar que en este trabajo se tomaron muestras de cuartos con mastitis clínica.

La mayoría de los aislamientos fueron por patógenos menores (62,5%), *C. bovis* y *SCN*; el resto (183 muestras), se debieron a patógenos mayores, *S. aureus*, *Stragalactiae* y coliformes.

Esta situación de una mayor proporción de aislamientos por patógenos menores en relación a los mayores está de acuerdo con las condiciones del rodeo donde se realizó el estudio ya que habíamos establecido que éste era un rodeo sano de acuerdo a los recuentos celulares por vaca y por cuarto. De acuerdo a Myllys *et. al.*, 1998, las infecciones intramamarias por patógenos menores han aumentado donde se han implementado medidas de control contra los patógenos contagiosos.

El *S.aureus* fue el patógeno mayor más frecuentemente aislado en nuestro trabajo (24% de los aislamientos positivos) y es también el microorganismo más importante como productor de mastitis en el Uruguay (Giannechini, 2004).

En el estudio de Barkema *et al.*, (1997), se estudiaron 150 establecimientos en Holanda usando vacas Holando y sus cruza, es decir las mismas razas que en nuestro trabajo y se encontró al igual que en nuestro estudio, que uno de los patógenos más frecuentemente aislados fue el *S.aureus*.

En otros estudios como los de Østeras *et al.*, (2006, 2007), también el *S.aureus*, fue el microorganismo más frecuentemente aislado como productor de mastitis al igual que en Uruguay. Las vacas de alta producción, son altamente susceptibles a la infección intramamaria subclínica debida a *S. aureus* o *Streptococcus spp.*, y las pérdidas en la producción de leche están relacionadas al aumento del recuento celular individual (Sears *et.al.*, 1990; Miller *et.al.*, 2004; Reksen *et.al.*, 2007).

En cuanto a los patógenos menores el *C. bovis* fue el más frecuentemente aislado.

Al igual que en nuestro estudio, Pankey (1985), Black (1972), Bramley (1975) y Rainard (1982), aislaron frecuentemente *C.Bovis* de muestras tomadas asépticamente.

En nuestro estudio, en el 11% (55 cuartos) de los aislamientos positivos se encontró la asociación entre *C.bovis* y *S.aureus* y se presentó aislamiento de *C.bovis* seguido de *S.aureus* en 49 cuartos (10% de los aislamientos positivos).

Desde hace años, se trata de dilucidar si el *C.bovis* protege contra la infección con patógenos mayores (*S. aureus*, los *estreptococos*, *E. coli*) o la facilita; los resultados siguen siendo muy contradictorios (Berry, 2002).

Pankey, (1985), plantea que los cuartos con cultivo positivo a *C.bovis* son 53% más resistentes a la infección por *S.aureus* en relación a los cuartos negativos, el desafío en este estudio fue por inmersión y no se estudió bajo condiciones naturales.

Linde, (1980), comunicó que los cuartos con *C.bovis* están protegidos contra la infección por *S. aureus* y *Str. agalactiae* cuando se inoculan estos patógenos mayores en bajas cantidades (20 a 30 UFC) directamente en la cisterna de la teta. Posiblemente la concentración de células, leucocitos, en la cisterna resultante de la infección por *C.bovis* del canal de la teta, aumenta la resistencia. Sin embargo en este trabajo de Linde (1980), los resultados se basaron sólo en 8 cuartos.

Schukken *et al.* (1999), encontraron un efecto protector del *C. bovis* luego de infecciones experimentales. Ellos usaron desafíos intracisternales con *S.aureus*, luego de pasar la punta de la teta. Resultados similares luego de inoculaciones intracisternales obtuvieron Brooks & Barnum (1984).

Cuando el desafío experimental consiste en la exposición del orificio de la teta al *S.aureus*, no se encontró el efecto protector del *C.bovis* (Brooks & Barnum, 1984).

De acuerdo al estudio de Zadocks (2001), para el *S. aureus*, la asociación entre días de lactancia y tasa de infección fue afectada por la infección por *C. bovis*.

Sin embargo, en el trabajo de Hogan *et.al.* (1988), los resultados son contrarios ya que la tasa de infección intramamaria con streptococos

ambientales fue mayor en cuartos infectados con *C.bovis* y especies de *Staphylococcus* que en cuartos no infectados.

Una hipótesis para explicar los resultados de Hogan (1988), sería que *C.bovis* produce metabolitos que favorecen la multiplicación de los streptococos y que *C. bovis* cataboliza los ácidos grasos de la queratina del canal de la teta que son inhibitorios para el crecimiento de los *streptococos* (Hogan, 1987, 1988). Por tanto, la infección intramamaria por patógenos menores, no tendría beneficios para la mantención de la salud de la ubre. Esta afirmación contradice nuestra realidad de estar trabajando con un alto porcentaje de aislamientos a *C.bovis* en un rodeo con buena salud de ubre. En nuestro trabajo que fue realizado en condiciones naturales fue imposible hacer el análisis estadístico de los resultados para estudiar el efecto de los cultivos positivos a *C.bovis* sobre la infección por *S.aureus*, porque eran muy escasos.

Considerando la infección por SCN, en nuestro trabajo sólo el 0,02% de los cuartos con cultivos positivos (8 cuartos) presentaron sólo SCN. La asociación de SCN y *C.bovis* se dio en 15 cuartos (0,03% de los cultivos positivos), sólo se presentaron 5 cuartos con cultivo mixto de *S.aureus* y SCN y no hubo ningún aislamiento de SCN seguido de *S.aureus*.

La infección por SCN no pareció ser significativa como factor de riesgo para la infección por *S.aureus* así como lo reportaron otros trabajos (Schukken *et.al.*, 1999), pero no se pudo realizar el análisis estadístico por el bajo número de muestras positivas.

En el estudio de Zadoks *et al.*, (2001), la infección con SCN no fue tampoco significativa como factor de riesgo para mastitis por *Str. uberis* o *S. aureus*, Lam *et.al.*, (1997), encontraron un efecto protector del *C.bovis* pero no del SCN a la subsecuente infección por *Str. uberis*.

En el estudio de Zadoks *et.al.*, (2001), en infecciones que ocurren naturalmente se muestra que el rol de los patógenos menores difiere según las especies de los mismos, según factores del rodeo, de las vacas y de los cuartos incluyendo la rugosidad de la punta de la teta. Por lo que queda claro que conclusiones basadas en un solo patógeno, en un solo tipo de estudio o en un solo rodeo no se pueden generalizar automáticamente a otros patógenos, otras categorías de animales en riesgo u otros tipos de rodeos.

