



UNIVERSIDAD
DE LA REPÚBLICA
URUGUAY



Facultad de Veterinaria
Universidad de la República
Uruguay

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**“ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LA SALUD DE LA UBRE EN EL SECADO
Y LA LACTANCIA PREVIA”**

por

Mateo GARCÍA PINTOS MORALES
Juan Martín SILVEIRA CHAPUIS
Agustín VILLANUEVA BAROLIN

TESIS DE GRADO presentada como uno de
los requisitos para obtener el título de Doctor
en Ciencias Veterinarias.

Orientación: Producción animal

MODALIDAD: Ensayo experimental

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2019**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

Dr. Edgardo Gianneechini

Segundo miembro:

Dra. Elena de Torres

Tercer miembro:

Dra. Silvana Carro

Co – Tutor:

Dr. Felipe Peña

Fecha: 27/06/2019

Autores:

Mateo García Pintos

Juan Martín Silveira

Agustín Villanueva

AGRADECIMIENTOS

A nuestras familias, que nos apoyan en todo momento.

A nuestros amigos, que son un apoyo fundamental.

A Facultad de Veterinaria, por la formación académica y humana recibida.

A los establecimientos y personal del Campo Experimental N° 2 (Facultad de Veterinaria) y Centro Regional Sur (Facultad de Agronomía) donde realizamos el trabajo práctico, por brindarnos el tiempo y espacio para realizar el presente trabajo.

Al personal de biblioteca de Facultad de Veterinaria, por la buena disposición y ayuda brindada.

A nuestra tutora Dra. Elena de Torres y co-tutor Dr. Felipe Peña, por brindarnos su apoyo, tiempo y conocimientos que nos ayudaron a realizar la tesis de grado.

| TABLA DE CONTENIDO | Página |
|---|---------------|
| PÁGINA DE APROBACION | 2 |
| AGRADECIMIENTOS | 3 |
| LISTA DE CUADROS Y FIGURAS..... | 6 |
| 1. RESUMEN | 7 |
| 2. SUMMARY | 8 |
| 3. INTRODUCCIÓN..... | 9 |
| 4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 10 |
| 4.1 Calidad de leche..... | 10 |
| 4.2 Calidad de leche en Uruguay | 10 |
| 4.3 Mastitis | 12 |
| 4.3.1 Agentes causantes de mastitis..... | 13 |
| 4.3.2 Epidemiología de los agentes causantes de mastitis en Uruguay | 14 |
| 4.3.3 Pérdidas por mastitis | 15 |
| 4.3.4 Métodos diagnósticos para mastitis | 15 |
| 4.3.5 Plan de control de mastitis | 16 |
| 5. HIPÓTESIS..... | 18 |
| 6. OBJETIVOS..... | 19 |
| 6.1 Objetivo general | 19 |
| 6.2 Objetivos específicos | 19 |
| 7. MATERIALES Y MÉTODOS | 20 |
| 7.1 Caracterización de los establecimientos..... | 20 |
| 7.2 Toma de muestras | 20 |
| 7.3 Modelo estadístico | 21 |
| 8. RESULTADOS | 23 |
| 8.1 Aislamientos bacterianos por cuarto en el secado | 23 |

| | |
|--|----|
| 8.2 Relación entre la prevalencia de mastitis subclínica previo al secado mediante el uso de recuento celular individual por vaca y la presencia de mastitis subclínica en la lactancia..... | 24 |
| 8.3 Relación entre la prevalencia de mastitis subclínica previo al secado medido mediante el uso de recuento celular individual por vaca y la presencia de mastitis clínica en la lactancia..... | 25 |
| 8.4 Relación entre el aislamiento bacteriológico al momento del secado y la presencia de mastitis subclínica en la lactancia previa | 27 |
| 8.5 Relación entre el aislamiento bacteriológico al momento del secado y la presencia de mastitis subclínica en la lactancia previa | 28 |
| 9. DISCUSIÓN | 30 |
| 9.1 Prevalencia de microorganismos por cuarto al secado | 30 |
| 9.2 Relación entre el recuento celular por vaca previo al secado y la presencia de mastitis subclínica en la lactancia..... | 31 |
| 9.3 Relación entre el recuento celular individual por vaca previo al secado y la aparición de mastitis clínica en la lactancia previa | 32 |
| 9.4 Relación entre la presencia de infección intramamaria (aislamiento microbiano) al momento del secado y la presencia de mastitis subclínica y clínica en la lactancia previa..... | 32 |
| 10. CONCLUSIONES..... | 34 |
| 11. BIBLIOGRAFÍA..... | 35 |

LISTA DE CUADROS Y FIGURAS

Página

| | |
|---|----|
| Tabla 1. SISTEMA NACIONAL DE CALIDAD DE LECHE. Modificación del Decreto 57/999 2/99 | 10 |
| Tabla 2. SISTEMA NACIONAL DE CALIDAD DE LECHE. Decreto 59/2013 | 11 |
| Tabla 3. Tambo 1 y 2. Prevalencia de microorganismos aislados por cuarto al secado | 23 |
| Tabla 4. Tambo 1. Relación entre el recuento celular individual (RCI) previo al secado y la presencia de mastitis subclínica durante la lactancia..... | 24 |
| Tabla 5. Tambo 2. Relación entre el recuento celular individual (RCI) previo al secado y la presencia de mastitis subclínica durante la lactancia | 24 |
| Tabla 6. Tambo 1. Relación entre el recuento celular individual (RCI) previo al secado y la presencia de mastitis clínica durante la lactancia..... | 25 |
| Tabla 7. Tambo 2. Relación entre el recuento celular individual (RCI) previo al secado y la presencia de mastitis clínica durante la lactancia | 26 |
| Tabla 8. Tambo 1. Relación entre los aislamientos al secado y la aparición de mastitis subclínica en la lactancia previa..... | 27 |
| Tabla 9. Tambo 2. Relación entre los aislamientos al secado y la aparición de mastitis subclínica en la lactancia previa..... | 27 |
| Tabla 10. Tambo 1. Relación entre los aislamientos al secado y la cantidad de casos de mastitis clínica durante la lactancia previa | 28 |
| Tabla 11. Tambo 2. Relación entre los aislamientos al secado y la cantidad de casos de mastitis clínica durante la lactancia previa..... | 29 |

1. RESUMEN

En este trabajo se estudió la relación entre la salud mamaria en el momento del secado mediante recuento celular individual y aislamiento bacteriológico, con la presencia de mastitis subclínica y clínica durante la lactancia previa, el mismo se llevó a cabo en el tambo de Facultad de Veterinaria (tambo 1) con un n= 53 y en el tambo de Facultad de Agronomía Centro Regional Sur (tambo 2) con un n=52.

Los microorganismos más frecuentemente aislados al momento del secado en los tambos 1 y 2 fueron: *Staphylococcus aureus* (7,8% y 2,4%, respectivamente), *Staphylococcus coagulasa negativos* (16,2% y 5,8%, respectivamente) y *Corynebacterium bovis* (15,2% y 23,9%, respectivamente).

La presencia de mastitis subclínica (recuento celular individual mayor a 200 mil cels/ml) previo al secado se encontró asociada con la aparición de mastitis subclínica durante la lactancia previa. No obstante no se encontró asociación entre la mastitis subclínica (recuento celular individual mayor a 200 mil cels/ml) previo al secado y la aparición de mastitis clínica durante la lactancia previa.

No se encontró asociación entre la presencia de una infección intramamaria al momento del secado (aislamiento bacteriológico positivo) y la aparición de mastitis subclínica o clínica en la lactancia previa. Asimismo, tampoco se encontró asociación entre la presencia de una infección intramamaria al momento del secado, excluyendo a *Corynebacterium bovis*, y la aparición de mastitis subclínica en la lactancia previa. Sin embargo, sí se encontró una asociación entre la presencia de infección intramamaria al momento de secado, excluyendo a *Corynebacterium bovis*, y la aparición de mastitis clínica en la lactancia previa en el tambo 1, lo que posiblemente esté asociado a la epidemiología de los microorganismos presentes en dicho predio (alta prevalencia de *Staphylococcus aureus*).

2. SUMMARY

This aim of this work was to study the relationship between udder health at dry off measured by somatic cell count and bacteriological culture with the appearance of subclinical and clinical mastitis during previous lactation.

The most frequently isolated microorganisms at dry off in dairy farms 1 and 2 were *Staphylococcus aureus* (7.8% and 2.4%, respectively), *Staphylococcus* coagulase negative (16.2% and 5.8%, respectively) and *Corynebacterium bovis* (15.2% and 23.9%, respectively).

The presence of subclinical mastitis (somatic cell count greater than 200.000 cells/ml) prior to dry off was related with the onset of subclinical mastitis during previous lactation. However, no relation was found between subclinical mastitis (somatic cell count greater than 200,000 cells/ml) prior to dry off and the appearance of clinical mastitis during previous lactation.

No relation was found between the presence of an intramammary infection at dry off (positive culture) and the appearance of subclinical or clinical mastitis in the previous lactation. Moreover, no relation was found between the presence of an intramammary infection at dry off without considering *Corynebacterium bovis* and the appearance of subclinical mastitis in previous lactation. However, a relation was found between the presence of intramammary infection at dry off without considering *Corynebacterium bovis* and the appearance of clinical mastitis in the previous lactation in dairy farm 1, which may be related with the epidemiology of microorganisms present in this dairy farm (high prevalence of *Staphylococcus aureus*).

