



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID

**ESCUELA UNIVERSITARIA DE INGENIERIAS AGRARIAS
DE SORIA**

**MAMITIS SUBCLÍNICA Y RECuento DE CÉLULAS
SOMÁTICAS EN GANADO VACUNO DE RAZA CARORA**

TESIS DOCTORAL

Mauro Rafael Carrasco Rodríguez.

Soria, 2010



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
ESCUELA UNIVERSITARIA DE INGENIERIAS
AGRARIAS DE SORIA

MAMITIS SUBCLÍNICA Y RECuento DE CÉLULAS
SOMÁTICAS EN GANADO VACUNO DE RAZA CARORA

TESIS DOCTORAL

Por

MAURO RAFAEL CARRASCO RODRÍGUEZ

Bajo la dirección de

CRISTÓFOL PERIS i RIBERA
y

JESÚS CIRIA CIRIA

Soria, Septiembre de 2010



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
ESCUELA UNIVERSITARIA DE INGENIERIAS
AGRARIAS DE SORIA

MAMITIS SUBCLÍNICA Y RECuento DE CÉLULAS
SOMÁTICAS EN GANADO VACUNO DE RAZA CARORA.

Tesis Doctoral presentada por Mauro Rafael Carrasco Rodríguez bajo la dirección del Dr. Cristófol Peris i Ribera y del Dr. Jesús Ciria Ciria para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Soria, Septiembre de 2010

VºBº

VºBº

Dr. Cristófol Peris i Ribera
Dept. Ciencia Animal
Universidad Politécnica de Valencia

Dr. Jesús Ciria Ciria
Dept. Producción Animal
Universidad de Valladolid

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi sincero agradecimiento al Dr. Jesús Ciria Ciria por su eficaz dirección y participación en la realización del presente trabajo doctoral.

A mi Tutor el Dr. Cristòfol Peris por su apoyo, disponibilidad e inagotables ganas de trabajar en equipo.

Al Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Politécnica de Valencia, especialmente al personal del Laboratorio Lácteo (LICOVAL).

A la Universidad Centroccidental “Lisandro Alvarado” Decanato de Ciencias Veterinarias y al Consejo de Desarrollo Científico Humanístico y Tecnológico (C.D.C.H.T), por todo el apoyo económico para la realización y culminación de este trabajo doctoral.

A la Técnico Superior Universitario Yenny Álvarez, por su participación y destacado trabajo realizado en la presente investigación.

Un especial agradecimiento muy merecido, a los ganaderos, técnicos y obreros de las granjas que han participado en este trabajo.

A aquellas personas que han facilitado esta labor de investigación.

A todos mis más sinceros agradecimientos

RESUMEN

La raza Carora de ganado vacuno es una raza autóctona de Venezuela, de aptitud mixta carne-leche, caracterizada por su buena adaptación a las condiciones ambientales tropicales. Sin embargo, apenas existe información sobre la calidad higiénico-sanitaria de la leche producida por esta raza y, más concretamente, sobre la presencia de mamitis en los rebaños, y no existen datos sobre el recuento de células somáticas (RCS) tanto a nivel de tanque como de animales individuales. Por este motivo se ha planteado la presente Tesis Doctoral con el principal objetivo de tener un mayor conocimiento sobre la situación de la mamitis subclínica (prevalencia, incidencia y etiología) y el RCS de la leche en las explotaciones de raza Carora en Venezuela.

El experimento se llevó a cabo en 10 explotaciones pertenecientes a la Asociación Venezolana de Criadores de Ganado Carora (ASOCRICA). En la mitad de ellas las vacas estaban estabuladas permanentemente, mientras que en la otra mitad los animales estaban en pastoreo. Todas las explotaciones elegidas tenían más de 80 vacas. El diseño experimental consistió en realizar tres controles (Febrero-Marzo, Junio-Julio, Noviembre) en cada explotación, de modo que en cada uno de ellos se tomaron 51 muestras de leche de ubre y una muestra de leche del tanque. Las 51 vacas muestreadas en cada control fueron elegidas según su número de lactación (primíparas y multíparas) y estado de lactación (Inicio: 7-100 d; Mitad: 101-200 d; Final >201 d) del siguiente modo: a) 21 vacas primíparas, de las cuales 7, 7 y 7 estaban al Inicio, Mitad y Final de la lactación, respectivamente; b) 30 vacas multíparas, de las cuales 10, 10 y 10 estaban al Inicio, Mitad y Final de la lactación, respectivamente. En el primer control los animales fueron elegidos al azar, de entre todos los que reunían las características de número y estado de lactación especificados anteriormente. En los siguientes dos controles fue necesario incorporar nuevos animales para mantener el plan de muestreo descrito. En total se tomaron 1530 muestras de leche individual procedentes de 958 vacas (406 primíparas y 552 multíparas). Para cada animal se registraron las siguientes variables en cada control: a) análisis bacteriológico en una muestra de leche, mezcla de los cuatro cuarterones; b) RCS en una muestra de leche, tomada antes del ordeño, mezcla de los cuatro cuarterones; c) producción de leche. Además, también se analizó el RCS en las muestras de leche de tanque.

La prevalencia media de infecciones intramamarias (IIM), a nivel de ubre, en las granjas estudiadas varió desde el 9.9 al 49.7%, obteniéndose un valor medio global

del 26.3%. Esta prevalencia fue significativamente mayor en las explotaciones que utilizaban el sistema de pastoreo (32.7%) que en aquellas que tenían las vacas en estabulación permanente (19.9%). Por el contrario la prevalencia no difirió significativamente según el Control y el Número y Estado de lactación de los animales. La incidencia media de IIM a nivel de ubre durante la lactación fue del 24.5%, destacando también la gran variabilidad encontrada entre explotaciones (desde un 9 hasta un 50%); ninguno de los factores estudiados (Control, Número y Estado de lactación, Sistema de Explotación) influyó significativamente sobre este parámetro. La mayoría de las infecciones intramamarias fueron ocasionadas por ECN (32.9% de los aislamientos), *Streptococcus spp* (31.9%) y *Staphylococcus aureus* (23.0%). El resto de gérmenes (*S. agalactiae*, *Corynebacterium spp.*, coliformes y otros bacilos Gram-negativo) representaron, cada uno, menos del 5% de las IIM.

Las medias aritméticas y geométricas del RCS en la leche de tanque fueron de 593.000 y 490.000 céls/ml, respectivamente. Tan solo el 36% de las muestras analizadas tuvieron recuentos inferiores a 400.000 céls/ml, y solamente en 6 explotaciones, de las 10 muestreadas, la media geométrica de los recuentos fueron inferiores a 400.000 céls/ml. El factor control o época del año afectó significativamente al RCS en la leche de tanque, obteniéndose valores más elevados en el control de Febrero (847.000 céls/ml) respecto a los controles de Julio (413.000 céls/ml) y Noviembre (512.000 céls/ml). El Sistema de Explotación (pastoreo vs. estabulación permanente) no llegó a afectar significativamente al RCS en la leche de tanque.

El principal factor que influyó sobre el RCS en leche de ubre fue el Estado de Lactación, de modo que, tanto en las ubres sanas como en las infectadas, los recuentos aumentaron significativamente al avanzar la lactación (Inicio, Mitad y Final). En las ubres sanas los recuentos fueron significativamente inferiores en las vacas primíparas respecto a las multíparas, y en el control de Julio respecto a los otros dos controles (Febrero y Noviembre); en las ubres infectadas se observaron las mismas tendencias, pero ambos factores (Número de Lactación y Control) no llegaron a tener un efecto significativo. El Sistema de Explotación y la interacción Estado de Lactación x Número de Lactación no afectaron significativamente a los recuentos.

La presencia de infección intramamaria elevó significativamente el RCS en leche de ubre. En las ubres sanas las medias aritméticas y geométricas del RCS fueron de 335.000 y 141.000 céls/ml, mientras que los valores respectivos en las ubres infectadas fueron de 737.000 y 219.000 céls/ml. Las interacciones del Estado Sanitario

de la ubre con el Estado de Lactación y con el Número de Lactación no resultaron significativas. Cada uno de los grupos de gérmenes aislados ocasionó una respuesta inflamatoria muy variable, de modo que los recuentos no llegaron a diferir significativamente entre estos grupos. Solamente en aquellos gérmenes que fueron aislados con mayor frecuencia (*S. aureus*, ECN y *Streptococcus spp*) el RCS a nivel de ubre llegó a diferir significativamente respecto a las ubres sanas.

La producción media de leche obtenida en las explotaciones muestreadas fue de 15.7 kg por vaca y día, y varió significativamente con el Sistema de Explotación (Estabulación: 18.2; Pastoreo: 12.4 kg/vaca y día), el Número de lactación (Primíparas: 14.9 ; Multíparas: 15.7 kg/vaca y día), el estado de lactación (Inicio: 17.9; Mitad: 15.5; Final: 12.5 kg/vaca y día) y el Control (Febrero: 16.6; Julio: 15.2; Noviembre: 14.1 kg/día). La interacción Sistema de Explotación x Número de lactación también fue significativa, dado que el descenso productivo a mitad de la lactación fue mayor en las vacas en pastoreo que en las estabuladas.

Al aumentar el RCS de la leche tendió a disminuir la producción de leche de las vacas. El descenso fue de 1.15 kg/día por cada unidad de incremento del logRCS y entre 0.4 y 0.6 kg/día (2.5 a 3.5%) cada vez que se duplicaban los recuentos a partir de la puntuación lineal 3 (100.000 céls/ml). La relación entre el RCS y la producción de leche no varió significativamente según el Número y Estado de Lactación de los animales. Las vacas afectadas de infección intramamaria presentaron, de media, una producción de leche ligeramente inferior respecto a las vacas sanas, si bien las diferencias no llegaron a ser significativas.

Los valores medios del RCS en leche de tanque en las explotaciones muestreadas de ganado vacuno de raza Carora han sido, en general, superiores a los observados en otros países que están desarrollando, desde hace bastante años, estrategias para disminuir la prevalencia de IIM y el RCS de la leche. Por tanto sería deseable que se establecieran actuaciones para disminuir el RCS en la leche de tanque, basándose en: 1) mejorar los programas de control de mamitis que ya se están desarrollando; 2) la industria debería pagar la leche a los ganaderos con primas y penalizaciones según el RCS de la leche de tanque; 3) la administración venezolana debería fijar un límite en el RCS de la leche de tanque para que ésta pudiera ser comercializada.

SUMMARY

Carora breed of bovine cattle is a breed from Venezuela, with beef-milk dual purpose, characterized by being well adapted to tropical environmental conditions. However, it can barely be found information about the hygienic-sanitary quality of milk produced by this race and, more specifically, the presence of mastitis in the herds, and no data on somatic cell count (SCC) at both tank as individual animals. For this reason it has been suggested this doctoral thesis with the main objective of having a greater knowledge of the status of subclinical mastitis (prevalence, incidence and etiology) and SCC of milk in the Carora race livestock in Venezuela.

The experiment was conducted in 10 farms belonging to the Venezuelan Association of Breeders of Carora Cattle (ASOCRICA). In half of these farms the cows were housed permanently, while in the other half the animals were grazing. All farms chosen had more than 80 cows. The experimental design was to conduct three controls (February-March, June-July, and November) on each farm, so that each took 51 samples of milk from udder and a milk sample from the tank. The 51 cows sampled in each control were chosen according to their lactation number (primiparous and multiparous) and lactation status (Start: 700-100 d; Half: 101-200 d; End> 201 d) as follows: a) 21 primiparous cows, of which 7, 7 and 7 were at the beginning, middle and end of lactation, respectively, b) 30 multiparous cows, of which 10, 10 and 10 were at the start, middle and end of lactation, respectively. In the first control animals were chosen at random from among all who possessed the characteristics and lactation status number specified above. In the following two controls was necessary to add new animals to keep the sampling plan described. In total 1530 individual milk samples were taken from 958 cows (406 primiparous and 552 multiparous). For each animal the following variables were recorded in each control: a) bacteriological examination in a milk sample, a mixture of the four paneled, b) SCC in a milk sample, taken before milking, a mixture of the four paneled, c) milk production. In addition, the SCC was also analyzed in samples of milk tank.

The average prevalence of intramammary infections (IMI), at the udder, on farm size ranged from 9.9 to 49.7%, yielding an overall average of 26.3%. This prevalence was significantly higher on farms that used the grazing system (32.7%) than in those who had cows in permanent housing (19.9%). In contrast, the prevalence did not differ significantly according to the control and the number and status of lactation of the animals. The average incidence of IMI at udder level during lactation was 24.5%, also

highlighting the great variability found among farms (ranging from 9 to 50%), none of the factors studied (Control, number and status of lactation, System Exploitation) influenced significantly on this parameter. The majority of intramammary infections were caused by NCS (32.9% of isolates), *Streptococcus* spp (31.9%) and *Staphylococcus aureus* (23.0%). The remaining bacteria (*S. agalactiae*, *Corynebacterium* spp., Coliforms and other Gram-negative bacilli) each accounted for less than 5% of the IML.

The arithmetic and geometric averages of SCC in bulk tank milk were 593,000 and 490,000 cells / ml, respectively. Only 36% of the samples had counts below 400,000 cells / ml, and only in six farms of the 10 samples, the geometric average counts were below 400,000 cells / ml. The control factor or time of year significantly influenced the SCC in the milk tank, resulting in higher values in the control of February (847,000 cells / ml) than in July controls (413,000 cells / ml) and November (512,000 cells / ml). Operating System (grazing versus Permanent housing) did not significantly affect the SCC in bulk tank milk.

The main factor that influenced SSC in the Udder milk was the status of lactation, so that, in healthy udders and in the infected, the counts increased significantly during lactation (start, middle and end). In healthy udders the counts were significantly lower in primiparous cows with respect to multiparous, and in July control compared to the other two controls (in February and November), in infected udders same trends were observed, but both factors (Lactation number and Control) failed to have a significant effect. System Operation and the interaction status of lactation interaction x lactation number did not significantly affect the counts.

The presence of intramammary infection significantly increased the SCC in milk from udder. In healthy udders arithmetic and geometric averages of the SCC were 335,000 and 141,000 cells / ml, while the respective values in the infected udders were 737,000 and 219,000 cells / ml. Interactions of the udder health status with the status of lactation and the lactation number were not significant. Each of the groups of microorganisms isolated caused an inflammatory response highly variable, so that the counts failed to differ significantly between these groups. Only those bacteria that were isolated more frequently (*S. aureus*, NEC and *Streptococcus* spp) the SCC at udder level came to differ significantly from healthy udders.

The average production of milk from farms sampled was 15.7 kg per cow per day, and varied significantly with the Operating System (Stabling: 18.2; Grazing: 12.4 kg / cow / day), the lactation number (primiparous: 14.9 ; multiparous: 15.7 kg / cow / day), the status of lactation (start: 17.9; Half: 15.5; Final: 12.5 kg / cow / day) and Control (February: 16.6, July: 15.2; November: 14.1 kg / day). Interaction Operating System x lactation number was also significant, given that the decline productive halfway of lactation was higher in cows on pasture than in housed.

By increasing milk SCC, it tended to decrease milk production of cows. The decline was 1.15 kg / day for each unit of increase in logSCC and between 0.4 and 0.6 kg / day (2.5 to 3.5%) each time counts were doubled from the linear score 3 (100,000 cells / ml). The relationship between SCC and milk production did not vary significantly according to the number and stage of lactation of the animals. Affected cows of intramammary infection had, on average, a slightly lower milk production as for the healthy cows, although differences did not become significant.

The measured values of SCC in tank milk sampled at farm-bred of Carora cattle were generally higher than those observed in other countries that are developing for quite some years, strategies to reduce the prevalence of IMI and SCC of milk. It would therefore be desirable to establish actions to reduce the SCC in the milk tank, based on: 1) improve mastitis control programs that are being already developed, 2) the industry should pay for milk to farmers with bonuses and penalties according to the SCC of bulk tank milk, 3) the Venezuelan government should set a limit on the SCC of bulk tank milk so that it could be sold.

RELACIÓN DE ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO

APP: Proteínas de la Fase Aguda.
ASOCRICA: Asociación Venezolana de Criadores de Ganado Carora.
CAVILAC: Cámara Venezolana de Industrias Lácteas
CC: Muestras correctamente clasificadas.
CCS: Contaje de Células Somáticas.
CE: Células Epiteliales.
Céls/ml: Células Somáticas por mililitro
CIAC: Centro de Inseminación Artificial.
CMT: California Mastitis Test.
CNOT: Comisión Nacional de Ordenamiento Territorial.
CS: Células Somáticas.
DHI: Dairy Herd Improvement
DS: Desviación estándar
E: Especificidad.
ECN: Estafilococos coagulasa-negativo
EL: Estado de Lactación.
ES: Error estándar.
Etc: Etcétera.
F: Factor.
FN: Falso negativos.
FS: Falso positivos.
g: gramos.
°C: Grados centígrados
IDF: Internacional Dairy Federation.
Ig A: Inmunoglobulinas A
Ig G: Inmunoglobulinas G.
Ig G2: Inmunoglobulinas G2.
Ig M: Inmunoglobulinas M.
IIM: Infecciones intramamarias.
INIA: Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias.
Km.: Kilómetros.
Kg.: Kilogramos
Kg/día: Kilogramos por día
L: Linfocitos.
lact.=1: Lactancia 1
lact. ≥ 2: Lactancia 2 o más
LPS: Lipolisacarido
Log RCS: Logaritmo decimal del Recuento de Células Somáticas.
Lts: Litros.
Lts/vaca: Litros de leche por vaca y día
Lts/granja: Litros de leche por granja y día
m.m: milímetros.
m±DS: Media ± desviación estándar
MA±DS: Media Aritmética ± desviación estándar
M: Macrófagos.
MA: Media Aritmética.
MAC: Ministerio de Agricultura y Cría.
MG: Media Geométrica.
mg: miligramos.
ml: mililitros.
n: número de muestras

NIRD: (National Institute for Research in Dairying
Niv. Sig.: Nivel de significación.
NL: Número de Lactación.
NS: Diferencia no significativa
NS: No significación.
OCEI: Oficina Central de Estadística e información de Venezuela.
OMS: Organización Mundial de la Salud.
Prev.: Prevalencia
Preval.: Prevalencia
PMG: Programa de Mejoramiento Genético.
PMN: Polimorfonucleares neutrófilos.
RCS: Recuento de Células Somáticas.
RCSP: Recuento de Células Somáticas del pool de pezones.
RCST: Recuento de Células Somáticas de Tanque.
Sanas-S: Glándulas sanas, cuya colateral también esta sana.
Sanas-I: Glándulas sanas, cuya colateral está infectada.
SP: Sistema de Explotación
S. aureus: *Staphylococcus aureus*.
Strep. spp: *Streptococcus spp.*
Strep. agalactiae: *Streptococcus agalactiae*
UE: Unión Europea.
USA: Estados Unidos.
VPN: Valor predictivo negativo.
VPP: Valor predictivo positivo.
WMT: Wisconsin Mastitis Test.

INDICE DE MATERIAS

I.- INTRODUCCIÓN	1
1.- PRODUCCIÓN DE LECHE EN VENEZUELA.....	3
1.1.- SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE LECHE EN VENEZUELA.....	6
- <i>Sistema intensivo</i>	6
- <i>Sistema Semi-intensivo</i>	7
- <i>Doble propósito</i>	8
1.2.- EL GANADO VACUNO DE LA RAZA CARORA	8
- <i>Origen e historia</i>	8
- <i>Características y programa de mejora genética</i>	9
- <i>Censos, ubicación geográfica y producción de leche</i>	10
2.- ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LA GLÁNDULA MAMARÍA.....	13
2.1.- Reflejo de Eyección de la Leche.....	14
3.- MAMITIS BOVINA.....	14
3.1.- TIPOS DE MAMITIS.....	15
3.1.1.- Mamitis Clínica.....	16
3.1.2.- Mamitis subclínica.....	16
3.2.- ETIOLOGIA INFECCIOSA DE LA MAMITIS.....	17
3.3.- INCIDENCIA Y PREVALENCIA DE LA MAMITIS.....	20
3.4.- PROGRAMAS DE CONTROL DE MAMITIS.....	23
4.- RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS.....	26
4.1.- DEFINICIÓN Y TIPOS DE CÉLULAS SOMÁTICAS.....	26
4.2.- FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE EL RCS.....	27
4.2.1.-Factores Infecciosos.....	27
4.2.2.-Factores No Infecciosos.....	28
- <i>Estado y número de lactación</i>	28
- <i>Estrés</i>	29
- <i>Estacionalidad</i>	29
- <i>Otros factores</i>	30
4.3.- INTEGRACIÓN DEL RCS EN UN PROGRAMA DE CONTROL DE MAMITIS.....	30
4.4.- RELACION DEL RCS CON LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE.....	35
- <i>Producción de leche</i>	35
- <i>Composición de la leche</i>	36
II.- JUSTIFICACIÓN Y OJETIVOS.....	39
1.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS.....	41
III.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
1.- DISEÑO EXPERIMENTAL ¹	45
2.- CARACTERISTICAS DE LAS EXPLOTACIONES.....	47
3.- VARIABLES REGISTRADAS.....	49
3.1.- Análisis bacteriológico.....	49
3.2.- Recuento de células somáticas.....	52

3.3.- Producción de leche.....	54
4.- ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	55
IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	59
1.- PREVALENCIA, INCIDENCIA Y ETIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN INTRAMAMARIA.....	61
1.1.- Prevalencia.....	61
1.2.- Incidencia.....	63
1.3.- Etiología.....	67
1.4.- Discusión.....	70
2.- RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS	77
2.1.- RCS en Leche de Tanque.....	79
2.2.- RCS en Leche de Ubre.....	82
2.2.1.- Factores no Infecciosos.....	83
2.2.2.- Efecto de la Infección Intramamaria.....	89
2.3.- Discusión.....	93
3.- EFECTO DEL RCS Y LA MAMITIS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE.....	99
3.- Producción de leche individual.....	101
3.1.- Relación entre el RCS y la Producción de Leche.....	104
3.2.- Relación entre la Infección Intramamaria y la Producción de Leche.....	105
3.3.- Discusión.....	106
V.- CONCLUSIONES.....	111
VI.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	117
VII.- ANEJOS.....	135

INDICE DE TABLAS

Introducción

Tabla 1.	Puntuación lineal del RCS individual (Philpot y Nickerson, 2000).....	32
-----------------	---	----

Materiales y Métodos

Tabla 1.	Número de vacas muestreadas en cada control, según número y estado de lactación.....	45
Tabla 2.	Número de nuevas vacas de primer parto muestreadas en cada uno de los tres controles realizados en las 10 granjas utilizadas en el experimento.....	46
Tabla 3.	Número de nuevas vacas de dos o más partos muestreadas en cada uno de los tres controles realizados en las 10 granjas utilizada en el experimento.....	46
Tabla 4.	Características generales de las explotaciones.....	49
Tabla 5.	Criterios utilizados para identificar los principales grupos bacterianos responsables de provocar mamitis subclínicas.....	52

Resultados y Discusión.

IV.1.- Prevalencia, Incidencia y Etiología de la Infección Intramamaria

Tabla 1.	Prevalencia de IIM según la época del control, el número y estado de lactación de las vacas y el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.....	62
Tabla 2.	Incidencia de IIM durante la lactación, según la época del control, el número y estado de lactación de las vacas y el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.....	64
Tabla 3.	Incidencia de IIM durante el secado/parto, según el número de lactación de las vacas y el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.....	64
Tabla 4.	Curaciones de IIM durante la lactación, según la época del control, el número y estado de lactación de las vacas y el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.....	66
Tabla 5.	Curaciones de IIM durante el secado/parto, según el número de lactación de las vacas y el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.....	66

Tabla 6.	Tipos de bacterias aisladas en los cultivos bacteriológicos en cada una de las granjas muestreadas.....	67
Tabla 7.	Distribución de las bacterias aisladas en cada uno de los controles realizados.....	68
Tabla 8.	Distribución de las bacterias aisladas según el número de lactación de las vacas.....	69
Tabla 9.	Distribución de las bacterias aisladas según el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.....	70
Tabla 10.	Distribución de las bacterias aisladas según el estado de lactación de las vacas.....	71

Resultados y Discusión.

IV.2.- Recuento de Células Somáticas.

Tabla 11.	RCS en las muestras de leche de tanque tomadas en cada una de las granjas muestreadas.....	80
Tabla 12.	RCS (céls/ml) en leche del tanque según el sistema de explotación utilizado.....	81
Tabla 13.	RCS (céls/ml) en leche del tanque en cada uno de los controles realizado.....	81
Tabla 14.	RCS (céls/ml) en las muestras de leche de ubre en cada una de las granjas muestreadas.	82
Tabla 15.	Valores de F y niveles de significación en los diferentes factores considerados en los tres análisis estadísticos realizados del RCS en muestras de ubre (solo ubres sanas, solo ubres infectadas o el total de ubres).....	84
Tabla 16.	RCS (céls/ml) en leche de ubre según el estado de lactación de las vacas.....	85
Tabla 17.	RCS en leche de ubre según el número de lactación de las vacas.....	85
Tabla 18.	RCS en leche de ubre en cada uno de los controles realizados.....	88
Tabla 19.	RCS en leche de ubre según el sistema de explotación utilizado.....	88
Tabla 20.	RCS (céls/ml) en leche de ubre según su estado sanitario.....	89
Tabla 21.	RCS (céls/ml) en leche de ubre según el tipo de germen aislado.....	91

Resultados y Discusión.

IV.3.- Efecto de la Mamitis Sobre la Producción de Leche.

Tabla 22.	Producción de leche (kg/día) en cada una de las granjas muestreadas.....	101
------------------	--	-----

Tabla 23.	Valores de F y niveles de significación en los diferentes factores considerados en los cuatro análisis estadísticos realizados de la variable producción de leche.....	102
Tabla 24.	Producción de leche (kg/día) en cada uno de los factores principales estudiados (control, sistema de producción, número de lactación y estado de lactación).....	103
Tabla 25.	Producción de leche ($m \pm ES$; kg/día) según el número de lactación y estado de lactación de las vacas.....	103
Tabla 26.	Producción de leche ($m \pm ES$; kg/día) según el sistema de producción y estado de lactación de las vacas.....	104
Tabla 27.	Producción de leche de las vacas según el RCS obtenido en las muestras del control lechero (agrupación según su puntuación lineal)	105
Tabla 28.	Producción de leche ($m \pm ES$; kg/día) según el estado sanitario de la ubre.....	106
Tabla 29.	Producción de leche (kg/día) según el tipo de germen aislado.....	106

INDICE DE FIGURAS

Introducción.

Figura 1.	Evolución anual de la producción de leche de vaca y la importación de leche en polvo en Venezuela (CAVILAC, 2008).....	3
Figura 2.	Consumo de leche líquida en Venezuela entre los años 1988 y 2008. (CAVILAC, 2008).....	4
Figura 3.	Disponibilidad de productos lácteos en Venezuela entre los años 2000 y 2005 (CAVILAC, 2007; AGROTENDENCIA, 2007).....	4
Figura 4.	Evolución anual del precio de la leche cruda y de la leche en polvo en Venezuela (CAVILAC, 2008).....	5
Figura 5.	Sistemas de producción de leche utilizados en Venezuela (elaborado a partir de Hidalgo et al., 2002).....	7
Figura 6.	Composición racial de los bovinos de leche explotados en Venezuela (AGROTENDENCIA, 2007).....	9
Figura 7.	Distintas características en animales de la raza de ganado vacuno Carora.	11
Figura 8.	Número de explotaciones de raza Carora en los distintos estados de Venezuela (ASOCRICA, 2009).....	12
Figura 9.	Frecuencia relativa de nuevas infecciones durante la lactación y el período seco en el ganado vacuno (Philpot y Nickerson, 2002).....	20

Materiales y Métodos.

Figura 1.	Mapa de ubicación del Estado Lara en Venezuela.....	47
Figura 2.	Operaciones realizadas en la rutina de ordeño.....	50
Figura 3.	Toma de muestra para análisis bacteriológico.....	51
Figura 4.	Toma de muestras de leche para el análisis del RCS.....	53
Figura 5.	Muestras de leche para el análisis del RCS.....	53
Figura 6.	Equipo utilizado para llevar a cabo el Recuento de Células Somáticas (Fossomatic 5000).....	54

Resultados y Discusión.

IV.1.- Prevalencia, Incidencia y Etiología de la Infección Intramamaria

Figura 1.	Prevalencia media de IIM en cada una de las 10 granjas muestreadas.....	61
Figura 2.	Incidencia de IIM durante la lactación en cada una de las 10 granjas muestreadas, obtenida a partir de los tres controles realizados (4.5 meses entre controles).....	63
Figura 3.	Curaciones de IIM durante la lactación en cada una de las 10 granjas muestreadas, obtenida a partir de los tres controles realizados (4.5 meses entre controles).....	65
Figura 4.	Porcentaje de bacterias aisladas en el total de muestras analizadas.....	67

Resultados y Discusión.

IV.2.- Recuento de Células Somáticas.