El valor de los aislamientos de los patógenos menores es muy discutido y para algunos autores (Griffin *et.al.*, (1987), un aislamiento de SCN o *C. bovis* aislado es considerado falso positivo. En nuestro trabajo ciento cuarenta y nueve aislamientos fueron de patógenos menores solos, y si consideráramos ese criterio, los positivos se reducirían de 305 a 156 y aumentarían en consecuencia los cultivos negativos.

Se aisló *S. agalactiae* en tres cultivos y *coliformes* en dos cultivos. Esto coincide con lo planteado por Honkanen-Buzalscki y Pyórala,1995 en relación a lo que debería encontrarse en un establecimiento donde ,como en el caso del que se realizó el trabajo, existe un Plan de control de mastitis.

7.3 Recuento celular por cuarto y aislamiento bacteriano

El cuadro N° III muestra para cada microorganismo aislado, el número de cuartos con ese cultivo y el porcentaje de esas muestras con recuentos celulares menores o iguales a 200.000 cel/ml y mayores a 200.000 cel/ml. Se muestra que la mayoría de los cuartos con infección por *C.bovis* (66%) tienen recuentos menores o iguales a 200.000 cel/ml, como mencionamos el *C. bovis* es un patógeno menor que provoca una leve inflamación con un aumento del recuento celular moderado. Sin embargo llama la atención el alto porcentaje de cuartos con cultivo positivo a *S.aureus* (54%) que no presentan aumento del recuento celular a más de 200.000 cel/ml a pesar que para la mayoría de los autores (Honkanen-Buzalski y Pyorala, 1995; Nickerson S. y Pankey J., 1984; Nickerson S., 1990) la presencia de *S.aureus* causa un importante incremento en las células somáticas.

7.4 Evolución del recuento celular por cuarto en la lactancia y aislamiento

Como lo muestra la Gráfica 2 en ningún muestreo el promedio del recuento celular de las muestras sin aislamiento fue mayor a 200.000 cel/ml, límite establecido entre cuartos sanos y enfermos.

En la gráfica 4, los promedios de recuentos celulares por cuarto de las muestras con aislamientos a patógenos mayores, siempre fueron francamente superiores a 200.000 cel/ml y presentaron un aumento en los meses de febrero y marzo (muestreos 1 y 2). Olde (2006), plantea la influencia de la estación en las infecciones intramamarias, sobre todo por patógenos mayores y con cierta tendencia hacia los meses de verano, lo que podría explicar en parte estos resultados pero se necesitarían más estudios con un mayor número de muestras.

7.5 Relación del recuento celular por cuarto con el aislamiento bacteriano, el número de lactancia, etapa de lactancia y número de cuarto

Cuando el recuento celular en un cuarto era mayor a 200.000 cel/ml, había 9 veces más posibilidades de que ese cuarto tuviera un aislamiento positivo a un patógeno mayor que el aislamiento fuera negativo (Odds Ratio (OR = 9,71).

De la misma manera, si el recuento celular por cuarto es mayor a 200.000 cel/ml, es 4 veces más probable que en el cultivo encontremos un patógeno menor que el cultivo sea negativo (OR = 4.05). Cualquiera de los dos resultados son significativos (P = 0,000).

Se determinó que el aislamiento positivo fue el factor más importante que afectó el recuento celular, coincidiendo con Schepers, (1997), que llegó a la misma conclusión realizando el estudio en 7 rodeos (22,467 cuartos de 544 vacas). El incremento fue más pronunciado para patógenos mayores que para patógenos menores al igual que en nuestro trabajo.

En relación al número de lactancia, no encontramos diferencia significativa en el número de células por cuarto en las sucesivas lactancias. En cambio Schepers (1997), registró interacción significativa entre el recuento celular

por cuarto y el n° de parto. Tampoco encontramos diferencia significativa en el número de células entre cuartos. Sin embargo, Barkema, (1997), encontró que los cuartos anteriores tenían altos recuentos celulares menos frecuentemente que los posteriores ($P < 0.00001$) y se presentaron con más frecuencia, altos recuentos en los cuartos derechos anteriores que en los cuartos izquierdos anteriores ($P < 0.01$). La posición del cuarto ha sido descrita por otros autores como un factor de riesgo en los estudios de incidencia de mastitis clínica y prevalencia de mastitis subclínica (Busato *et.al.*, 2000; Miltenburg *et.al.*, 1996).

Si como variable de respuesta utilizamos el aislamiento bacteriano en vez del recuento celular como hicimos para el análisis del Cuadro V, y las variables independientes son el logaritmo del recuento celular por cuarto, el número de lactancia, el número de cuarto y la etapa de lactancia (Cuadro VI). Como se muestra en dicho Cuadro, en nuestro estudio no hay diferencia significativa respecto a la presencia de patógenos en las sucesivas lactancias; al igual que para Laevens, 1997 para el que la interacción entre status de infección y número de parto fue no significativa ($P = 0.4414$).

A diferencia de lo presentado por Barkema, 1997; nosotros no encontramos diferencia significativa respecto a la presencia de patógenos en los diferentes cuartos en relación al cuarto 1.

En relación al recuento celular al igual que lo planteado por Dohoo & Meek, 1982; Harmon & Heald, 1982; Nickerson & Pankey, 1984; Craven & Williams, 1985 y Zeconni & Smith, 2000, en nuestro estudio si tenemos un aislamiento positivo, tenemos 1,7 probabilidades de cambio de una unidad en el recuento celular por cuarto expresado en unidades logarítmicas (OR = 1.7679). Esta diferencia es significativa ($p = 0,000$).

En las tres etapas de la lactancia, la media del logaritmo del recuento celular es mayor en los cuartos positivos al aislamiento que en los cuartos negativos. La 2ª y 3ª etapa tienen diferencias significativas respecto a la presencia de patógenos, en relación a la 1ª etapa de lactancia, es decir encontramos más aislamientos positivos a medida que progresa la lactancia de forma significativa ($P = 0,002$ y $0,000$), lo que coincide con los resultados de otros autores (Olde y col., 2007, Sheldrake, y col, 1983). Incluso en estudios donde se utilizaron muestras de leche compuestas de los cuatro cuartos se encontraron resultados similares (Eberhart, 1979).