3. INTRODUCCIÓN

Uruguay cuenta con 16,4 millones de hectáreas de su superficie (que representan el 93% del total) aptas para uso agropecuario. Por su ubicación geográfica presenta condiciones naturales que lo hacen favorable para la producción de leche. Esta realidad hace que el país cuente con un sector lácteo que ocupa un rol importante en la estructura económica del país, siendo uno de los rubros que genera mayor valor agregado (OPYPA Anuario, 2017).

El número de productores lecheros es de 3.864 de los cuales 2.716 son remitentes (DIEA, 2017). La alimentación es fundamentalmente a base de pasturas, 50% aproximadamente pastoreo directo, 25% reservas forrajeras y 25% concentrados (INALE, 2015).

Entre 2004 y 2013 la remisión de leche a plantas industriales creció 61%, pero la superficie dedicada a la lechería cayó 17%. Este crecimiento se sustentó en los litros de leche producidos anualmente por vaca masa que crecieron un 37% (Hernández y Freiría, 2014) al mismo tiempo que en un aumento en la carga animal de nuestros sistemas de producción (vaca ordeño/hectárea) (INALE, 2018). Estos datos muestran un marcado proceso de intensificación de la lechería uruguaya, el cual viene desarrollándose desde hace muchos años produciendo más litros de leche con menos cantidad de productores.

El consumo de leche por habitante por año es de 230 litros (INALE, 2018), si comparamos este dato con los de la región vemos que nuestro país está dentro de los que consumen más leche, ya que supera los 150 litros per cápita por año y entra por tanto en el rango elevado de consumo según la FAO (FAO, 2018); Al tener un limitado mercado interno la mayoría de la producción láctea (más de un 70%) se destina a la exportación (INALE, 2018). En este contexto Uruguay se posiciona como el sexto exportador mundial de leche, lo que exige una alta competitividad de nuestros productos en el mercado internacional, para lo que es imprescindible contar con productos de calidad que aseguren la inocuidad (INALE, 2019).

4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

4.1 Calidad de leche

Según la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO) La calidad de la leche cruda es el principal factor determinante de la calidad de los productos lácteos (FAO, 2018). La calidad higiénica se mide por el recuento bacteriano (RB), medido en unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml), y la calidad sanitaria por el recuento de células somáticas (RCS) por mililitro (cels/ml) de leche de un cuarto, de una vaca o del tanque de frío (Reneau, 1986; Harmon, 1994), ésta está relacionada con la salud de la ubre. La mayoría de las células en un RCS son leucocitos (glóbulos blancos) y en menor medida células provenientes del tejido secretor mamario (Delucci y col., 2008).

4.2 Calidad de leche en Uruguay

Teniendo en cuenta que Uruguay exporta más del 70% de la leche que produce, fue imprescindible establecer un plan de aseguramiento de la calidad higiénico sanitaria, para adecuarse a los estándares que exigen los mercados para la leche y los productos lácteos. Es por esta razón que a partir de la década del 90 se crea el Sistema Nacional de Calidad de la Leche. El decreto del Poder Ejecutivo N° 90/995 (Uruguay, 1995) del 21 de febrero de 1995, estableció una normativa genérica para un Sistema Nacional de Calidad de la Leche, en él se establecieron exigencias mínimas y obligatorias para la promoción y mejoramiento de la calidad higiénico sanitaria de la leche. En 1999 se actualizó el Sistema Nacional de Categorización de la Leche, por medio del Decreto N° 57/999 (Uruguay, 1999), (Tabla 1).

Tabla 1. SISTEMA NACIONAL DE CALIDAD DE LECHE
Modificación del Decreto 57/999 2/99

| Categoría | Recuento bacteriano expresado en UFC/ml | Recuento celular expresado en cels/ml |
|------------------|--|--|
| A | <200.000 | <800.000 |
| B | 200.000-800.000 | 800.000-1.000.000 |
| C | >800.000 | >1.000.000 |

Las exigencias establecidas en este sistema eran las mínimas obligatorias para poder recibir y/o procesar leche, pudiendo las empresas compradoras establecer exigencias adicionales, si lo entendían necesario, y establecer bonificaciones suplementarias para esa leche.

Esta reglamentación se mantuvo vigente hasta noviembre del 2013 cuando fue aprobado el Decreto N° 359/2013 (Uruguay, 2013) que establece un sistema progresivo de mejora de la calidad higiénica y sanitaria de la leche. Los niveles de exigencia para recibo y/o procesamiento de la leche en relación al recuento bacteriano y celular son los que se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. SISTEMA NACIONAL DE CALIDAD DE LECHE
Decreto 359/2013.

| Fecha de entrada en vigencia | Recuento bacteriano expresado en UFC/ml | Recuento celular expresado en cels/ml |
|--|--|--|
| A la entrada en vigencia del decreto | 500.000 | 800.000 |
| Al año de la entrada en vigencia del decreto | 300.000 | 600.000 |
| A los tres años de entrada en vigencia el decreto | 100.000 | 400.000 |

En el año 1996 la calidad sanitaria de la leche, recibida por las plantas industrializadoras, registró un promedio de 545 mil cels/ml y la calidad higiénica unos 558 mil UFC/ml (OPYPA, 2004); en 2015 se presentaron datos provenientes de la leche recibida por plantas industrializadoras, el 82% de la leche tenía menos de 400 mil cels/ml y que el 90% de esa leche tenía menos de 50 mil UFC/ml (INALE, 2015). Si comparamos ambos resultados observamos una mejora en la calidad de leche del Uruguay, desde antes de la entrada en vigencia del decreto de 1997 hasta el presente, sobre todo para la calidad higiénica de la leche. En el caso de la calidad sanitaria hubo también una mejora pero los niveles actuales siguen correspondiendo a rodeos enfermos (recuentos celulares de tanque superiores a 250 mil cels/ml) (Sandholm y col., 1995).

4.3 Mastitis

La inflamación de la glándula mamaria, también llamada mastitis, es la enfermedad más importante que afecta al ganado bovino de leche, esta patología es reconocida mundialmente por causar grandes pérdidas económicas tanto al productor como a la industria (San Martín y col., 2002). Se caracteriza por un incremento del recuento de células somáticas en la leche con cambios bacteriológicos y patológicos en los tejidos mamarios (International Dairy Federation, 1987).

Los microorganismos patógenos penetran a la ubre por medio del canal del pezón, superando los mecanismos defensivos y multiplicándose en los tejidos de la glándula (Kerr y Wellnitz, 2003; Bannerman y col., 2004). El esfínter del pezón es una barrera física que constituye la primera línea de defensa de la glándula contra los patógenos invasores, éste rodea el inicio del canal galactóforo y lo mantiene cerrado. Otro de los mecanismos de defensa es la queratina que es producida por las células que revisten el canal del pezón. Es una proteína unida a componentes lipídicos que poseen propiedades bacteriostáticas. Luego del ordeño el esfínter del canal del pezón permanece dilatado durante una o dos horas, tiempo en el que las bacterias pueden entrar a la glándula mamaria (Harmon, 1994). Artegoitia (2005) realizó un trabajo en el tambo de Facultad de Veterinaria, departamento de San José, donde pezones cuyo esfínter se encuentra dañado (anillo muy rugoso o teta florecida) tienen una mayor incidencia de mastitis clínica y un mayor aislamiento de *Staphylococcus aureus* lo que muestra la relevancia del mismo.

El daño a las células epiteliales y la obstrucción de los pequeños conductos puede dar lugar al reemplazo del tejido glandular por tejido cicatrizal, con una pérdida permanente de la función de esa porción de la glándula. Aunque en otros casos la inflamación puede disminuir y producirse la reparación del tejido, recuperando la función durante esa o en la próxima lactancia (Harmon, 1994).

Por la afectación del tejido secretor se genera una caída de la síntesis de caseína, lactosa y grasa (Harmon, 1994; Hortet y Seegers, 1998; Osteras, 2000; Coulon y col., 2002), así como una disminución de la producción (Shim y col., 2004). La magnitud de la respuesta inflamatoria puede estar influenciada por el patógeno causante, etapa de la lactancia, edad, estado inmunitario de la vaca, genética y estado nutricional (Harmon, 1994).

Esta enfermedad puede presentarse de forma subclínica o clínica. En los casos en que la inflamación de la glándula mamaria es acompañada de signos clínicos es

diagnosticada entonces como mastitis clínica (Djabri y col., 2002), en la cual se manifiestan signos anormales claros y observables en la vaca, en la ubre o en su leche (Tollersrud y col., 2000). La mastitis subclínica no presenta cambios visibles en la leche o ubre (Fernández y col., 2012), pero sí aumento en el recuento de células somáticas. La presentación de mastitis, tanto en la forma clínica y como subclínica, conduce a grandes pérdidas económicas por la reducción de la producción de leche fundamentalmente (Ariznabarreta y col., 2002).

4.3.1 Agentes causantes de mastitis

De acuerdo con sus características epidemiológicas los organismos que causan mastitis se han clasificado en patógenos contagiosos, ambientales y oportunistas.