Figura 5.	Distribución de las muestras de leche de tanque (n=25) según el RCS (x1000 céls/ml).....	79
Figura 6.	Medias aritméticas (x1000 céls/ml) y geométricas del RCS en la leche de tanque en cada una de las diez granjas muestreadas.....	80
Figura 7.	Distribución de frecuencias del RCS en las ubres muestreadas separadas según el resultado del análisis bacteriológico (sanas o infectadas).....	83
Figura 8.	Media geométrica del RCS en leche de ubre en vacas primíparas y multíparas, según su estado de lactación (Inicio: 7-100 días; Mitad: 101-200 días; Final: >201 días). Resultados obtenidos considerando solamente ubres sanas (a), ubres con IIM (b) o todas la ubres (c).....	87
Figura 9.	Media geométrica del RCS (céls/ml) en ubres sanas e infectadas, según el estado de lactación (Inicio: 1-100 días; Mitad: 101-200 días; Final: 201-300 días).	90
Figura 10.	Media geométrica del RCS (céls/ml) en ubres sanas e infectadas, según el número de lactación (primíparas y multíparas).....	90
Figura 11.	Media geométrica del RCS (céls/ml) en ubres sanas e infectadas por <i>S. aureus</i> , ECN y <i>Streptococcus spp</i> , según el estado de lactación (Inicio: 7-100 días; Mitad: 101-200 días; Final: >201 días).....	92
Figura 12.	Media geométrica del RCS (céls/ml) en ubres sanas e infectadas por <i>S. aureus</i> , ECN y <i>Streptococcus spp</i> , según el número de lactación (primíparas y multíparas) de las vacas.....	92

I.- INTRODUCCIÓN

1. PRODUCCIÓN DE LECHE EN VENEZUELA

Venezuela es un país deficitario en leche de vaca. En la actualidad se producen anualmente alrededor de 1.300 millones de litros de leche, a partir de un censo de 11.5 millones de cabezas de ganado bovino, pero esta producción tan solo permite abastecer al 60% del consumo interno y, por tanto, es necesario importar leche en polvo y otros productos lácteos (quesos, principalmente) de otros países. Además otro dato preocupante es que tanto la producción como el consumo per cápita de leche líquida han disminuido en los últimos años (Figuras 1 y 2). Así, en el año 2008 en Venezuela se consumían solo 91 litros de leche por habitante y año, lo cual es bastante inferior a lo recomendado por la Organización Mundial de la Salud (140 litros/habitante y año). Respecto a la distribución del consumo de productos lácteos en Venezuela, podemos destacar el bajo consumo de leche pasteurizada (11%) y UHT (2%) y el elevado consumo de leche en polvo (42%) y queso (43%; Tinoco, 2002). Además, más de la mitad de la leche en polvo consumida procede de la importación, mientras que la mayor parte del queso consumido es de producción nacional (Tinoco, 2002). Así mismo, en la Figura 3 se presenta una estimación de la disponibilidad de productos lácteos en los comercios de Venezuela (CAVILAC, 2007), cuyas cifras son en parte similares a las estimaciones del consumo señaladas anteriormente.

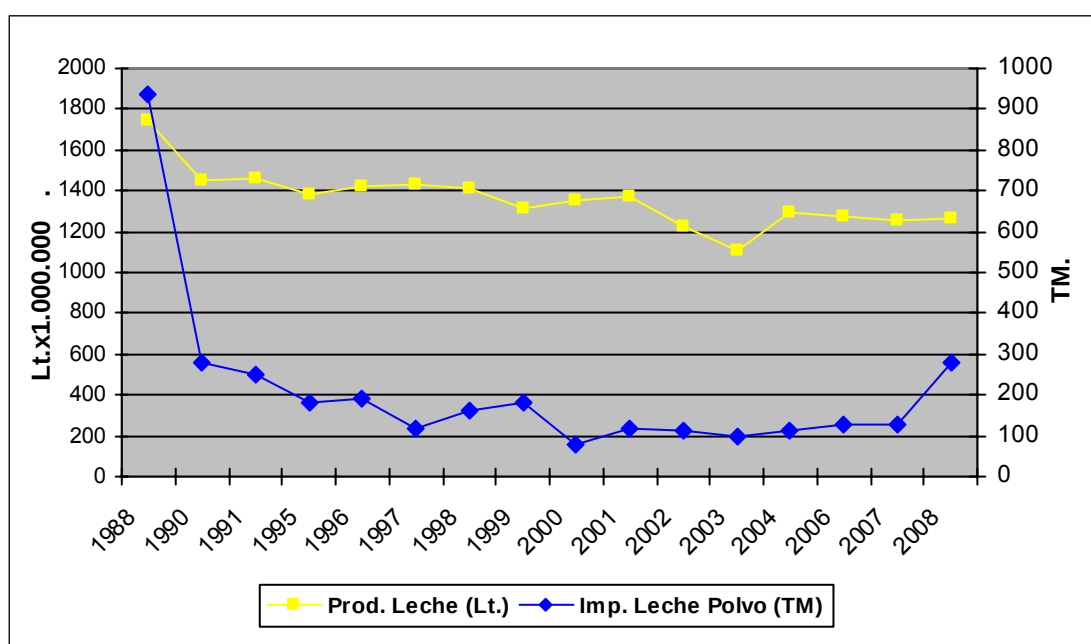


Figura 1. Evolución anual de la producción de leche de vaca y la importación de leche en polvo en Venezuela (CAVILAC, 2008).

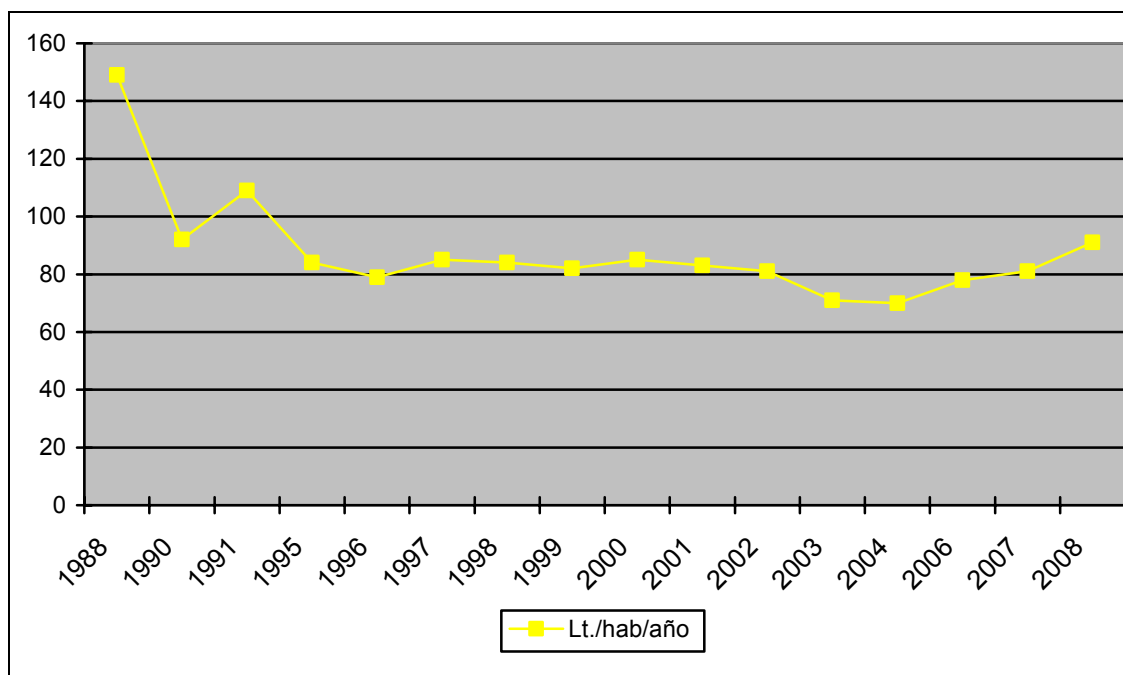


Figura 2. Consumo *per capita* de leche líquida en Venezuela entre los años 1988 y 2008. (CAVILAC, 2008)

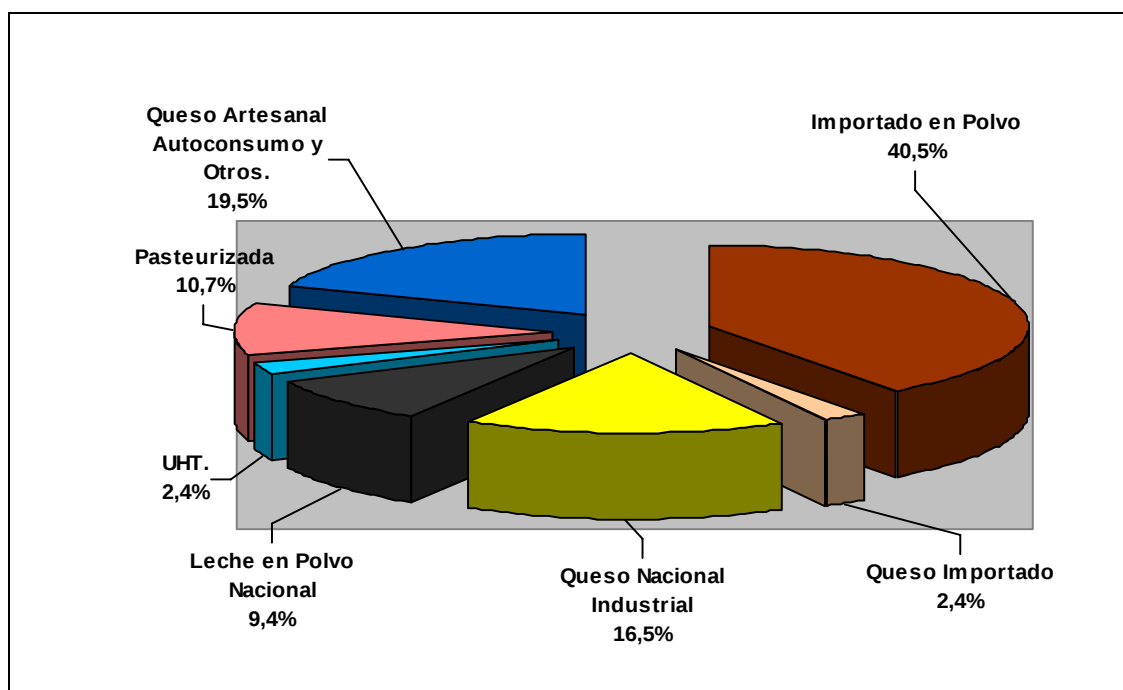


Figura 3. Disponibilidad de productos lácteos en Venezuela entre los años 2000 y 2005 (CAVILAC, 2007; AGROTENDENCIA, 2007)

Existen varias circunstancias que contribuyen a explicar la baja producción de leche que existe en Venezuela. En primer lugar, las características medioambientales de Venezuela (clima tropical o semiárido, según la zona) son

poco propicias para la explotación de las razas lecheras especializadas (Frisona, Holstein e incluso Pardo Suizo), ya que aparecen problemas de adaptación (altas temperaturas y humedades, parasitismo). Por este motivo se utilizan preferentemente razas con una mayor adaptación a estas condiciones ambientales (Carora, Criolla Limonera, o mestizos cebú), explotados en sistemas de doble propósito (carne-leche en pastoreo), pero que tienen bajos niveles productivos. Por ejemplo, la producción media de la raza Carora es tan solo de unos 12 litros al día (ASOCRICA, 2009). Otra circunstancia deficitaria es el control sanitario del rebaño, tanto en los aspectos que son responsabilidad de la administración (control de zoonosis, como tuberculosis y brucelosis) como los que dependen principalmente de los propios ganaderos (mamitis, por ejemplo). Así mismo, el coste de producción y el precio de venta son relativamente elevados, en relación al poder adquisitivo de la población y del mercado internacional (Bermúdez, 2001; Figura 4). Así, en la actualidad los ganaderos suelen cobrar la leche a 2000 Bolívars el litro (0.25 euros), y el consumidor compra la leche UHT a 7000 Bolívars el litro (0.9 euros), es decir valores similares a los que existen en España, con la diferencia de que el sueldo de un trabajador medio en Venezuela (1.200.000 Bolívars al mes; 150 euros al mes) es 7 veces inferior al que existe en España (unos 1000 euros al mes).

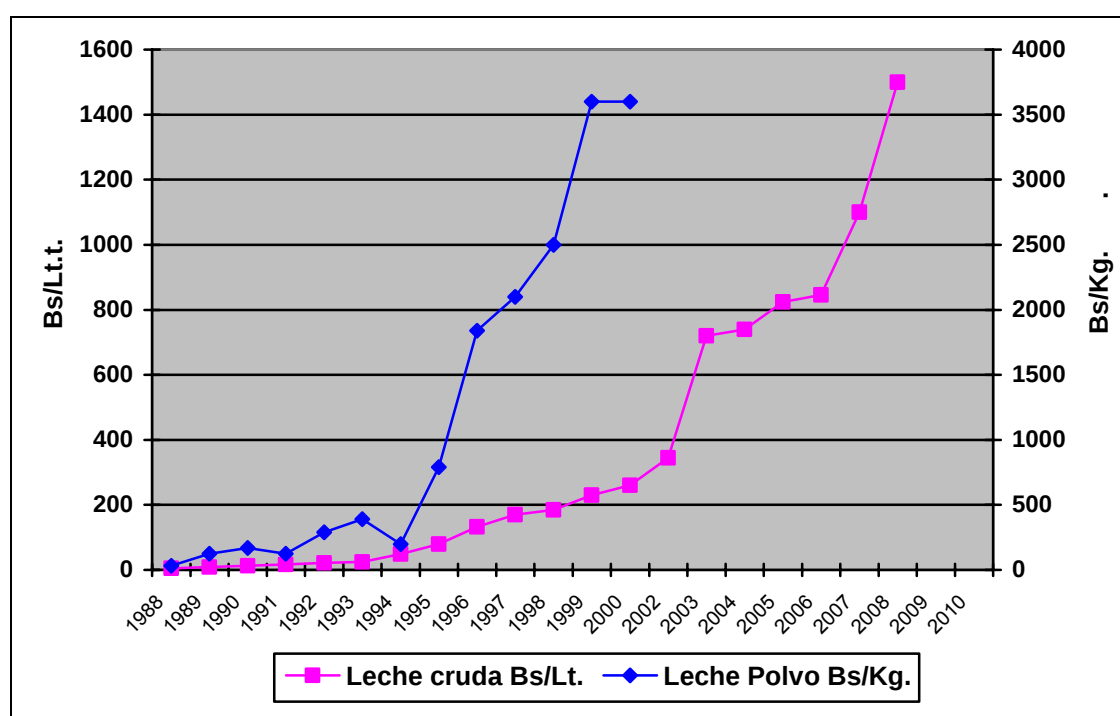


Figura 4. Evolución anual del precio de la leche cruda y de la leche en polvo en Venezuela (CAVILAC, 2008).

Así mismo, los ganaderos no reciben un pago de la leche según su calidad, por lo que no están incentivados para hacer cambios en la explotación que contribuyan a mejorar la calidad de la leche producida (Boscán et al., 1992; Clavijo, 1992; Vargas, 2000). Tampoco se aplican estrictamente las normativas oficiales sobre calidad higiénico-sanitaria de la leche cruda para poder ser comercializada (Reglamento General de Alimento y Normas COVENIN) y, además, aún se comercializa mucha leche por canales irregulares que escapan al control sanitario (Capriles, 1998; Paredes, 2004). En ciertas zonas de Venezuela (Sur de la Cuenca del Lago de Maracaibo) hay una elevada concentración de la tierra y del ganado, existiendo grandes explotaciones con escaso interés por mejorar las estructuras productivas y que suelen disponer de mano de obra poco cualificada (origen colombiano y guajira, principalmente). Finalmente, también suele haber una elevada inseguridad en el campo, lo cual hace que los propietarios no permanezcan en las explotaciones y que existan sobre costos para garantizar la seguridad personal y de los bienes (Senge, 1992; Capriles, 1998).

La producción de leche en Venezuela no se distribuye uniformemente por todo el país, sino que se concentra principalmente en unos pocos estados (el 75% de la leche y el 35% de la carne se obtiene en los estados de Zulia, Falcón, Mérida, Trujillo y Táchira). Sin embargo, también existen otros estados (Lara, Barinas, Monagas, Guárico y Bolívar) con condiciones agroecológicas suficientes para poder aumentar la producción de leche en un futuro (Stagnaro et al., 2002).

1.1. SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE EN VENEZUELA

En Venezuela podemos identificar tres sistemas de producción de leche (intensivo, semi-intensivo y doble-propósito) que se utilizan de acuerdo a las condiciones agroecológicas y sociológicas (Stagnaro, 1992; Figura 5).

Sistema intensivo.

En este sistema el área que ocupa la explotación es relativamente reducida en relación a la cantidad de animales y la producción que se obtiene. Requiere de mucha carga de trabajo y elevadas inversiones. Se establecen y cultivan pastos de buena calidad con la aplicación de prácticas agronómicas como fertilización, riego complementario, control de malezas y plagas, etc. Se suelen utilizar vacas de razas

especializadas en la producción de leche, como Holstein, Pardo Suizo y cruces con otras razas, existiendo una elevada carga animal y producción de leche por hectárea (Fusagri, 1989). El 10% de la leche producida en Venezuela se obtiene con este sistema de producción.

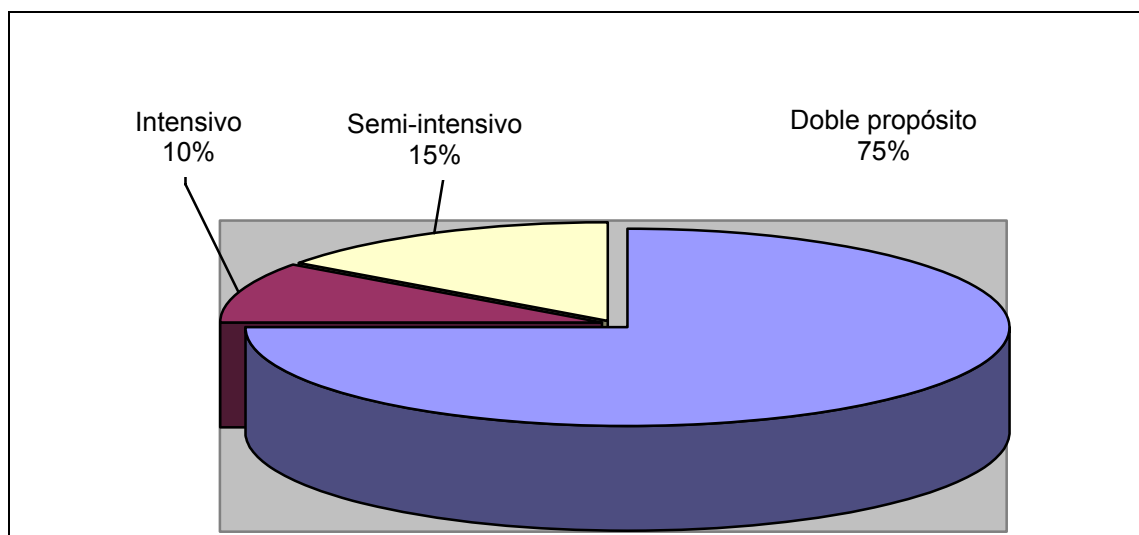


Figura 5. Sistemas de producción de leche utilizados en Venezuela (elaborado a partir de Hidalgo et al., 2002)

Sistema Semi-intensivo

En este tipo de explotación el tamaño del rebaño suele ser mayor que en el sistema intensivo. Por lo general la totalidad de los pastos no son cultivados y el número y tamaño de potreros no es uniforme. Sin embargo se han incorporado prácticas agronómicas como fertilización, riego y manejo de pasto. Además se realizan controles reproductivos como monta controlada e inseminación artificial, y las prácticas sanitarias son adecuadas. Las inversiones en instalaciones, equipos y maquinarias, así como el manejo animal, son menores que en el sistema intensivo, y, por lo general, se debe disponer de mayor cantidad de mano de obra (Fusagri, 1989).

Este sistema es característico de las explotaciones que se ubican en zonas montañosas, donde las temperaturas no son tan elevadas y es posible explotar razas especializadas en producción de leche, y en explotaciones que inicialmente eran de doble propósito pero que posteriormente han incorporados mejoras en el

manejo alimenticio, reproductivo, sanitario y zootécnico de los animales. Con este sistema se obtiene el 15% de la leche producida en Venezuela.

Doble propósito.

En este sistema la vaca y el ternero constituyen una unidad biológica de producción de leche y carne. La alimentación de los animales es fundamentalmente en pastoreo, aunque también se suplementa en las épocas críticas. Tradicionalmente se ha ordeñado a mano con el apoyo del ternero, aunque ya existen explotaciones que utilizan el ordeño a máquina. Este sistema se caracteriza por su estabilidad, flexibilidad y liquidez diaria, factores que son determinantes para el desarrollo de cualquier sistema de producción en el trópico, lo cual les ha permitido sobrevivir. Tales características le imprimen una extraordinaria capacidad de adaptación a las diferentes condiciones agroecológicas y socio-económicas. Este sistema lo encontramos en la mayoría de las áreas de pastoreo en América Latina, en explotaciones con amplio rango de superficie entre 20 y 1.000 hectáreas (Stagnaro, 1992). En Venezuela, el 75% de la leche producida se obtiene con este sistema de producción.

1.2. EL GANADO VACUNO DE RAZA CARORA

Aunque la raza Carora tan solo representa el 2% del ganado bovino que se explota en Venezuela para producir leche (Figura 6), su importancia reside en que es una raza autóctona que presenta una elevada adaptación a las condiciones ambientales tropicales y a los sistemas de explotación de doble propósito. Además de la raza Carora, en Venezuela también se explota la raza autóctona Criolla Limonera.

Origen e historia

La raza Carora se constituyó en las primeras décadas del siglo veinte, en varias explotaciones de la región de Carora (Estado Lara, Venezuela), a partir de varios cruces del ganado vacuno criollo autóctono ("Criollo Amarillo de Quebrada Arriba") con la raza Pardo Suizo importada de EEUU y Suiza. A su vez el ganado vacuno criollo procedía del ganado vacuno andaluz que introdujeron los españoles

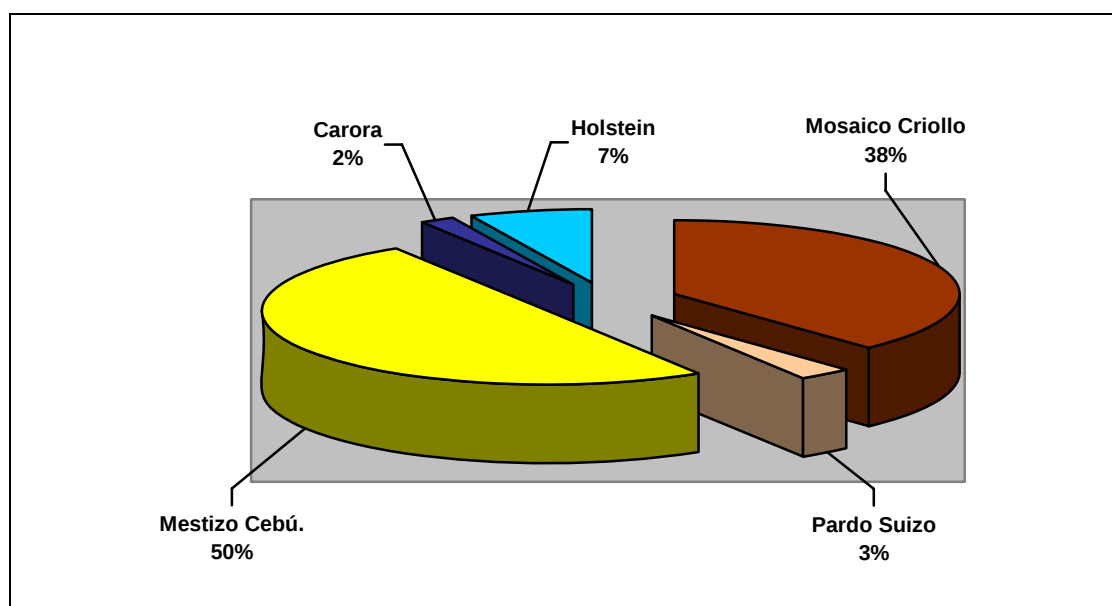


Figura 6. Composición racial de los bovinos de leche explotados en Venezuela (AGROTENDENCIA, 2007).

a partir de 1550 y que, a través de los años, fue adaptándose a las condiciones del trópico. El objetivo del cruce era obtener animales con una mayor productividad, pero manteniendo la adaptación a las condiciones ambientales tropicales. Sin embargo, los continuos cruces absorbentes que se realizaron con la raza Pardo Suizo hicieron que los animales fueran perdiendo rusticidad y que, fenotípicamente, cada vez fueran más similares a esta última raza. Es por ello que, a principios de la década de los 70, comienzan a realizarse cruces, a partir de la población generada, para obtener sementales cuyo fenotipo y capacidad adaptativa fuera más parecida al vacuno criollo original (ASOCRICA, 2006a). En 1979 los ganaderos crean la Asociación Venezolana de Criadores de Ganado Carora (ASOCRICA) y en 1989 inician la gestión del Libro Genealógico de la citada raza. En 1992 el ejecutivo venezolano reconoce a la Raza Carora como “Patrimonio Nacional” y, finalmente, en 1992 ASOCRICA inicia el programa de mejora genética de esta raza (ASOCRICA, 2006e)

Características y programa de mejora genética

La raza Carora posee una serie de características fenotípicas que lo diferencian e identifican de cualquier otra raza lechera del mundo y que, al mismo tiempo, revelan su grado de adaptación a los climas tropicales. Entre los elementos característicos más resaltantes podemos destacar (ASOCRICA, 2006d):

- Pelaje claro, generalmente blanco, corto y grueso, elementos que le permiten al animal reducir el efecto de la radiación solar y mayor transpiración.
- Mucosas oscuras. El borde de los ojos y el morro son completamente negros, permitiéndole al animal mejor comportamiento en nuestro clima tropical.
- Gran desarrollo corporal y por ende eficiente aprovechamiento del pasto para una económica producción láctea.
- Ubres funcionales que le permiten un buen amamantamiento de la cría y fácil ordeño.

Es una raza rústica, con gran capacidad de locomoción en terrenos difíciles y de soportar las inclemencias de los climas tropicales y el manejo deficiente. Además, estos animales también se caracterizan por su mansedumbre, siendo fáciles de manejar, incluso por mujeres (ASOCRICA, 2006b)

La asociación ha establecido un patrón racial (ASOCRICA, 2006c) y un programa de mejora genética con el objeto de consolidar a esta raza como una raza tropical de doble propósito. Los caracteres objeto de estudio/selección son:

- Producción de leche, en la lactación total y en los primeros 305 días
- Caracteres morfológicos, registrados por medio de la evaluación lineal
- Resistencia a las garrapatas, en particular a *Boophilus microplus*
- Velocidad de crecimiento, para producir índices genéticos para el peso de las novillas de 365 días.
- Precocidad (edad en que se alcanza el peso para la primera cubrición)
- Calidad de la leche (% de proteína).
- Capacidad de termorregulación, índice de aclimatación al clima tropical.

En la Figura 7 podemos observar distintas imágenes de animales de esta raza.

Censos, ubicación geográfica y producción de leche

En la actualidad existen 2.405 vacas puras y 5.768 vacas mestizas (principalmente con Holstein, Jersey y Pardo Suizo) inscritas en el libro genealógico que gestiona ASOCRICA. El 50% de las vacas puras y el 30% de las mestizas se



Pelajes Oscuros.



Pelajes claros.



Pigmentación en ojos y hocico.



Otras Pigmentaciones.



Anca y muslos de una vaca Elite.



Cruz, dorso, lomo, costilla.



Semental Adulto Raza Carora.



Semental joven Carora.

Figura 7. Distintas características en animales de la raza Carora de ganado vacuno.

La raza se explota mayoritariamente en pastoreo aunque también existen explotaciones con estabulación permanente; en este último caso se utiliza con frecuencia los mestizos con Holstein. La producción de leche se destina tanto a la fabricación de leche pasteurizada y leche UHT como a la fabricación de quesos.

2. ANATOMÍA Y FISIOLOGÍA DE LA GLÁNDULA MAMARIA

La ubre es un sistema glandular que tiene como función la nutrición del ternero y está formada por cuatro glándulas o cuarterones. Cada glándula representa una unidad, de modo que una infección mamaria puede estar ubicada en una única glándula de la ubre, y está constituida por la cisterna del pezón, la cisterna de la glándula, los canales o conductos lácteos y los alveolos. Estos últimos tienen un espesor aproximado de 0,1 mm, y poseen una membrana basal, la cual permite la unión de las células mioepiteliales con las células epiteliales, siendo estas últimas células las responsables de sintetizar y secretar la leche al interior de los alveolos.

Antes de iniciarse el ordeño casi el 80% de la leche se encuentra en la parte alveolar de la glándula mamaria (Brukmaier et al., 1994), la cual solamente puede ser extraída si se produce el reflejo neuroendocrino de eyección (Ely y Petersen, 1941). Durante el ordeño o amamantamiento la leche sale al exterior a través del pezón. Este tiene una longitud entre 6 y 8 cm. y una anchura entre 2,5 y 3 cm. La punta del pezón tiene forma circular, producida por las fibras musculares que actúan como un esfínter o músculo obturador. El canal o conducto del pezón es la zona de unión entre la cisterna del pezón y el exterior. Mide aproximadamente entre 6 a 10 mm de longitud y 0,4 a 0,8 mm de anchura. A medida que aumenta la edad del animal se incrementa la longitud del conducto del pezón.