Nosotros consideramos los aislamientos positivos y el recuento celular y hubo aumento significativo en el número de aislamientos a medida que progresa la lactancia, pero no aumento significativo en el RCS. Lo que difiere con los resultados de Cullen (1968), Miller (1969) y Waite (1957), que estudiaron sólo el RCS sin considerar el status de infección como en nuestro estudio. Por lo que los aumentos que se presentaron en los citados trabajos podrían deberse a infecciones por patógenos que no fueron detectadas.

En cuanto al número de lactancia no encontramos diferencias en el RCS en las sucesivas lactancias al igual que Sheldrake (1983), que no encontró aumento en el promedio de recuento celular para el caso de los cuartos libres de infección, pero si hubo un aumento para los cuartos con cultivos positivos a patógenos mayores o menores. Al igual que en nuestros resultados el status de infección, no la etapa de la lactancia, fue el factor que más influyó en el recuento celular

7.6 Recuento celular por vaca y aislamiento

De acuerdo a nuestros resultados si una vaca tiene recuento celular mayor a 200.000 cel/ml, la probabilidad de tener un cultivo positivo en alguno de sus cuartos es casi el doble (OR = 1,92) que si el recuento es menor o igual a 200.000 cel/ml.

Si bien nosotros trabajamos con 1 solo rodeo y 34 vacas obtuvimos los mismos resultados que otros autores que trabajaron con mas rodeos y más vacas como el estudio de Reksen (2008): 354 rodeos con 2714 vacas, o el trabajo de Sargeant *et. al.*, (2001) que hicieron su estudio en tres rodeos con 131 vacas. Dohoo & Leslie (1991), sin embargo, obtuvieron sus resultados en condiciones similares a las nuestras en un solo rodeo aunque con más muestras individuales por vaca (1565).

8. CONCLUSIONES

- El aislamiento positivo fue el factor más importante que afectó el recuento celular por cuarto
- El recuento celular por cuarto es significativamente más alto en el primer tercio de lactancia que en el segundo
- Se encontraron significativamente más aislamientos a medida que progresa la lactancia
- No se encontró diferencia significativa en el número de células ni en la presencia de patógenos por cuarto en las sucesivas lactancias
- No existió diferencia significativa en el número de células ni en la presencia de patógenos entre cuartos
- Se confirmó el uso 200.000 cel/ml como el límite entre cuartos y vacas sanas y enfermas
- Si el recuento celular por vaca es mayor a 200.000 cel/ml la probabilidad de tener un cultivo positivo en alguno de sus cuartos es casi el doble que si el recuento es menor o igual a 200.000 cel/ml.
- Sólo el aislamiento bacteriano en un cuarto sin contar con los resultados de RCS del cuarto y de la vaca, es una herramienta de valor relativo, dada su baja sensibilidad y especificidad en un Plan de Control de Mastitis

Este estudio contribuye con información para conocer la epidemiología de la mastitis en el Uruguay y establecer acciones que permitan controlar la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Barkema H., Schukken Y., Lam T., Galligan D., Beiboer M., and Brand A.** (1997). Estimation of Interdependence Among Quarters of the Bovine Udder with Subclinical Mastitis and Implications for Analysis. *J. Dairy Sci.* 80:1592–1599
2. **Barkema, H. Van der Schans, Schukken H., de Gee A., Lam and Benedictus G.** (1997). Effect of Freezing on Somatic Cell Count of Quarter Milk Samples as Determined by a Fossomatic Electronic Cell Counter *J. Dairy Sci.* 80:422–426
3. **Barkema H., Schukken Y., Lam T., Beiboer M., Benedictus G. and Brand A.** (1998). Management Practices Associated with Low, Medium, and High Somatic Cell Counts in Bulk Milk. *Journal of Dairy Science* Volume 81 (7) 1917-1927.
4. **Barkema, H., Schukken Y. and Zadoks R.** (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.
5. **Bartlett P., Miller G., Lance S. and Heider L.** (1992). Clinical mastitis and intramammary infections on Ohio dairy farms. *Prev. Vet. Med.*, 12: 59-71. ACA
6. **Berry E. & Hillerton J.** (2002). The Effect of Selective Dry Cow Treatment on New Intramammary Infections *J. of Dairy Sci.* Vol. 85 N°1 112-121
7. **Birgersson A., Jonsson P. and Holmberg O.** (1992). Species identification and some characteristics of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine udders. *Vet. Microbiol*, 31: 181-189.
8. **Black R., Marshall R. and Bourland C.** (1972). Locus of mammary gland infections of *Corynebacterium bovis*. *J. Dairy Sci.* 55:413.
9. **Blowey R. & Edmonton P.** (1995). Control de la mastitis en granjas de vacunos de leche. Zaragoza. España. Ed. Acribia pág 208.
10. **Bodoh G., Battista W., Schultz L. and Johnston R. Jr.** (1976) Variation in Somatic Cell Counts in Dairy Herd Improvement Milk Samples. *J. Dairy Sci.* 1976 59: 1119-1123.
11. **Bradley A., Leach K., Breen J., Green L., and Green M.** (2007). Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Vet. Rec.* 160:253–258.

12. **Bramley A., Cullor J., Erskine R., Fox L., Harmon R., Hogan J., Nickerson S., Oliver S., Smith K. and Sordillo L.** (1996). Current Concepts of Bovine Mastitis. 4th Edition. National Mastitis Council, Madison, WI.
13. **Breen J., Bradley E. and Green M.** (2009). Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the united Kingdom. J. Dairy Sci. 92: 2551-2561
14. **Breen J., Bradley E. and Green M.** (2009). Quarter and cow risk factors associated with a somatic cell count greater than 199.000 cells per millilitre in United Kingdom dairy cows. J. Dairy Sci. 92:3106-3115.
15. **Brolund, L.** (1985). Cell counts in bovine milk: causes of variation and applicability for diagnosis of subclinical mastitis. Acta Vet. Scand. 80 (Suppl.): 1-123.
16. **Brooks B. & Barnum D.** (1984). The susceptibility of bovine udder quarters colonized with *Corynebacterium bovis* to experimental infection with *Staphylococcus aureus* or *Streptococcusagalactiae*. Can. J. Comp. Med. 48:146-150.
17. **Busato A., Trachsel P., Schällibaum M. and Blum J.** (2000). Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. Prev. Vet. Med. 44:205–220.
18. **Calvinho L. and Oliver S.** (1998). Invasion and persistence of Streptococcus dysgalactiae within bovine mammary epithelial cells. J. Dairy Sci., 81:678-686.
19. **Coffey E., Vinson W. and Pearson R.** (1985). Heritabilities for lactation average of somatic cell counts in first, second, and third or later parities. J. Dairy Sci. 68:3360-3362.
20. **CONAPROLE** (2009). Disponible en <http://www.conaprole.com.uy>
Fecha de consulta: 20 de marzo de 2009.
21. **Concha B.** (1998). Análisis de la prevalencia de mastitis por la determinación del recuento de células somáticas .en la leche del estanque y sus respectivos cultivos bacteriológicos. XXVI Jornadas Uruguayas de buiatría: 18-22.
22. **Craven N. & Williams M.** (1985). Defences of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement. Vet. Immunol. Immunopathol. 10:71.
23. **Cullen G.** (1968). Cell counts throughout lactation.Vet. Rec. 83:125.