Los microorganismos contagiosos viven y se multiplican en la glándula mamaria y la piel del pezón, y se transmiten principalmente durante el ordeño (Capurro y col., 2010). La infección se disemina también por las manos del ordeñador y materiales que se utilizan para limpiar pezones, como toallas si se utilizan en más de una vaca (Capurro y col., 2010; Moroni, 2014; Yera y Ramírez, 2016). En este grupo se incluyen *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Streptococcus agalactiae* (*Str. agalactiae*), *Mycoplasma spp.* y *Corynebacterium bovis* (*C. bovis*) (Philpot y Nickerson, 1992; Saran y Chaffer, 2000). Entre ellos los más importantes son *Str. agalactiae* y *S. aureus* que causan elevados recuentos celulares y disminución de la producción de leche (Saran y Chaffer, 2000; Oliveira y col., 2013). Las mastitis causadas por *S. aureus* provocan principalmente infecciones subclínicas que a menudo se convierten en crónicas (Zadoks y col., 2011), las mastitis producidas por este microorganismo tienen bajos porcentajes de curación bacteriológica frente a la terapia antibiótica, durante la lactancia e inclusive durante el período seco (Sol y col., 2000; Ziesch y Krömker, 2016). El *Str. agalactiae* es un agente obligado de la glándula mamaria, sobrevive poco tiempo en el ambiente y en manos del ordeñador (Saran y Chaffer, 2000; Zadoks y col., 2011).

Por otra parte, los microorganismos ambientales son aquellos cuyo reservorio primario es el ambiente donde viven las vacas, ya sea la cama, los caminos, estiércol, agua estancada, restos de comida, etc. (Saran y Chaffer, 2000). Estos microorganismos constituyen un grupo heterogéneo cuyos exponentes más frecuentes son bacterias Gram negativas *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Pseudomona spp.* y *Proteus spp.* y bacterias Gram positivas *Streptococcus uberis*

(*Str. uberis*), *Streptococcus dysgalactiae* (*Str. dysgalactiae*) y otros *Streptococcus spp.*, los *Str. uberis* y *Str. dysgalactiae* tienen la particularidad que los animales los toman del ambiente pero luego son capaces de contagiarse de vaca a vaca (Philpot y Nickerson, 1992; Smith y Hogan, 1993; Calvinho, 1999; Saran y Chaffer, 2000).

Los microorganismos oportunistas generalmente se encuentran en la piel de la ubre y en los pezones, desde esta ubicación colonizan el canal del pezón y eventualmente pueden invadir el tejido mamario (Philpot y Nickerson, 1992; Saran y Chaffer, 2000). Este grupo, incluye más de 20 especies de *Staphylococcus* no aureus, generalmente conocidos como *Staphylococcus coagulasa negativo* (SCN) (Philpot y Nickerson, 1992; Taponen y col., 2006). Las infecciones causadas por SCN, son por lo general subclínicas o clínicas leves, no parecen afectar drásticamente la producción de leche (Philpot y Nickerson, 1992; Taponen y col., 2006; Ruiz, 2008).

Otro modo de clasificar los agentes causantes de mastitis es en patógenos mayores y menores. La mastitis causada por los patógenos mayores resulta en los mayores cambios en la producción y composición de la leche (Schepers y col., 1997), con mayor impacto económico; entre todos los patógenos mayores encontramos *S. aureus*, *Streptococcus spp.*, coliformes, levaduras, *Proteus spp.*, *Pseudomona spp.*, *Prototheca spp.*, *Bacillus cereus*, *Nocardia spp.*, agentes Gram negativos no coliformes, *Trueperella pyogenes*, *Micrococcus spp.* y *Klebsiella spp.* Las mastitis causadas por los patógenos menores sólo causan una inflamación moderada, estos son los SCN y *C. bovis*; son menos frecuentemente asociadas a cambios en la composición de la leche o a una disminución drástica en la producción de la misma (Harmon, 1994).

4.3.2 Epidemiología de los agentes causantes de mastitis en Uruguay

En relación a los microorganismos causantes de mastitis en el Uruguay Bouman y col. (1999) realizaron un estudio con muestras de leche de vacas con mastitis clínica en el que observaron que los géneros de microorganismos más frecuentemente aislados fueron *Staphylococcus spp.*, con una prevalencia similar entre *S. aureus* (32%) y SCN (28%). Estos trabajos coinciden con lo reportado por Giannechini y col. (2002b) en muestras procedentes de vacas con mastitis clínica y subclínica en la cuenca litoral oeste, los que indicaron que *S. aureus* fue el microorganismo más frecuentemente aislado en los casos de mastitis clínica (37,5%) y en los casos de mastitis subclínica (62,8%). Mientras que en la cuenca tradicional los microorganismos aislados con mayor

frecuencia de casos de mastitis clínica fueron *S. aureus* (23,1%) y *Str. dysgalactiae* (14%) y en los casos de mastitis subclínica el *S. aureus* (48,3%) seguido de SCN (15,2%) (Giannechini y col, 2014). De Torres y col. (2014) relevaron que para los años 2012 y 2013 el microorganismo más prevalente en muestras de leche de mastitis clínica fue *S. aureus* (34,6% en 2012 y 34,5% en 2013). Larumbe y Vidart (2016) también relevaron muestras de mastitis clínica y observaron que el patógeno más frecuentemente aislado en los años 2014 y 2015, fue *S. aureus* (27,5% y 28,8% respectivamente). Todos estos trabajos realizados en Uruguay tienen como microorganismo causante de mastitis más prevalente al *S. aureus*.

4.3.3 Pérdidas por mastitis

La enfermedad más importante en relación a las pérdidas ocasionadas al ganado lechero es la mastitis, tanto para el productor como para la industria (San Martín y col., 2002). Las pérdidas económicas incluyen reducción en la producción de leche y sólidos, aumento del costo de producción, pérdidas relacionadas a la calidad sanitaria de la leche, descarte prematuro de animales, mayor trabajo para los operarios, costos de tratamiento y aumento en el uso de antibióticos y más riesgo de aparición de resistencia microbiana. (Oliveira y col., 2013). En Uruguay han sido estimadas las pérdidas debido a mastitis subclínica por Giannechini y col. (2002a) en USD 21.345.000 anuales.

4.3.4 Métodos diagnósticos para mastitis

El recuento de células somáticas es el método de referencia a nivel mundial para evaluar la calidad sanitaria de la leche, puede ser realizado a nivel de tanque, vaca o por cuarto (Dohoo y Meek, 1982; Reneau, 1986; Harmon, 1994), siendo el umbral, para determinar animales enfermos, de 200 mil cél/ml en vacas multíparas (Pyörälä, 2003) y de 100 mil cél/ml en primíparas (Smith y Hogan, 2001). El uso efectivo del RCS depende en gran medida de una comprensión clara de los factores que lo afectan, el principal es el estado de infección intramamaria (Reneau, 1986), comparado con otros factores tales como la edad, el estado de lactación, la época del año, el estrés y la variación diurna (Reneau, 1986). El recuento de células somáticas ha demostrado tener buena sensibilidad y especificidad para detectar mastitis subclínicas en vacas (Schalm y col., 1971). Un rodeo sano es aquel que tiene no más del 15% de las vacas con RCS por encima de 200 mil cels/ml (Ruegg, 2010). Datos nacionales demuestran que nuestros

rodeos superan estos valores (De Torres, 2017) encontrándose de un 30 a 50 % de los animales infectados, lo que es consistente con la alta prevalencia de *S. aureus* a nivel de nuestros sistemas de producción (Bouman y col., 1999; Giannechini y col., 2002b; Larumbe y Vidart, 2016).

4.3.5 Plan de control de mastitis

Los establecimientos lecheros establecen un Plan de control para la mastitis por lo general basados en el ideado por Neave y col. (1969) donde se establecen 5 puntos para el control de la enfermedad. Estos son: adecuada rutina de ordeño con énfasis en el sellado post ordeño, chequeo periódico de la máquina ordeñadora, detección precoz y tratamiento inmediato de las vacas con mastitis clínica, descarte de vacas crónicas y uso de terapia intramamaria con antibióticos a las vacas en el momento del secado.

Se ha ido jerarquizando cada vez más a lo largo del tiempo la reducción del uso de antibióticos a nivel de la producción animal, sobre todo por la relación entre el uso de los mismos, el posible desarrollo de resistencia y sus implicancias con la salud humana, en el concepto de “Una Salud” (OMS, 2015). La correcta aplicación de este plan de control continúa esta línea de trabajo, de tener menos animales enfermos y por tanto reducir el uso de los antibióticos, sin embargo se han planteado otras alternativas complementarias para lograr dicho objetivo, por ejemplo el “secado selectivo” (Scherpenzeel, 2017). Esta herramienta tiene como objetivo tratar sólo las vacas infectadas y evitar el uso profiláctico en las vacas sanas en el momento del secado, sin embargo, algunos autores han planteado como desventaja que existe el riesgo de que algunos cuartos infectados no serán tratados y algunos cuartos sanos, que no tuvieron tratamiento, sean más susceptibles a nuevas infecciones, debido a la ausencia del efecto protector del pomo de secado con antibiótico (Halasa y col., 2009).

Para seleccionar vacas para el secado selectivo se requiere conocer la salud mamaria de los animales para ello se cuenta con distintas herramientas como: antecedentes de mastitis clínica y la realización de cultivo bacteriológico, recuento celular individual y el California Mastitis Test (CMT) al secado, con diferentes sensibilidades y especificidades para la identificación de vacas infectadas (Rindsig y col., 1978; Robinson y col., 1988). Como primer criterio, para la aplicación de la terapia selectiva al secado, es indispensable que el rodeo tenga un recuento celular en tanque permanentemente por debajo de 250 mil cels/ml a lo largo del año, ausencia de *Str.*

agalactiae y mínima prevalencia de *S. aureus*. Se debe disponer de buenos registros de mastitis clínica y realización de recuento celular individual mensual en todos los animales (Whist y col., 2007; Bradley y col., 2018).