La lactancia de los animales es mantenida a través de un control hormonal, siendo la somatotropina la hormona más importante en esta función. Se ha comprobado que la inyección de esta hormona puede incrementar significativamente la producción de leche en el ganado vacuno (Wolter et al., 2004). Otras hormonas que son importantes en el mantenimiento de la secreción láctea son: los estrógenos, la progesterona, la prolactina, los glucoesteroides y la oxitocina (Wolter et al., 1997).

2.1.- Reflejo de eyección de la leche

Se entiende por eyección de la leche el paso de la leche desde los alvéolos a la cisterna de la glándula provocado por la contracción de las células mioepiteliales que rodean los alvéolos. El proceso de eyección de la leche es el resultado de un arco reflejo involuntario de carácter neuro-hormonal en el que se producen los siguientes pasos: 1) estimulación nerviosa, principalmente de los receptores que se encuentran en el pezón (succión, masaje); 2) transmisión del estímulo vía nerviosa hasta el hipotálamo; 3) liberación de la hormona oxitocina de la hipófisis posterior a la sangre (esta hormona se produce en los núcleos supraópticos y paraventriculares del hipotálamo, para luego ser transportada hacia la hipófisis posterior); 4) transporte sanguíneo de la oxitocina hasta los alveolos; 5) la oxitocina se une a los receptores de las células mioepiteliales, lo que provoca que éstas se contraigan; 6) la leche que se encuentra en los alvéolos es forzada a descender por los conductos a la zona cisternal de la ubre (Svennersten-Sjaunja, 2004).

El masaje que se hace en el extremo del pezón durante la preparación de la ubre es el principal estímulo que desencadena la eyección de la leche. Por este motivo es de vital importancia el modo que se realiza la preparación de la ubre o rutina de ordeño en la explotación. Todas las operaciones de la rutina previas al ordeño (extracción de los primeros chorros de leche, lavado y secado de los pezones) deben hacerse de una forma continua y sin pausa y la misma debe durar un tiempo aproximado de unos 60 segundos. Las pezoneras deben colocarse inmediatamente y a más tardar 30 segundos después, con el fin de lograr una mejor eyección o bajada de la leche en un equipo de ordeño mecánico (Wolter et al., 1997).

3. MAMITIS BOVINA

La mastitis es un proceso inflamatorio de la glándula mamaria en el cual el sistema inmune de la vaca trata de luchar contra un agente infeccioso, alojado en el interior de la mama, o como consecuencia de irritaciones o traumatismos en la glándula. Mayoritariamente se produce por bacterias que se introducen en la glándula a través del canal del pezón, se multiplican dentro del tejido mamario y pueden generar toxinas que son las causantes de lesiones (Loor et al., 1998). Por

este motivo, a la mamitis se la considera una enfermedad infecciosa. La mamitis se produce por la interacción de varios factores (animal, germen, manejo, medio ambiente...) que favorecen la entrada de los microorganismos a través del esfínter y canal del pezón, para luego pasar a la cisterna del pezón y de allí subir al epitelio secretor de la glándula mamaria (Philpot y Nickerson, 1992).

La inflamación es la reacción del organismo ante los elementos desencadenantes del proceso, tales como bacterias y sus toxinas, parásitos, productos químicos, acciones mecánicas, frío o calor (Kleinschorth et al., 1991). Durante el ordeño, las bacterias pueden estar presentes cerca del esfínter del pezón. Estas bacterias pueden originarse debido a la presencia de lodo, tierra, estiércol y humedad cerca del esfínter del pezón. La colonización bacteriana también puede verse favorecida si la piel del pezón tiene alguna lesión, la superficie de los manguitos están muy sucios, el ordeño no se realiza de forma adecuada (flujos inversos o impactos) o el procedimiento de preparación pre-ordeño no es suficientemente higiénico. Cualquier trauma que reciba el pezón también puede afectar su grado de susceptibilidad hacia invasiones bacterianas, colonización y eventualmente infecciones. Dentro de la ubre, las bacterias se multiplican y producen toxinas, enzimas y otras sustancias que estimulan la producción de varios componentes químicos que se utilizan para prevenir la inflamación del tejido mamario. La magnitud de la inflamación en la ubre está influenciada por el tipo de bacteria, los días en lactancia, la edad, la genética y el estado nutricional de la vaca (Harmon, 1994).

La mamitis ocasiona cambios físicos y químicos en la leche, eleva el RCS, produce lesiones en la ubre, reduce la producción y la calidad de leche e incrementa los costos de producción. La aparición de mamitis en las vacas lecheras se ve favorecida por la mayor susceptibilidad que tienen estos animales a medida que se incrementa su potencial productivo (Gunasekera et al., 2003), mientras que tiende a disminuir en la medida que en las explotaciones se aplican adecuados programas de control de esta enfermedad.

3.1.- TIPOS DE MAMITIS

Aunque la mamitis se puede clasificar utilizando distintos criterios (Hamann, 2005), lo más frecuente es clasificarla según los síntomas en dos tipos: clínica y subclínica (IDF, 1999; Philpot y Nickerson, 2002).

3.1.1. Mamitis clínica

En la forma clínica aparecen cambios en la leche, en la ubre o en el propio animal detectables a simple vista. En la leche pueden aparecer grumos, coágulos, sangre, cambios de color etc., mientras que en el cuarto afectado es frecuente que esté inflamado, caliente, duro y sensible (Sears, 1987), e incluso puede estar acompañada de síntomas sistémicos, tales como elevada temperatura rectal, inapetencia, anorexia etc.. (Harmon, 1994). La mamitis clínica puede variar en severidad dependiendo en gran parte del microorganismo que esté actuando.

La mamitis clínica se puede presentar en fase aguda y subaguda. La mamitis aguda aparece cuando hay síntomas de inflamación de la ubre y síntomas generales (fiebre con 40 - 41°C, pulso acelerado, inapetencia, brusca disminución de la producción láctea) que pueden poner en peligro la vida del animal, tal y como ocurre con las mamitis por coliformes. También aparecerán cambios en la composición física y química de la leche. Con el término subagudo se describe una evolución relativamente lenta, con alteraciones de la ubre poco visibles y consisten generalmente en una disminución de la producción de leche con ligeras alteraciones en sus propiedades físicas y químicas (Kleinschorth et al., 1991).

La mamitis de tipo crónico aparece con frecuencia en aquellos animales que han mostrado de forma recurrente infecciones clínicas con síntomas claramente visibles. En este caso hay alteraciones en la ubre que se pueden detectar a simple vista (atrofia de la glándula) o por palpación (formación de abscesos múltiples, con tejido de cicatrización por debajo de estos abscesos) y que va a provocar un descenso acusado de la producción de leche.

3.1.2. Mamitis subclínica

La mamitis subclínica no es apreciable a simple vista, ya que no hay cambios fácilmente detectables en la leche o en la ubre. Sin embargo, existirá una infección intramamaria y un incremento de las células somáticas presentes en la leche (Philpot, 1980), que pueden ponerse de manifiesto con pruebas específicas (análisis bacteriológico, RCS con equipos automáticos, CMT). La forma subclínica es más difícil de detectar, perdura por largo tiempo, también reduce la producción y la calidad de la leche y es más frecuente que la mamitis clínica (Sears, 1987). Esto explica que alrededor del 80% de las pérdidas de leche sean debidas a este tipo de

mamitis, por lo que se debe poner gran énfasis en su control (Kleinschorth et al., 1991). La mamitis subclínica puede pasar a clínica y viceversa dependiendo de múltiples factores.

3.2. ETIOLOGÍA INFECCIOSA DE LA MAMITIS

Aunque se han identificado hasta 137 especies de microorganismos responsables de provocar infecciones intramamarias, en grupos tan diversos como bacterias, micoplasmas, hongos, levaduras y algas (Watts, 1988), afortunadamente la gran mayoría de mamitis están provocadas por unas pocas bacterias. De hecho, en los estudios epidemiológicos es frecuente encontrar que casi el 80% de todas las mamitis diagnosticadas están provocadas por solo 5 especies de bacterias, tales como *Str. agalactiae*, *Str. dysgalactiae*, *Str. uberis*, *S. aureus* y *E. coli* (Bradley, 2002; Zadoks y Fitzpatrick, 2009).

Clásicamente los principales patógenos mamarios se han clasificado en tres grandes grupos (contagiosos, ambientales y flora oportunista de la piel), basándose en la ubicación de su reservorio primario, desde donde se produce la exposición del extremo del pezón a los gérmenes y la subsecuente infección (Blowey y Edmonson, 1995; Smith y Hogan, 2001).

Los gérmenes contagiosos más importantes son: *S. aureus*, *Str. agalactiae*, *C. bovis* y *Mycoplasmas* spp.; además, *Str. dysgalactiae* se considera tanto contagioso como ambiental. Los patógenos contagiosos se pueden considerar que son microorganismos adaptados a vivir dentro del huésped y, en particular, dentro de la glándula mamaria. Se caracterizan porque su reservorio principal son las glándulas infectadas y la infección se difunde entre vacas, contaminando el extremo del pezón, durante el proceso del ordeño (manos del ordeñador, manguitos de las pezoneras, trapos etc.). Muchos gérmenes contagiosos tienen una gran capacidad de adherencia (*S. aureus*, *Str. agalactiae*), lo que les permite atravesar el canal del pezón por crecimiento. Las infecciones tienden a ser persistentes (semanas, meses o años) y subclínicas, aunque también son frecuentes los episodios clínicos.

Los más importantes patógenos ambientales podemos separarlos en tres subgrupos: los coliformes (*E. coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp y *Citrobacter* spp), los estreptococos (*Str. uberis*, *Str. bovis* y *Str. dysgalactiae*) y los enterococos

(*Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis*). Tradicionalmente han sido considerados como invasores oportunistas de la glándula mamaria y no adaptados a sobrevivir en el organismo hospedador. El principal reservorio de los patógenos ambientales es el entorno de la vaca (camas, estiércol, tierra, agua, etc..), de ahí que sea imposible su erradicación. La exposición primaria de los pezones a estos gérmenes se produce principalmente entre ordeños, aunque también puede ocurrir durante el ordeño, en el periodo seco o previo al parto en las vacas primíparas (Hogan y Smith, 2003). En general estos microorganismos tienen una baja capacidad de adherencia, de modo que habitualmente necesitan de un mecanismo de propulsión (fenómeno de flujo inverso o impacto, durante el ordeño) para atravesar el canal del pezón; no obstante algunos de estos gérmenes, como *E. coli*, también pueden penetrar en el interior de la glándula en ausencia de flujo de leche (por ejemplo, cuando al extremo del pezón se le somete a una exposición elevada de patógenos inmediatamente después del ordeño). Típicamente estos gérmenes invaden el interior de la ubre, se multiplican, provocan una respuesta inmune del animal y son eliminados normalmente con cierta rapidez. Además, se piensa que la severidad de la enfermedad depende, en parte, de la rapidez de la respuesta inmunitaria, en particular de la migración de los leucocitos polimorfonucleares a la ubre (Van Werven, 1999). Con frecuencia estos gérmenes provocan mastitis clínicas (el 70-80% de las mastitis por *E. coli* y el 50% de los estreptococos ambientales; Hogan y Smith, 2003). En el 60-70% de los casos la infección dura menos de 30 días, pero en ocasiones (alrededor del 13-18% de los casos) también puede ser crónica y persistir más de 100 días (NMC, 1997), provocando mastitis clínicas recurrentes (Bradley, 2002). Por ejemplo, Bradley y Green (2000) demostraron que alrededor del 50% de las mastitis clínicas provocadas por enterobacterias durante los primeros 100 días de lactación, procedían en realidad de infecciones adquiridas en el periodo seco.

La flora oportunista de la piel está formada por los estafilococos coagulasa negativo (ECN). Este grupo de gérmenes ha adquirido una gran relevancia en los últimos años. Aunque existen más de 20 especies de ECN que pueden provocar mastitis (Philpot y Nickerson, 2002), podemos destacar como más prevalentes a, *S. simulans*, *S. chromogenes*, *S. xylosus*, *S. epidermidis* y *S. capitis* (Sampimon et al., 2009). Los ECN se consideran como microorganismos oportunistas, ya que se encuentran en la piel sana del pezón y en las manos del ordeñador. Las infecciones que producen suelen ser leves, aunque también pueden ocasionar síntomas

clínicos poco agudos (Taponen y Pyörälä, 2007). La incidencia de nuevas infecciones con ECN es máxima en el período de secado, por lo que la prevalencia es elevada en el parto. Además, también es remarcable que se aíslan con mayor frecuencia en las vacas de primer parto que en las vacas multíparas, y que son los principales patógenos que se aíslan en las vacas primíparas al parto (Schukken et al., 2009; Sampimon et al., 2009). Aproximadamente la mitad de estas infecciones se curan espontáneamente durante la lactación (Taponen et al., 2007), por lo que la prevalencia de estos gérmenes decrece a medida que la lactación avanza. Además, la curación espontánea al secado, sin tratamiento, es de alrededor del 90%. Algunos autores sugieren que estos gérmenes podrían tener un efecto de protección contra las infecciones por patógenos más virulentos, especialmente de los ambientales (Bradley, 2002), aunque esta hipótesis está bajo discusión ya que en algunos trabajos se ha encontrado un efecto contrario (aumento del riesgo de infección por *Str. uberis* y *C. bovis*; Smith y Hogan, 2001).

Finalmente, otro grupo de microorganismos con elevado poder patógeno, pero normalmente poco prevalentes, son las *Pseudomonas spp.*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Nocardia spp.* y *Serratia spp.*

A partir de la década de los sesenta empezaron aplicarse en muchos países programas de control de mastitis que tuvieron un gran éxito en controlar los patógenos contagiosos y en disminuir la incidencia de mastitis clínicas y subclínicas y el RCS de la leche de tanque (Bradley, 2002). Sin embargo, en este mismo periodo también se ha observado un incremento absoluto y relativo de mastitis provocadas por patógenos ambientales. Además, los programas de control de mastitis instaurados también parecen ser menos efectivos en reducir la prevalencia de los ECN (Taponen y Pyörälä, 2007), por lo que ha aumentado la importancia relativa de las mastitis provocadas por este grupo de gérmenes, e incluso en muchos casos se han convertido en el grupo de patógenos con mayor prevalencia (Piepers et al., 2007; Sampimon et al., 2009). Por otra parte, estudios relativamente recientes, basados en la identificación del ADN bacteriano, han demostrado la persistencia de algunas enterobacterias, ya que infectan la glándula mamaria en el periodo seco y permanecen de modo subclínico durante los primeros 100 días de la lactación, provocando simultáneamente brotes de mastitis clínicas (Bradley, 2002). Este autor sugiere que durante estos últimos años es posible que ciertas cepas de gérmenes como *E. coli*, con capacidad de adquirir ADN exógeno, hayan sufrido un proceso de adaptación al medio ambiente mamario y hayan adquirido ciertos

mecanismos (mayor capacidad de adherencia al tejido mamario, de secuestrar hierro y de sobrevivir dentro de los neutrófilos de la mama) que les permiten provocar mastitis persistentes o crónicas, así como mastitis clínicas recurrentes (Dopfer et al., 1999). Lo mismo podría ocurrir con algunos estreptococos ambientales (*Str. uberis*; Zadoks et al., 2001).

3.3. INCIDENCIA Y PREVALENCIA DE LA MAMITIS

La incidencia de infecciones intramamarias (IIM) puede estar influida por muchos factores: tipo de patógenos, edad del animal, estado de lactación, estado inmunitario de la vaca, genética, estado nutricional (Harmon, 1994) y la estación (Fox, 2009)

En relación al estado de lactación, la incidencia o frecuencia de nuevas infecciones intramamarias no es constante durante el ciclo de lactación-periodo seco del ganado bovino. Los dos momentos de mayor riesgo ocurren en las primeras dos semanas del proceso de secado y en las dos semanas anteriores y posteriores al parto; además, durante la lactación la incidencia de mastitis va disminuyendo paulatinamente hasta el momento del secado (Figura 9). Por ejemplo

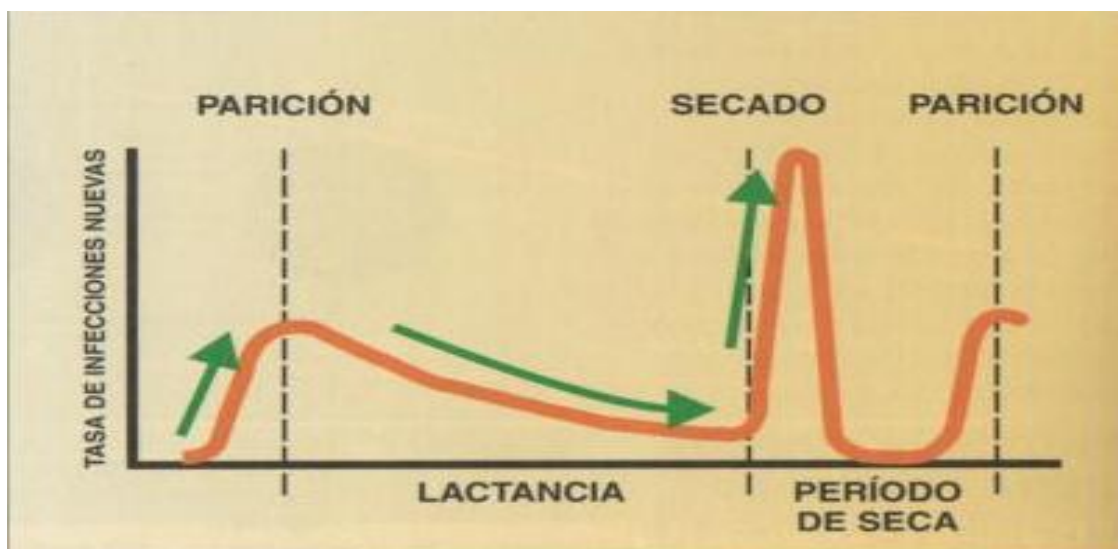


Figura 9. Frecuencia relativa de nuevas infecciones durante la lactación y el período seco en el ganado vacuno (Philpot y Nickerson, 2002)

Todhunter et al., (1991) encontraron que el 61% de las nuevas IIM ocurrieron en el periodo seco. Además, algunas de estas infecciones pueden permanecer inactivas en la ubre hasta el parto, provocando mamitis clínicas en el inicio de la lactación (Bradley, 2002).

La incidencia de mamitis clínica es muy variable entre explotaciones, si bien en la mayoría de los casos suele ser de 20 a 55 casos por 100 vacas y año (Berry, 1998; Bradley, 2002; Bradley et al., 2007; Riekerink et al., 2008), siendo los patógenos ambientales los principales responsables de estos casos (Smith y Hogan, 2001). Un tema que está en discusión es si las explotaciones o vacas con bajos recuentos tienen un mayor riesgo de sufrir mamitis clínicas (Schukken et al., 2001). Por ejemplo, algunos datos sugieren que la relación del RCS individual con el riesgo de mamitis clínicas podría tener una forma de U, de modo que las vacas que presentan unos recuentos de una lactación tanto bajos (< 20.000 céls/ml) como altos (> 60.000 céls/ml) tendrían más riesgo de sufrir una mamitis clínica por coliformes en la siguiente lactación, respecto a los animales que presentan recuentos intermedios (20.000-60.000 céls/ml; Bradley, 2002). Así mismo, también se ha encontrado que las explotaciones con recuentos muy bajos en la leche de tanque (< 150.000 céls/ml) presentan una incidencia de mamitis clínicas por coliformes superior a la que existe en las explotaciones con altos recuentos (700.000 céls/ml; Erskine et al., 1988).

La prevalencia global de mamitis subclínica también es muy variable según países, regiones e incluso entre explotaciones. En Venezuela y otros países sudamericanos, con vacas mestizas (cruces de cebú con Holstein, Pardo Suizo o Carora), se han encontrado prevalencias entre el 25 y el 30% (Scaramelli et al., 1999; Faria et al., 2005b), pero también valores mucho más elevados, superiores al 60% (Faria et al., 2005a; Azocar, 2008). Por otra parte, la mayoría de trabajos realizados con vacas de raza Frisona/Holstein, en Europa y America del Norte, han encontrado una prevalencia de mamitis subclínica entre el 30 y el 50% (Sampimon et al., 2008; Cremonesi et al., 2008; Catañeda et al., 2008; Wilson et al., 1997; Pitkala et al., 2004; Carina, 2007). En el caso concreto de los patógenos ambientales, su prevalencia raramente es superior al 10% de los cuartos, ya que la duración de la infección suele ser corta (Smith y Hogan, 2001); además suelen ser menos prevalentes en aquellos países que poseen rebaños de pequeño tamaño y que practican el pastoreo una parte del año (Smith y Hogan, 2001).

La evolución de la prevalencia global de mastitis subclínica con el estado y número de lactación va a depender en gran medida de la etiología de las infecciones intramamarias. Efectivamente, algunos gérmenes como *S. aureus* y *Str. agalactiae*, son muy persistentes y tienen bajos índices de autocuración, por lo que su prevalencia va a aumentar a medida que avanza la lactación o se incrementa el número de lactación. Por el contrario los patógenos ambientales suelen provocar mastitis de corta duración y, dado que su incidencia es mayor en el entorno del parto, es previsible que su prevalencia disminuya con el estado de lactación; sin embargo la incidencia de patógenos ambientales aumenta con el número de lactación, por lo que cabe esperar también una mayor prevalencia de este tipo de gérmenes en las vacas multíparas que en las primíparas (NMC, 1997). Finalmente, los gérmenes ECN también tienen un elevado índice de autocuración durante la lactación y, sobre todo, durante el periodo seco. De hecho, es frecuente encontrar que la prevalencia de ECN es más elevada en las vacas primíparas que en la multíparas y al principio de la lactación que en estados más avanzados de ésta (Todhunter et al., 1993; Philpot y Nickerson, 2002; Taponen y Pyörälä, 2007).

La aplicación de programas de control de mastitis en los últimos 40 años ha permitido que se produjera un descenso paulatino de la prevalencia global de IIM en las explotaciones de vacuno lechero, ya que anteriormente era frecuente que en las explotaciones existieran prevalencias de IIM del 50% de las vacas y del 50% de los cuartos (Smith y Hogan, 2001). Sin embargo, tal y como ya se ha comentado anteriormente, la evolución de la prevalencia de los diferentes grupos de gérmenes no ha sido paralela. La frecuencia de mastitis por gérmenes contagiosos ha disminuido de forma importante, ya que en muchos casos se ha conseguido erradicar *Str. agalactiae* y reducir la prevalencia de *S. aureus* a menos del 1% de los cuartos infectados (Hogan et al., 1989). Por el contrario, este descenso ha sido más modesto para los ECN (en la actualidad la prevalencia suele ser superior al 10% de los cuartos) y apenas ha disminuido para los patógenos ambientales (Bradley, 2002; Smith y Hogan, 2001). Por ejemplo, hace 40 años los gérmenes contagiosos eran los responsables del 60% de las mastitis clínicas, mientras que en la actualidad es frecuente que no lleguen a representar ni el 15% (Bradley, 2002).

3.4. PROGRAMAS DE CONTROL DE MAMITIS

Tal y como ya se ha comentado, la mastitis es una enfermedad multifactorial (germen-animal-medio ambiente) que no es posible erradicar de las explotaciones. El objetivo es controlarla mediante programas que se deben desarrollar específicamente para cada explotación. Para disminuir la prevalencia de mastitis se deben incidir en dos aspectos claves: reducir la incidencia de IIM y disminuir la duración de las IIM (Smith y Hogan, 2001).

A partir de la década de los sesenta empezaron aplicarse en muchos países programas de control de mastitis basados en el programa de 5 puntos propuesto en Inglaterra por el NIRD (National Institute for Research in Dairying, Reading; Neave et al., 1966) y que consistía en:

- 1- Mantenimiento rutinario de la máquina de ordeño.
- 2- Desinfección de los pezones tras el ordeño.
- 3- Tratamiento sistemático al secado con antibióticos.
- 4- Rápida identificación de las mastitis clínicas y tratamiento con antibióticos.
- 5- Eliminación de las vacas afectadas de mastitis crónica.

A este programa se ha añadido un nuevo punto basado en mantener una buena higiene pre-ordeño y cuyo objetivo básico es que los pezones se encuentren limpios y secos en el momento de ordeñarse (Philpot y Nickerson, 2002).

La higiene del ordeño y los puntos 1 y 2 citados anteriormente permiten disminuir la tasa de IIM, si bien la higiene del ordeño reduce principalmente las IIM por patógenos ambientales, mientras que la desinfección de pezones post-ordeño actúa principalmente sobre los patógenos contagiosos. Por el contrario, los puntos 4 y 5 actúan reduciendo la duración de las IIM. Finalmente, el punto 3 actúa simultáneamente reduciendo tanto la incidencia como la duración de las IIM.

Además de la puesta en marcha de estos programas de control de mastitis, no debemos olvidar dos aspectos que han contribuido en gran medida a que los ganaderos tengan un mayor interés para disminuir las IIM: a). la existencia de normativas nacionales que fijan un límite máximo de RCS en la leche de tanque para que ésta pueda ser comercializada y b). Los incentivos/penalizaciones que

aplican las industrias en el pago de la leche a los ganaderos según el RCS de la leche de tanque.

Aunque la mayoría de países han adoptado el plan de 5 puntos descrito anteriormente, otros países no lo han aplicado en su totalidad y, sin embargo, también han tenido éxito en el control de los patógenos contagiosos y en la reducción del RCS del tanque. Por ejemplo, en Nueva Zelanda el tratamiento con antibióticos al secado suele ser selectivo, a pesar de que el tratamiento sistemático parece disminuir la incidencia de IIM por *Str. uberis* al parto (Smith y Hogan, 2001). Los países nórdicos también aplican el tratamiento selectivo de secado (a las vacas que están infectadas o han experimentado una mamitis clínica) y, además, no practican la desinfección de pezones post-ordeño, ya que consideran que es un riesgo potencial de residuos en la leche. No obstante, en estos países nórdicos también existen otros rasgos peculiares que podrían explicar sus buenos resultados en el control de la mamitis: la mayoría de los rebaños son pequeños (algunos con menos de 10 vacas), los tratamientos con antibióticos son realizados por veterinarios y se registran en una base de datos nacional, se realiza un seguimiento individual de los RCS y cultivos bacteriológicos a las vacas con altos RCS, los casos problemáticos a menudo se tratan en lactación y la tasa de reposición de las vacas es muy elevada (30-50% anual; Smith y Hogan, 2001; Osteras y Solverod, 2009).

Uno de los aspectos más débiles del plan de 5 puntos es que falla en el control de los patógenos ambientales ya que la epidemiología de estos y de los patógenos contagiosos difiere marcadamente (Smith y Hogan, 2001). Por este motivo, se han propuesto medidas adicionales para actuar sobre los patógenos ambientales. Estas medidas se han basado en la regla de que, para disminuir la incidencia de IIM se debe actuar en tres vertientes:

- a) La disminución de la exposición del extremo del pezón a estos patógenos. En este sentido es importante disminuir el reservorio primario, que es el material y estado de las camas (Smith y Hogan, 2001). Cuando los animales están estabulados, la utilización de arena como material de cama, en lugar de paja o serrín, disminuye la incidencia de este tipo de mamitis (NMC, 1997); también es importante la ventilación y el diseño del alojamiento para que los animales descansen de modo confortable en zonas limpias y secas.

Además, también se debe asegurar una estricta higiene durante y después del ordeño (Bradley, 2002): por ejemplo, la utilización del pre-dipping antes del ordeño también ha conseguido disminuir la incidencia de mamitis por patógenos ambientales en algunos rebaños (Smith y Hogan, 2001).

- b) El incremento de la resistencia de los animales a las infecciones. Se ha utilizado la vacunación (contra *E. coli* y se ha estudiado contra *Str. Uberis*), mejoras en la dieta (aportes de vitaminas A, E y beta-caroteno y de minerales traza selenio, cobre y zinc; Weiss, 2002; O'Rourke, 2009), la mejora genética (Pighetti, 2006; Osteras y Steine, 2007) o la disminución del estrés (Smith y Hogan, 2001).
- c) La utilización de antibióticos de modo profiláctico en el secado. Este tratamiento reduce la incidencia de IIM en las dos primeras semanas tras el secado, pero no protege de las nuevas infecciones que puedan ocurrir en el entorno del parto (Hogan y Smith, 2003). En los últimos años se han utilizado selladores internos del pezón, sin actividad antimicrobiana (subnitrato de bismuto), que han mostrado un efecto en la reducción de nuevas IIM en las dos semanas antes del parto (Woolford et al., 1998; Huxley et al., 2002).

Sin embargo, el éxito de estas medidas específicas ha sido muy variable entre explotaciones, incluso en aquellas que realizan un buen manejo y han controlado las mamitis contagiosas y mantienen unos bajos recuentos en la leche de tanque (Hogan et al., 1989; Bradley, 2002). Además, los progresos en el control de los patógenos ambientales es más difícil de evaluar dado su limitado impacto sobre las infecciones subclínicas y el RCS de la leche de tanque y, en general, la falta de registros de los casos de mamitis clínicas.