24. **Dang A. & Anand S.** (2007). Effect of milking systems on the milk somatic cell counts and composition. *Livestock ReseaRCh for Rural Development. Volume 19, Article # 74.*
25. **Del Baglivi L., Bonilla M. and Laborde M.** Investigaciones sobre mastitis subclínica en rodeos lecheros del Uruguay. *Veterinaria-Uruguay.* 1976, 61, 69-77.
26. **de Haas Y., Barkema H. and Veerkamp R.** (2002). The Effect of Pathogen-Specific Clinical Mastitis on the Lactation Curve for Somatic Cell Count. *J. Dairy Sci.* 85:1314–1323.
27. **Delucci I., Cabrera J. and Cartaya A.** (2008). Calidad de leche: Resultados de análisis de muestras durante el período julio 2006 - julio 2008. Jornada de Actualización Técnica en Lechería. "Para una lechería eficiente". INIA La Estanzuela. Agosto de 2008. Disponible en: <http://www.inia.org.uy/publicaciones/documentos/le/ad/2002/informe-1.pdf> fecha de consulta 10 de octubre de 2009.
28. **Dingwell R., Leslie K., Schukken Y., Sargeant J. and Timms L.** (2003) Evaluation of the California mastitis test to detect an intramammary infection with a major pathogen in early lactation dairy cows. *Can. Vet. J.* 44:413–416.
29. **Dohoo I. and Leslie K.** (1991). Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Prev. Vet. Med.* 10:225-237.
30. **Dohoo I. and Meek A.** (1982). Somatic cell counts in bovine milk. *Can. Vet. J.* 23:119-125.
31. **Dodd F.** (1980). Mastitis Control, Technical Bulletin 4, NIRD.
32. **Dohoo I.** (2001). Setting SCC cutpoints for cow and herd interpretation National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings.
33. **Eberhart R., Gilmore H., Hutchinson L. and Spencer S.** (1979). Somatic cell counts in DHI samples. Page 32 in Proc. Natl. Mastitis Council. Louisville, KY. Natl. Mastitis Council. Inc. Arlington, VA.
34. **Eberhart R., Hutchinson L. and Spencer S.** (1982). Relationship of bulk milk tank somatic cell counts to prevalence of intramammary infection and to indices of herd production. *Journal of Food Protection.* Volume 45 1125-1128.
35. **Eberhart R., Harmon R., Jasper D., Natzke R., Nickerson S., Reneau J., Row E., Smith K. and Spencer S.** (1987). Current Concepts of Bovine Mastitis 3rd ed. Natl. Mastitis Council, inc., Arlington, VA.

36. **Edmonson A.J., Lean J., Weaver L. D., Farver T., and Webster G.** (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 72:68 -78.
37. **Fox L. & Gay J.** (2003). Contagious mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Animal Practice*; 9: 475-48
38. **Fox L., Oura L. and Ames C.** (2003). Short Communication: Teat Skin PH.
39. **Gallin J., Goldstein I. and Snyderman R.** (1992). *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. 2nd ed. Raven Press, New York, NY.
40. **Giannechini R., Concha C., Rivero R., Delucci I. and Moreno-López J.** (2002). Occurrence of clinical and subclinical mastitis in dairy herd in the west litoral region of Uruguay. *Acta Vet. Scand*; 43:221-230
41. **Giannechini R., Parietti I. and De María P.** (2002). "Evaluación de pérdidas económicas relacionadas a mastitis para establecimientos lecheros en Uruguay". Jornada de Lechería, Junio 2002. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA), La Estanzuela, Serie Actividades de Difusión Nro. 287. Colonia - Uruguay.
42. **Giannechini R., Concha C., Rivero R., Gil J., Delucci I., Moreno López J.** (2005). "Prevalencia y etiología de mastitis subclínica en rodeos de la cuenca lechera Sur de Uruguay". pp. 317-318. XII Congreso Latinoamericano de Buiatría y VII Jornadas Chilenas de Buiatría, 15 al 18 de noviembre del 2005. Valdivia, Chile.
43. **Green M., Huxley J. and Bradley A.** (2002). A rational approach to dry cow therapy 1.Udder health priorities during the dry period. *In practice* 24:582 - 587
44. **Griffin T., Morant S. and Dodd F.** (1987). Diagnosing infectious subclinical mastitis in surveys or large scale experiments. The analysis and interpretation of the results of an international trial organized by the IDF Mastitis Expert Group (A2). *IDF Bull. N°21. Int. Dairy Fed.*, Brussels, Belgium.
45. **Goldberg J., Wildman E., Pankey J., Kunkel J., Howard D. and Murphy B.** (1992). The influence of intensively managed rotational grazing, traditional continuous grazing, and confinement housing on bulk tank milk quality and udder health. *J. Dairy Sci.*, 75: 96-104.
46. **Harmon R. and Heald C.** (1982). Migration of polymorphonuclear leukocytes into the bovine mammary gland during experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis. *Am. J. Vet. Res.* 43:992.