La técnica de referencia para la detección de un animal con infección intramamaria (IIM) es el uso de aislamiento bacteriológico, pero su sensibilidad es baja y su costo elevado, es por esto que en muchos casos se utiliza el recuento celular individual como técnica de rutina para tomar la decisión de realizar o no un tratamiento antibiótico intramamario al momento del secado.

En Reino Unido se contempla la salud mamaria durante toda la lactancia, y se aplica antibiótico intramamario al secado sólo a aquellas vacas que hayan presentado mastitis clínica o al menos un recuento celular individual mayor a 200 mil cels/ml en la lactancia precedente. En cambio en Estados Unidos se aplica el mismo criterio pero contemplando únicamente los 3 últimos meses previos al secado de cada vaca. Estos y otros países, juntos con otros que han implementado con éxito el secado selectivo coinciden en que el recuento celular individual utilizado con frecuencia mensual es la mejor herramienta para seleccionar vacas a tratar (Torres y col., 2008; Bradley y col., 2018).

Por lo tanto, para poder aplicar la terapia selectiva es crucial conocer la salud mamaria de las vacas en nuestro rodeo, tanto en su lactancia previa como al momento del secado. Es por esta razón que planteamos estudiar qué relación existe entre recuento celular individual y aislamiento bacteriológico por cuarto al momento del secado y la salud mamaria durante la lactancia previa en nuestros sistemas y de esta manera la factibilidad de la aplicación del secado selectivo bajo nuestros sistemas de producción.

5. HIPÓTESIS

La salud de la ubre en el momento del secado tiene relación con la salud mamaria medida por el recuento celular individual y la incidencia de mastitis clínica en la lactancia previa.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Relacionar la salud mamaria en el momento de secado, medida por el recuento celular individual y el aislamiento bacteriano, con el recuento celular individual por vaca y la incidencia de mastitis clínica en la lactancia previa.

6.2 Objetivos específicos

-Determinar la salud de la ubre en el secado mediante el recuento celular individual y su relación con la presencia de mastitis clínica y subclínica en la lactancia previa.

-Determinar la salud de la ubre en el secado mediante el aislamiento bacteriológico y su relación con la presencia de mastitis clínica y subclínica en la lactancia previa.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Caracterización de los establecimientos

El estudio se realizó en el tambo de Facultad de Veterinaria, Campo Experimental N° 2 km 42,500 de la Ruta 1, en el departamento de San José (Tambo 1); y en el tambo de Facultad de Agronomía, Centro Regional Sur (CRS) km 35,500 del Camino Folle en el departamento de Canelones (Tambo 2); durante el período de marzo de 2015 a junio de 2017.

El tambo 1 cuenta con 165 vaca masa y un promedio de 140 vacas en ordeño, de raza Holando y cruza Holando x Jersey (25%) en condiciones de semi-pastoreo. La parición es continua con un 65% de concentración de partos en otoño-invierno con una producción por lactancia ajustada a 305 días de 6560 litros. Se seleccionaron para este estudio 53 vacas (n=53) al azar con parición de otoño.

El tambo 2 cuenta con 207 vaca masa y un promedio de 182 vacas en ordeño, de raza Holando y cruza Holando x Jersey (25%) en condiciones de semi-pastoreo. La parición es continua con un 60% de concentración de partos en otoño-invierno con una producción por lactancia ajustada a 305 días de 6980 litros. Se seleccionaron para este estudio 52 vacas (n= 52) al azar con parición de otoño.

Para ambos tambos el secado se realizó en todos los animales entre 45 y 60 días previos a la fecha probable de parto o con producciones diarias menores a 8 lts/día y más de 6 meses de preñez. En el momento del secado se aplicaron con pomos intramamarios con antibiótico y no se usó sellador interno. El manejo en el momento del secado fue el siguiente: si la vaca a secar producía menos de 15 lts/día, el secado era brusco; en el caso que la producción sea superior a 15 lts/día se realizó una restricción energética en la alimentación y se impidió el acceso al pastoreo por un período entre 3 a 5 días para posteriormente realizar el secado.

7.2 Toma de muestras

Al momento del secado se tomaron muestras de leche por cuarto para enviar al Laboratorio para aislamiento bacteriano. Estas muestras fueron tomadas mediante procedimientos asépticos descritos por National Mastitis Council (Hogan, 1999). Previa a la extracción de las muestras los pezones fueron lavados y secados, luego se eliminaron los primeros chorros de leche, los pezones y en especial el esfínter del pezón fueron desinfectados con algodón humedecido en alcohol 70°, luego se recolectaron de cada cuarto aproximadamente 10 ml de leche en frascos estériles. Se

identificaron las muestras con la fecha, número de cuarto y número de identificación individual del animal propio del establecimiento. Se almacenaron bajo congelado a -20°C y fueron remitidas al laboratorio de la Asociación Rural de San José para su procesamiento, en un plazo máximo de un mes desde la fecha de extracción.

A su vez se tomaron mensualmente muestras para enviar al Laboratorio para análisis de recuento celular individual por vaca de la lactancia precedente al secado considerado en el estudio de cada uno de los animales que fueron seleccionados. Estas muestras para recuento celular individual, se enviaron en tubos con bronopol (Broad Spectrum Micro tabs II, D & F Control System Inc., Chaska, MN, USA) como conservante y se procesaron, las del Tambo 1 en el Laboratorio COLAVECO y las del Tambo 2 en el Laboratorio de Calidad de Leche del INIA "La Estanzuela", en ambos laboratorios se utilizó para la determinación la citometría de flujo laminar por medio de un contador de células automático (Fossomatic 90) correspondiente a la metodología de IDF 1995 (Gonzalo y col. 2003). Se registraron los casos de mastitis clínica durante las lactancias previas consideradas. Los datos obtenidos se organizaron en planillas Excel (Microsoft Office Professional Plus 2010).

El umbral para la determinación de una vaca con una infección intramamaria mediante el recuento celular individual fue de 200 mil cels/ml en múltiparas (Pyörälä, 2003) y 100 mil cels/ml en primíparas (Smith y Hogan, 2001). Dichos umbrales fueron utilizados durante la lactancia y previo al secado.

Se consideraron no sanas, además, aquellas vacas con infección intramamaria, medida mediante aislamiento bacteriológico positivo al secado, en al menos uno de sus cuartos.

La mastitis clínica durante la lactancia fue diagnosticada mediante el despunte de las vacas previo al ordeño, considerándose como mastitis clínica aquella vaca que tenía una alteración macroscópica en la leche procedente de alguno de sus cuartos.

7.3 Modelo estadístico

Se estudiaron, mediante estadística descriptiva, la exposición a factores de riesgo durante la lactancia (presencia de eventos de mastitis clínica y presencia mastitis subclínica durante la lactancia determinada mediante recuento celular individual por vaca) y su asociación con la salud de ubre al momento del secado (presencia de aislamiento positivo y/o presencia de mastitis subclínica determinada mediante recuento celular individual por vaca). Los datos fueron analizados mediante el software

Epidat 3.1 (Test Fisher) a través del uso de tablas de contingencia en las cuales se estudió la relación entre la salud mamaria al secado mediante recuento celular individual o aislamiento bacteriológico y la exposición a factores de riesgo durante la lactancia (mastitis subclínica y clínica).

Se analizó la prevalencia de microorganismos por cuarto al momento del secado entre los diferentes predios experimentales mediante el uso de software Epidat 3.1 (Test Fisher).

8. RESULTADOS

8.1 Aislamientos bacterianos por cuarto en el secado

Tabla 3. Tambo 1 y 2. Prevalencia y proporción de microorganismos (mo) aislados por cuarto al secado.

| Microorganismo aislado | Tambo 1 | | | Tambo 2 | | |
|---------------------------|------------|-------------------|-----------------------------------|------------|-------------------|-----------------------------------|
| | n | Prevalencia | % de mo en los cultivos positivos | n | Prevalencia | % de mo en los cultivos positivos |
| <i>S. aureus</i> | 16 | 7,8 ^a | 20,0 ^{ax} | 5 | 2,4 ^b | 7,0 ^{ay} |
| SCN | 33 | 16,2 ^a | 41,3 ^a | 12 | 5,8 ^b | 16,9 ^b |
| <i>C. bovis</i> | 31 | 15,2 ^a | 38,8 ^a | 49 | 23,9 ^b | 69,0 ^b |
| <i>Streptococcus</i> spp. | - | - | - | 2 | 1,0 | 2,8 |
| <i>Bacilos Gram (-)</i> | - | - | - | 2 | 1,0 | 2,8 |
| <i>Str. dysgalactiae</i> | - | - | - | 13 | 0,5 | 1,4 |
| No desarrolla | 124 | 60,8 | - | 134 | 65,4 | - |
| Total | 204 | 100 | 100 | 205 | 100 | 100 |

a,b entre diferentes tambos y dentro del mismo indicador indica diferencias significativas ($p < 0,05$). x,y entre diferentes tambos y dentro del mismo indicador indica tendencias ($p < 0,10$). *S. aureus*= *Staphylococcus aureus*. SCN= *Staphylococcus coagulasa* negativos. *C. bovis*= *Corynebacterium bovis*. *Str. dysgalactiae*= *Streptococcus dysgalactiae*

En el Tambo 1 de un total de $n=204$ muestras remitidas al laboratorio para aislamiento bacteriano observamos que un 16,2% ($n=33$) fueron positivas para SCN, un 15,2% ($n=31$) fueron positivas para *C. bovis*, y un 7,8% ($n=16$) fueron positivas para *S. aureus*; las muestras que resultaron sin desarrollo representaron un 60,8% ($n=124$) del total. Si analizamos sólo los aislamientos observamos que los microorganismos más frecuentemente aislados fueron SCN (41,3%) y *C. bovis* (38,8%), en menor proporción *S. aureus* (20%).