Por tanto, podemos concluir que aún existen muchas lagunas en nuestro conocimiento relacionadas con el control de la mamitis y que muchos aspectos fisiológicos del proceso infeccioso no los comprendemos suficientemente (Smith y Hogan, 2001). Ahora bien, los estudios que se están llevando a cabo en el campo de la epidemiología molecular deberían permitir que, en un futuro, tengamos un mayor conocimiento de la relación que existe entre el genoma y la capacidad de adaptación de los patógenos al hospedador, lo cual debería servir para establecer medidas que permitan una reducción de las mamitis clínicas y subclínicas en las granjas (Zadoks y Schukken, 2006). Por ejemplo, se han identificado cepas de

gérmenes, en principio clasificados como ambientales, que se transmiten como los contagiosos y viceversa (Schukken et al., 2008).

4. RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS

4.1. DEFINICIÓN Y TIPOS DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LA LECHE

La leche de todos los mamíferos contiene distintos tipos de células que provienen del propio organismo animal, y que no tienen capacidad para multiplicarse en la leche, a diferencia de las células de los microorganismos. En la década de los 60 el profesor M.J. Paape acuñó por primera vez el concepto de células somáticas (Contreras, 2000) para referirse a este tipo de células ("somático"= relativo al cuerpo), término que se suele utilizar hoy en día bajo la denominación de recuento de células somáticas (RCS). Las células somáticas presentes en la leche pueden clasificarse, según su origen, en dos grandes grupos: a). células de origen sanguíneo y b). células epiteliales.

Las **células de origen sanguíneo** son en su totalidad leucocitos: macrófagos, polimorfonucleares (principalmente neutrófilos) y linfocitos (Sordillo, 2005). En general, se considera que la presencia en la leche de estos tipos celulares es de origen, fundamentalmente, inflamatorio e inmunitario. Las **células epiteliales** de la leche provienen de la descamación del epitelio alveolar y de los conductos de la glándula mamaria. El significado de la presencia de este tipo de células en la leche es principalmente fisiológico, por regeneración normal de los epitelios.

En ausencia de infección intramamaria el RCS de la leche frecuentemente es inferior a 100.000 - 200.000 céls/ml y, además, contiene todas los tipos celulares descritos. El principal tipo celular son los macrófagos (entre el 40 y 80% de las células somáticas), mientras que los linfocitos representan el 20-30%, los PMN entre el 5-20% y las células epiteliales entre un 0-15% (Lee et al., 1980; Paape y Miller, 1988). Ante un proceso inflamatorio, cualquiera que sea la causa, se produce un incremento del trasvase de leucocitos a la leche, especialmente de PMN, por quimiotactismo y diapedesis (Sordillo, 2005). De este modo, la presencia de

leucocitos en la leche y, por tanto, el RCS, puede considerarse un indicador del estado inflamatorio de la glándula mamaria (Harmon, 1994). Así mismo, cuando existe una mastitis los PMN pueden llegar a representar más del 90% de las células somáticas (Harmon, 1994).

El RCS se puede determinar en tres tipos de muestras de leche: glándula, ubre o tanque. El RCS a nivel de glándula solamente se realiza en trabajos de investigación o en muestras de cuarterones que han sufrido mastitis clínica. Por el contrario, existe mucha más información sobre el RCS de leche de ubre, ya que este parámetro suele determinarse en las muestras del control lechero. Lo mismo ocurre con el RCS en la leche de tanque, puesto que en muchos países se utiliza esta variable en el pago de la leche al ganadero (primas o penalizaciones) e, incluso, existen límites administrativos para que la leche pueda ser comercializada.

4.2. FACTORES QUE INFLUYEN SOBRE EL RCS

4.2.1. Factores infecciosos

La presencia de IIM es el principal factor que influye sobre el RCS a nivel de cuarterón, ubre o leche de tanque. En ausencia de IIM el RCS a nivel de cuarterón o ubre, aunque sufre fluctuaciones, se sitúa generalmente por debajo de 200.000 céls/ml, e incluso por debajo de 100.000 céls/ml, especialmente en las vacas de primer parto. Por ejemplo, Eberhart et al. (1979) encontraron que el 50% y el 80% de las vacas no infectadas tenían un RCS por debajo de 100.000 céls/ml y 200.000 céls/ml, respectivamente. Cuando los recuentos se elevan por encima de estos niveles es indicativo de que existe un proceso inflamatorio en la ubre. Los principales patógenos que provocan un mayor incremento del RCS, denominados patógenos mayores, son: *S. aureus*, *Str. agalactiae*, otros estreptococos y los coliformes. En estos casos los recuentos medios son superiores a 500.000 céls/ml y, frecuentemente, a un millón de céls/ml (Reneau, 1986). Por el contrario, los ECN y *C. bovis*, denominados patógenos menores, habitualmente solo provocan una moderada inflamación, alcanzando unos recuentos medios entre 200.000 y 500.000 céls/ml, es decir 2 ó 3 veces respecto a los recuentos de las ubres sanas (Harmon, 1994; Sampimon et al., 2009); no obstante, en ocasiones los recuentos también pueden ser más elevados, especialmente cuando estos gérmenes provocan una mastitis clínica (Smith y Hogan, 2001). Además, el incremento de RCS que produce

cada patógeno también depende del animal, por lo que no es posible identificar a un patógeno a partir del RCS.

Otro aspecto a destacar es que en las glándulas infectadas el RCS tiende a fluctuar, en ocasiones en gran medida, a lo largo del tiempo (Harmon, 1994). Incluso, también puede ocurrir que, tras la eliminación del germen de la glándula, el RCS aún tarde en descender días, semanas o incluso más tiempo (Shultz, 1977).

4.2.2. Factores no infecciosos

Estado y número de lactación

Cuando no se tiene en cuenta el estado infeccioso de la glándula, el RCS generalmente aumenta al avanzar la edad y el estado de lactación. Sin embargo, cuando se consideran únicamente las vacas libres de IIM el RCS varía en mucha menor medida con los dos factores citados (Eberhart et al., 1987).

Tras el parto, todas las glándulas tienen elevados recuentos, pero solamente en las sanas se observa un rápido descenso hasta los 35 días post-parto. En estas glándulas, posteriormente los recuentos tienden a elevarse de forma moderada a medida que avanza la lactación, siendo este incremento mayor hacia el final de la lactación, cuando la producción disminuye marcadamente. Este resultado puede interpretarse como un fenómeno de dilución/concentración ya que la evolución del RCS a lo largo de la lactación es la imagen inversa de la curva de producción de leche (Harmon, 1994; Schepers et al, 1997). En las glándulas infectadas, especialmente en el caso de los patógenos mayores, el incremento del RCS al avanzar el estado de lactación es más acusado. Por ejemplo, Sheldrake et al. (1983) encontraron que los recuentos en los días 35 y 285 post-parto fueron de 83.000 y 160.000 céls/ml, respectivamente, en las glándulas sanas, mientras que fueron de 234.000 y 1 millón de céls/ml, respectivamente, en las glándulas infectadas por *S. aureus*.

En las glándulas sanas el RCS muestra pocos cambios a medida que aumenta el número de lactación (Sheldrake et al., 1983). Sin embargo, algunos autores han encontrado que, en ausencia de IIM, existe una interacción entre el número y el estado de lactación. Ello es debido a que en las vacas primíparas, respecto a las multíparas, los recuentos en el momento del parto son más elevados, disminuyen menos en el pico de lactación y también aumentan menos a medida que avanza la lactación (Schepers et al., 1997).

Estrés

Algunos trabajos han encontrado que ciertos tipos de estrés pueden elevar de forma modesta el RCS. Por ejemplo, el someter a los animales a un fuerte ejercicio (andar unos 10 km al día; Coulon et al., 2005) o al ser transportados en camiones durante 4 horas (Yagi et al., 2004) se produce un aumento del cortisol en sangre y del RCS en la leche. Sin embargo una parte de esta diferencia podría ser un efecto indirecto provocado por el descenso de la producción de leche (habitualmente del 10 al 20%; Harmon, 1994). Otros tipos de estrés, como el estrés térmico, el reagrupamiento, el traslado a nuevas instalaciones, las pequeñas corrientes eléctricas ("stray voltage"), la inyección de ACTH o corticosteroides, o la presencia de celo apenas afectan al RCS (Paape et al., 1973; Guidry et al., 1975; Wegner et al., 1976; Arave y Albright, 1976; Varner et al., 1983; Lefcourt et al., 1986; Gorewit et al., 1992). En cualquier caso, parece que el estrés podría afectar en mayor medida al RCS en las vacas con IIM que en las vacas sanas (Reneau, 1986; Coulon et al., 2004).

Estacionalidad

El RCS generalmente es menor durante el invierno y mayor durante el verano. Además, en esta última época también existe un mayor número de casos de mamitis clínicas y de incidencia de mamitis por patógenos ambientales. Esto sería debido a que en los meses de verano, la elevada temperatura y humedad ambiental aumenta la concentración de patógenos en las camas y, por tanto, existe una mayor exposición del extremo del pezón a estos gérmenes, lo que resulta en una mayor incidencia de IIM y casos de mamitis clínicas (Philpot y Nickerson, 2002).

Otros factores

El RCS varía con la fracción de leche tomada durante el ordeño. La leche de los primeros chorros recogida antes del ordeño tiene un RCS ligeramente superior respecto a la leche obtenida en el ordeño (Paape y Tucker, 1966; Sarikaya y Bruckmaier, 2006), si bien ambas presentan una elevada correlación ($r=0.86$; Harmon, 1994). Sin embargo, la leche de apurado, tomada al finalizar el ordeño, presenta recuentos mucho más elevados, con incrementos entre 3 y 70 veces (Harmon, 2001; Riekerink et al., 2006). Esto es debido a que en el momento del ordeño existe una mayor concentración de células somáticas en la zona alveolar.

El tiempo transcurrido entre ordeños también influye sobre el RCS. En las primeras 4 horas tras un ordeño los recuentos son muy elevados, dado que se produce un descenso masivo de células que se encontraban en la leche residual del ordeño anterior. Posteriormente, los recuentos van disminuyendo gradualmente, a medida que la glándula va sintetizando más leche y ésta va diluyendo la leche residual que había quedado (Riekerink et al., 2006).

En las glándulas sanas el RCS también presenta una importante variabilidad diaria, aunque manteniendo siempre los recuentos por debajo de 200.000 céls/ml (Reneau, 1986; Harmon, 1994).

Algunos trabajos han encontrado diferencias raciales en los valores de RCS, aunque no es descartable que sea debido a causas infecciosas (diferencias en la prevalencia y etiología), más que a diferencias fisiológicas en los recuentos en ausencia de IIM (Harmon, 1994).

4.3. INTEGRACIÓN DEL RCS EN UN PROGRAMA DE CONTROL DE MAMITIS

El registro del RCS a nivel de ubre (control lechero) o de leche tanque (pago de la leche) representa un instrumento muy eficaz para controlar el estado sanitario de la ubre en un rebaño. Estos registros deben ser múltiples (cada mes, en el

control lechero; cada semana en la leche de tanque), dado que un valor individual de RCS aporta poca información, dada la influencia de los factores no infecciosos (Harmon, 1994).

Por otra parte, la interpretación del RCS es particularmente aplicable en los rebaños con elevada frecuencia de mamitis causadas por patógenos contagiosos. En estos casos, las mamitis tienden a ser de larga duración y, por tanto, se observa que un incremento de la incidencia de IIM se traduce en un aumento de la prevalencia y, por consiguiente, también aumenta el RCS del tanque o de los valores medios del control lechero. Por el contrario, en los rebaños que se encuentran afectados principalmente por patógenos ambientales, los cuales producen generalmente infecciones de corta duración, no siempre se observa que las variaciones de incidencia de IIM ocasionen aumentos en la prevalencia de IIM o de RCS en la leche de tanque. Esto último se debe a que es frecuente que la leche procedente de las glándulas afectadas sea eliminada por ser anormal (mamitis clínica) o haber recibido un tratamiento con antibióticos (Smith y Hogan, 2001). Por ejemplo, los rebaños en los que predominan las mamitis ambientales podrían tener un RCS en la leche de tanque inferior a 300.000 céls/ml (e incluso inferior a 200.000 céls/ml) y la prevalencia de IIM podría ser inferior del 10% de los cuarterones (Harmon, 1994).

Las asociaciones del control lechero de EEUU (Dairy Herd Improvement, DHI) han adoptado un sistema de puntuación para el RCS de las vacas individuales (control lechero) en el que se divide el RCS en 10 categorías, de modo que al aumentar una categoría los recuentos se duplican respecto a la anterior (Tabla 1). Esta puntuación fue propuesta por el Dr. Shook (Peters, 2002), ya que comprobó que esta transformación del RCS estaba más relacionada con las pérdidas de producción de leche que los recuentos directos (Raubertas y Shook, 1982). También tiene la ventaja, respecto al RCS de la leche de tanque, de que los cambios de un pequeño número de vacas no cambia marcadamente la puntuación media del rebaño; además, aproximadamente la mitad de las vacas tiene una puntuación inferior (y la otra mitad superior) a la puntuación media del rebaño (Harmon, 1994).

Tabla 1. Puntuación lineal del RCS individual (Philpot y Nickerson, 2002)

Puntuación lineal	Recuento de Células Somáticas.	
	Valor Medio.	Rango.
0	12.500	0 a 17.000
1	25.000	18.000 a 34.000
2	50.000	35.000 a 70.000
3	100.000	71.000 a 140.000
4	200.000	141.000 a 282.000
5	400.000	283.000 a 565.000
6	800.000	566.000 a 1.130.000
7	1.600.000	1.131.000 a 2.262.000
8	3.200.000	2.263.000 a 4.525.000
9	6.400.000	más de 4.525.000

Ambas variables (RCS de la leche de tanque y puntuación lineal del RCS media del rebaño) están relacionadas con el estado sanitario del rebaño y deberían ser utilizadas para registrar las tendencias y detectar la aparición de posibles problemas. Así, los objetivos que debería marcarse una explotación de vacuno lechero serían disminuir el RCS de la leche de tanque hasta las 150.000 céls/ml, y que la puntuación lineal del RCS media del rebaño disminuya cada año hasta alcanzar una puntuación media de 3,3 (Philpot y Nickerson, 2002) y que el porcentaje de vacas con una puntuación lineal ≤ 4 sea al menos del 90% (NMC, 2010). Otro objetivo sería que, si se calcula para cada animal su puntuación media durante la lactación, el valor obtenido debería de llegar a 2 (Schukken et al., 2003).

El RCS individual también puede ser utilizado para estimar la presencia de IIM. Por ejemplo, puede utilizarse un umbral entre 200.000 y 250.000 céls/ml para distinguir entre glándulas/ubres sanas e infectadas (Schukken et al., 2003), aunque este umbral debería elevarse en los rebaños con muy baja prevalencia (Dohoo, 2001). Por otra parte, Reneau (1986) sugiere utilizar un umbral de 283.000 céls/ml

o una puntuación lineal de ≥ 5 para identificar las vacas infectadas, lo que permitiría clasificar correctamente el 75-80% de los animales.

Además, los registros del RCS del control lechero también pueden ser utilizados para estimar el tipo de etiología infecciosa que existe en la explotación o conocer los puntos más problemáticos del manejo de la granja. Veamos unos ejemplos (Peters, 2002):

- 1) Cuando en un rebaño la mayoría de las vacas (por ejemplo $> 80\%$) tienen una puntuación lineal del RCS inferior a 5 es indicativo de que en la explotación se han controlado las mamitis contagiosas y la mayoría de mamitis se deben a patógenos ambientales.
- 2) Es conveniente comparar los recuentos individuales de un control lechero (CL) respecto al control previo (CLP), para contabilizar la distribución de los animales en cuatro tipos :
 - a) Vacas no infectadas: puntuación lineal en CLP ≤ 4 y en CL ≤ 4
 - b) Nuevas infecciones: puntuación lineal en CLP ≤ 4 y en CL > 4
 - c) Infecciones curadas: puntuación lineal en CLP > 4 y en CL ≤ 4
 - d) Infecciones crónicas: puntuación lineal en CLP > 4 y en CL > 4

Esta distribución debería ser observada cada mes. Si existen muchos animales con infección crónica es indicativo de que en la explotación son frecuentes las mamitis contagiosas. Si las nuevas infecciones son elevadas y también el número de infecciones curadas, es indicativo de que son frecuentes las infecciones por patógenos ambientales.

- 3) **Terneras/primíparas.** Un importante concepto en el control de mamitis es que el estado sanitario de la ubre del global del rebaño no puede ser mejor que el que exista en las vacas primíparas. Por tanto, la prevalencia y el RCS de las terneras debería ser lo más bajo posible y debería permanecer así durante toda la lactación. Si en el primer control lechero la puntuación lineal del RCS es > 3 , es necesario evaluar el proceso de cría de estos animales. El promedio de los controles de las

vacas primíparas debería ser < 3 , con más del 90% de animales con una puntuación lineal < 4 .

- 4) **Secado.** Si la puntuación lineal del RCS en el primer control realizado en lactación consistentemente supera el promedio mensual de todo el rebaño, o es tan elevado como al final de la lactación, es indicativo de que existen problemas en el secado (método de secado, administración de antibióticos, alojamiento y medio ambiente, cuidados en el periparto, mamitis crónicas...). Normalmente, al menos el 80% de las vacas con recuentos elevados al secado deberían tener bajos recuentos al siguiente parto (Shuckken et al., 2003).
- 5) **Lactación.** Se debe evaluar la tendencia de puntuación lineal del RCS para cada estado de lactación (ejemplo: 0-39 días; 40-99 días; 100-199 días; + 200 días) y número de lactación (1, 2 y ≥ 3). Si se observa un incremento de la puntuación lineal del RCS en las primíparas a mitad de la lactación, respecto al inicio de la lactación, sería indicativo de que existen deficiencias en el ordeño, particularmente si se deben a patógenos contagiosos.

La utilización del RCS individual permitirá que el ganadero se plantee para cada animal aplicar alguna de las siguientes estrategias: eliminación (vacas crónicas), secado precoz, segregación (o identificación para desinfectar las pezoneras) o separar la leche de vacas con altos RCS para mantener el RCS del tanque por debajo de un umbral. En los países nórdicos también se utiliza para aplicar un tratamiento de secado selectivo, aunque en otros países, como EEUU, no se recomienda esta práctica.

Finalmente, debemos explicitar que si el RCS individual sugiere que existe un problema en la explotación, es conveniente aplicar otras herramientas (cultivos de leche de tanque o individual, evaluación de la máquina de ordeño, visitar específicamente el rebaño...) antes de obtener conclusiones definitivas y establecer recomendaciones. Por ejemplo, en el caso de que sean frecuentes las mamitis por estreptococos ambientales o coliformes, sería mejor realizar el seguimiento del

programa de control de mastitis establecido en base al registro de mastitis clínicas (objetivo < 20% anual; Schukken et al., 2003), cultivos bacteriológicos de la leche de vacas recién paridas o que van a secarse o que están afectadas de mastitis clínicas, que por el seguimiento del RCS individual o la realización de cultivos de la leche de tanque (NMC, 1997)

4.4. RELACIÓN DEL RCS CON LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LA LECHE

Producción de leche

El incremento del RCS en la leche de tanque va a tener una gran repercusión económica para el ganadero, principalmente porque los animales afectados de IIM producirán menos leche (García, 2004). Este descenso se produce como consecuencia del daño que ocasionan las bacterias al tejido mamario encargado de llevar a cabo la síntesis de la leche.

Algunos trabajos han estimado que si el RCS de la leche de tanque supera las 200.000 céls/ml la producción de leche disminuirá en un 2,5% por cada incremento de 100.000 céls/ml del RCS (Hernández y Bedoya, 2008). Por ejemplo, cabe esperar que las granjas con un RCS de tanque de 500.000 céls/ml., tendrán una pérdida de producción de leche de un 7,5% debido principalmente al efecto de la mastitis subclínica (Blowey y Edmonson, 1995).

A partir de los registros del RCS individual (leche de ubre) también se ha observado una relación negativa entre el RCS y la producción de leche, aunque las pérdidas por lo general son menores en comparación a la que se obtiene a nivel de cuartos individuales (debido a un efecto de dilución; Tyler et al., 1989), o en los trabajos en donde se evalúa la producción por lactancia (Batra, 1986; Youl y Nicholls, 1987).

Ali y Shock (1984) demostraron que utilizando la transformación logarítmica de los recuentos era posible estimar con mayor precisión la relación negativa entre el RCS y la producción de leche (Pedraza et al., 1994b). Esta relación también ha sido confirmada en otros muchos trabajos (Miller et al., 1983; Dohoo et al., 1984; Jones et al., 1984; Salsberg et al., 1984; Batra, 1986; Tyler et al., 1989). Así mismo,

tal y como ya se ha comentado anteriormente, en Estados Unidos se utiliza la puntuación lineal del RCS del control lechero, ya que está más relacionado con las pérdidas de producción de leche. En este caso, al aumentar un nivel de puntuación lineal el RCS se duplica y la producción de leche durante una lactación disminuye en 90 litros en las vacas primíparas, y en 180 litros en las vacas múltiparas (Harmon, 1994). Pedraza y Rodríguez, (1988) también comprobaron que, para un mismo incremento del RCS, las pérdidas de producción de leche eran superiores en las vacas múltiparas que en las primíparas. Algunos trabajos han encontrado que la producción de leche disminuye a partir de 245.000 céls/ml (Tyler et al., 1989) o incluso a partir de 148.000 céls/ml (Dahoo et al., 1984).

Composición de la leche

En general, la presencia de mamitis provoca un aumento de ciertas características indeseables de la leche, como las enzimas proteolíticas, sales y rancidez, y al mismo tiempo disminuyen algunos componentes deseables como caseínas, grasa y lactosa. Además también se reduce el rendimiento quesero y la estabilidad térmica (Londoño, 2005).

Según Philpot y Nickerson (2002) los componentes mayoritarios de la leche que disminuyen por la mamitis son: lactosa (5-20%), caseína (6-18%), grasa (5-12%) y sólidos totales (3-12%); además ciertos minerales (calcio, fósforo y potasio) también disminuyen. Por el contrario, cuando existe una mamitis aumentan las proteínas séricas, el cloro, el sodio y el pH. El nivel de proteína total permanece relativamente estable debido a cambios en direcciones opuestas de las caseínas y las proteínas del suero (Monardes y Barria, 1995). Algunos trabajos encuentran que los cambios en la composición de la leche se inician a partir de recuentos tan bajos como 150.000 céls/ml (Bouman, 2005a).

A nivel industrial, la mamitis afecta a la leche y sus derivados lácteos, causando rancidez y gusto indeseable durante la conservación. La leche condensada se vuelve un producto inestable. La producción de queso y las propiedades de coagulación también se ven afectadas (Monardes y Barria, 1995). Hay numerosos trabajos que han encontrado que el rendimiento quesero disminuye a medida que aumenta el recuento celular (Monardes y Barria, 1995) y se pierden

muchos sólidos en el suero. Por ejemplo, con recuentos de un millón de céls/ml el rendimiento quesero disminuye en un 10% (Monardes y Barria, 1995). Además, la textura del queso también puede verse afectada e incluso puede aparecer un gusto desagradable. En la leche comercializada también puede aparecer un sabor a rancio, debido a que la mamitis también eleva el contenido en ácidos grasos libres en la leche (NMC, 1987). El tiempo de conservación de la leche pasteurizada disminuye cuando los recuentos son superiores a 500.000 céls/ml, en comparación a recuentos inferiores a 250.000 céls/ml (Londoño, 2005). El gusto y el aroma de la mantequilla también se ven alteradas con el uso de leche con mamitis. En la leche en polvo y en la leche esterilizada también puede aparecer un gusto desagradable, pudiendo incluso gelificar la leche esterilizada debido a la mayor cantidad de enzimas termorresistentes que contienen (Bouman, 2005a).

II. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

1. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En Venezuela existe actualmente un gran interés en mejorar la producción de leche de vaca, tanto en términos cuantitativos, ya que Venezuela es un país deficitario en leche, como en los aspectos relacionados con la calidad de la leche. No obstante, las condiciones ambientales tropicales que existen en nuestro país dificultan la explotación, en régimen de pastoreo, de razas especializadas en la producción de leche, como la Holstein y el Pardo Suizo, dado que estas razas presentan graves problemas de adaptación a las altas temperaturas, humedades y cargas de parásitos. Por este motivo, la mayor parte de la leche que se obtiene en Venezuela procede principalmente de vacas mestizas con cebú y, también, de razas autóctonas que, si bien tienen menores niveles productivos, poseen una buena adaptación a las extremas condiciones ambientales tropicales.

Una de estas razas autóctonas, de aptitud mixta carne-leche, es la raza Carora cuya producción media es muy variable, dentro de un rango de 8 a 25 litros por vaca y día. Se estima que existe un censo de casi 8000 vacas explotadas en 112 rebaños y que producen casi 30 millones de litros de leche al año. Además, recientemente esta raza también se ha exportado a otros países vecinos. Los ganaderos están organizados en una asociación (ASOCRICA) y desarrollan un programa de mejora genética encaminado a mejorar la producción de leche, manteniendo la rusticidad de los animales.

Sin embargo, en la actualidad apenas existe información sobre la calidad higiénico-sanitaria de la leche producida en las granjas que explotan la raza Carora y, más concretamente, sobre la presencia de mamitis en los rebaños, y no existen datos sobre el RCS tanto a nivel de tanque como de muestras individuales. Esto se debe a varios motivos. En primer lugar porque la industria paga la leche a los ganaderos solamente en función del contenido en grasa y del volumen de leche comercializada, pero en los laboratorios de análisis (de las propias industrias) no se determina el RCS ni el recuento de gérmenes. En segundo lugar, porque ASOCRICA tampoco analiza el RCS en las muestras de control lechero, dado el elevado coste de los equipos automáticos, ni desarrolla un programa de control de mamitis que incluya análisis bacteriológicos de muestras de leche. En tercer lugar, porque en Venezuela no existe ninguna normativa nacional que establezca un límite

máximo de células somáticas en la leche de tanque para que ésta pueda ser comercializada. Finalmente, tampoco se dispone de trabajos previos de investigación sobre la prevalencia y etiología de las infecciones intramamarias en las explotaciones de la citada raza.

Por todos estos motivos se ha planteado la presente Tesis Doctoral con el objetivo genérico de realizar un estudio sobre el estado sanitario de la ubre y el RCS de la leche en las explotaciones de Raza Carora. En concreto se plantean los siguientes principales objetivos:

- a) Realizar una primera estimación sobre la prevalencia y etiología de las infecciones intramamarias a nivel de ubre, y como varían con el estado y número de lactación, el sistema de explotación (estabulación o en pastoreo) y la época del año.
- b) Conocer los valores del RCS, tanto en muestras de leche de tanque como en muestras de control lechero, y la posible influencia de ciertos factores no infecciosos (número y estado de lactación, sistema de explotación y época del año) y de la presencia de infección intramamaria.
- c) Estudiar la relación entre el RCS individual y la producción de leche de las vacas.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. DISEÑO EXPERIMENTAL ¹

El experimento se llevó a cabo en 10 explotaciones pertenecientes a la Asociación Venezolana de Criadores de Ganado Carora (ASOCRICA). En la mitad de ellas las vacas estaban estabuladas permanentemente, mientras que en la otra mitad los animales practicaban el pastoreo. Todas las explotaciones elegidas tenían más de 80 vacas.

Con objeto de poder separar los efectos “estación” (época del año), “estado de lactación” y “número de lactación” de las vacas sobre el RCS individual, se planteó un diseño experimental que consistió en realizar tres controles (Febrero-Marzo, Junio-Julio, Noviembre) de 51 animales de cada explotación distribuidos de acuerdo a la Tabla 1. En el primer control los animales fueron elegidos al azar, de entre todos los que reunían las características de número y estado de lactación especificados en la citada Tabla 1.

Tabla 1. Número de vacas muestreadas en cada control, según número y estado de lactación.

Nº de lactación.	Estado de Lactación.			
	Inicio (7-100 d)	Mitad (101-200 d)	Final (> 201 d)	TODAS
1	7	7	7	21
≥ 2	10	10	10	30
TODAS	17	17	17	51

En el segundo control, cuatro meses después del primero, inicialmente se intentaron muestrear las mismas vacas del primer control. Sin embargo, también fue necesario incorporar nuevos animales para sustituir a los que ya no se encontraban en lactación (secas o eliminadas) o ya no estaban al inicio de la

1. El diseño experimental estuvo condicionado por las limitaciones presupuestarias y la ubicación geográfica del laboratorio donde se debía analizar el RCS (Univ. Politécnica de Valencia, a miles de Km. de las explotaciones), dado que en Venezuela no se disponen de equipos automáticos para analizar este parámetro. Por este motivo no se pudo llevar a cabo un diseño experimental basado en registros mensuales del RCS de todas las vacas de varios rebaños.

lactación y, así, mantener el plan de muestreo explicitado en la tabla anterior. Esta misma planificación del muestreo se siguió en el tercer control. En total se tomaron 1.530 muestras de leche individual (51 x 10 explotaciones x 3 controles), procedentes de 958 vacas (406 de 1 parto y 552 $\geq$ 2 partos; Tabla 2 y Tabla 3), para llevar a cabo el análisis del RCS.

Tabla 2. Número de nuevas vacas de **primer parto** muestreadas en cada uno de los tres controles realizados en las 10 granjas utilizadas en el experimento.