47. **Harmon, R. J., and B. E. Langlois. (1986).** Prevalence of minor pathogens and associated somatic cell counts. Page 11 *in* Proc. 25th Annu. Mtg. **Natl. Mastitis Council**, Columbus, OH. **Natl. Mastitis Council, Inc.**, Arlington, VA.
48. **Harmon R., Eberhart R., Jasper D., Langlois B. and Wilson R. (1990).** Microbiological Procedures for the Diagnosis of Bovine Udder Infection. **Natl. Mastitis Council. Inc.**, Arlington.
49. **Harmon R. (1993).** Factors affecting Somatic Cell Counts in Milk. 32nd Annual Meeting National Mastitis Council, Inc. 1993 pág 48.
50. **Harmon R. (1994).** Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 77:2103–2112.
51. **Harmon R. (2001).** National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings.
52. **Hassan K., Samarasinghe S., and Lopez-Benavides M.** Use of neural networks to detect minor and major pathogens that cause bovine mastitis. *J. Dairy Sci.* 2009 92: 1493-1499.
53. **Heeschen W. & Reichmuth J. (1995).** Mastitis: Influence on qualitative and hygienic properties of milk. Proceedings of the 3rd international mastitis seminar, Tel Aviv, Israel, session 3, 3-13.
54. **Hillerton J., Bramley A., Staker R. and 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.
55. **Hogan J., Pankey J. and Duthie A. (1987).** Growth inhibition of mastitis pathogens by long chain fatty acids. *J. Dairy Sci.* 70:927.
56. **Hogan J., Pankey J. and Duthie A. (1987).** Growth responses of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* to *Corynebacterium bovis* metabolites. *J. Dairy Sci.* 70:1294.
57. **Hogan J., Smith K., Todhunter D. and Schoenberger P. (1988).** Growth responses of environmental mastitis pathogens to long chain fatty acids. *J. Dairy Sci.* 71:245.
58. **Hogan J., Smith K., Todhunter D. and Schoenberger P. (1988).** Rate of Environmental Mastitis in Quarters Infected with *Corynebacterium bovis* and *Staphylococcus* Species. *J. Dairy Sci.* 71:2520-2525

59. **Hogan J., Smith K., Hoblet K., Schoenberger P., Todhunter D., Hueston W., Pritchard D., Bowman G., Heider L., Brockett B. and Conrad H.** (1989a). Field survey of clinical mastitis in low somatic cell count herds. *J. Dairy Sci.*, 72: 1547-1546.
60. **Hogan J., Smith K., Hoblet K., Todhunter D., Schoenberger P., Hueston W., Pritchard D., Bowman G., Heider L., Brockett B. and Conrad H.** (1989b). Bacterial counts in bedding materials used on nine commercial dairies. *J. Dairy Sci.*, 72: 250-258.
61. **Hogan J., González R., Harmon R., Nickerson S., Oliver S., Pankey J., Smith K.** (1999). Laboratory handbook on bovine mastitis. Rev. Ed. National Mastitis Council, Madison, WI.
62. **Honkanen-Buzalski T. and Pyörälä S.** (1995). Monitoring and management of udder health at farm. In: *The bovine udder and mastitis*. University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, pp.252-260
63. **Huxley J., Green M., Green L. and Bradley A.** (2001). An assessment of the ability of historical mastitis and cell count data to predict quarter infection status at drying off. *Natl. Mastitis Council, Inc.*, Arlington, VA.
64. **International Dairy Federation** (1967). Definition of mastitis. Page 1 in *Ann. Bull. Int. Dairy Fed.*, Brussels, Belgium.
65. **International Dairy Federation** (1987). Bovine Mastitis. Definitions and guidelines for diagnosis. *Bull. Int. Dairy Fed.* 211: 3-8.
66. **Ichikana M., Ichikana I., Notsuki I. and Nakano T.** (1993). Variation in the results of bacteriologic culturing and indirect diagnostic methods for *Staphylococcus aureus* infected udder over a two month period. *Anim. Sci. Technol (Jpn)* 64:462
67. **Jaartsveld F., Van Puffelen E., Oskam J., Tielen M., Verstegen M. and Albers G.** (1983). SCC in milk of dairy cows in relation to stage of lactation, age, production level and presence of pathogens. *Neth. Milk Dairy J.* 37:79.
68. **Jarp J.** (1991). Classification of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine clinical and subclinical mastitis. *Vet. Microbiol.* 27:151-158.
69. **Jones G., Pearson R., Clabaugh G. and Heald C.** (1984). Relationships between somatic cell counts and milk production. *J. Dairy Sci.* 67:1823-1831

70. **Kehrli M. Jr. and Shuster D.** (1994) Factors affecting milk somatic cell and their role in health of the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 77:619-627.
71. **Korhonen H. and Kaartinen L.** (1995) Changes in the composition of milk induced by mastitis In: *The bovine udder and mastitis.* University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, pp. 76-82.
72. **Laborde M., Barriola J., Bermúdez J. and Bonilla M.** (1981) Mastitis Subclínica - etiología distribución de la infección en cuartos mamarios de vacas ordeñadas manual y mecanizadamente. *Veterinaria-Uruguay.* 76, 75-80.
73. **Laevens H., Deluyker H., Schukken Y., De Meulemeester L., Vandermeersch R., De Muelenaere E. and De Kruif A.** (1997). Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *J. Dairy Sci.* 80:3219–3226.
74. **Lam T., de Jong M., Schukken Y. and Brand A.** (1996). Mathematical modeling to estimate the efficacy of postmilking teat disinfection in split-udder trials of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 79:62–70
75. **Lam T., Schukken Y., van Vliet J., Grommers F., Tielen M. and Brand A.** (1997). Effect of natural infection with minor pathogens on susceptibility to natural infection with major pathogens in the bovine mammary gland. *Am. J. Vet. Res.* 58:17–22.
76. **Leborgne M. & Malán E.** (2004). Relación entre recuento celular y mastitis clínica. Tesis de Grado. Facultad de Veterinaria; 48.
77. **Leigh J.** (1999). *Streptococcus uberis*: A permanent barrier to the control of bovine mastitis? *Vet. J.* 157:225–238.
78. **Linde C., Holmberg O. and Astrom G.** (1980). The interference between coagulase negative staphylococci and *Corynebacterium bovis* and the common udder pathogens in the lactating cow. *Nord. Veterinaermed.* 32:552.
79. **McDonald J.** (1984). Streptococcal and staphylococcal mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Large Animal Practice*, 6(2): 269-285.
71. **McDougall, S. & Voermans M.** (2002) Influence of Estrus on Somatic Cell Count in Dairy Goats. *J. Dairy Sci.* 85:378–383
72. **McEwen A. & Cooper M.** (1947). Bovine mastitis. *Vet. Rec.* 59:655.
73. **Mejoramiento Lechero y el monitoreo reproductivo de los tambos uruguayos.** <http://www.mejoramientolechero.org.uy/> Fecha de consulta: 10 de enero de 2009.