En el Tambo 2 de un total de $n=205$ muestras remitidas al laboratorio para aislamiento bacteriano observamos que un 23,9% ($n=49$) fueron *C. bovis*, un 5,8% ($n=12$) fueron SCN, un 2,4% ($n=5$) fueron *S. aureus*, un 1% ($n=2$) fueron *Streptococcus* spp., un 1% ($n=2$) fueron *Bacilos Gram (-)* y un 0,5% ($n=1$) fueron *Str. dysgalactiae*; las muestras que resultaron sin desarrollo representaron un 65,4% ($n=134$) del total. Si analizamos sólo los aislamientos observamos que el microorganismo aislado más frecuentemente fue *C. bovis* (69,0%) seguido de SCN (16,9%). En menor proporción se aislaron *S. aureus* (7,0%), *Streptococcus* spp. (2,8%), *Bacilos Gram (-)* (2,8%) y *Strep. dysgalactiae* (1,4%).

Si comparamos los resultados entre los tambos observamos que la prevalencia de aislamientos de *S. aureus* en tambo 1 fue mayor a la del tambo 2 ($p < 0,05$) al mismo tiempo que la proporción de *S. aureus* sobre el total de aislamientos tendió a ser mayor en el tambo 1 comparado al tambo 2 ($p=0,06$). La prevalencia y la proporción de

aislamientos de SCN en el tambo 1 fue mayor al tambo 2 ($p < 0,05$). La prevalencia y proporción de aislamientos de *C. bovis* fue mayor en el tambo 2 con respecto al tambo 1 ($p < 0,05$).

8.2 Relación entre la prevalencia de mastitis subclínica previo al secado mediante el uso de recuento celular individual por vaca y la presencia de mastitis subclínica en la lactancia

Tabla 4. Tambo 1. Relación entre el recuento celular individual (RCI) previo al secado y la presencia de mastitis subclínica durante la lactancia.

| | RCI previo al secado | | |
|---|----------------------|------------------|-------|
| | > 200 mil cel/ml | ≤ 200 mil cel/ml | Total |
| Mastitis subclínica durante la lactancia | | | |
| Si | 34 (76%) | 11 | 45 |
| No | 0 (0%) | 8 | 8 |
| Total | 34 | 19 | 53 |

Tabla 5. Tambo 2. Relación entre el recuento celular individual (RCI) previo al secado y la presencia de mastitis subclínica durante la lactancia.

| | RCI previo al secado | | Total |
|---|----------------------|------------------|-------|
| | > 200 mil cel/ml | ≤ 200 mil cel/ml | |
| Mastitis subclínica durante la lactancia | | | |
| Si | 30 (60%) | 20 | 50 |
| No | 0 (0%) | 2 | 2 |
| Total | 30 | 22 | 52 |

La proporción de animales con mastitis subclínica al secado fue mayor en las vacas que tuvieron al menos un episodio de mastitis subclínica durante la lactancia en el Tambo 1 (76% vs 0%, respectivamente, $p < 0,01$). Sin embargo, en el Tambo 2 (60% vs 0%, respectivamente) no encontramos diferencias significativas ($p > 0,05$) a pesar de las diferencias numéricas. El análisis conjunto de ambos tambos nos permite observar que la proporción de animales con mastitis subclínica al secado fue mayor en los animales que tuvieron al menos un episodio de mastitis subclínica en lactancia (67% vs 0%, respectivamente, $p < 0,05$).

8.3 Relación entre la prevalencia de mastitis subclínica previo al secado medido mediante el uso de recuento celular individual por vaca y la presencia de mastitis clínica en la lactancia previa

Tabla 6. Tambo 1. Relación entre el recuento celular individual (RCI) previo al secado y la presencia de mastitis clínica durante la lactancia.

| | RCI previo al secado | | Total |
|---|----------------------|------------------|-------|
| | > 200 mil cel/ml | ≤ 200 mil cel/ml | |
| Cantidad de casos de mastitis clínica durante la lactancia | | | |
| Dos o más casos | 14 (74%) | 5 | 19 |
| Un caso | 6 (55%) | 5 | 11 |
| Nunca presentó mastitis clínica | 14 (61%) | 9 | 23 |
| Total | 34 | 19 | 53 |

Tabla 7. Tambo 2. Relación entre el recuento celular individual (RCI) previo al secado y la presencia de mastitis clínica durante la lactancia.

| | RCI al secado | | Total |
|---|-----------------|-----------------|-------|
| | >200 mil cel/ml | ≤200 mil cel/ml | |
| Cantidad de casos de mastitis clínica durante la lactancia | | | |
| Dos o más casos | 6 (67%) | 3 | 9 |
| Un caso | 8 (57%) | 6 | 14 |
| Nunca presentó mastitis clínica | 16 (55%) | 13 | 29 |
| Total | 30 | 22 | 52 |

No se encontraron diferencias significativas en la proporción de animales con mastitis subclínica al momento del secado entre animales que tuvieron dos o más casos, uno o ningún caso de mastitis clínica en la lactancia previa en el Tambo 1 (74% vs 55% vs 61%, respectivamente, $p>0,05$), como tampoco en el tambo 2 (67% vs 57% vs 55%, respectivamente, $p>0,05$), ni en su análisis conjunto (71% vs 64% vs 58%, respectivamente, $p>0,05$).

No se encontraron diferencias significativas en la proporción de animales con mastitis subclínica al secado con los animales que presentaron o no mastitis clínica en la lactancia previa en Tambo 1 (67% vs 61%, respectivamente, $p>0,05$) como también en el Tambo 2 (61% vs 55%, respectivamente, $p>0,05$), ni en su análisis conjunto (64% vs 58%, respectivamente, $p>0,05$).

8.4 Relación entre el aislamiento bacteriológico al momento del secado y la presencia de mastitis subclínica en la lactancia previa

Tabla 8. Tambo 1. Relación entre los aislamientos al secado y la aparición de mastitis subclínica en la lactancia previa.

| | Aislamientos al secado | | | Total |
|---|------------------------|-----------------|----------------------|-------|
| | No <i>C. bovis</i> | <i>C. bovis</i> | Aislamiento negativo | |
| Mastitis subclínica durante la lactancia | | | | |
| Si | 19 (42%) | 12 | 14 | 45 |
| No | 4 (50%) | 0 | 4 | 8 |
| Total | 23 | 12 | 18 | 53 |

Tabla 9. Tambo 2. Relación entre los aislamientos al secado y la aparición de mastitis subclínica en la lactancia previa.

| | Aislamientos al secado | | | Total |
|---|------------------------|-----------------|----------------------|-------|
| | No <i>C. bovis</i> | <i>C. bovis</i> | Aislamiento negativo | |
| Mastitis subclínica durante la lactancia | | | | |
| Si | 17 (34%) | 17 | 16 | 50 |
| No | 0 (0%) | 1 | 1 | 2 |
| Total | 17 | 18 | 17 | 52 |

No se encontraron diferencias significativas en la presencia de una infección intramamaria (aislamiento microbiano) al momento del secado entre vacas que tuvieron o no mastitis subclínica en la lactancia previa tanto en Tambo 1 (69% vs 50%, respectivamente, $p>0,05$) como en el Tambo 2 (68% vs 50%, respectivamente, $p>0,05$), como en su análisis conjunto (68% vs 50%, respectivamente, $p>0,05$).

No se encontraron diferencias significativas en la proporción de aislamientos excluyendo al *C. bovis* al momento del secado y la presencia de mastitis subclínica en la lactancia previa para el Tambo 1 (42% vs 50%, respectivamente, $p>0,05$), como para el Tambo 2 (34% vs 0%, respectivamente, $p>0,05$), ni en su análisis conjunto (35% vs 40%, respectivamente, $p>0,05$).

Relación entre el aislamiento bacteriológico al momento del secado y la presencia de mastitis subclínica en la lactancia previa

No se encontraron diferencias significativas en la proporción de animales que tuvieron infección intramamaria (aislamiento microbiano) al momento del secado entre vacas que tuvieron o no mastitis clínica en la lactancia previa tanto en el Tambo 1 (67% vs 65%, respectivamente, $p>0,05$), como en el Tambo 2 (73% vs 63%, respectivamente, $p>0,05$), como en su análisis conjunto (69% vs 64%, respectivamente, $p>0,05$).

Las presencia de aislamientos a excepción de *C. bovis* al momento del secado se asociaron con presencia de mastitis clínica en la lactancia previa para el Tambo 1 (56% vs 26%, respectivamente, $p<0,05$), no así para el tambo 2 (34% vs 28%, respectivamente, $p>0,05$), como en su análisis conjunto (47% vs 27%, respectivamente, $p<0,05$).