	Control: 1			Control: 2			Control: 3			Total
	Periodo de Lactancia			Periodo de Lactancia			Periodo de Lactancia			
Granja	Inicio	Mitad	Final	Inicio	Mitad	Final	Inicio	Mitad	Final	
1	7	7	7	7	4	1	6	3	1	43
2	7	7	7	7	2	0	7	2	1	40
3	7	7	7	5	3	3	7	2	0	41
4	7	7	7	7	1	0	7	1	1	38
5	7	7	7	7	0	1	7	4	4	44
6	7	7	7	7	0	0	7	2	3	40
7	7	7	7	7	3	1	6	0	1	39
8	7	7	7	4	0	0	7	6	0	38
9	7	7	7	7	1	0	7	2	1	39
10	7	7	7	7	0	1	7	4	4	44
Total	70	70	70	65	14	7	68	26	16	406

Tabla 3. Número de nuevas vacas de **dos o más partos** muestreadas en cada uno de los tres controles realizados en las 10 granjas utilizada en el experimento.

	Control: 1			Control: 2			Control: 3			Total
	Periodo de Lactancia			Periodo de Lactancia			Periodo de Lactancia			
Granja	Inicio	Mitad	Final	Inicio	Mitad	Final	Inicio	Mitad	Final	
1	10	10	10	7	2	1	8	3	1	52
2	10	10	10	8	1	1	8	4	4	56
3	10	10	10	7	2	1	8	8	5	61
4	10	10	10	9	2	2	8	6	1	58
5	10	10	10	6	0	1	10	5	3	55
6	10	10	10	10	0	0	8	6	2	56
7	10	10	10	8	4	0	6	5	0	53
8	10	10	10	8	2	0	9	4	0	53
9	10	10	10	7	5	0	8	0	0	50
10	10	10	10	9	1	3	9	6	0	58
Total	100	100	100	79	19	9	82	47	16	552

Además, en cada control también se tomaron muestras de leche de cada animal para llevar a cabo un análisis bacteriológico, se registró la producción de leche y, finalmente, se tomó una muestra de leche del tanque para analizar el RCS.

2. CARACTERÍSTICAS DE LAS EXPLOTACIONES

Este trabajo se desarrolló en 10 explotaciones de ganado vacuno de raza Carora, situadas en el Estado Lara de Venezuela (Figura 1).



Figura 1. Mapa de ubicación del Estado Lara en Venezuela.

Las granjas estaban adscritas a la Asociación Venezolana de Criadores de Ganado Carora (ASOCRICA). En todas ellas se trataba con antibióticos a las vacas lactantes con mamitis clínica y, en 9 explotaciones, también se aplicaban antibióticos intramamarios cuando se realizaba el secado de las vacas. En el momento de iniciar esta investigación solamente se estaba realizando la Prueba de California Mastitis Test en 2 de las 10 granjas. En todas las granjas se realizaba un mantenimiento preventivo del tanque de enfriamiento de la leche, al menos una vez al mes, y anualmente se llevaba a cabo una revisión del equipo de ordeño.

En 5 explotaciones (nº 1, 2, 3, 4 y 5; Tabla 4) las vacas estaban permanentemente estabuladas, sin salir al pasto, y la alimentación la recibían en los corrales donde se alojaban. Las vacas estaban separadas por lotes según número y estado de lactación, ordeñándose con el siguiente orden: vacas de primera lactación, vacas de 2 o más lactancias y, finalmente, las vacas que se encontraban al final de la lactancia y que provenían de los lotes anteriores. La rutina de ordeño que se utilizaba en estas granjas variaba según la época del año. En verano (noviembre - abril) existen muy pocas precipitaciones (200-300 mm al mes) de modo que las explotaciones suelen utilizar la siguiente rutina: predipping, secado del predipping, prueba de fondo negro (evaluación de los primeros chorros de leche, para diagnóstico de mamitis clínica), colocación de las pezoneras y, al finalizar el ordeño, el post-sellado de los pezones. En invierno (mayo a octubre) se producen más precipitaciones (alrededor de 500 mm al mes) de modo que las ubres y pezones de las vacas llegaban al ordeño sucias y con mucho barro. Por este motivo, los ganaderos suelen incorporar a la rutina anterior el lavado de los pezones antes de la aplicación del predipping (Figura 2).

En las 5 explotaciones restantes (nº 6, 7, 8, 9 y 10; Tabla 4) las vacas salían a pastar después del ordeño. Las vacas también se separaban y ordeñaban por lotes: primero el lote de vacas de primera y segunda lactación y los animales con mayor producción de leche y, a continuación, el lote de vacas de menos producción y las que estaban al final de la lactación y próximas al secado. En estas granjas se utilizaba la siguiente rutina de ordeño: lavado de los pezones, secado de los pezones, prueba de fondo negro, colocación de pezoneras y, tras finalizar el ordeño, el post-sellado de cada uno de los pezones. En general, el nivel productivo de las vacas de estas explotaciones (producción de leche por vaca y día) era

inferior a las producciones de las otras 5 explotaciones que estaban en estabulación (Tabla 4).

Tabla 4. Características generales de las explotaciones.

N° Explotación	Nombre	N° Vacas	Lts/vaca	Lts/Granja	Sistema de Explotación	Rutina de Ordeño
1	San Rafael	144	17.5	1764	Estabulado	Con Predipping
2	El Callao	170	15.0	1950	Estabulado	Con Predipping
3	El Danubio	332	20.2	6700	Estabulado	Con Predipping
4	La Romana	505	19.1	8500	Estabulado	Con Predipping
5	El Guayabo	105	14.0	1100	Estabulado	Con Predipping
6	San Carlos	175	9.0	590	Pastoreo	Sin Predipping
7	La Baragueña	123	12.4	950	Pastoreo	Sin Predipping
8	Oso Blanco	101	14.2	1100	Pastoreo	Sin Predipping
9	Doña Antonia	81	14.0	650	Pastoreo	Sin Predipping
10	Sicarigua	730	12.5	6122	Pastoreo	Con Predipping
Total	10 granjas	2466	14.8	2943	-	-

Nota: **Lts/vaca:** litros de leche por vaca y día; **Lts/Granja:** litros de leche por granja y por día. **Estabulado:** vacas en estabulación completa; **Pastoreo:** las vacas salen a pastar. **Con Predipping:** se aplicaba pre-sellado, secado del pre-sellado, prueba de fondo negro, ordeño y post-sellado. **Sin Predipping:** en la rutina de ordeño anterior, sustitución del pre-sellado por un lavado y secado de los pezones. Información aportada por ASOCRICA

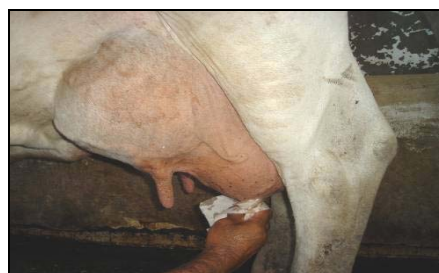
3. VARIABLES REGISTRADAS

3.1. ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO

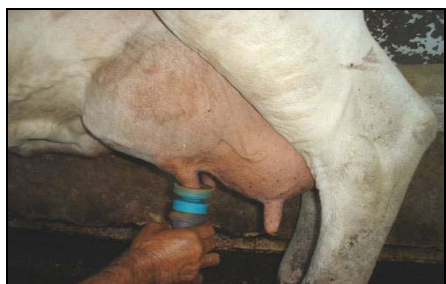
Este análisis se llevó a cabo para identificar la presencia de mamitis subclínica a nivel de ubre. Las muestras de leche se tomaban antes del ordeño, recogiendo una mezcla de leche de los cuatro pezones de cada animal. Previamente se limpiaba el extremo de cada pezón con algodón empapado en



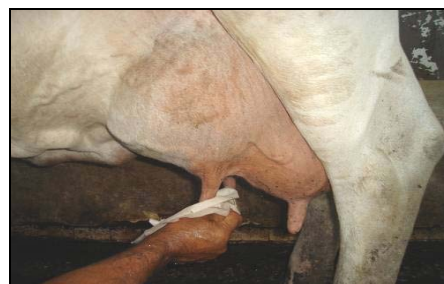
Lavado de pezones.



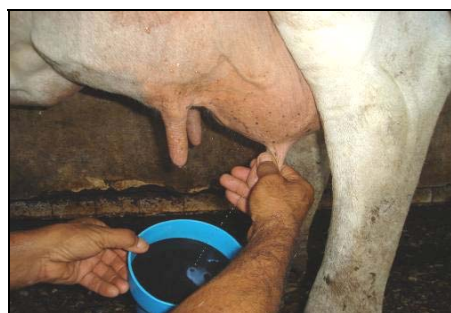
Secado de pezones



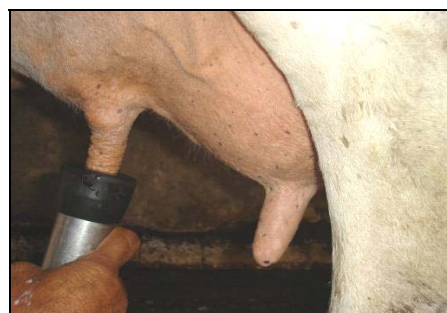
Pre-sellado



Limpieza del pre-sellado



Prueba de Fondo Negro



Colocación de pezoneras



Post-sellado

Figura 2. Operaciones realizadas en la rutina de ordeño.

alcohol isopropílico al 70%; a continuación se eliminaban los primeros chorros y se recogían unos 2 ml de cada pezón (total unos 7-8 ml) en un único tubo estéril de unos 10 ml de capacidad. Con objeto de disminuir los riesgos de contaminación en la recogida de muestras, los pezones de una ubre se limpiaban empezando desde los más alejados hasta los más cercanos al operario, mientras que la toma de la muestra se llevaba a cabo en orden inverso (Figura 3).



Figura 3. Toma de muestra para análisis bacteriológico

Las muestras se mantuvieron en refrigeración (4-8 °C), un máximo de 6 horas, mientras eran transportadas hasta el laboratorio. A continuación fueron congeladas a -20 °C durante una semana, como máximo, antes de proceder a su análisis. Para realizar la siembra en medio de cultivo, las muestras se atemperaban previamente en baño María a 37 °C hasta alcanzar una temperatura de 18-20 °C. A continuación, con un asa de platino calibrada se sembraban, mediante frotis, 0.01

ml de leche en placas petri con agar-sangre, agar sal manitol y agar McConkey. Las placas se incubaban a 37 °C durante tres días, realizando lecturas diarias. La identificación, a nivel de grandes grupos bacterianos, se realizó según:

- a) las características de las colonias en cada medio de cultivo.
- b) resultados de la tinción Gram.
- c) pruebas de catalasa, coagulasa, fermentadores o no en agar-esculina y la prueba de CAMP.

Los criterios utilizados para identificar los principales grupos bacterianos se han resumido en la Tabla 5.

Tabla 5. Criterios utilizados para identificar los principales grupos bacterianos responsables de provocar mastitis subclínicas.

Tipo de Bacteria	Agar sangre	Agar Sal Manitol	Agar Mc Conkey	Coloración GRAM	Prueba Catalasa	Prueba Coagulasa	Prueba CAMP	Prueba Esculina
<i>S. aureus</i> ¹	Si	Si	-	Cocos Gram positivo	Positivo	Positivo	-	-
ECN	Si	Si	-	Cocos Gram positivo	Positivo	Negativo	-	-
<i>Strep.agalactiae</i> . ²	Si	-	-	Cocos Gram positivo	Negativo	-	Positivo	Negativo
<i>Strep. spp</i>	Si	-	-	Cocos Gram positivo	Negativo	-	Nega./Posi.	Nega./Posi.
<i>Corynebacterium spp</i>	Si	-	-	Cocobacilos Gram positivo	Positivo	-	-	-
Coliformes	Si	-	Si. Rosa ³	Bacilos Gram negativo	-	-	-	-
Otros Gram negativo	Si	-	Si. Traslucida ⁴	Bacilos Gram negativo	-	-	-	-

¹ Se han considerado todos los estafilococos positivos a la prueba de Coagulasa.

² Se han considerado todos los estreptococos positivos a la prueba de CAMP y esculina negativo

³ Fermentadores de la lactosa

⁴ No fermentan la lactosa

3.2. RECuento DE CÉLulas SOMÁTICAS

Para cada animal, las muestras de leche para determinar el RCS se tomaban siempre tras la recogida de las muestras para el análisis bacteriológico y la limpieza de los pezones, e inmediatamente antes del ordeño. Mediante ordeño manual se recogía una única muestra de cada vaca, de unos 40 ml de leche,

procedente de la mezcla de leche de los cuatro pezones (unos 10 ml de cada pezón; Figura 4). Los envases utilizados eran de material plástico de 50 ml de capacidad, a los cuales se añadían un conservante (4% de Bronopol + 1% de Azul de Metileno) para mantener las muestras en buenas condiciones antes de su análisis. En cada control también se tomaba una muestra de la leche del tanque de la explotación, a la que también se añadía el mismo conservante comentado anteriormente.



Figura 4. Toma de muestras de leche para el análisis del RCS

Las muestras permanecían en Venezuela, bajo refrigeración (4 °C), durante un periodo máximo de 2 a 5 días. Posteriormente se remitían dentro de cajas isotermas (Figura 5), con placas de refrigerante, al laboratorio lácteo de la Universidad Politécnica de Valencia utilizando una empresa de transporte urgente (2-3 días).



Figura 5. Muestras de leche para el análisis del RCS

Tras su recepción en el laboratorio, las muestras se analizaban inmediatamente o eran almacenadas a 4 °C un máximo de 24 h. En general, la determinación del RCS se llevó a cabo entre 5 y 8 días tras la recogida de las muestras.

Antes de llevar a cabo el análisis del RCS las muestras se calentaban a 40°C en baño María. A continuación la leche se mezclaba por inversión del frasco y era analizada mediante el método fluoro-opto-electrónico, utilizando un equipo automático (Fossomatic 5000; Foss Electric, Hillerod, Dinamarca; Figura 6), de acuerdo a la metodología propuesta por ISO/IDF (2008). En este equipo se mezcla una alícuota de la muestra con un colorante fluorescente (Bromuro de Etidio), el cual se une al ADN del núcleo de las células somáticas. El recuento se realiza por citometría de flujo, de forma que una parte de la mezcla se “inyecta” formando un flujo de alta velocidad por el interior de un capilar. Debido a la aceleración, las células se alinean en el centro del flujo y son contadas mediante un microscopio de fluorescencia.



Figura 6. Equipo utilizado para analizar el Recuento de Células Somáticas (Fossomatic 5000)

3.3. PRODUCCIÓN DE LECHE

Los datos de producción de leche de cada animal, así como la información relativa al número y mes de lactación, se tomaron de los registros del control

lechero, el cual se realizaba en todas las explotaciones con periodicidad mensual (ordeños de mañana y tarde). No se dispuso de información de la composición de la leche porque, en el momento de llevar a cabo la parte experimental de esta Tesis Doctoral, este parámetro no se analizaba rutinariamente en las muestras del control lechero.

4. ANALISIS DE LOS DATOS

Incidencia y prevalencia

Con los resultados del análisis bacteriológico se calculó la incidencia y prevalencia de mastitis subclínica, por explotación y de forma separada según número y estado de lactación de las vacas, control y sistema de explotación. La incidencia de mastitis se calculó como la aparición de nuevos casos de mastitis entre dos controles (en porcentaje del número de vacas que estaban sanas en el primer control), mientras que la prevalencia de mastitis se determinó como el número de vacas con IIM en un control (en porcentaje del total de vacas muestreadas en ese control). Los resultados de incidencia y prevalencia fueron analizados estadísticamente mediante el test de X^2 , utilizando el PROC FREQ del paquete estadístico SAS (2008)

RCS

Todos los análisis estadísticos del RCS fueron realizados en logaritmos, para normalizar la distribución (Ali y Shook, 1980).

El RCS de las muestras de **leche de tanque** se analizó con el siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijk} = \mu + SE_i + EXP_j(SE_i) + Control_k + e_{ijk}$$

Siendo:

$Y_{ijk} = \log_{10} (\text{RCS})$

μ = Media general

SE_i = Efecto fijo del Sistema de Explotación (estabulación libre permanente y pastoreo)

$EXP_j(SE_i)$ = Efecto aleatorio de la Explotación j, dentro del Sistema de Explotación i

$Control_k$ = Efecto fijo del control k (Febrero, Julio, Noviembre)

e_{ijk} = efecto aleatorio del error residual

Respecto al **RCS de las muestras individuales**, el estudio de los factores no infecciosos fue realizando a partir del siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijklmn} = \mu + SE_j + EXP_j(SE_i) + NL_k + V_l(EXP_j NL_k) + EL_m + Control_n + [1] \\ + \text{Interacciones} + e_{ijklmn}$$

Siendo:

Y_{ijklmn} = Variable a analizar: $\log_{10} (\text{RCS})$

μ = Media general

SE_i = Efecto fijo del Sistema de Explotación (estabulación libre permanente y pastoreo)

$EXP_j(SE_i)$ = Efecto fijo de la Explotación j, dentro del Sistema de Explotación i

NL_k = Efecto fijo del número de lactación (1 y ≥ 2)

$V_l(EXP_j NL_k)$ = Efecto aleatorio de la Vaca l dentro de la Explotación i y el número de lactación k

EL_m = Efecto fijo del estado lactación (inicio, mitad o final)

$Control_n$ = Efecto fijo del Control o época del año (Febrero, Julio, Noviembre)

Interacciones : interacciones dobles y triples entre los factores SE, NL, EL y Control

e_{ijklmn} = efecto aleatorio del error residual

El análisis estadístico anterior se llevó de forma separada para las ubres sanas, ubres infectadas y todas las ubres.

Además, el efecto de la presencia de mamitis sobre el RCS individual se estudió a partir del siguiente modelo estadístico:

$$Y_{ijklm} = \mu + ES_i + NL_j + V_k(NL_j) + EL_l + ES_i * NL_j + ES_i * EL_j + e_{ijklm}$$

siendo los nuevos factores:

ES_i = Efecto fijo del estado sanitario de la ubre (sanas vs infectadas)

$V_k(NL_j)$ = Efecto aleatorio de la Vaca k dentro del número de lactación k

$ES_i * NL_j$ = Efecto fijo de la interacción estado sanitario * número de lactación

$ES_i * EL_j$ = Efecto fijo de la interacción estado sanitario * estado lactación

Finalmente, el efecto de los distintos tipos de patógenos fue analizado con el mismo modelo anterior, pero sustituyendo el factor Estado Sanitario de la Ubre por el factor Tipo de Patógeno.

Producción de leche

La producción de leche fue analizada estadísticamente con 4 modelos distintos:

En el modelo 1 no se tuvo en cuenta ningún efecto relacionado con el RCS o la presencia de infección intramamaria, y fue el mismo modelo [1] descrito anteriormente para analizar el RCS individual.

El modelo 2 fue el mismo que el modelo 1, al que se añadió el efecto del RCS (en log10) como covariable, así como sus interacciones con el número y estado de lactación.

El modelo 3 fue el mismo que el modelo 1, al que se añadió el efecto del grupo de RCS. Los RCS se agruparon en niveles de puntuación lineal (Somatic Cell Score = $\log_2(RCS/100.000)+3$, de acuerdo a Raubertas y Shook, 1982). También se tuvo en cuenta en el modelo la interacción del grupo RCS con los otros factores principales (número y estado de lactación, sistema de explotación y control)

El modelo 4 fue el mismo que el modelo 1, al que se añadió el efecto del estado sanitario de la ubre (sanas vs infectadas), así como su interacción con los otros factores principales (número y estado de lactación, sistema de explotación y control).

Todos los análisis estadísticos del RCS y de la producción de leche fueron realizados con el PROC MIXED del paquete estadístico SAS (2008)

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1. PREVALENCIA, INCIDENCIA Y ETIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN INTRAMAMARIA

1. PREVALENCIA, INCIDENCIA Y ETIOLOGÍA DE LA INFECCIÓN INTRAMAMARIA

1.1. PREVALENCIA

De las 1.530 muestras analizadas, 27 (1.8%), se clasificaron como contaminadas y sus resultados excluidos de los análisis bacteriológicos. De las 1.503 muestras que dieron resultados interpretables, 1.108 (73.7%) fueron clasificada como cultivos negativos (ubres sanas) y 395 (26.3%) como positivos (ubres con uno o varios cuartos con infección intramamaria) de algunos de los microorganismos comunes causantes de mastitis. Por tanto, la prevalencia global fue del 26.3%. La prevalencia obtenida en cada uno de los controles realizados de cada granja se ha recogido en el Anejo 1.

En la Figura 1 se ha representado la prevalencia media de infecciones intramamarias (IIM) en todos los controles efectuados en las 10 explotaciones muestreadas. Puede observarse que la prevalencia varió desde un 9.9% (granja 5) hasta un 49.7% (granja 9).

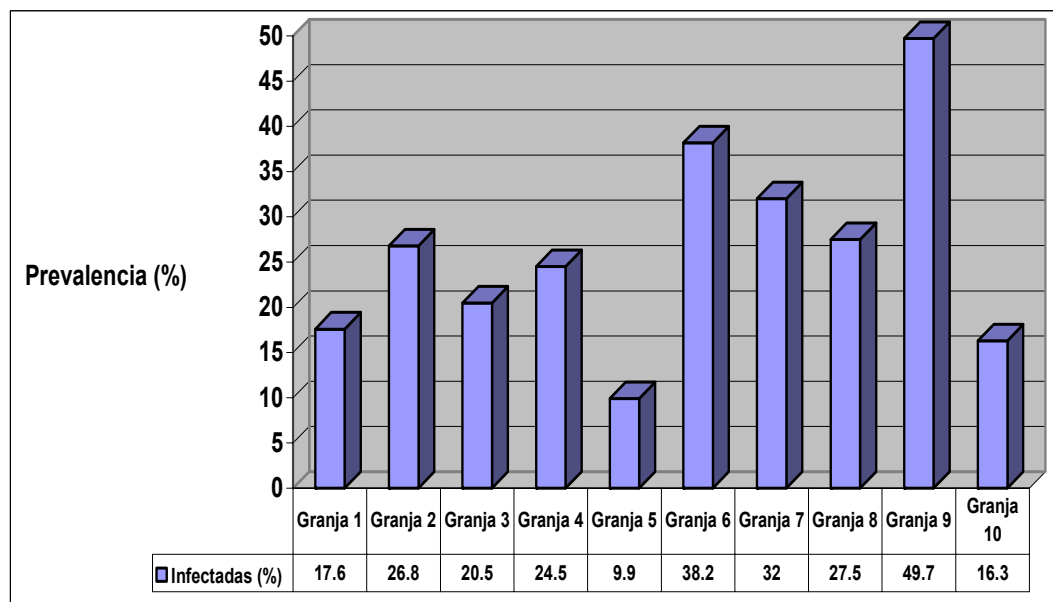


Figura 1. Prevalencia media de IIM en cada una de las 10 granjas muestreadas.

En la Tabla 1 se presenta la prevalencia media de IIM obtenida según los siguientes factores: control, número de lactación, estado de lactación y sistema de explotación. La prevalencia media de IIM no difirió significativamente en los tres controles realizados (Febrero: 25.9%; Julio: 27.1%; Noviembre 25.9%). También fue

similar según el número de lactación de las vacas (primer parto: 25.8%; segundo o más partos: 26.6%) y su estado de lactación (Inicio: 28.3%; Mitad 25.0%; Final 25.7%). Sin embargo, el sistema de explotación sí que influyó significativamente ($p<0.001$) sobre la prevalencia, siendo ésta inferior en el sistema de estabulación (19.9%) que en el sistema de pastoreo (32.7%). Este aspecto también podemos observarlo en la Figura 1, donde se aprecia que las granjas con sistema de estabulación (granjas 1 a 5) presentan una prevalencia media entre el 10 y el 26.8%, mientras que en las de pastoreo (granjas 6 a 10) la prevalencia varió desde el 16.3 al 49.7%.

Tabla 1. Prevalencia de IIM según la época del control, el número y estado de lactación de las vacas y el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.

Factor	Niveles	Nº vacas			Prevalencia (%)	Niv.Sig.
		Sanas	Con IIM	Todas		
CONTROL	Febrero	370	129	499	25.9	NS
	Julio	368	137	505	27.1	
	Noviembre	370	129	499	25.9	
Nº LACTACIÓN	1	458	159	617	25.8	NS
	≥ 2	650	236	886	26.6	
ESTADO LACTACIÓN ¹ (Vacas lact.=1)	Inicio	150	59	209	28.2	NS
	Mitad	198	61	259	23.6	
	Final	110	39	149	26.2	
ESTADO LACTACIÓN ¹ (Vacas lact. ≥ 2)	Inicio	207	82	289	28.4	NS
	Mitad	272	96	368	26.1	
	Final	171	58	229	25.3	
ESTADO LACTACIÓN ¹ (Todas las vacas)	Inicio	357	141	498	28.3	NS
	Mitad	470	157	627	25.0	
	Final	281	97	378	25.7	
SISTEMA DE EXPLOTACIÓN	Estabulación	601	149	750	19.9	***
	Pastoreo	507	246	753	32.7	

1. Estado lactación: Inicio: 7-100 días; Mitad: 101-200 días; Final: > 201 días

NS: Diferencias no significativas

*** Diferencias significativas ($p<0.001$)

1.2. INCIDENCIA

La incidencia media de IIM durante la lactación fue del 24.5%. Por granjas, la incidencia media durante todo el experimento presentó una gran variabilidad, con un valor mínimo del 9.1% en la granja 5 y un valor máximo del 50.0% en la granja 9 (Figura 2).

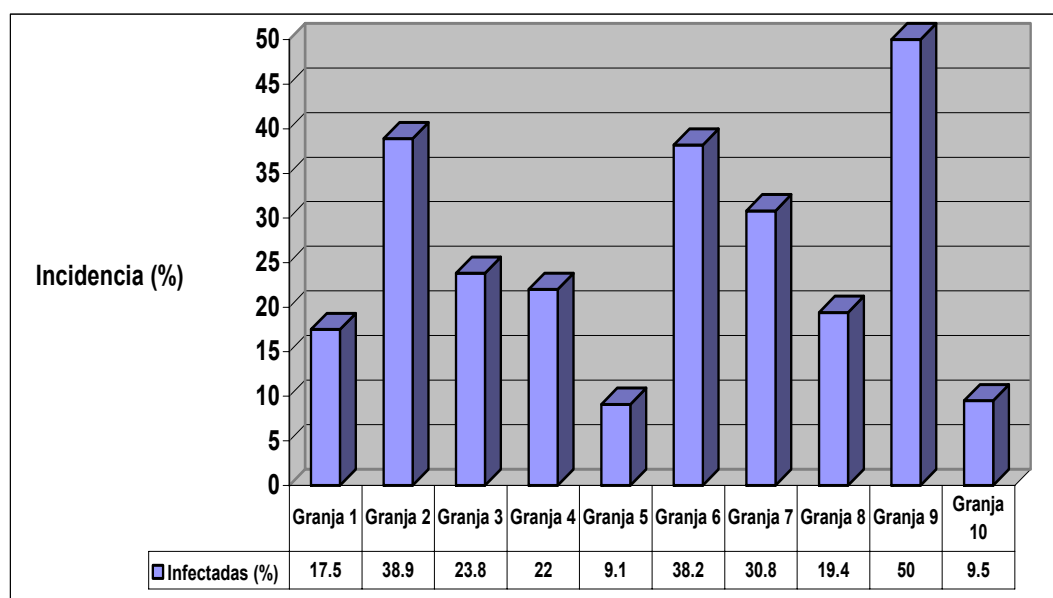


Figura 2. Incidencia de IIM durante la lactación en cada una de las 10 granjas muestreadas, obtenida a partir de los tres controles realizados (4.5 meses entre controles).

La incidencia de IIM durante la lactación no varió significativamente según el control (Febrero-Julio: 24.1%; Julio-Noviembre: 25.0%), el número de lactación (primíparas: 27.1%; multíparas: 22.7%), el estado de lactación (inicio-mitad: 22.0%; mitad-final: 28.1%) y el sistema de explotación (estabulación: 21.7%; pastoreo: 27.9%; Tabla 2).

La incidencia media de IIM durante el periodo secado/parto se estimó a partir de los resultados obtenidos en aquellas vacas que tuvieron controles bacteriológicos tanto al final de una lactación como al principio de la siguiente lactación, obteniéndose un valor medio del 19.6%. Este valor fue más elevado en las vacas primíparas (21.4%) que en las multíparas (12.8%), y en las granjas con sistema de pastoreo (20.7%) que en las granjas con sistema de estabulación (13.2%), aunque en ninguno de los dos casos las diferencias fueron significativas, dado el bajo número de animales muestreados en este intervalo (67 vacas; Tabla 3)

Tabla 2. Incidencia de IIM durante la lactación, según la época del control, el número y estado de lactación de las vacas y el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.