74. **Miller D. & Finkner M.** (1969). Factors associated with leucocyte levels in cows milk. New Mexico State Univ. Agric. Exp. Stn. Bull. 548.
75. **Miller R., Norman H., Wiggans G. and Wright J.** (2004). Relationship of test-day somatic cell score with test-day and lactation milk yields. J. Dairy Sci. 87:2299–2306.
76. **Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca.** (2008). DIEA: Anuario estadístico 2009. Dirección de Estadísticas Agropecuarias Montevideo-Uruguay. Disponible en: http://www.mgap.gub.uy/Diea/Anuario2009/Anuario2009/pages/DIEA-Anuario-2009-cd_051.html Fecha de consulta: 15 de octubre de 2010.
77. **Miltenburg J., de Lange D., Crauwels A., Bongers J., Tielen M., Schukken Y. and Elbers A.** (1996). Incidence of clinical mastitis in a random sample of dairy herds in the southern Netherlands. Vet. Rec., 139: 204-207.
78. **Myllys V., Honkanen-Buzalski T., Virtanen H., Pyorala S. and Müller H.** (1994). Effect of abrasion of teat orifice epithelium on development of bovine staphylococcal mastitis. J. Dairy Sci. 77:446-452
79. **Myllys V., Asplund K., Brofeldt E., Hirvelä-Koski V., Honkanen-Buzalske T., Junttila J., Kulkas L., Myllykangas O., Niskanen M., Saloniemi H., Sandholm M. and Saranpää T.** (1998). Bovine mastitis in Finland in 1988 and 1995 - Changes in prevalence and antimicrobial resistance. Acta vet. Scand., 39: 119-126.
80. **Natzke R. & Everette R.** (1972). Normal milk somatic cell counts. J. Milk Food Technol. 35:261.
81. **National Mastitis Council:** Laboratory handbook on bovine mastitis. National Mastitis Council inc. Madison, WI 53704-6797, U.S.A. Revised Edition 1999.
82. **Neave F., Dodd F., Kingwill R. and Westgarth D.** (1969). Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. J. Dairy Sci. 52:696–707.
83. **Neave F.** (1975). Diagnostics of mastitis by bacteriological methods aloe. Int. Dairy Fed. Ann. Bull.1975,85,19-36
84. **Nickerson S. & Pankey J.** (1984). Neutrophil migration through teat end tissues of bovine mammary quarters experimentally challenged with *Staphylococcus aureus*. J. Dairy Sci.67:826.

85. **NICKERSON S., BODDIE R., OWENS W. and WATTS J.** (1990) Effects of Novel Intramammary Device Models on Incidence of Mastitis After Experimental Challenge¹ J Dairy Sci. 73:2774-2784
86. **Ohtani S.** (1994). Survey of dairymen's attention to milking hygiene and their relationships to somatic cell counts. Animal Science and Technology. Volume 65(1): 67-74.
87. **Olde Rienkerik R., Barkema H. and Stryhn H.** (2007). The effect of season on somatic cell count and the incidence of clinical mastitis. J. Dairy Sci. 90:1704-1715.
88. **OPYPA** (2003). Anuario. Oficina de Planeamiento y Producción Agropecuaria. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Montevideo-Uruguay.
89. **Østerå S., Forshell K., Svendsby N., Ruud L. and Refsdal A.** (2007). Norwegian Cattle Health Recording System, Annual Statistics, 2006 (Helsetjenesten for storfe, årsrapport, 2006).
90. **Østerå S., Solverod L. and Reksen O.** (2006). Milk culture results in a large Norwegian survey—Effects of season, parity, days in milk, resistance, and clustering. J. Dairy Sci. 89:1010–1023.
91. **Paape M., Wergin W. and Guidry A.** (1979). Leukocytes - second line of defense against invading mastitis pathogens. J. Dairy Sci. 62:135.
92. **Pankey J., Nickerson S., Boddie R. and Hogan J.** (1985) Effects of *Corynebacterium bovis* Infection on Susceptibility to Major Mastitis Pathogens 1985 J. Dairy Sci. 68:2684-2693.
93. **Persson K., Amolina B. and Jonsson P.** (1995). Inflammation in the bovine teat cistern induced by *Staphylococcus aureus*. Zentralbl. Veterinarmed. B 42:435-442.
94. **Persson Waller K.** (2000). Mammary Gland Immunology Around Parturition. Influence of stress, nutrition and genetics. In: Biology of the mammary gland, Eds. J. A. Mol and R. A. Clegg. Advances in experimental medicine and biology, Kluwer Academic Ölenum Publishers. New York, U.S.A. Vol. 480: 231-245.
95. **Philpot W. and Nickerson S.** (1991). Mastitis attack. Surge International - Babson Bros. Co. Naperville, Illinois, U.S.A.
96. **Phuektes P., Mansell P., Dyson R., Hooper N., Dick J., and Browning G.** (2001). Molecular epidemiology of *Streptococcus uberis* isolates from dairy cows with mastitis. J. Clin. Microbiol. 39, 4: 1460-1466.