Tabla 10. Tambo 1. Relación entre las infecciones intramamarias al momento del secado y la cantidad de casos de mastitis clínica en la lactancia previa

| | Aislamientos al secado | | | Total |
|---|------------------------|-----------------|----------------------|-------|
| | No <i>C. bovis</i> | <i>C. bovis</i> | Aislamiento negativo | |
| Cantidad de casos de mastitis clínica durante la lactancia | | | | |
| Dos o más veces | 13 (57%) | 2 | 8 | 23 |
| Una vez | 6 (55%) | 3 | 2 | 11 |
| Nunca | 5 (26%) | 6 | 8 | 19 |
| Total | 24 | 11 | 18 | 53 |

Tabla 11. Tambo 2. Relación entre las infecciones intramamarias al momento del secado y la cantidad de casos de mastitis clínica en la lactancia previa

| | Aislamientos al secado | | | Total |
|---|------------------------|-----------------|----------------------|-------|
| | No <i>C. bovis</i> | <i>C. bovis</i> | Aislamiento negativo | |
| Cantidad de casos de mastitis clínica durante la lactancia | | | | |
| Dos o más veces | 3 (33%) | 1 | 5 | 9 |
| Una vez | 5 (36%) | 7 | 2 | 14 |
| Nunca | 8 (28%) | 11 | 10 | 29 |
| Total | 16 | 18 | 17 | 52 |

No se encontraron diferencias significativas entre la proporción de animales con infección intramamaria (aislamiento microbiano) al momento del secado entre vacas que tuvieron dos o más, uno o ningún caso de mastitis clínica de la lactancia previa en el Tambo 1 (65% vs 81% vs 57%, respectivamente, $p>0,05$), como para el Tambo 2 (44% vs 85% vs 65%, respectivamente, $p>0,05$), como en su análisis conjunto (59% vs 84% vs 62%, respectivamente, $p>0,05$).

No se encontraron diferencias significativas en los animales que tuvieron infección intramamaria (excluyendo a *Corynebacterium bovis*) al momento del secado en relación al número de casos de mastitis clínica en la lactancia previa (dos o más, uno o ningún caso) para el tambo 1 (57% vs 55% vs 26%, respectivamente, $p<0,05$), como para el tambo 2 (33% vs 36% vs 28%, respectivamente, $p>0,05$), como en su análisis conjunto (39% vs 44% vs 35%, respectivamente, $p>0,05$).

9. DISCUSIÓN

9.1 Prevalencia de microorganismos por cuarto al secado

La prevalencia de *S. aureus* en el tambo 1 fue de 7,8%, la cual es similar a la reportada por Maćešić y col. (2012) (6,6%); en tanto fue de 2,4% para el tambo 2, similar a la reportada por Hogan y col. (1994) de 3,0%, Godden y col. (2003) de 3,6%, Petzer y col. (2009) de 2,8%. La prevalencia de aislamientos de *S. aureus* en tambo 1 fue mayor a la del tambo 2 ($p < 0,05$) al mismo tiempo que la proporción de *S. aureus* sobre el total de aislamientos tendió a ser mayor en el tambo 1 comparado al tambo 2 ($p = 0,06$). Las diferencias en la prevalencia por cuarto al secado de *S. aureus*, entre los tambos y comparadas con otros trabajos similares, podrían deberse a que en el tambo 2 las vacas se seleccionaron según sus últimos 3 recuentos celulares individuales antes del secado, excluyéndose las vacas crónicas, potencialmente infectadas por *S. aureus* (Saran y Chaffer, 2000; Blowey y Edmonson 2010). Además, las diferencias en la prevalencia de *S. aureus*, entre los tambos y con otros trabajos, podrían deberse a diferencias en la aplicación del plan de control de mastitis entre el tambo 1 y tambo 2, al mismo tiempo que en otros rodeos lecheros (Makovec y Ruegg, 2003; Pitkala y col. 2004).

La prevalencia de SCN fue de 16,2% para el tambo 1, la cual es similar a la reportada por Godden y col. (2003) de 15,8% y por Villa y col. (2017) de 20,6 %; en tanto que para el tambo 2 fue de 5,8%, la cual es similar a la reportada por Maćešić y col. (2012) de 2,9%. La prevalencia y la proporción de aislamientos positivos de SCN en el tambo 1 fue mayor al tambo 2 ($p < 0,05$). Esta diferencia entre los tambos 1 y 2 posiblemente tenga su causa, al igual que en el caso de *S. aureus*, en el criterio de exclusión usado para las vacas del tambo 2. Recientemente los SCN han tenido una mayor prevalencia que *S. aureus* en muchos países, en los cuales observaron que puede persistir en la glándula mamaria y provocar aumentos en el recuento de células somáticas (Taponen y Pyörälä, 2009).

La prevalencia y proporción de aislamientos de *C. bovis* fue mayor en el tambo 2 con respecto al tambo 1 ($p < 0,05$). Al mismo tiempo que son mayores que los reportados por Hogan y col. (1994) de 7,9%, Godden y col. (2003) de 0,84% y Villa y col. (2017) de 4,8 %. El *C. bovis* es un comensal normal que vive en la piel y canal del pezón y puede ser aislado sin estar asociado a mastitis, su aislamiento está asociado con malos procedimientos de ordeño, como un deficiente sellado post ordeño (Hogan

y Smith, 2012), por lo que la alta prevalencia del mismo podría indicar deficiencias en la rutina de ordeño de los tambos en estudio.

Ciertos autores plantean que el *C. bovis* podría tener un efecto protector hacia *S. aureus*, es decir que cuartos infectados con *C. bovis* y con un elevado RCS serían menos susceptibles a la infección por *S. aureus* que los cuartos libres de *C. bovis* y con bajo RCS (Brooks y Barnum, 1984). Este efecto podría tener relación con la mayor prevalencia de *S. aureus* en el tambo de menor prevalencia de *C. bovis*.

La prevalencia de Bacilos Gram (-) fue de 0% y 1,0% para el tambo 1 y 2 respectivamente. Estos resultados son similares a los reportados por Hogan y col. (1994) de 0,3%. La baja prevalencia de patógenos gram-negativos es coherente con su condición de microorganismos estrictamente ambientales (Saran y Chafer, 2000; Blowey y Edmonson, 2010).

9.2 Relación entre el recuento celular por vaca previo al secado y la presencia de mastitis subclínica en la lactancia

La prevalencia de mastitis subclínica al secado medida mediante recuento celular individual, en los tambos 1 y 2 fue de 64,2% y 57,7% respectivamente. Estos valores superan los objetivos planteados por Ruegg (2010), donde la prevalencia en el rodeo de mastitis subclínica de acuerdo al último recuento celular individual antes del secado debería ser menor a 30%. Sin embargo, otros autores encontraron prevalencias de 44,8% en Caldas Colombia (Villa y col., 2017) y 51,3% (Bradley y col., 2010) que también superan dichos objetivos.

Existió asociación entre el recuento celular individual al momento del secado y la presencia de mastitis subclínica en la lactancia previa en el tambo 1, en el conjunto de los datos de ambos tambos, no así en el tambo 2. Esto podría deberse a la mayor prevalencia de *S. aureus* en el tambo 1, este es un microorganismo contagioso, altamente adaptado a la glándula mamaria y es capaz de establecer infecciones de larga duración (Blowey y Edmonson, 2010).

La alta prevalencia de infecciones intramamarias al momento del secado en ambos predios al mismo tiempo que la alta prevalencia de *S. aureus* en tambo 1 (mayor a la reportada por Macesic y col. 2012, Hogan y col. 1994, Goden y col. 2003 y Petzer y col. 2009), denota que en dichos rodeos el tratamiento antibiótico durante el secado sería un punto crucial dentro del plan de control de mastitis (Neave y col., 1969). El tratamiento antibiótico durante el periodo seco con productos con larga duración de

acción permite una curación notoriamente mayor a la lograda durante la lactancia, haciendo el tratamiento en este momento fundamental en rodeos enfermos (Eberhart, 1986).

9.3 Relación entre el recuento celular individual por vaca previo al secado y la aparición de mastitis clínica en la lactancia previa

No encontramos asociación entre la prevalencia de mastitis subclínica al momento del secado medida mediante recuento celular individual y la aparición de mastitis clínica o el número de eventos de mastitis clínica en la lactancia previa (2 o más casos vs 1 caso vs ausencia). Sin embargo, en ambos predios las vacas que tuvieron dos casos o más durante la lactancia previa tuvieron una mayor prevalencia al momento del secado. Estas vacas evidentemente tuvieron infecciones crónicas que no curaron y se evidenciaron por la presencia de mastitis subclínica al momento del secado (Sol y col., 2000; Ziesch y Kromker, 2016). La predominancia de agentes contagiosos y oportunistas como microorganismos productores de mastitis explicaría que haya asociación con la presencia de mastitis subclínica y no necesariamente con la presencia de mastitis clínica entre la lactancia y el secado (Blowey y Edmonson, 2010).

En Uruguay el microorganismo más frecuentemente productor de mastitis clínica y subclínica es el *S. aureus*, al igual que lo encontrado en este trabajo (Giannechini y col., 2002b, De Torres y col., 2014, Larumbe y Vidart, 2016). A su vez este patógeno tiene tendencia a la cronicidad y un bajo porcentaje de curación tanto la lactancia (Sol y col., 2000; Ziesch y Krömker, 2016) como durante el secado (Sol y col., 1994). Lo que podría dificultar la aplicación del secado selectivo en nuestros rodeos lecheros (Bradley y col., 2018).

9.4 Relación entre la presencia de infección intramamaria al momento del secado (aislamiento microbiano) y la presencia de mastitis subclínica y clínica en la lactancia previa.

No se encontró relación entre los aislamientos al momento del secado y la presencia de mastitis subclínica en lactancia en ninguno de los dos tambos, este fue realizado incluyendo o no a *C. bovis*, el cual como ya se mencionó, es un habitante normal de la piel y canal del pezón y no necesariamente causante de mastitis (Hogan y Smith, 2012).