Factor	Niveles	Nº vacas			Incidencia (%)	Niv. Sig.
		Sanas-Sanas (1)	Sanas-con IIM (2)	Todas (1+2)		
CONTROL	Febrero-Julio	151	48	199	24.1	NS
	Julio- Noviembre	129	43	172	25.0	
Nº LACTACIÓN	1	113	42	155	27.1	NS
	≥ 2	167	49	216	22.7	
ESTADO LACTACIÓN * (Vacas lact.=1)	Inicio-Mitad	64	23	87	26.4	NS
	Mitad-Final	49	19	68	27.9	
ESTADO LACTACIÓN * (Vacas lact. ≥ 2)	Inicio-Mitad	106	25	131	19.1	NS
	Mitad-Final	61	24	85	28.2	
ESTADO LACTACIÓN * (Todas las vacas)	Inicio-Mitad	170	48	218	22.0	NS
	Mitad-Final	110	43	153	28.1	
SISTEMA DE EXPLOTACIÓN	Estabulación	159	44	203	21.7	NS
	Pastoreo	121	47	168	27.9	

* Estado lactación: Inicio: 7-100 días; Mitad: 101-200 días; Final: > 201 días.

NS: Diferencias no significativas

Tabla 3. Incidencia de IIM durante el secado/parto, según el número de lactación de las vacas y el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.

Factor	Niveles	Nº vacas			Incidencia (%)	Niv. Sig.
		Sanas - Sanas (1)	Sanas - con IIM(2)	Todas (1+2)		
Nº LACTACIÓN	1	22	6	28	21.4	NS
	≥ 2	34	5	39	12.8	
SISTEMA DE EXPLOTACIÓN	Estabulación	33	5	38	13.2	NS
	Pastoreo	23	6	29	20.7	

NS: Diferencias no significativas

Por otra parte, las curaciones de IIM durante la lactación fueron, de media, del 33.8%, y también presentaron una gran variabilidad en las explotaciones muestreadas (Figura 3). En la Tabla 4 se observa que estas curaciones fueron significativamente ($p<0.001$) más elevadas entre los controles de Febrero-Julio (43.0%) que entre Julio-Noviembre (19.1%) y también fueron significativamente más elevadas ($p<0.001$) durante la primera mitad de la lactación (inicio-mitad: 43%) que en la segunda mitad de la lactación (mitad-final: 19.1%). Por el contrario las curaciones de IIM durante la lactación no variaron significativamente según el número de lactación de los animales (primíparas: 32.7%; multíparas: 34.8%) ni el sistema de explotación (estabulación: 31.1%; pastoreo: 35.7%).

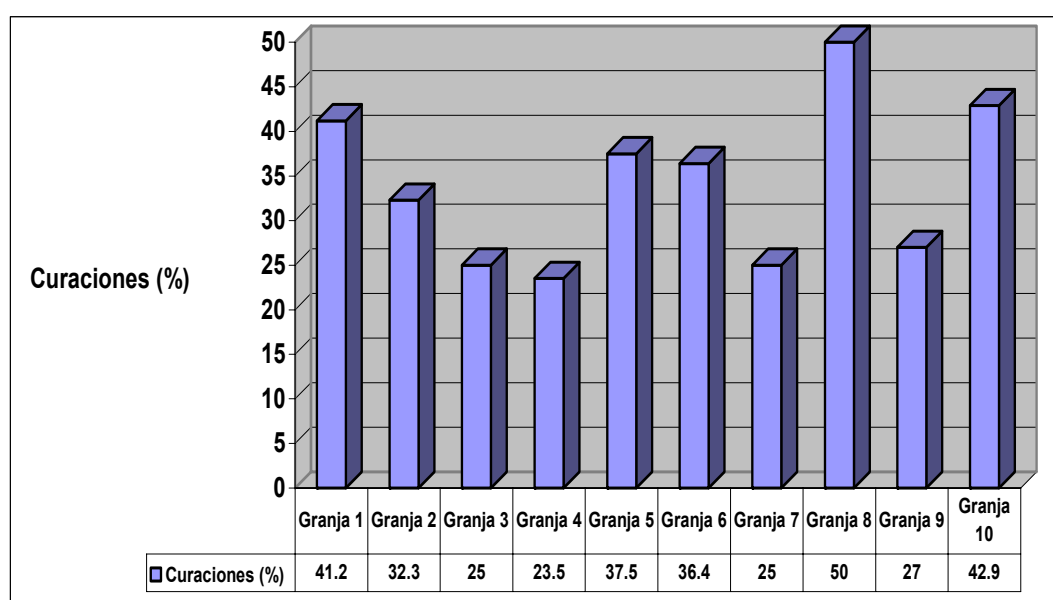


Figura 3. Curaciones de IIM durante la lactación en cada una de las 10 granjas muestreadas, obtenida a partir de los tres controles realizados (4.5 meses entre controles).

Finalmente, la estimación de las curaciones de IIM durante el secado/parto fue, de media, del 42.2%. Aunque estas curaciones fueron más elevadas en las vacas multíparas (48.1%) que en las primíparas (33.3%), y en el sistema de explotación en estabulación (52.6%) que en pastoreo (34.6%), estas diferencias no fueron significativas, dado el escaso número de animales controlados en esta fase (final de la lactación-principio de la siguiente lactación: 45 vacas infectadas al final de la lactación; Tabla 5)

Tabla 4. Curaciones de IIM durante la lactación, según la época del control, el número y estado de lactación de las vacas y el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.

Factor	Niveles	Nº vacas			Curación (%)	Niv Sig.
		IIM-IIM (1)	IIM-Sanas (2)	Todas (1+2)		
CONTROL	Febrero-Julio	77	58	135	43.0	***
	Julio- Noviembre	68	16	84	19.1	
Nº LACTACIÓN	1	72	35	107	32.7	NS
	≥ 2	73	39	112	34.8	
ESTADO LACTACIÓN * (Vacas lact.=1)	Inicio-Mitad	31	27	58	46.6	***
	Mitad-Final	41	8	49	16.3	
ESTADO LACTACIÓN * (Vacas lact. ≥ 2)	Inicio-Mitad	46	31	77	40.3	NS(0.07)
	Mitad-Final	27	8	35	22.9	
ESTADO LACTACIÓN * (Todas las vacas)	Inicio-Mitad	77	58	135	43.0	***
	Mitad-Final	68	16	84	19.1	
SISTEMA DE EXPLOTACIÓN	Estabulación	62	28	90	31.1	NS
	Pastoreo	83	46	129	35.7	

* Estado lactación: Inicio: 7-100 días; Mitad: 101-200 días; Final: > 201 días.

NS: Diferencias no significativas

*** Diferencias significativas (p<0.001)

Tabla 5. Curaciones de IIM durante el secado/parto, según el número de lactación de las vacas y el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.

Factor	Niveles	Nº vacas			Curación (%)	Niv Sig.
		IIM-IIM (1)	IIM-Sanas (2)	Todas (1+2)		
Nº LACTACIÓN	1	12	6	18	33.3	NS
	≥ 2	14	13	27	48.1	
SISTEMA DE EXPLOTACIÓN	Estabulación	9	10	19	52.6	NS
	Pastoreo	17	9	26	34.6	

NS: Diferencias no significativas

1.3. ETIOLOGIA

En la Tabla 6 se han recogido las especies y grupos bacterianos aislados en cada una de las explotaciones muestreadas. Así mismo, en la Figura 4 se ha representado la distribución porcentual de los citados microorganismos en el total de muestras con resultados bacteriológicos positivos.

Tabla 6 Tipos de bacterias aisladas en los cultivos bacteriológicos en cada una de las granjas muestreadas.

Granjas Grupo Bacteriano	Número %	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Total	Preval. %
<i>Staphylococcus aureus</i> *	Nº %	4 15.4	1 2.5	9 29.0	13 35.1	6 40.0	7 12.1	0 0.0	2 4.9	46 62.2	3 12.0	91 23.0	6.1
ECN	Nº %	14 53.8	15 37.5	10 32.3	9 24.3	3 20.0	19 32.8	20 41.7	14 34.1	13 17.6	13 52.0	130 32.9	8.6
<i>Streptococcus agalactiae</i> **	Nº %	2 7.7	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	4 6.9	1 2.1	1 2.4	1 1.4	1 4.0	10 2.5	0.7
<i>Streptococcus</i> spp.	Nº %	4 15.4	15 37.5	11 35.5	14 37.8	4 26.7	18 31.0	22 45.8	22 53.7	9 12.2	7 28.0	126 31.9	8.4
<i>Corynebacterium</i> spp.	Nº %	1 3.8	3 7.5	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	4 8.3	2 4.9	4 5.4	0 0.0	14 3.5	0.9
Coliformes	Nº %	1 3.8	3 7.5	1 3.2	1 2.7	2 13.3	7 12.1	1 2.1	0 0.0	1 1.4	1 4.0	18 4.6	1.2
Otros Gram Negativo	Nº %	0 0.0	3 7.5	0 0.0	0 0.0	0 0.0	3 5.2	0 0.0	0 0.0	0 0.0	0 0.0	6 1.5	0.4
Total	Nº %	26 100	40 100	31 100	37 100	15 100	58 100	48 100	41 100	74 100	25 100	395 100	26.3

* Todos los *Staphylococcus* coagulasa positivo. ** Todos los *Streptococcus* CAMP. positivo y esculina negativo

Nº: número de aislamientos bacteriológicos.

%; porcentaje respecto al total de aislamientos

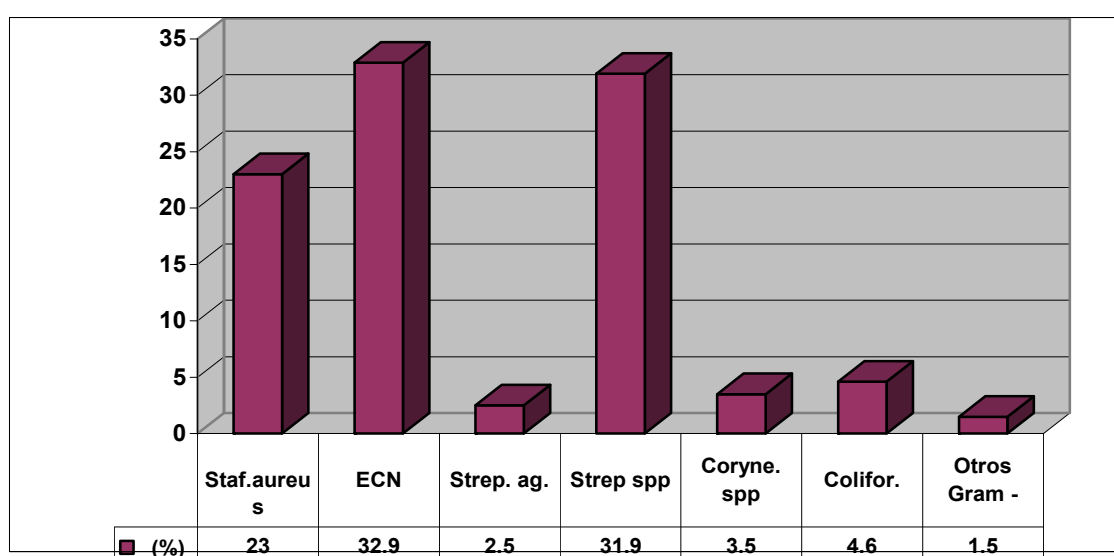


Figura 4. Distribución porcentual de las bacterias aisladas en el total de muestras analizadas.

Puede observarse que, considerando conjuntamente todos los controles realizados, la mayoría de las infecciones mamarias estuvieron causadas por tres grupos de gérmenes: ECN (32.9%), *Streptococcus* spp. (31.9%) y *Staphylococcus aureus* (23%). Por el contrario, *Strep. agalactiae* (2.5%), *Corynebacterium* spp. (3.5%) y los gérmenes Gram negativo (Coliformes: 4.6% y Otros Gram negativo: 1.5%) fueron aislados en bajos porcentajes. Podemos destacar que la prevalencia de *S. aureus* en las 10 explotaciones fue muy variable. Así, hubo granjas en las que apenas se aisló este germen (granjas 2, 7 y 8, con un 2.5%, 0% y 4.9% de las IIM) mientras que en la explotación 9 se identificó en el 62% de las infecciones intramamarias (prevalencia media de *S. aureus* de casi el 50% de las vacas). Por otra parte, también es remarcable que no se aisló *Str. agalactiae* en 4 de las 5 granjas que estaban en estabulación (granjas 2, 3, 4 y 5).

En la Tabla 7 se presenta la distribución de las especies/grupos bacterianos en cada uno de los tres controles realizados. Aunque la distribución no varió significativamente, puede apreciarse que los estafilococos fueron más frecuentes en el control de Noviembre (*S. aureus* 27.9%; ECN.: 35.7%), los estreptococos en el control de Julio (*Streptococcus* spp.: 35%) y, finalmente, las corinebacterias, los Coliformes y los Otros Gram-negativo en el control de Febrero (6.2%, 6.2% y 3.9%, respectivamente).

Tabla 7. Distribución de las bacterias aisladas en cada uno de los controles realizados.

Control Grupo bacteriano	Número (%) Prevalencia	Febrero	Julio	Noviembre	Total
<i>Staphylococcus aureus</i> *	N° (%) Prev.	28 (21.7) 5.6	27 (19.7) 5.3	36 (27.9) 7.2	91 (23,0) 6.1
ECN	N° (%) Prev.	35 (27.1) 7.0	49 (35.8) 9.7	46 (35.7) 9.2	130 (32.9) 8.6
<i>Streptococcus agalactiae</i> **	N° (%) Prev.	4 (3.1) 0.8	4 (2.9) 0.8	2 (1.6) 0.4	10 (2.5) 0.7
<i>Streptococcus</i> spp.	N° (%) Prev.	41 (31.8) 8.2	48 (35.0) 9.5	37 (28.7) 7.4	126 (31.9) 8.4
<i>Corynebacterium</i> spp.	N° (%) Prev.	8 (6.2) 1.6	5 (3.6) 1.0	1 (0.8) 0.2	14 (3.5) 0.9
Coliformes	N° (%) Prev.	8 (6.2) 1.6	3 (2.2) 0.6	7 (5.4) 1.4	18 (4.6) 1.2
Otros Gram Negativo	N° (%) Prev.	5 (3.9) 1.0	1 (0.7) 0.2	0 (0.0) 0.0	6 (1.5) 0.4
Total	N° (%) Prev.	129 (100) 25.9	137 (100) 27.1	129 (100) 25.9	395 (100) 26.3

* Todos los *Staphylococcus* coagulasa positivo. ** Todos los *Streptococcus* CAMP positivo y esculina negativo.

N°: número de aislamientos bacteriológicos. %: porcentaje respecto al total de aislamientos. Prev: % Prevalencia.

La etiología de las IIM fue muy similar en las vacas de primer parto y en las de 2 o más partos (Tabla 8), así como en las explotaciones con estabulación y en las que practicaban el pastoreo (Tabla 9). Sin embargo, hubo ciertas diferencias con el estado de lactación de los animales (Tabla 10). Así, a medida que avanzaba la lactación tendieron a disminuir las infecciones causadas por los estafilococos (*S. aureus*: 26.9% y 19.6% en el inicio y final de la lactación, respectivamente; ECN: 34% y 30.9%, respectivamente) y por *Str. agalactiae* (5%, 0.6% y 2.1% en el inicio, mitad y final de la lactación, respectivamente). Por el contrario, al avanzar la lactación el porcentaje de infecciones causadas por *Streptococcus* spp. aumentaron (25.5%; 33.8% y 38.1% en inicio, mitad y final de la lactación). A pesar de lo señalado, el Test de Chi-cuadrado no mostró que existieran diferencias significativas en la distribución de los gérmenes según el número de lactación, el sistema de explotación ni el estado de lactación de los animales.

Tabla 8. Distribución de las bacterias aisladas según el número de lactación de las vacas.

Partos Grupo Bacteriano	Número (%) Prevalencia	1	≥ 2	Total
<i>Staphylococcus aureus</i> *	N° (%) Prev.	39 (24.5) 6.3	52 (22.0) 5.9	91 (23.0) 6.1
ECN	N° (%) Prev.	52 (32.7) 8.4	78 (33.1) 8.8	130 (32.9) 8.6
<i>Streptococcus agalactiae</i> **	N° (%) Prev.	2 (1.3) 0.3	8 (3.4) 0.9	10 (2.5) 0.7
<i>Streptococcus</i> spp.	N° (%) Prev.	53 (33.3) 8.6	73 (30.9) 8.2	126 (31.9) 8.4
<i>Corynebacterium</i> spp.	N° (%) Prev.	3 (1.9) 0.5	11 (4.7) 1.2	14 (3.5) 0.9
Coliformes	N° (%) Prev.	6 (3.8) 1.0	12 (5.1) 1.4	18 (4.6) 1.2
Otros Gram Negativo	N° (%) Prev.	4 (2.5) 0.6	2 (0.8) 0.2	6 (1.5) 0.4
Total	N° (%) Prev.	159 (100) 25.8	236 (100) 26.6	395 (100) 26.3

* Todos los *Staphylococcus* coagulasa positivo. ** Todos los *Streptococcus* CAMP positivo y esculina negativo

N°: número de aislamientos bacteriológicos. %: porcentaje respecto al total de aislamientos. Prev: % Prevalencia.

Tabla 9. Distribución de las bacterias aisladas según el sistema de explotación utilizado en las 10 granjas muestreadas.

Grupo Bacteriano \ Sistema de Explotación	Número (%) Prevalencia	Estabulación	Pastoreo	Total
<i>Staphylococcus aureus</i> *	N° (%) Prev.	33 (22.1) 4.4	58 (23.6) 7.7	91 (23.0) 6.1
ECN	N° (%) Prev.	51 (34.2) 6.8	79 (32.1) 10.5	130 (32.9) 8.6
<i>Streptococcus agalactiae</i> **	N° (%) Prev.	2 (1.3) 0.3	8 (3.3) 1.1	10 (2.5) 0.7
<i>Streptococcus</i> spp.	N° (%) Prev.	48 (32.2) 6.4	78 (31.7) 10.4	126 (31.9) 8.4
<i>Corynebacterium</i> spp.	N° (%) Prev.	4 (2.7) 0.5	10 (4.1) 1.3	14 (3.5) 0.9
Coliformes	N° (%) Prev.	8 (5.4) 1.1	10 (4.1) 1.3	18 (4.6) 1.2
Otros Gram Negativo	N° (%) Prev.	3 (2.0) 0.4	3 (1.2) 0.4	6 (1.5) 0.4
Total	N° (%) Prev.	149 (100) 19.9	246 (100) 32.7	395 (100) 26.3

* Todos los *Staphylococcus* coagulasa positivo. ** Todos los *Streptococcus* CAMP. positivo y esculina negativo
 N°: número de aislamientos bacteriológicos. %: porcentaje respecto al total de aislamientos. Prev: % Prevalencia.

1.4.- DISCUSIÓN

Prevalencia e incidencia de IIM.

Los valores medios de prevalencia (26.3%) e incidencia durante la lactación (24.5%) de IIM por ubre obtenidos en este estudio han sido similares a los encontrados en otros trabajos realizados en nuestro entorno, mayoritariamente con vacas mestizas (cruces de cebú con Holstein, Pardo Suizo o Carora). Así, Scaramelli (1999) y Faria et al. (2005b) hallaron una prevalencia del 25% y del 29%, respectivamente, mientras que Azocar (2007) y Armenteros et al. (2006) obtuvieron una incidencia media de IIM del 22.2% y 22.9%, respectivamente. No obstante, debemos puntualizar que en la bibliografía también podemos encontrar, en los mismos cruces citados anteriormente, valores mucho más elevados de prevalencia (32%, Scaramelli, 1993; 68.8%, Faria et al., 2005a; 63.8-91.7%, Azocar, 2008) e incidencia de IIM (entre el 33.3 y el 48%; Cornejo, 1994; Siana, 1997; Meldrano, 1998; Bustamante, 2006).

Tabla 10. Distribución de las bacterias aisladas según el estado de lactación de las vacas

a) Vacas separadas según número de lactación

Grupo Bacteriano	Número (%) Prevalencia	Lactación =1			Lactación ≥ 2		
		Inicio	Mitad	Final	Inicio	Mitad	Final
<i>Staphylococcus aureus</i> *	N° (%) Prev.	18 (30.5) 8.6	13 (21.3) 5.0	8 (20.5) 5.4	20 (24.4) 6.9	21 (21.9) 5.7	11 (18.9) 4.8
ECN	N° (%) Prev.	18 (30.5) 8.6	21 (34.4) 8.1	13 (33.3) 8.7	30 (36.6) 10.4	31 (32.3) 8.4	17 (29.3) 7.4
<i>Streptococcus agalactiae</i> **	N° (%) Prev.	1 (1.7) 0.5	0 (0.0) 0.0	1 (2.6) 0.7	6 (7.3) 2.1	1 (1.0) 0.3	1 (1.7) 0.4
<i>Streptococcus</i> spp.	N° (%) Prev.	17 (28.8) 8.1	22 (36.1) 8.5	14 (35.9) 9.4	19 (23.2) 6.6	31 (32.3) 8.4	23 (39.7) 10.0
<i>Corynebacterium</i> spp.	N° (%) Prev.	1 (1.7) 0.5	2 (3.3) 0.8	0 (0.0) 0.0	3 (3.7) 1.0	6 (6.3) 1.6	2 (3.5) 0.9
Coliformes	N° (%) Prev.	3 (5.1) 1.4	1 (1.6) 0.4	2 (5.1) 1.3	4 (4.9) 1.4	5 (5.2) 1.4	3 (5.2) 1.3
Otros Gram negativos	N° (%) Prev.	1 (1.7) 0.5	2 (3.3) 0.8	1 (2.6) 0.7	0 (0.0) 0.0	1 (1.0) 0.3	1 (1.7) 0.4
Total	N° (%) Prev.	59 (100) 28.2	61 (100) 23.6	39 (100) 26.2	82 (100) 28.4	96 (100) 26.1	58 (100) 25.3

* Todos los *Staphylococcus* positivos a la prueba de Coagulasa ** Todos los *Streptococcus* positivos a la prueba de CAMP.
N°: Número de aislamientos bacteriológicos. %: Porcentaje de los cultivos bacteriológicos. Prev: % Prevalencia.

b) Todas la vacas

Lactancia Grupo Bacteriano	Número (%) Prevalencia	Inicio	Mitad	Final
<i>Staphylococcus aureus</i> *	N° (%) Prev.	38 (26.9) 7.6	34 (21.7) 5.4	19 (19.5) 5.0
ECN	N° (%) Prev.	48 (34.0) 9.6	52 (33.1) 8.3	30 (30.9) 7.9
<i>Streptococcus agalactiae</i> **	N° (%) Prev.	7 (5.0) 1.4	1 (0.6) 0.2	2 (2.1) 0.5
<i>Streptococcus</i> spp.	N° (%) Prev.	36 (25.5) 7.2	53 (33.8) 8.5	37 (38.1) 9.8
<i>Corynebacterium</i> spp.	N° (%) Prev.	4 (2.8) 0.8	8 (5.1) 1.3	2 (2.1) 0.5
Coniformes	N° (%) Prev.	7 (5.0) 1.4	6 (3.8) 1.0	5 (5.2) 1.3
Otros Gram Negativos	N° (%) Prev.	1 (0.7) 0.2	3 (1.9) 0.5	2 (2.1) 0.5
Total	N° (%) Prev.	141 (100) 28.3	157 (100) 25.0	97 (100) 25.7

*Todos los *Staphylococcus* positivos a la prueba de Coagulasa ** Todos los *Streptococcus* positivos a la prueba de CAMP.

N°: Número de aislamientos bacteriológicos. %: Porcentaje de los cultivos bacteriológicos. Prev: % Prevalencia.

En la mayoría de trabajos realizados con vacas de raza Frisona/Holstein, la prevalencia de mamitis subclínica es más elevada a la encontrada en el presente trabajo, situándose entre el 30 y el 50% de las vacas afectadas en países como Holanda (Sampimon et al., 2008; Sampimon et al., 2009), Italia (Cremonesi et al., 2008), México (Castañeda et al., 2008), EE.UU. (Wilson et al., 1997), Finlandia (Pitkala et al., 2004) y España (Carina, 2007).

El hecho de que la prevalencia de IIM fuera significativamente más elevada en las granjas en pastoreo (32.7% de media, variando entre un 24.5% y un 49.7%) que en las estabuladas (19.9% de media, variando entre un 9.9% y un 26.8%) podría estar asociado a diferencias en las prácticas relacionadas con un adecuado plan de control de mamitis. Efectivamente, podemos destacar que en algunas explotaciones que estaban en pastoreo (granjas 6 y 9) se observaron fallos en la rutina de ordeño, dado que no aplicaban pre-sellado, y secaban los pezones con paños en lugar de utilizar toallas desechables individuales. Además, en tres granjas (nº 6, 8 y 9) no se realizaba adecuadamente el tratamiento de antibióticos de secado y la eliminación de vacas con mamitis crónica. Por otra parte, podemos destacar que en otras investigaciones también se ha observado una mayor prevalencia en las granjas que practican el pastoreo, respecto a las estabuladas (Ferraro, 1992; González, 2000; Acebo, 2004; Bouman, 2005a; Londoño, 2005; Scaramelli y González, 2005; Faria et al., 2005a y b).

En este trabajo no se ha encontrado que la prevalencia global de IIM variara significativamente con el estado de lactación, lo cual coincide con lo encontrado por Osteras et al. (2006). Así mismo, el hecho de que la incidencia de IIM tampoco variara significativamente con el estado de lactación discrepa de otros trabajos realizados en nuestro entorno (Azocar, 2008) o en otros países (Schukken et al., 2008), en los que se indica que la incidencia de mamitis tiende a disminuir a medida que avanza la lactación, siendo especialmente elevada al principio de la misma (primer mes).

Por otra parte, también es difícil explicar el hecho de que la prevalencia de IIM fuera similar en las vacas de primera y posteriores lactaciones, ya que la mayoría de autores encuentran que la citada prevalencia aumenta con el número

de lactación (Alburquerque, 1999; Bustamante et al., 2006; Tenhagen et al., 2006; Azocar, 2008) debido a la mayor exposición de los animales a los gérmenes causantes de mamitis (Schultz, 1977).

En este trabajo no se ha encontrado que la prevalencia e incidencia de IIM variara según la época del año (Febrero y Noviembre son meses de estación seca, mientras que Julio es época de estación de lluvias), lo cual coincide con lo hallado por Azocar (2008). No obstante, en muchos trabajos si que se ha observado un patrón estacional en la prevalencia y/o incidencia de IIM (Pedraza et al., 1994a; Acebo, 2004), de modo en la época de lluvias o de altas temperaturas aumentan los casos de mamitis al empeorar el medio ambiente en el que se encuentran los animales.

Etiología de las IIM.

La prevalencia global de *S. aureus* fue relativamente baja (6%; 91 aislamientos de 1.503 muestras), si bien hubo mucha variabilidad entre granjas (0% a 31%). Así mismo, de media este germen se aisló en el 23% de las ubres infectadas. Estos valores son similares a los hallados en otros trabajos realizados en explotaciones de nuestro entorno (*S. aureus* identificado en el 24-30% de los aislamientos – Scaramelli et al., 1999; Faria et al., 2005a) e incluso de otros países con vacas Frisonas/Holstein (Sampimon et al., 2008: 8% de prevalencia y 22% de los aislamientos; Cremonesi et al., 2008: 7.6% de prevalencia; Wilson et al., 1997: 9% de prevalencia). No obstante, también existen estudios en los que este germen se ha aislado con una frecuencia menor (Pitkala et al., 2004: 3.4% de prevalencia y 10% de los aislamientos) y mayor (Osteras et al., 2006: 22% de las vacas; Jemejanovs et al., 2008: 41% de los aislamientos; Chaves et al., 2008: 22% de prevalencia) respecto a los obtenidos en nuestro trabajo.

También podemos destacar la baja prevalencia de *Str. agalactiae*, ya que tan solo se identificó en el 2.5% de los aislamientos y en 4 explotaciones no se aisló ningún caso. Esta prevalencia es ligeramente superior a la observado en muchos países que llevan a cabo planes de control de mamitis y que tienen como objetivo eliminar este germen de las explotaciones (Sampimon et al., 2008: 0.9% de los aislamientos; Pinho et al., 2008: 0.9% de prevalencia y 1.3% de los aislamientos; Pitkala et al, 2004: menos del 0.07% de los aislamientos; Osteras et al., 2006: 0%

de los aislamientos). Sorprendentemente, este germen aún está lejos de ser erradicado en ciertas zonas de EE.UU. (10% de las vacas infectadas por *Strep. agalactiae*: Wilson et al., 1997).

El grupo de ECN y el grupo de *Streptococcus* spp. (estreptococos no *agalactiae*) fueron los gérmenes más frecuentemente aislados (32.9% y 31.9%), lo cual coincide parcialmente con lo observado en la mayoría de trabajos de la bibliografía. Por ejemplo, Londoño (2005) y Faria et al. (2005 a y b), encuentran una mayor frecuencia de ECN (37-67%) y una menor frecuencia de *Streptococcus* spp. (11-26%) a los hallados en nuestro trabajo. En este sentido debemos destacar que suele ser frecuente que, tras aplicar un programa de control de mastitis, los ECN pasan a ser los patógenos que más predominan, tal y como se ha observado en muchos estudios (Pitkala et al., 2004; Bradley et al., 2007; Tenhagen et al., 2008; Sampimon et al., 2009). Aún así, también existen trabajos en los que se observa que los *Streptococcus* spp. son más prevalentes que los ECN (Pinho et al., 2008).