97. **Pyörälä, S.** (2003). Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet. Res.* 34:565-578.
98. **Rajala-Schultz P., Hogan J. and Smith K.** (2005). Short communication: Association between milk yield at dry-off and probability of intramammary infections at calving. *J. Dairy Sci.* 88:577-579.
99. **Rainard P. and Poutrel B.** (1982). Dynamics of nonclinical bovine intramammary infections with major and minor pathogens. *Am. J. Vet. Res.* 43: 2143.
100. **Reneau J.** (1986). Effective use of Dairy improvement somatic cell counts in mastitis control. *J. Dairy Sci.* 69:1708-1720.
101. **Reksen O., Sølverød L. and Østeras O.** (2007). Relationships between milk culture results and milk yield in Norwegian dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 90:4670-4678.
102. **Reksen O., Sølverød L. and Østeras O.** (2008). Relationships Between Milk Culture Results and Composite Milk Somatic Cell Counts in Norwegian Dairy Cattle. *J. Dairy Sci.* 91:3102-3113.
103. **Roche J., Friggens N., Kay J., Fisher M., Stafford K. and Berry D.** *Invited review:* Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Dairy Sci.* 2009. 92:5769-580.
104. **Ruffo G., Sangiorgi F., Möller F. and Gavazzi L.** (1978). The influence of the animal's age and the period of lactation on the cell count of milk. *Arch Vet. Ital.* 29:241.
105. **Sandholm M. & Korhonen H.** (1995). Antibacterial defence mechanisms of the Udder. In: *The bovine udder and mastitis.* University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, pp. 37-48.
106. **Sandholm M. & Pyörälä S.** (1995). Dry cow therapy. In: *The bovine udder and mastitis.* University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, pp. 209-214.
107. **Saran A. & Chaffer M.** (2000). Agentes causantes de mastitis en: *Mastitis y calidad de leche.* Buenos Aires. Intermédica pp: 11-26.
108. **Sargeant J., Morgan Scott H., Leslie K., Ireland M. and Bashiri A.** (1998). Clinical mastitis in dairy cattle in Ontario: Frequency of occurrence and bacteriological isolates. *Can. Vet. J.* 39: 33-38.
109. **Sargeant J., Leslie K., Shirley J., Pulkrabek B. and LIm G.** (2001). Sensitivity and Specificity of Somatic Cell Count and California Mastitis Test for identifying Intramammary Infection in Early Lactation. *J. Dairy Sci.* 84:2018-2024.

110. **Schepers A., Lam T., Schukken Y., Wilmink J., Hanekamp W.** (1997). Estimation of Variance Components for Somatic Cell Counts to Determine Thresholds for Uninfected Quarters. *J. Dairy Sci.* 80:1833-1840
111. **Schrick, F.N., M.E. Hockett, A.M. Saxton, M.J. Lewis, H.H. Dowlen, and S.P. Oliver** (2001). Influence of Subclinical Mastitis During Early Lactation on Reproductive Parameters. *J. Dairy Sci.* 84: 1407.
112. **Sears P., Smith B., English P., Herer P. and González R.** (1990). Shedding pattern of *Staphylococcus aureus* from bovine intramammary infections. *J. Dairy Sci.* 73:2785.
113. **Sears P., Wilson D., González R. and Hancock D.** (1991). Microbiological results from milk samples obtained premilking and postmilking for the diagnosis of bovine intramammary infections. *J. Dairy Sci.* 74:4183
114. **Shearer J. & Harmon R.** (1993). Mastitis in heifers. *Vet. Clin. North Am.: Food Animal Practice*, 9: 583-595.
115. **Sheldrake R., Hoare R. and McGregor G.** (1983) Lactation stage, parity, and infection affecting somatic cells, electrical conductivity, and serum albumin in milk. *J. Dairy Sci.* 66:542-547.
116. **Shpigel N., Windler M., Ziv G. and Saran A.** (1998). Clinical, bacteriological and epidemiological aspects of clinical mastitis in Israeli dairy herds. *Prev. Vet. Med.*, 35:1-9.
117. **Schreiner D. and Ruegg P.** (2003). Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 86:3460-3465.
118. **Schukken Y., Smith J., Grommers F., Van de Geer D., Brand A.** (1989). Effect of freezing on bacteriological culturing of mastitis milk samples. *J. Dairy Sci.* 72(7), 1900-1906.
119. **Schukken Y., Leslie K., Barnum D., Mallard B., Lumsden J., Dick P., Vessie G. and Kehrl M.** (1999). Experimental *Staphylococcus aureus* intramammary challenge in late lactation dairy cows: quarter and cow effects determining the probability of infection. *J. Dairy Sci.* 82:2393-2401.
120. **Smith K. & Hogan J.** (1993). Environmental mastitis. *Vet. Clin. North Am.: Food Animal Practice*. 9(3): 489-498.
121. **Smith K. & Hogan J.** (1995). Epidemiology of mastitis. Proceedings of the 3rd International Mastitis Seminar, Tel Aviv, Israel, session 6, pp. 3-10.

122. **Stata Corp.** (2009). Stata: Release 11. Statistical Software. College Station, TX: StataCorp LP.
123. **Stevenson M.** (2000). Disease incidence in dairy herds in the southern highlands district of New South Wales, Australia. *Prev. Vet. Med.*, 43:1-11.
124. **Stata Corporation** (2003). Survival analysis and epidemiological tables. Ed. Stata Press, p. 361.
125. **Suriyasathaporn W., Schukken Y., Nielen M. and Brands A.** (2000). Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. *J. Dairy Sci.* 2000, 83, 1248-1255.
126. **Suriyasathaporn W., Heuer C., Noordhuizen-Stassen E. and Schukken Y. H.** (2000b). Hyperketonemia and the impairment of udder defence: A review. *Vet. Res.* 31:397-412.
127. **Swinkels J., Hogeveen H. and 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.
128. **Taponen J. and Myllys V.** (1995). The economic impact of mastitis. In: *The bovine udder and mastitis.* University of Helsinki, Faculty of Veterinary Medicine, pp. 261-264.

Taponen S, Pyörälä S.(2009) Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis- not so different from *Staphylococcus aureus*? *Vet Microbiol.* 2009;134(1-2):29-36
129. **Tancin V., Ipema A. and Hogewerf P.** (2007). Interaction of Somatic Cell Count and Quarter Milk Flow Patterns. *J. Dairy Sci.* 90:2223-2228.
130. **Tenhagen A., Köster G., Wallmann J. and Heuwieser W.** (2006) Prevalence of Mastitis Pathogens and Their Resistance Against Antimicrobial Agents in Dairy Cows in Brandenburg, Germany. *J. Dairy Sci.* 2006 89: 2542-2551.
131. **Todhunter D., Smith K., Hogan J. and Schoenberger P.** (1991). Gram-negative bacterial infections of the mammary gland in cows. *Am. J. Vet. Res.*, 52:184-188.
132. **Tolle A.** (1982). Die subklinische Kokkenmastitis des Rindes. *Zbl. Vet. Med.* 29, 329-358.