El hecho de no haber encontrado asociación entre el aislamiento bacteriano y el

recuento celular individual en la lactancia, pero sí encontrar asociación cuando consideramos el recuento celular individual al secado podría tener que ver con la menor sensibilidad de la técnica de aislamiento bacteriológico en relación al recuento celular individual. Lo cual se explica por el patrón de liberación de microorganismos en leche (intermitente para *S. aureus*) y el volumen de la muestra (Kelton y Godkin, 2000), y es consistente con la amplia utilización del recuento celular individual para la decisión de utilizar o no la terapia de secado en el secado selectivo (Torres y col., 2008; Bradley y col., 2018). De la misma manera, no se encontraron diferencias significativas entre el aislamiento bacteriológico al momento del secado y la presencia o el número de casos de mastitis clínica en la lactancia previa (2 o más casos vs 1 caso vs ausencia) en el tambo 2, este análisis fue realizado incluyendo o no el *C. bovis*. Sin embargo, sí se encontraron diferencias en el tambo 1 entre los aislamientos al secado (excluyendo los *C. bovis*) y la presencia de mastitis clínica en la lactancia. Posiblemente este resultado tenga relación con la mayor prevalencia de *S. aureus* para el tambo 1 comparado al tambo 2. El *S. aureus* tiene una baja cura bacteriológica durante la lactancia, de acuerdo a lo reportado por Sol y col. (2000) y Ziesch y Krömker (2016) lo que explicaría estos resultados.

10. CONCLUSIONES

El recuento celular individual previo al secado (proporción animales con recuento celular individual mayor a 200 mil cels/ml) estuvo relacionado con la aparición de mastitis subclínica (recuento celular individual mayor a 200 mil cels/ml) en la lactancia previa.

No se encontró asociación entre la proporción de animales con infección intramamaria (aislamiento) al momento del secado y la aparición de mastitis subclínica (recuento celular individual mayor a 200 mil cels/ml) en la lactancia previa, sin embargo sí se encontró asociación con la presencia de mastitis clínica en la lactancia previa en el tambo 1 al excluir de los aislamientos de *Corynebacterium bovis* lo que posiblemente este asociado a la epidemiología de los microorganismos presentes en dicho predio (alta prevalencia de *Staphylococcus aureus*).

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Ariznabarreta A, Gonzalo C, San Primitivo F (2002). Microbiological Quality and Somatic Cell Count of Ewe Milk with Special Reference to Staphylococci. *Journal of Dairy Science* 85:1370-1375.
2. Artegoitia V (2005). Condición y morfología de la teta y su relación con la salud de la ubre. Tesis de grado. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Veterinaria, 43 p.
3. Bannerman D, Paape M, Lee J, Zhao X, Hope, J, Rainard P (2004). *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Elicit Differential Innate Immune Responses Following Intramammary Infection. *Clinical Diagnostic Laboratory Immunology* 11: 463-472.
4. Blowey R, Edmondson P (2010). Mastitis control in dairy herds. 2a. ed. Winslow , Butler Tanner & Dennis, 266 p.
5. Bouman M, Hirigoyen D, Bertón A (1999). Análisis de los resultados de 427 muestras remitidas para aislamiento de bacterias de mastitis y antibiograma. COLAVECO, Parque el Retiro, Nueva Helvecia, Colonia, Uruguay. Disponible en: http://www.produccion-animal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/infeciosas/bovinos_leche/1_11-resultados_aislamiento.pdf. Fecha de consulta: 7/3/2019.
6. Bradley AJ, Breen JE, Payne B, Williams P, Green MJ (2010). The use of a cephalonium containing dry cow therapy and an internal teat sealant, both alone and in combination. *Journal of Dairy Science* 93: 1566-1577.
7. Bradley A, De Vliegher S, Farre M, Jimenez LM, Peters T, de Leemput ES, Van Werven T (2018). Pan-European agreement on dry cow therapy. *Veterinary Record* 182: 637.
8. Brooks BW, Barnum DA (1984). The susceptibility of bovine udder quarters colonized with *Corynebacterium bovis* to experimental infection with *Staphylococcus aureus* or *Streptococcus agalactiae*. *Canadian Journal of*

Comparative Medicine 48: 146-150.

9. Calvinho L (1999). El control de mastitis causadas por *Staphylococcus aureus* a través de segregación. Revista Chacra y Campo Moderno (Suplemento Tambo) 828: 10-11.
10. Capurro A, Aspán A, Unnerstad HE, Waller KP, Artursson K (2010) . Identificati on of potential sources of *Staphylococcus aureus* in herds with mastitis problems. Journal of Dairy Science 93:180-191.
11. Coulon J, Gasqui P, Barnouin J, Ollier A, Pradel P, Pomiès D (2002) Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally-occurring udder infections in dairy cows. Animal Reserch 51: 383-393.
12. De Torres E, Gianneechini E, Sierra G, Zorrilla F, Lanza A, Diana V (2014). Epidemiología de las infecciones intramamaria en Uruguay y líneas de investigación. Actas del II congreso Red Latinoamericana de Investigación en Mastitis, Costa Rica, pp 34-37.
13. De Torres E (2017). Estrategia de diagnóstico y control de mastitis. Disponible en: http://www.colaveco.com.uy/inicio/wp-content/uploads/2017/08/salud_ubre1.pdf. Fecha de consulta: 26/5/2019.
14. Delucci I, Cabrera JM, Cartaya A (2008). Calidad de la leche: Resultados de análisis de muestras durante el periodo Julio 2006 – Julio 2008. Jornada de Actualización Técnica en lechería, para una lechería eficiente. Florida, Uruguay, 63 p.
15. DIEA-MGAP. Anuario Estadístico Agropecuario 2017. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/sites/default/files/diea-anuario2017web01a.pdf>. Fecha de consulta: 20/11/18.
16. Djabri B, Barielle N, Beaudreau F, Seegers H (2002). Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. Veterinary Research 33:335-357.
17. Dohoo I, Meek A, (1982). Somatic cell count in bovine milk. Canadian Veterinary

Journal 23:119-125.

18. Eberhart RJ (1986). Management of dry cows to reduce mastitis. *Journal of Dairy Science* 69: 1721-1732.
19. FAO (2018). Disponible en: <http://www.fao.org/dairy-producti> o [n-products/products/es/](http://www.fao.org/products/products/es/). Fecha de consulta: 31/10/2018.
20. Fernández OF, Trujillo JE, Peña JJ, Cerquera J, Granja YT (2012). Mastitis bovina: generalidades y métodos de diagnóstico. *Revista Electrónica de Veterinaria* 13: 1-11.
21. Gianneechini, R.; Concha, C.; Rivero, R.; Delucci, I.; Moreno López, J (2002a) "Occurrence of clinical and sub-clinical mastitis in dairy herds in the West Litoral Region in Uruguay". *Acta vet. scand.* Vol. 43, no. 4, 221-230.
22. Gianneechini R, Parietti I, De María P (2002b). Evaluación de pérdidas económicas relacionadas a mastitis para establecimientos lecheros en Uruguay. *Jornada de Lechería*. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIA), La Estanzuela, Serie Actividades de Difusión 287, p 30-35.
23. Gianneechini R; Concha C; Delucchi I; Gil J; Salvarrey L; Rivero R (2014). Mastitis bovina, reconocimiento de los patógenos y su resistencia antimicrobiana en la Cuenca Lechera del Sur de Uruguay *Veterinaria Montevideo*, 50:196, p4 - 32.
24. Godden S, Rapnicki P, Stewart S, Fetrow J, Johnson A, Bey R, Farnsworth R (2003). Effectiveness of an internal teat seal in the prevention of new intramammary infections during the dry and early-lactation periods in dairy cows when used with a dry cow intramammary antibiotic. *Journal of Dairy Science* 86: 3899-3911.
25. Gonzalo C, Martínez J R, Carriedo J, San Primitivo F (2003). Fossomatic cell counting on ewe milk: comparison with direct microscopy and study of variation factors. *Journal of Dairy Science*, 86: 138-145
26. HalasaT, Østerås O, Hogeveen H, van Werven T, Nielen M. (2009). Meta-analysis

- of dry cow management for dairy cattle. Part 1. Protection against new intramammary infections. *Journal of Dairy Science* 92: 3134-3149.
27. Harmon RJ (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science* 77: 2103-2112.
 28. Hernández A, Freiría H (2014). Estadísticas del sector lácteo. MGAP -DIEA. Estadísticas Agropecuarias. Serie Trabajos Especiales 324: 8-10.
 29. Hogan JS, Smith KL, Todhunter DA, Schoenberger PS, Dinsmore RP, Canttall M B, Gabel CS (1994). Efficacy of dry cow therapy and a Propionibacterium acnes product in herds with low somatic cell count. *Journal of Dairy Science* 77: 3331-3337.
 30. Hogan JS (1999). Laboratory handbook on bovine mastitis. Madison, ed. National Mastitis Council, 222 p.
 31. Hogan J, Smith KL (2012). Managing environmental mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice* 28: 217-224.
 32. Hortet P, Seegers H (1998). Loss in milk yield and related composition changes resulting from clinical mastitis in dairy cows. *Preventive Veterinary Medicine* 37:1-20.
 33. INALE (2015), Encuesta lechera. Disponible en: <http://www.inale.org/innovaportal/v/3597/4/innova.front/encuesta-lechera-inale-2014.html>. Fecha de consulta: 20/11/2018.
 34. INALE (2018). Presentación de Pablo Chilbroste y Santiago Fariña, 1 de junio de 2018. Disponible en: <http://www.inale.org/innovaportal/file/6856/1/2pablofinal.pdf>. Fecha de consulta: 20/11/2018.
 35. INALE (2019) Situación y perspectivas de la lechería uruguaya enero-diciembre 2018. Informe INALE 17: 39-41.