La baja prevalencia de las corinebacterias (3.5% de los aislamientos) y los gérmenes Gram-negativo (4.6% de Coliformes; 1.5% de otros Gram-negativo) también coincide con otros trabajos. Por ejemplo, Londoño (2005), en un trabajo realizado durante cuatro años, siempre obtuvo que las corinebacterias representaban menos del 2.8% de los aislamientos, y Osteras et al. (2006) solo aíslan 2 casos de corinebacterias en 14.152 muestras tomadas de cuarterones. Por el contrario, también existen estudios que muestran una relativa elevada prevalencia de estos patógenos (17% de los aislamientos en el trabajo de Pinho et al., 2008; 34% de los aislamientos en Pitkala et al., 2004; 24% en Acuña et al., 2001). En relación a los gérmenes Gram-negativo, normalmente representan menos del 5% de los aislamientos (Wilson et al., 1997; Osteras et al., 2006; Sampimon et al., 2008; Cremonesi et al., 2008), aunque en algunos casos han llegado a representar más del 10% de los aislamientos (Londoño, 2005; Pinho et al., 2008).

La distribución de los gérmenes responsables de las IIM varió poco según la época de muestreo (Febrero, Julio y Noviembre), lo cual podría ser explicado porque las condiciones ambientales (principalmente temperatura) apenas variaron durante los meses en que se desarrolló el experimento. En este sentido debemos mencionar que, en otros países más fríos, se ha encontrado cierta estacionalidad

en la etiología de las IIM. Por ejemplo, Tenhagen et al. (2008), en Alemania, encuentran que la prevalencia de *S. aureus*, ECN y coliformes fue más elevada en verano, mientras que la prevalencia de los estreptococos fue superior en invierno. Osteras et al. (2006), en Noruega, también encontraron una mayor prevalencia de *S. aureus* en el verano. En el caso concreto de *Str. uberis*, también se ha descrito que se aíslan con mayor frecuencia en el verano (Todhunter et al., 1995; Osteras et al., 2006).

En nuestro trabajo tampoco hemos encontrado importantes diferencias de la etiología según el número de lactación de las vacas. Particularmente, la distribución de los aislamientos de *S. aureus* fue muy similar en las vacas primíparas (24.5%) y multíparas (22%), lo que coincide con otros trabajos (Zadoks et al., 2001; Pitkala et al., 2004; Osteras et al., 2006). Sin embargo, algunos autores han encontrado que la prevalencia de ECN es más elevada en las vacas primíparas, respecto a las multíparas (Sampimon et al., 2001; Tenhagen et al., 2006), lo que discrepa de lo encontrado en nuestro estudio (32.7% y 33.1% de los aislamientos en vacas primíparas y multíparas, respectivamente). Finalmente, el hecho de que *S. aureus* tendiera a disminuir a medida que avanza la lactación (particularmente en las vacas multíparas) también fue observado por Osteras et al. (2006).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. 2. RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS

2. RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS

2.1. RCS EN LECHE DE TANQUE

De las 30 muestras de leche de tanque tomadas en las explotaciones (10 granjas x 3 controles) tan solo se analizaron 25, dado que las 5 restantes llegaron deterioradas o sufrieron algún accidente en el laboratorio. El RCS en la leche de tanque presentó bastante variabilidad, presentando un valor mínimo de 193.000 céls/ml y un valor máximo de 1.926.000 céls/ml. Las medias aritméticas ($\pm$ DS) y geométricas de las 25 muestras de leche de tanque analizadas fueron 593.000 ($\pm$ 409.000) céls/ml y 490.000 céls/ml, respectivamente.

La variabilidad de los recuentos también puede apreciarse en la Figura 5, donde se observa que el 36% de las muestras analizadas tuvieron unos recuentos inferiores a 400.000 céls/ml, mientras que el 12% de las muestras tuvieron recuentos extremadamente altos, superiores a 1 millón de céls/ml.

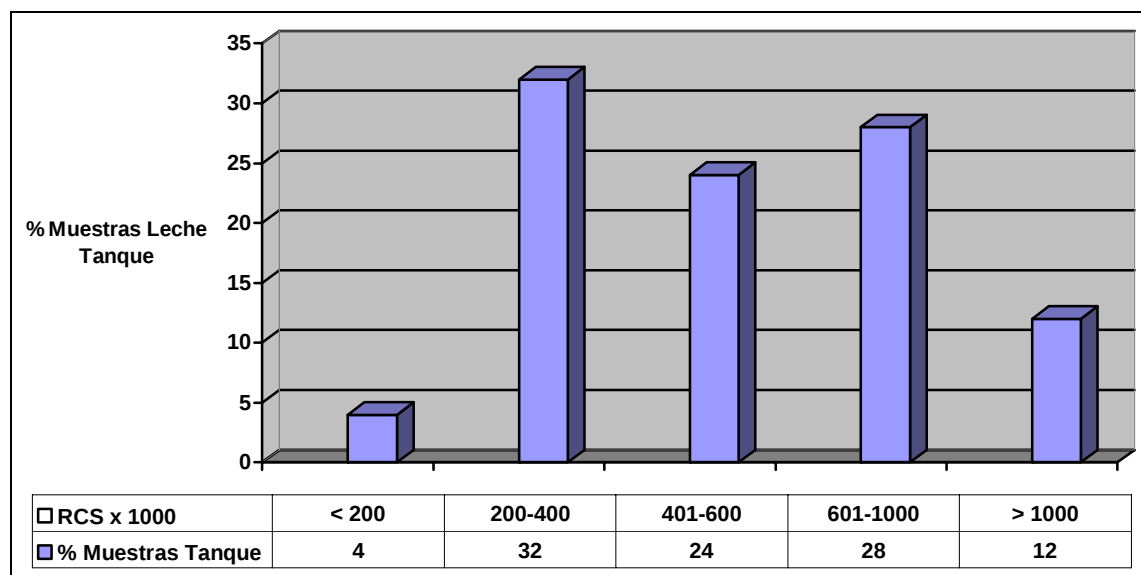


Figura 5. Distribución de las muestras de leche de tanque (n=25) según el RCS (x1000 céls/ml).

En la Tabla 11 y en la Figura 6 se recogen las medias aritméticas (MA) y geométricas (MG) del RCS en cada una de las granjas muestreadas. Considerando la MA, se observa que en cuatro granjas los recuentos medios fueron relativamente bajos, inferiores a 400.000 céls/ml (granjas nº 1, 2, 3 y 8), mientras que en otras

cuatro granjas (n° 4, 6, 9 y 10) los recuentos medios fueron bastante elevados, superiores a 600.000 céls/ml. Respecto a la MG, podemos destacar que en tan solo 6 granjas (n° 1, 2, 3, 5, 7 y 8) los recuentos medios fueron inferiores al umbral establecido por la UE (400.000 céls/ml).

Tabla 11. RCS (céls/ml) en las muestras de leche de tanque tomadas en cada una de las granjas muestreadas.

Granja	n	RCS		LogRCS
		MA±DS (x10 ³)	MG (x10 ³)	MA±DS
1	3	397 ± 210	355	5.55 ± 0.24
2	2	382 ± 81	380	5.58 ± 0.09
3	1	295	295	5.47 ± 0.18
4	3	925 ± 326	891	5.95 ± 0.14
5	2	463 ± 332	398	5.60 ± 0.34
6	2	1227 ± 980	1.000	6.00 ± 0.40
7	3	420 ± 198	380	5.58 ± 0.23
8	3	369 ± 158	347	5.54 ± 0.21
9	3	693 ± 270	661	5.82 ± 0.19
10	3	657 ± 548	525	5.72 ± 0.35
Todas	25	593 ± 409	490	5.69 ± 0.24

MG: media geométrica MA: media aritmética DS: desviación estándar

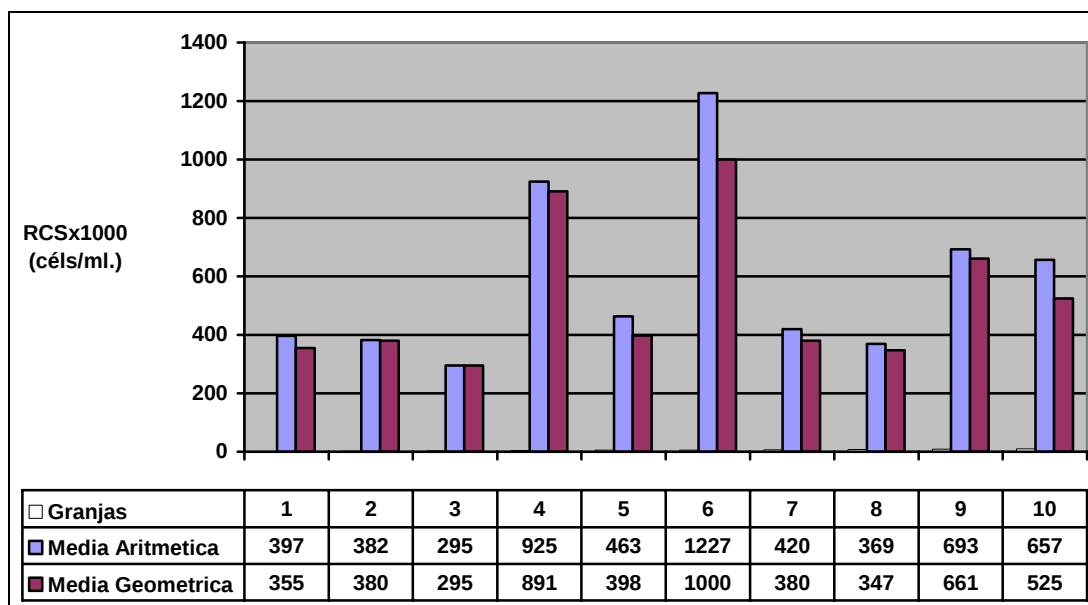


Figura 6. Medias aritméticas (x1000 céls/ml) y geométricas del RCS en la leche de tanque en cada una de las diez granjas muestreadas.

Al agrupar las muestras de leche según el sistema de explotación utilizado (estabulación vs. pastoreo) se observó que en las granjas en estabulación los recuentos medios (MA: 541.000 céls/ml; MG: 447.000 céls/ml) fueron ligeramente inferiores respecto a los obtenidos en las granjas en pastoreo (MA: 633.000 céls/ml; MG: 524.000 céls/ml), si bien las diferencias no llegaron a ser significativas (Tabla 12).

Tabla 12. RCS (céls/ml) en leche del tanque según el sistema de explotación utilizado

Sistema de Explotación	n	RCS		LogRCS m±ES
		MA±ES (x10 ³)	MG (x10 ³)	
Estabulación	11	541 ± 323	447	5.65 ± 0.07
Pastoreo	14	633 ± 474	524	5.72 ± 0.06
Niv Sig.	-	-	-	NS

NS: diferencia no significativa (p>0,05). MG: media geométrica, MA: media aritmética

Finalmente, el factor control o época del año llegó a afectar significativamente al RCS en leche de tanque (p<0.05; Tabla 13), dado que en el control de Febrero (MA: 847.000 céls/ml; MG: 724.000 céls/ml) los recuentos fueron significativamente más elevados a los obtenidos en el control de Julio (MA: 413.000 céls/ml; MG: 355.000 céls/ml). En el control de Noviembre los recuentos fueron intermedios (MA: 512.000 céls/ml; MG: 457.000 céls/ml) aunque sin diferir significativamente respecto a los otros dos controles.

Tabla 13. RCS (céls/ml) en leche del tanque en cada uno de los controles realizados.

Control	n	RCS		LogRCS m±ES
		MA±ES (x10 ³)	MG (x10 ³)	
Febrero	9	847 ± 533	724	5.86 ± 0.08 ^a
Julio	10	413 ± 251	355	5.55 ± 0.08 ^b
Noviembre	6	512 ± 212	457	5.66 ± 0.10 ^{ab}
Niv Sig.	-	-	-	*

* Efecto significativo (p<0.05). MG: media geométrica, MA: media aritmética.

a,b Letras diferentes en una misma columna indica diferencias significativas (p<0.05)

2.2. RCS EN LECHE DE UBRE

De las 1530 muestras de leche de ubre tomadas en las explotaciones (10 granjas x 3 controles x 51 muestras por control), tan solo en 1063 muestras se pudo analizar el RCS, debido principalmente a problemas con el transporte de las muestras. Las medias aritméticas ($\pm$ DS) y geométricas de todas las muestras analizadas fueron 507.000 ($\pm$ 1.062.000) céls/ml y 166.000 céls/ml, respectivamente.

En la Tabla 14 podemos observar los valores medios en cada una de las 10 granjas muestreadas. Vemos que las granjas 1, 2, 7, 8 y 9 tuvieron recuentos inferiores a los valores medios (media aritmética), mientras que en el resto de granjas los valores fueron superiores. Así mismo, en la Figura 7 se ha representado la distribución de los recuentos en las muestras procedentes de ubres sanas y de ubres con IIM. En el primer caso, el 65% de las muestras tuvieron menos de 200.000 céls/ml y el 73% menos de 300.000 céls/ml, aunque también podemos destacar que el 12% de las ubres bacteriológicamente sanas tuvieron recuentos superiores a 900.000 céls/ml. En las ubres con IIM, el 24% de las muestras

Tabla 14. RCS (céls/ml) en las muestras de leche de ubre en cada una de las granjas muestreadas.

Granja	N	RCS (céls/ml)		LogRCS
		MA $\pm$ DS ($\times 10^3$)	MG ($\times 10^3$)	MA $\pm$ DS
1	137	401 $\pm$ 790	163	5.21 $\pm$ 0.55
2	87	435 $\pm$ 598	200	5.30 $\pm$ 0.57
3	86	526 $\pm$ 1500	138	5.14 $\pm$ 0.67
4	125	811 $\pm$ 1170	316	5.50 $\pm$ 0.65
5	79	605 $\pm$ 1190	200	5.30 $\pm$ 0.66
6	90	522 $\pm$ 1067	138	5.14 $\pm$ 0.67
7	77	412 $\pm$ 1124	96	4.98 $\pm$ 0.66
8	133	354 $\pm$ 548	148	5.17 $\pm$ 0.57
9	127	376 $\pm$ 711	155	5.19 $\pm$ 0.55
10	122	636 $\pm$ 1490	163	5.21 $\pm$ 0.70
Todas	1063	507 $\pm$ 1062	166	5.22 $\pm$ 0.63

MG: media geométrica

MA: media aritmética

DS: desviación estándar

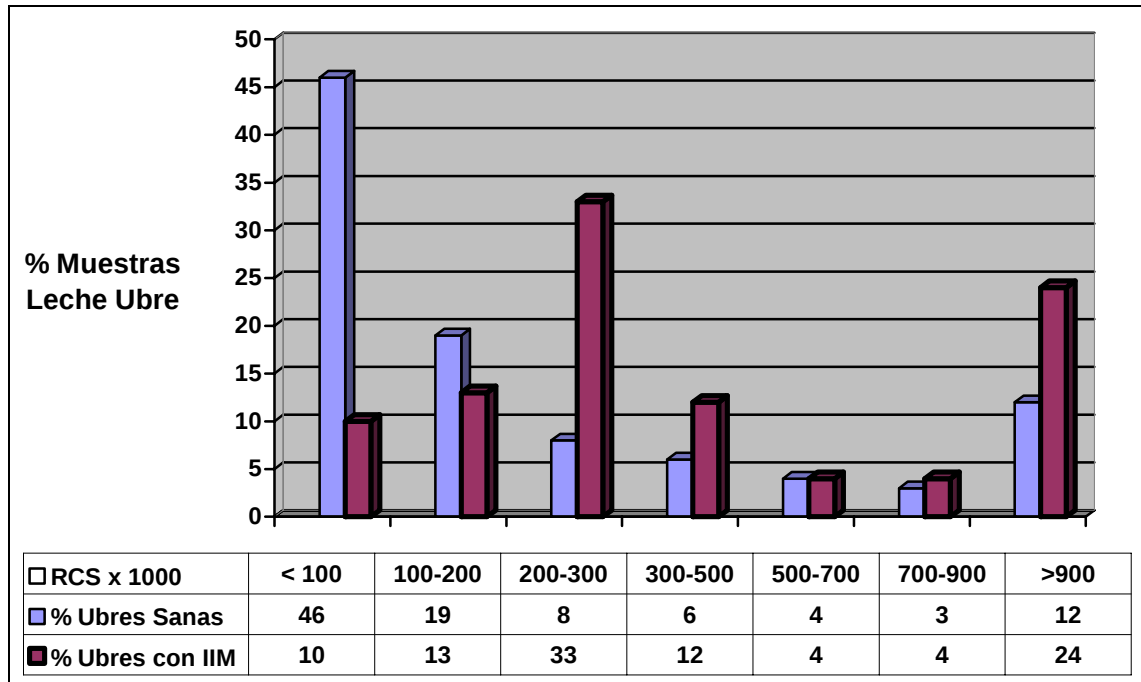


Figura 7. Distribución de frecuencias del RCS (céls/ml) en las ubres muestreadas, separadas según el resultado del análisis bacteriológico (sanas o infectadas).

superaron las 900.000 céls/ml, pero también podemos apreciar que el 33% de las muestras tuvieron recuentos entre 200.000 y 300.000 céls/ml.

2.2.1. Factores no infecciosos

Los resultados de los análisis estadísticos realizados se han recogido en la Tabla 15. El principal factor que influyó sobre el RCS fue el Estado de Lactación, siendo su efecto significativo ($p < 0.001$) en los tres análisis estadísticos llevados a cabo (ubres sanas, ubres infectadas y en el total de las ubres). También el factor Granja afectó significativamente al RCS en las ubres sanas ($p < 0.001$), ubres infectadas ($p < 0.05$) y en el total de ubres ($p < 0.01$). Los efectos del Control y el Número de Lactación fueron significativos en las ubres sanas ($p < 0.01$ y $p < 0.05$, respectivamente) pero ambos factores no fueron significativos al considerar solamente las ubres infectadas. El resto de factores (Sistema de Explotación, interacción Número de Lactación x Estado de Lactación y el resto de interacciones) no afectaron significativamente al RCS en ninguno de los tres análisis estadísticos realizados.

Tabla 15. Valores de F y niveles de significación en los diferentes factores considerados en los tres análisis estadísticos realizados del RCS en muestras de ubre (solo ubres sanas, solo ubres infectadas o el total de ubres).

Factor	Ubres sanas	Ubres infectadas	Total ubres
Control	9.9**	2.1 ^{NS}	12.1***
Sistema de Explotación	1.4 ^{NS}	0.5 ^{NS}	1.5 ^{NS}
Número de Lactación (NL)	9.2*	1.7 ^{NS}	11.0**
Estado de Lactación (EL)	20.0***	13.6***	30.7***
NL * EL ¹	1.2 ^{NS}	0.6 ^{NS}	0.6 ^{NS}
Granja	3.4***	2.4*	3.0**

¹ El resto de interacciones no fueron significativas en los tres análisis estadísticos realizados

NS : efecto no significativo (p>0.05)

* : efecto significativo (p<0.05)

** : efecto significativo (p<0.01)

***: efecto significativo (p<0.001)

En la Tabla 16 se presenta el RCS obtenido según el estado de lactación de las vacas. En las ubres sanas los recuentos aumentaron al avanzar la lactación siendo las diferencias significativas entre los tres niveles estudiados: Inicio, Mitad y Final (log RCS: 4.94, 5.15 y 5.32, respectivamente; MA: 259.000, 337.000 y 418.000 céls/ml, respectivamente). Lo mismo ocurrió en el análisis estadístico realizado solamente con las ubres infectadas (log RCS: 5.07, 5.33 y 5.62, respectivamente) y en el análisis de todas las ubres (log RCS: 5.02, 5.24 y 5.44, respectivamente).

Respecto al efecto del número de lactación, tal y como ya se ha comentado los resultados fueron diferentes al considerar las ubres sanas respecto a las infectadas (Tabla 17). En las primeras, los recuentos fueron significativamente (p<0.05) más bajos en las vacas primíparas que en las multíparas (log RCS: 5.08 y 5.19, respectivamente), mientras que en las ubres infectadas los recuentos no llegaron a diferir significativamente entre ambos grupos de animales (log RCS: 5.31 y 5.38 en las vacas primíparas y multíparas, respectivamente). Considerando todas las ubres, con independencia de su estado sanitario, se observó nuevamente que las vacas primíparas presentaron recuentos significativamente inferiores respecto a las vacas multíparas (log RCS: 5.18 y 5.29, respectivamente).

Tabla 16. RCS (céls/ml) en leche de ubre según el estado de lactación de las vacas.

Tipos de ubres	Estado de lactación ¹	n	RCS (céls/ml)		LogRCS m±ES
			MA±DS (x10 ³)	MG (x10 ³)	
Sanas	Inicio	220	259 ± 389	87	4.94 ± 0.04 ^a
	Mitad	348	337 ± 429	141	5.15 ± 0.03 ^b
	Final	197	418 ± 432	209	5.32 ± 0.04 ^c
	Niv. Sig.	-	-	-	***
Infectadas	Inicio	84	557 ± 1595	118	5.07 ± 0.08 ^a
	Mitad	122	598 ± 1929	214	5.33 ± 0.06 ^b
	Final	70	1196 ± 1049	417	5.62 ± 0.08 ^c
	Niv. Sig.	-	-	-	***
Todas	Inicio	309	366 ± 1062	105	5.02 ± 0.05 ^a
	Mitad	483	400 ± 737	174	5.24 ± 0.05 ^b
	Final	271	626 ± 1230	275	5.44 ± 0.05 ^c
	Niv. Sig.	-	-	-	***

¹ Estado de lactación. Inicio: 7-100 días; Mitad: 101-200 días; Final: >200 días

MG: media geométrica

MA: media aritmética

DS: desviación estándar

ES: error estándar

*** : efecto significativo (p<0.001)

a,b,c : letras diferentes en una misma columna indica diferencias significativas (p<0.05)

Tabla 17. RCS en leche de ubre según el número de lactación de las vacas.

Tipos de ubres	Número de lactación	n	RCS (céls/ml)		LogRCS m±ES
			MA±DS (x10 ³)	MG (x10 ³)	
Sanas	1	309	278 ± 382	120	5.08 ± 0.03
	≥2	456	374 ± 443	155	5.19 ± 0.03
	Niv Sig.	-	-	-	*
Infectadas	1	112	561 ± 1333	204	5.31 ± 0.06
	≥2	164	858 ± 1870	246	5.39 ± 0.06
	Niv Sig.	-	-	-	NS
Todas	1	431	352 ± 763	151	5.18 ± 0.05
	≥2	632	514 ± 1106	195	5.29 ± 0.05
	Niv Sig.	-	-	-	**

MG: media geométrica

MA: media aritmética

DS: desviación estándar

ES: error estándar

NS: efecto no significativo (p>0.05)

* : efecto significativo (p<0.05)

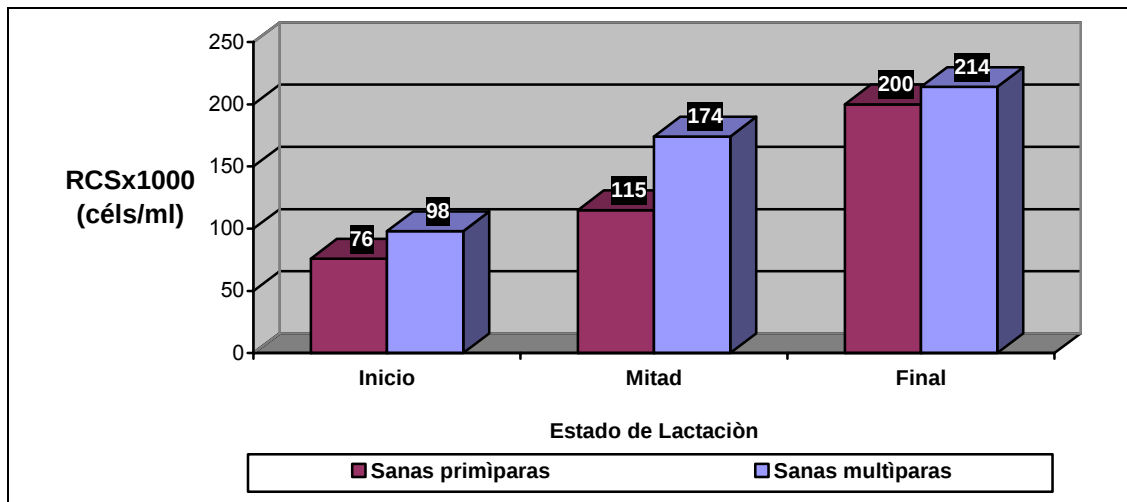
** : efecto significativo (p<0.01)

En la Figura 8 se recogen las medias geométricas según el estado de lactación en las vacas primíparas y multíparas cuyas ubres estaban sanas (Figura 8a), infectadas (Figura 8b) o todas las ubres (Figura 8c). En las tres gráficas se aprecia que el RCS aumentó al avanzar la lactación, observándose una tendencia similar tanto en las vacas primíparas como en multíparas, lo cual explica que la interacción Estado Lactación x Número de lactación no fuera significativa en los tres análisis estadísticos realizados (Tabla 15).

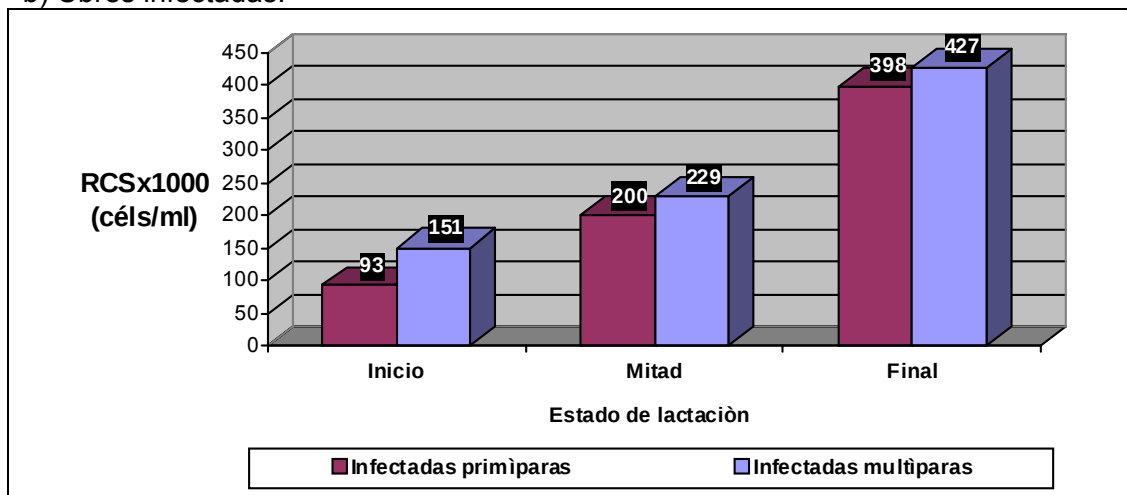
En relación al efecto del Control, tanto en las ubres sanas como en las infectadas los recuentos en el mes de Julio tendieron a ser inferiores respecto a los controles de Febrero y Noviembre; por el contrario los recuentos en estos dos últimos controles fueron muy similares (Tabla 18). No obstante, el descenso del RCS en el mes de Julio tan solo fue significativo ($p < 0.001$) en el análisis estadístico de las ubres sanas (log RCS: 5.21, 5.02 y 5.18, en los controles de Febrero, Julio y Noviembre, respectivamente) y del total de ubres (5.30, 5.12 y 5.28, respectivamente), mientras que en las ubres infectadas las diferencias no llegaron a ser significativas (5.40, 5.26 y 5.36, respectivamente; Tabla 18).

Finalmente, en la Tabla 19 se presentan los recuentos obtenidos según el Sistema de Explotación de los animales. Tal y como ya se ha comentado anteriormente este efecto no fue significativo, de modo que los recuentos medios fueron similares en las vacas explotadas en sistema de pastoreo que en las explotadas en estabulación, tanto al considerar solo las ubres sanas (log RCS: 5.16 y 5.11, respectivamente), como solo las ubres infectadas (log RCS: 5.35 y 5.33) o en el total de ubres (log RCS: 5.25 y 5.21; Tabla 19).

a) Ubres sanas.



b) Ubres infectadas.



c) Todas las ubres.

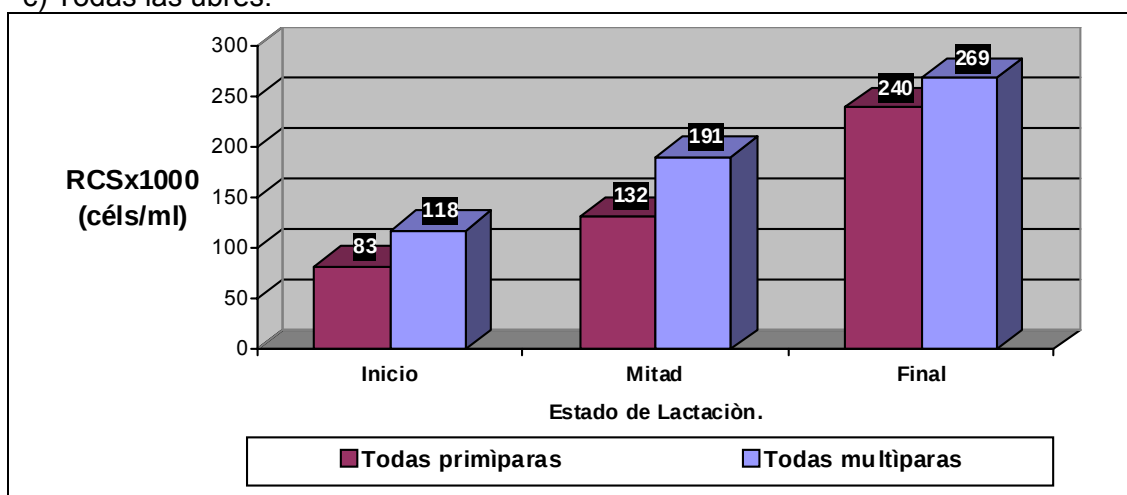


Figura 8. Media geométrica del RCS (cél/s/ml) en leche de ubre en vacas primíparas y multiparas, según su estado de lactación (Inicio: 7-100 días; Mitad: 101-200 días; Final: >201 días). Resultados obtenidos considerando solamente ubres sanas (a), ubres con IIM (b) o todas la ubres (c)

Tabla 18. RCS (cél/s/ml) en leche de ubre en cada uno de los controles realizados.