133. **URUGUAY XXI** Promoción de Inversiones y Exportaciones. Uruguay País Lechero. Disponible en:
<http://www.uruguayxxi.gub.uy/innovaportal/file/188/1/Lacteos%20-%20Uruguay%20XXI.pdf> Fecha de consulta: 21 de agosto de 2009.
134. **Waite R. and Blackburn P.** (1957). The chemical composition and the cell count of milk. *J. Dairy Res.* 24:328.
135. **Ward G. and Schultz L.** (1972). Relationship of somatic cells in quarter milk to type of bacteria and production. *J. Dairy Sci.* 55:1428.
136. **Weiss D., Weinfurtner M. and Bruckmaier R.** (2004). Teat anatomy and its relationship with quarter and udder milk flow characteristics in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:3280-3289.
137. **Weller J., Saran A. and Zeliger Y.** (1992). Genetic and environmental relationships among somatic cell count, bacterial infection, and clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 75:2532–2540.
138. **Wiggins G. and Shook G.** (1987). A lactation measure of somatic cell count. *J. Dairy Sci.* 70:2666-2672.
139. **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.
140. **Zadoks R., Allore H., Barkema H., Sampimon O., Wellenberg G., Gröhn Y. and Schukken Y.** (2001). Cow -and Quarter- Level Risk Factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* Mastitis. *J. Dairy Sci.* 84:2649-2663.
141. **Zecconi A. and Smith K.** (2000). IDF Position Paper on Ruminant Mammary Gland Immunity. Symposium on Immunology of Ruminant Mammary Gland. Stresa, Italy. pp. 1- 120.

ANEXOS

CUADRO 1

Decreto 90/995 SISTEMA NACIONAL DE CALIDAD DE LECHE 2/97

Para el recuento microbiano el puntaje asignado será:

Contaminación microbiana	Calidad	Puntaje
Hasta 350.000 col/ml	Muy buena	6
De 350.000 a 800.000 col/ml	Buena	4
De 800.000 a 1:200.000 col/ml	Regular	2
Más de 1:200.000 col/ml	Mala	0

- Esta prueba será realizada tres veces por mes.

Para el contenido de células somáticas el puntaje será:

Conteo de células (cel/ml)	Calidad	Puntaje
Menos de 500.000	Muy buena	3
De 500.000 a 1:000.000	Buena	2
De 1:000.000 a 2:000.000	Regular	1
Más de 2:000.000	Mala	0

- Esta prueba será realizada una vez al mes.

El puntaje final era la suma de los puntajes promedio mensuales obtenidos en cada prueba.

Clase	Puntaje
• A	De 7 a 9 puntos
• B	De 3 a 6 puntos
• C	Menos de 3 puntos

CUADRO 2

SISTEMA NACIONAL DE CALIDAD DE LECHE ACTUALIZACIÓN 9/97

- Para el recuento microbiano, el puntaje asignado será:

Recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/ml)	Calidad	Puntaje
Hasta 200.000	Superior	6
de 200.000 a 500.000	Intermedio	4
de 500.000 a 800.000	Baja	2
más de 800.000	Muy baja	0

- Para el contenido de células somáticas el puntaje será:

Conteo de cel. (cel/ml)	Calidad	Puntaje
Menos de 500.000	Superior	3
de 500.000 a 1.000.000	Intermedia	2
de 1.000.000 a 1.500.000	Baja	1
más de 1.500.000	Muy Baja	0

- Esta prueba será realizada una vez al mes.

El puntaje final era la suma de los puntajes promedio mensuales obtenidos en cada prueba.

Clase

- **A**
- **B**
- **C**

Puntaje

- De 7 a 9 puntos**
- De 3 a 6 puntos**
- Menos de 3 puntos**

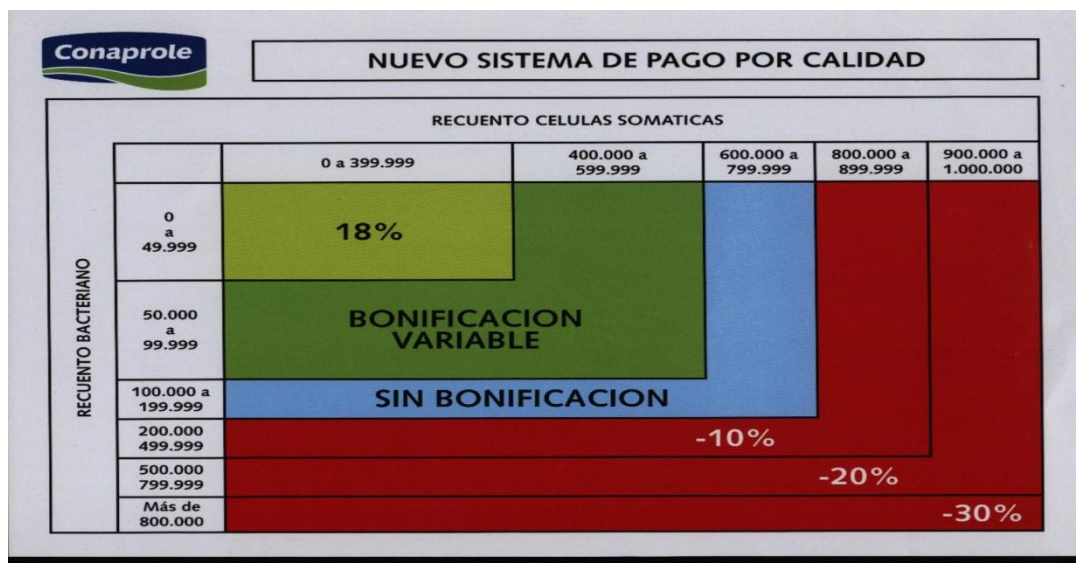
CUADRO 3

SISTEMA NACIONAL DE CALIDAD DE LECHE Modificación del Decreto 57/999 2/99

Categoría	Recuentos microbianos (en UFC)	Recuentos de células (en cel/ml)
A	Menores a 200 mil/ml	Menores de 800 mil/ml
B	Mayores a 200 mil/ml y menores a 800 mil/ml	Mayores de 800 mil/ml Menores a 1000mil/ml
C	Mayores de 800 mil/ml	Mayores de 1000 mil/ml

CUADRO 4

SISTEMA DE PAGO DE SOBREPRECIO POR CALIDAD DE LA INDUSTRIA



Nótese que la leche que tiene más de 600.000 cel/ml y más de 100.00 UFC/ml no recibe bonificación. La que tiene más de 800.000 cel/ml y 200.000 UFC/ml tiene penalización

CUADRO 5

ANIMALES MUESTREADOS MES A MES

MUESTREOS	Nº DE VACAS
1	12
2	15
3	23
4	28
5	31
6	33
7	33
8	33
9	32
10	31
11	30
12	28