36. International Dairy Federation (1987). Bovine mastitis. Definitions and guidelines for diagnosis. Bulletin of the International Dairy Federation 211: 8.
37. Kelton D, Godkin MA (2000). Mastitis culture programs for dairy herds. Annual meeting- National Mastitis Council 39: 54-62.
38. Kerr DE, Wellnitz O (2003). Mammary expression of new genes to combat mastitis. Journal of Animal Science 81: 38-47.
39. Larumbe R, Vidart D (2016). Agentes patógenos causantes de mastitis clínica en vacas lecheras en Uruguay años 2014 y 2015. Tesis de grado. Universidad de la República (Uruguay). Facultad de Veterinaria, 55 p.
40. Maćešić N, Karadjole T, Bačić G, Benić M, Karadjole M, Vince S, Cergolj, M. (2012). Aetiology and prevalence of bovine intramammary infection at drying off. Veterinarski Arhiv 82: 125-131.
41. Makovec JA, Ruegg PL (2003). Results of milk samples submitted for microbiological examination in Wisconsin from 1994 to 2001. Journal of Dairy Science 86: 3466-3472.
42. Moroni P (2014). *Staphylococcus aureus*: epidemiology, treatment, prevention and then? Actas del II congreso Red Latinoamericana de Investigación en Mastitis, Costa Rica, pp 61-63.
43. Neave FK, Dodd FH, Kingwill RG, Westgarth DR (1969). Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. Journal of Dairy Science 5: 696-707.
44. OMS. Disponible en: <https://www.who.int/features/qa/one-health/es/> . Fecha de consulta: 20/3/2019.
45. Oliveira L, Hullan C, Ruegg P (2013). Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. Journal of Dairy Science 96: 7538-

7549.

46. OPYPA (2004). Anuario. Oficina de Planeamiento y Producción Agropecuaria. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Montevideo-Uruguay. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/unidad-organizativa/oficina-de-programacion-y-politicas-agropecuarias/publicaciones/anuarios-opypa/2004>. Fecha de consulta: 02/10/2018.
47. OPYPA (2017). Anuario. Oficina de Planeamiento y Producción Agropecuaria. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca, Montevideo-Uruguay. Disponible en <http://www.mgap.gub.uy/unidad-organizativa/oficina-de-programacion-y-politicas-agropecuarias/publicaciones/anuarios-opypa/2017>. Fecha de consulta: 02/10/2018.
48. OMS (2015). World health statistics 2015. World Health Organization. Disponible en: <https://www.who.int/antimicrobial-resistance/publications/global-action-plan/en/>. Fecha de consulta: 17/03/2019.
49. Osteras O (2000). The cost of mastitis an opportunity to gain more money. Proceedings of the British Mastitis Conference. Brockwoth, England, p66-77. Disponible en: www.britishmastitis.conference.org.uk. Fecha de consulta: 20/04/2019
50. Petzer IM, Lourens DC, Van der Schans TJ, Watermeyer JC, Van Reenen R, Rautenbach GH, Thompson P (2009). Intramammary infection rate during the dry period in cows that received blanket dry cow therapy: efficacy of 6 different dry-cow intra-mammary antimicrobial products. Journal of the South African Veterinary Association 80: 23-30.
51. Philpot WN, Nickerson SC (1992). Mastitis: el contra ataque. Naperville, Illinois, Ed Surge International Babson. 150p.
52. Pitkälä A, Haveri M, Pyörälä S, Myllys V, Honkanen-Buzalski T (2004). Bovine mastitis in Finland 2001—prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. Journal of Dairy Science 87:2433-2441.

53. Pyörälä S (2003). Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research* 34: 565-578.
54. Reneau J (1986). Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *Journal of Dairy Science* 69: 1708.
55. Rindsig RB, Rodewald RG, Smith AR, Spahr SL (1978). Complete versus selective dry cow therapy for mastitis control. *Journal of Dairy Science* 61: 1483- 1497.
56. Robinson TC, Jackson ER, Marr A (1988). Mastitis incidence in quarters with different infection status at drying off and calving in two treatment groups. *British Veterinary Journal* 144: 166-173.
57. Ruegg PL (2010). Disponible en: <http://infolactea.com/wp-content/uploads/2016/12/Pamela-Ruegg-Manejo-de-Mastitis-ambiental.pdf>. Fecha de consulta: 10/05/2019.
58. Ruiz R (2008). Mastitis bacteriana en ganado bovino: etiología y técnicas de diagnóstico. Disponible en: http://www.ammveb.net/articulos/Mastitis_bacteriana.pdf. Fecha de consulta: 05/10/2018.
59. San Martín B, Kruze J, Morales MA, Agüero H, León B, Espinoza S, Borie C (2002). Resistencia bacteriana en cepas patógenas aisladas de mastitis en vacas lecheras de la V Región, Región Metropolitana y Xª Región, Chile. *Archivo de Medicina Veterinaria* 34: 221-234.
60. Sandholm M (1995). Detection of inflammatory changes in milk. Em: *The bovine udder and mastitis*. Helsinki, University of Helsinki, pp 89-104.
61. Saran A, Chaffer M (2000). Mastitis y calidad de la leche. Buenos Aires, ed Intermédica, 194 p.

62. Schalm OW, Carroll EJ, Jam NC (1971). Bovine Mastitis. Physical and Chemical Tests for Detection of Mastitis. Philadelphia, Lea y Febiger, pp.128-157.
63. Schepers AJ, Lam TJGM, Schukken YH, Wilmink JBM, Hanekamp WJA (1997). Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *Journal of Dairy Science* 80: 1833–1840.
64. Scherpenzeel CG (2017). Selective dry cow treatment in dairy cows. Tesis Doctoral Dissertation, Utrecht University, 144 p.
65. Shim E, Shanks R, Morin D (2004). Milk loss and treatment cost associated with two treatment protocols for clinical mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science* 87: 2702-2708.
66. Smith K, Hogan J (1993). Environmental mastitis. *Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice* 9: 489-498.
67. Smith K, Hogan J (2001). The world of mastitis. Proceedings of the 2nd International Symposium on Mastitis and Milk Quality National Mastitis Council Vancouver, BC, Canada, pp 1-12.
68. Sol J, Sampimon OC, Snoep JJ, Schukken YH (1994). Factors associated with bacteriological cure after dry cow treatment of subclinical staphylococcal mastitis with antibiotics. *Journal of Dairy Science* 77: 75-79.
69. Sol J, Sampimon OC, Barkema HW, Schukken YH (2000). Factors associated with cure after therapy of clinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science* 83: 278-284.
70. Taponen S, Simojoki H, Haveri M, Larsen H, Pyörälä S (2006). Clinical characteristics and persistence of bovine mastitis caused by different species of coagulase-negative staphylococci identified with API or AFLP. *Veterinary Microbiology* 115: 199–207.

71. Taponen S, Pyörälä S (2009). Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis—not so different from *Staphylococcus aureus*?. *Veterinary Microbiology* 134: 29-36.
72. Tollersrud T, Kenny K, Reitz AJ, Lee JC (2000). Genetic and serologic evaluation of capsule production by bovine mammary isolates of staphylococcus aureus and other staphylococcus spp. from Europe and the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 38: 2998-3003.
73. Torres AH, Rajala-Schultz PJ, DeGraves FJ, Hoblet KH (2008). Using dairy herd improvement records and clinical mastitis history to identify subclinical infections at dry-off. *Journal of Dairy Research* 75: 240-247.
74. Uruguay. Normativa y avisos legales del Uruguay (1995). Decreto N° 90/995 del 15 de marzo de 1995. Disponible en: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/90-1995>. Fecha de consulta: 31/10/2018.
75. Uruguay. Normativa y avisos legales del Uruguay (1999). Decreto N° 57/999 del 03 de marzo de 1999. Disponible en: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/57-1999>. Fecha de consulta: 31/10/2018.
76. Uruguay. Normativa y avisos legales del Uruguay. Decreto N° 359/013 del 18 de noviembre de 2013. Disponible en: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/359-2013> Fecha de consulta: 31/10/2018.
77. Villa NA, Duque PC, Lasso L, Sánchez S, Ceballos A (2017). Etiología de las infecciones intramamarias subclínicas al secado y en el posparto en vacas mastitis lecheras en Caldas, Colombia. *Revista Científica* 27:227-234.
78. Whist AC, Østerås O, Sølverød L (2007). *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus dysgalactiae* in Norwegian herds after introduction of selective dry

cow therapy and teat dipping. *Journal of Dairy Research* 74: 1-8.

79. Yera G, Ramírez W (2016). La prevalencia de mastitis clínica en vacas mestizas Holstein x Cebú. *REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria* 17: 1-17
80. Zadoks RN, Middleton JR, McDougall S, Katholm J, Schukken YH(2011). Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. *Journal Mammary Gland Biology and Neoplasia* 16: 357- 372.
81. Ziesch M, Krömker V, (2016). Factors influencing bacteriological cure after antibiotic therapy of clinical mastitis. *Milk Science International* 69: 7-14.