Tipos de ubres	Control	n	RCS (cél/s/ml)		LogRCS m±ES
			MA±DS (x10 ³)	MG (x10 ³)	
Sanas	Febrero	309	368 ± 433	162	5.21 ± 0.03 ^a
	Julio	320	289 ± 415	105	5.02 ± 0.03 ^b
	Noviembre	136	372 ± 404	152	5.18 ± 0.05 ^a
	Niv Sig.	-	-	-	***
Infectadas	Febrero	108	768 ± 1595	251	5.40 ± 0.06
	Julio	122	760 ± 1929	182	5.26 ± 0.06
	Noviembre	46	602 ± 1049	229	5.36 ± 0.10
	Niv Sig.	-	-	-	NS
Todas	Febrero	426	495 ± 1004	200	5.30 ± 0.05 ^a
	Julio	446	416 ± 1086	132	5.12 ± 0.05 ^b
	Noviembre	191	418 ± 624	191	5.28 ± 0.06 ^c
	Niv Sig.	-	-	-	***

MG: media geométrica

MA: media aritmética

DS: desviación estándar

ES: error estándar

NS: efecto no significativo (p>0.05)

*** : efecto significativo (p<0.001)

a,b,c : letras diferentes en una misma columna indica diferencias significativas (p<0.05)

Tabla 19. RCS (cél/s/ml) en leche de ubre según el sistema de explotación utilizado.

Tipos de ubres	Sistema de Explotación	n	RCS (cél/s/ml)		LogRCS m±ES
			MA±DS (x10 ³)	MG (x10 ³)	
Sanas	Estabulación	403	343 ± 440	145	5.16 ± 0.03
	Pastoreo	362	322 ± 397	129	5.11 ± 0.03
	Niv Sig.	-	-	-	NS
Infectadas	Estabulación	99	786 ± 1865	224	5.35 ± 0.07
	Pastoreo	177	740 ± 1562	214	5.33 ± 0.05
	Niv Sig.	-	-	-	NS
Todas	Estabulación	514	463 ± 1010	178	5.25 ± 0.05
	Pastoreo	549	436 ± 959	162	5.21 ± 0.05
	Niv Sig.	-	-	-	NS

MG: media geométrica

MA: media aritmética

DS: desviación estándar

ES: error estándar

NS: efecto no significativo (p>0.05)

2.2.2. Efecto de la infección intramamaria.

El factor Estado Sanitario de la ubre (sanas vs. infectadas) afectó significativamente al RCS, de modo que las ubres con infección intramamaria presentaron un RCS significativamente más elevado respecto a las ubres sanas (log RCS: 5.34 y 5.15, respectivamente; Tabla 20). Así mismo, las medias aritméticas y geométricas del RCS en las ubres sanas fueron 335.000 y 141.000 céls/ml, respectivamente, mientras que los valores correspondientes para las ubres infectadas fueron 737.000 y 219.000 céls/ml, respectivamente. Por el contrario, las interacciones del Estado Sanitario de la ubre con el Estado de Lactación (Inicio, Mitad y Final) y del Estado Sanitario de la ubre con el Número de Lactación (primíparas y multíparas) no resultaron significativas. Esto se explica porque las ubres infectadas tuvieron recuentos superiores a las ubres sanas en cada uno de los tres estados de lactación considerados (Inicio, Mitad y Final; Figura 9) y tanto en las vacas primíparas como en las multíparas (Figura 10).

Tabla 20. RCS (céls/ml) en leche de ubre según su estado sanitario.

Tipo de ubres	n	RCS (céls/ml)		LogRCS m±ES
		MA±DS (x10 ³)	MG (x10 ³)	
Sanas	765	335 ± 422	141	5.15 ± 0.02
Con IIM	276	737 ± 1670	219	5.34 ± 0.04
Niv Sig.	-	-	-	***

MG: media geométrica MA: media aritmética DS: desviación estándar ES: error estándar
 *** : efecto significativo (p<0.001)

Por otra parte, en la Tabla 21 se presentan los valores medios del RCS para cada uno de los grupos de gérmenes aislados. En relación a las medias aritméticas, los recuentos más elevados se obtuvieron en las ubres infectadas de *Streptococcus spp* (1.014 x 10³ céls/ml), coliformes (951 x 10³ céls/ml) y otros gram-negativo (878 x 10³ céls/ml), mientras que las corinebacterias (764 x 10³ céls/ml) y los ECN (653 x 10³ céls/ml) tuvieron valores intermedios y, finalmente, los gérmenes contagiosos *S. aureus* (480 x 10³ céls/ml) y *Str. agalactiae* (381 x 10³ céls/ml) presentaron valores menores (335 x 10³ céls/ml).

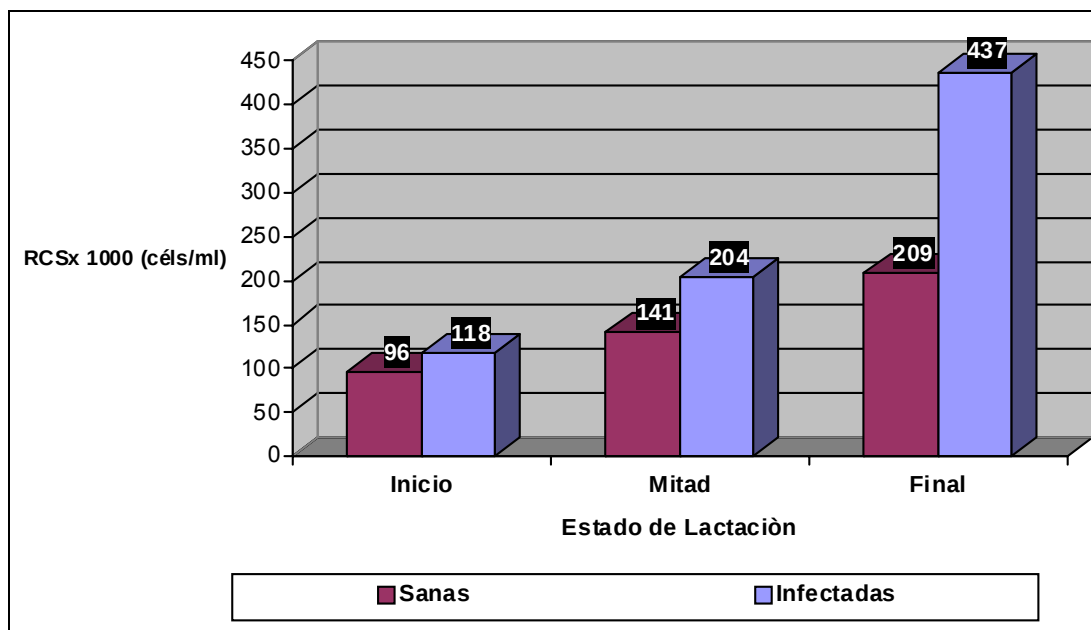


Figura 9. Media geométrica del RCS en ubres sanas e infectadas, según el estado de lactación (Inicio: 1-100 días; Mitad: 101-200 días; Final: 201-300 días)

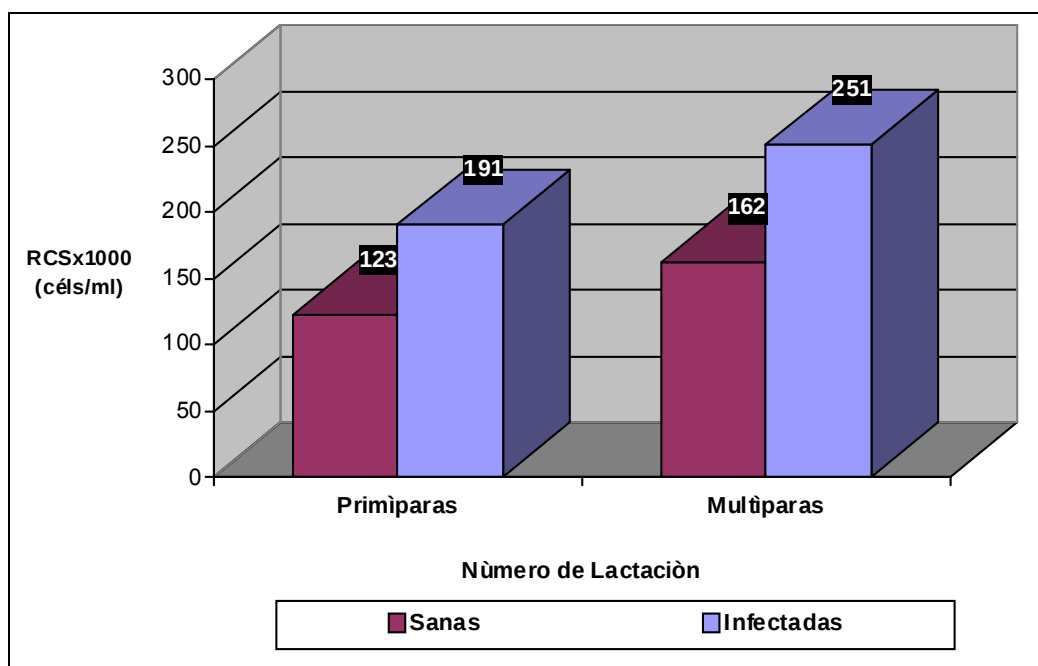


Figura 10. Media geométrica del RCS (cél/s/ml) en ubres sanas e infectadas, según el número de lactación (primíparas y multiparas).

Tabla 21. RCS (céls/ml) en leche de ubre según el tipo de germen aislado.

Estado sanitario de la ubre	Germen	n	RCS (céls/ml)		LogRCS m±ES
			MA±DS (x10 ³)	MG (x10 ³)	
Sana	-	765	335 ± 420	141	5.15 ± 0.02 ^a
Con IIM	<i>S. aureus</i>	67	480 ± 688	220	5.34 ± 0.07 ^b
	ECN	88	653 ± 1844	224	5.35 ± 0.07 ^b
	<i>Str. agalactiae</i>	8	381 ± 734	219	5.34 ± 0.40 ^{ab}
	<i>Streptococcus</i> spp.	89	1014 ± 2070	209	5.32 ± 0.06 ^b
	<i>Corynebacterium</i> spp.	9	764 ± 1160	195	5.29 ± 0.29 ^{ab}
	Coliformes	10	951 ± 1880	389	5.59 ± 0.26 ^{ab}
	Otros Gram negativo	5	878 ± 1454	234	5.37 ± 0.30 ^{ab}

MG: media geométrica

MA: media aritmética

DS: desviación estándar

ES: error estándar

a,b : letras diferentes en una misma columna indica diferencias significativas (p<0.05)

Sin embargo, también podemos destacar que, para cada germen, hubo una elevada variabilidad en los recuentos. Así mismo, solamente en aquellos gérmenes que fueron aislados con mayor frecuencia (*S. aureus*, n=67; ECN, n=88 y *Streptococcus* spp, n=89), el RCS presentó diferencias significativas (p<0.05) respecto a las ubres libres de IIM, puesto que en estos casos los errores estándar de la media del log RCS fueron menores (0.06-0.07) que en el resto de gérmenes que fueron aislados con baja frecuencia (n≤10; error estándar 0.26-0.40). Así mismo, los recuentos no llegaron a diferir significativamente entre los siete grupos de gérmenes identificados (Tabla 21).

Finalmente, podemos destacar que, al considerar solamente las infecciones provocadas por los gérmenes más frecuentemente aislados (*S. aureus*, ECN y *Streptococcus* spp), las interacciones entre el Tipo de germen x Estado de Lactación y Tipo de germen x Número de Lactación tampoco resultaron significativas. Así, los tres tipos de gérmenes elevaron los recuentos, respecto a las ubres sanas, de forma similar en los estadios Inicial, Mitad y Final de la lactación (Figura 11), y en las vacas primíparas y multíparas (Figura 12).

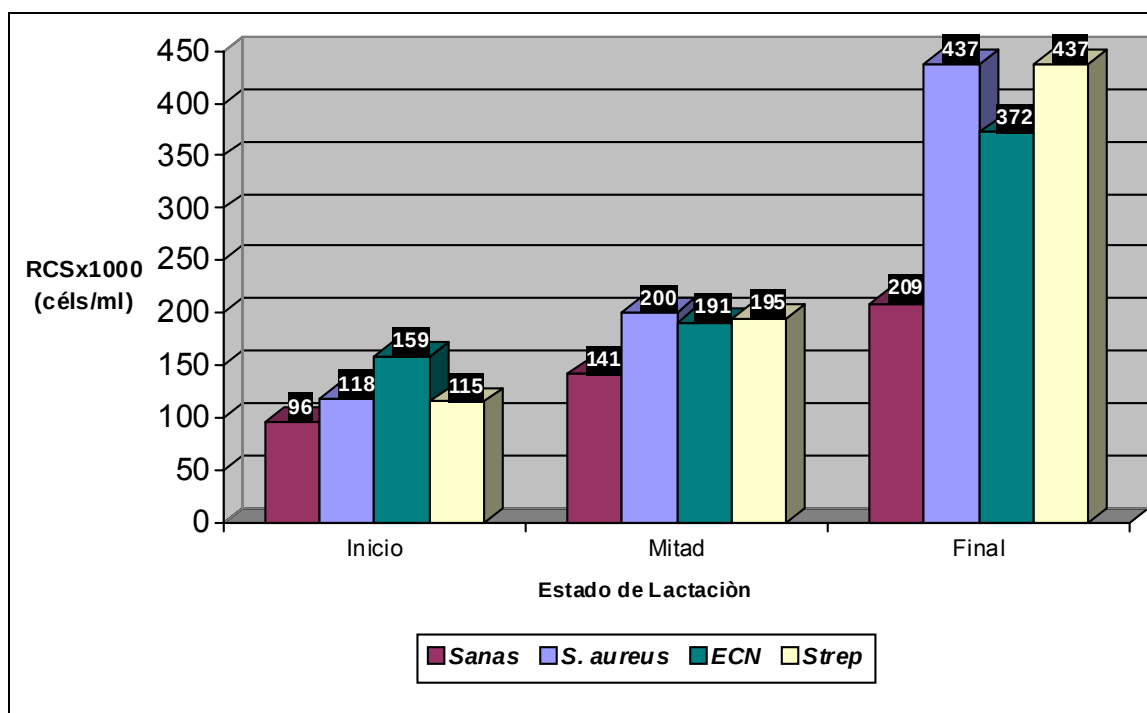


Figura 11. Media geométrica del RCS (cél/s/ml) en ubres sanas e infectadas por *S. aureus*, ECN y *Streptococcus* spp, según el estado de lactación (Inicio: 7-100 días; Mitad: 101-200 días; Final: >201 días).

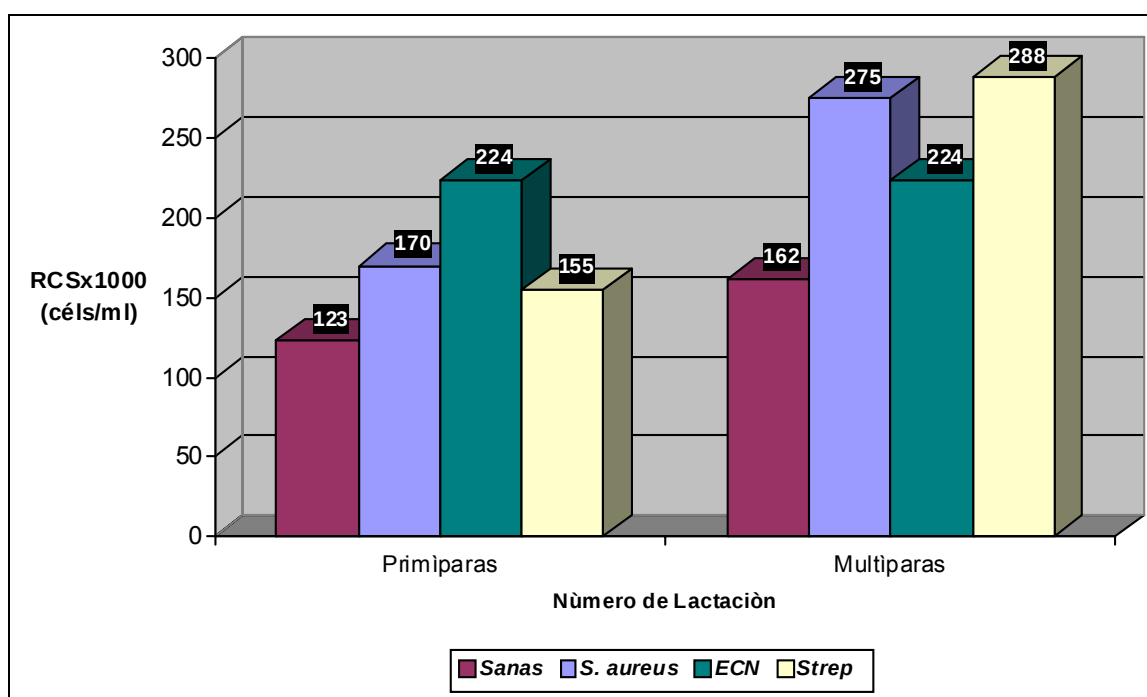


Figura 12. Media geométrica del RCS (cél/s/ml) en ubres sanas e infectadas por *S. aureus*, ECN y *Streptococcus* spp, según el número de lactación (primíparas y multiparas) de las vacas.

2.3.- DISCUSIÓN

RCS en leche de tanque

Los valores medios del RCS en la leche de tanque obtenidos en 10 explotaciones de raza Carora (medias aritméticas y geométricas de 593.000 y 490.000 céls/ml, respectivamente) son totalmente novedosos, dado que hasta el momento nunca se había estudiado este parámetro en la citada raza. En Venezuela, tan solo se dispone de un trabajo anterior, realizado en vacas mestizas Holstein, pero los recuentos encontrados fueron mucho más elevados a los hallados en este trabajo (entre 724.000 y 1.400.000 céls/ml; Scaramelli et al., 1999).

Aunque los recuentos medios de la leche de tanque fueron bastante variables entre explotaciones (medias aritméticas de 295.000 a 1.227.000 céls/ml), en general estos valores fueron superiores a los observados en otros países que están desarrollando, desde hace bastantes años, estrategias para disminuir la prevalencia de infecciones intramamarias y el RCS de la leche.

En estos países se ha conseguido reducir el RCS en base a tres importantes acciones: a). desarrollar conjuntamente entre técnicos y ganaderos programas de control de mastitis; b). la administración ha fijado un límite máximo de RCS en la leche de tanque para que ésta pueda ser comercializada y c). La industria paga la leche a los ganaderos en función del RCS (penalizaciones y bonificaciones; More, 2009). Los menores recuentos publicados se han obtenido en Noruega (MA: 140.000 céls/ml; MG: 115.000 céls/ml; Osteras y Solverod, 2005) y Finlandia (MG: 130.000 céls/ml; Pitkala et al., 2004), mientras que en muchos países de la Unión Europea (límite administrativo de 400.000 céls/ml; media geométrica de 3 meses, con un valor al menos al mes), los valores medios de los recuentos suelen estar entre 200.000 y 300.000 céls/ml. Por ejemplo, en Suecia los recuentos son ligeramente inferiores a 200.000 céls/ml (More, 2009), en Holanda y Dinamarca se sitúan en torno a las 230.000 céls/ml (Sampimon et al., 2005; More, 2009) y en Irlanda la media geométrica se sitúa en 240.000 céls/ml (Berry et al., 2006). En Canadá (límite administrativo de 500.000 céls/ml) los recuentos son similares a la UE. (250.000 céls/ml; Sargeant et al., 1998), mientras que en EE.UU (límite administrativo de 750.000 céls/ml) los valores medios suelen superar las 300.000 céls/ml (Van Shaik et al., 2002; Jayarao et al., 2004).

En cualquier caso, si en las explotaciones consideradas en este trabajo se aplicaran estrategias similares a las citadas anteriormente es previsible que también se produciría un descenso de los recuentos hasta situarse por debajo de 400.000 céls/ml, tal y como ya ha ocurrido en otros países de Sudamérica. Por ejemplo, en Chile los recuentos disminuyeron de 420.000 a 311.000 céls/ml entre los años 1996 y 2002 (Kruze, 2005), y en Uruguay el descenso fue de 546.000 a 350.000 céls/ml entre los años 1996 y 2004 (Bouman et al., 2005b).

Otro aspecto a destacar es que los recuentos obtenidos en el control de Febrero fueron muy elevados, llegando a duplicar a los obtenidos en el control de Julio. En este sentido, debemos precisar que en muchos países existe una clara estacionalidad en el RCS de la leche de tanque, de modo que los máximos recuentos suelen producirse en los meses de verano (julio a septiembre). Es probable que este incremento tenga un origen infeccioso, ya que las temperaturas más elevadas del verano (y en ocasiones la elevada humedad) favorecen que aumente la incidencia de IIM (Harmon, 1994), o las infecciones de ciertos patógenos ambientales (*Str. uberis*, coliformes; Olde Riekerink et al., 2007; Hogan et al., 1989; Makovec y Ruegg, 2003) o las infecciones crónicas (Green et al., 2006). Esta estacionalidad se ha observado en países como EEUU (Nightingale y Schukken, 2005; Norman et al., 2000; Lukas et al., 2008), Holanda (van der Zwaag et al., 2005; Barkema et al., 2005; Olde Riekerink et al., 2007), el Reino Unido (Green et al., 2006) y Francia (Rupp et al., 2000). No obstante, los máximos recuentos también pueden aparecer en los meses de otoño (septiembre a noviembre), tal y como se ha observado en Canadá (máximo recuentos en septiembre-octubre, Sargeant et al., 1998) y en Irlanda (máximos recuentos en noviembre, Berry et al., 2006). En este último país la estacionalidad puede explicarse por la elevada concentración de partos que existe hacia final del invierno y principios de primavera, de modo que en otoño la mayoría de la vacas están hacia final de la lactación, lo que hace aumentar los recuentos en la leche de tanque (Berry et al., 2006).

Sin embargo, los aspectos señalados anteriormente no permiten explicar porque los recuentos fueron tan elevados en el control de Febrero. Debemos precisar que este mes es considerado en Venezuela como verano, dado que forma parte de la época en que habitualmente hay pocas lluvias. Sin embargo, no se encontró que la prevalencia de IIM fuera más elevada en este control que en los

controles de Julio (mes considerado como invierno, por ser época de lluvias) y Noviembre (ver punto 1.1 en Resultados y Discusión de la presente Tesis Doctoral). Así mismo, en el manejo habitual de las explotaciones estudiadas no se lleva a cabo ninguna estrategia para concentrar los partos en una época del año, por lo que también podríamos descartar que estos elevados recuentos del control de Febrero tuvieran un origen fisiológico (alto porcentaje de vacas a final de la lactación). Por tanto, parece conveniente que la estacionalidad en los recuentos de la leche de tanque sea nuevamente estudiada en futuros trabajos.

RCS en muestras de leche individual

Los recuentos medios en las ubres sanas (medias aritméticas y geométricas de 335.000 y 141.000 céls/ml, respectivamente) fueron ligeramente inferiores a los encontrados por Scaramelli et al. (1999) en Venezuela con vacas Holstein y mestizas (media aritmética de 425.000 céls/ml). Sin embargo, la mayoría de trabajos realizados en Europa y EEUU encuentran que las ubres libres de IIM presentan recuentos inferiores a los hallados en el presente estudio, con medias geométricas inferiores a las 100.000 céls/ml (Wilson et al., 1997; Laevens et al., 1997; Schukken et al., 2003; Sampimon et al., 2009). Así mismo, en nuestro caso solamente el 65% de las ubres libres de IIM tuvieron unos recuentos inferiores a 200.000 céls/ml, mientras que en otros trabajos este porcentaje es del 80% (Harmon, 1994). También podemos destacar que el 12% de las ubres aparentemente sanas tuvieron recuentos extremadamente altos (>900.000 céls/ml), lo cual es muy probable que fuera debido a que eran falsos negativos (Lam et al., 2009) o a que estas ubres habían sufrido con anterioridad una IIM y, tras su curación bacteriológica, los recuentos aún permanecían elevados (Schultz, 1977; Philpot y Nickerson, 2002; Curbelo, 2007).

En este trabajo se ha encontrado que, tanto en las ubres sanas como en las infectadas, el RCS aumenta significativamente con el estado de lactación (comparando los tres niveles considerados: inicio, mitad y final) y con el número de lactación (primíparas y multíparas). En la bibliografía existe unanimidad en que, cuando no se separan los animales según el estado sanitario de la ubre, el RCS también aumenta al avanzar la lactación (tras haber alcanzado el pico de producción de leche) y al aumentar el número de lactación (Sheldrake et al., 1983; Serieys, 1985; Harmon, 1994; Ten Napel et al., 2008), debido principalmente a que

en ambos casos tiende a aumentar la prevalencia de IIM, como consecuencia de la mayor exposición de las ubres a los patógenos mamarios (Paape et al., 2007); además en el caso del estado de lactación, los recuentos también aumentan a medida que descende la producción de leche, ligado a un fenómeno de concentración celular (Harmon, 1994; Paape et al., 2007; Rupp et al., 2000). Así mismo, varios trabajos han demostrado que, en las vacas infectadas, también se incrementan de forma importante los recuentos al avanzar el estado y el número de la lactación (Sheldrake et al., 1983; Reneau, 1986; Harmon, 1994), lo que sugiere que aumenta la intensidad y duración de la reacción inflamatoria frente a la IIM (Poutrel, 1983). Sin embargo, en las vacas sanas este incremento del RCS es de menor orden (Sheldrake et al., 1983; Schepers et al., 1997; Ostensson, 1993), e incluso, en ocasiones no llega a diferir significativamente según el número y/o estado de lactación (Laevens et al., 1997; Scaramelli et al., 1999), aspecto que difiere de nuestros resultados.

Por otra parte, también podemos destacar que en las vacas sanas la interacción estado de lactación x número de lactación no resultó significativa, es decir, que la evolución del RCS con el estado de lactación fue similar en las vacas primíparas y en las multíparas. Sin embargo, en otros trabajos en los que el RCS se registraba mensualmente a lo largo de toda la lactación, encontraron que al avanzar la lactación los recuentos aumentaban en mayor medida en las vacas multíparas que en las primíparas (Schepers et al., 1997; Laevens et al., 1997).

Los recuentos fueron superiores en los controles de Febrero y Noviembre, respecto al control de Julio, resultado que también había sido observado en la leche de tanque. Nuevamente es difícil encontrar una explicación a este hecho dado que esta tendencia también ocurrió en las ubres sanas. Por ejemplo, los trabajos que han estudiado el efecto de ciertas condiciones ambientales estresantes (elevadas temperaturas, cambios bruscos, reagrupamientos etc..) han encontrado que, en ausencia de IIM, el RCS apenas se incrementa (Paape et al., 1973; Reneau, 1986). Por tanto, el aumento de los recuentos en las épocas con elevadas temperaturas y/o lluvias parece que se produce, principalmente, por un aumento de la prevalencia de IIM, principalmente por los denominados patógenos ambientales (coliformes y ciertos estreptococos) que se caracterizan por su elevada virulencia (Harmon, 1994).

Tal y como cabía esperar, la presencia de IIM elevó significativamente el RCS a nivel de ubre, con independencia del número y estado de lactación de los animales, lo cual coincide con la práctica totalidad de trabajos publicados (Reneau, 1986; Harmon, 1994). Por ejemplo, la media aritmética de los recuentos en las ubres infectadas por ECN fue el doble que en las ubres sanas, lo cual coincide con lo encontrado en otros trabajos (Series, 1985; Harmon, 1994). No obstante, no se pudo demostrar que los recuentos llegaran a diferir entre los distintos grupos de gérmenes aislados. En algunos casos (*Str. agalactiae*, *Corynebacterium spp*, coliformes y otros gérmenes Gram-negativo) probablemente se debió al bajo número de aislamientos realizados ($n \leq 10$). Sin embargo, el hecho de que los recuentos de las bacterias ECN no llegara a diferir significativamente respecto a *S. aureus* o el grupo de *Streptococcus spp* (en los tres casos con más de 60 aislamientos) difiere de lo encontrado habitualmente en otras publicaciones. Así, en el ganado vacuno lechero los ECN y las corinebacterias son considerados como patógenos menores, dado que los recuentos (entre 100.000 y 500.000 céls/ml) suelen ser inferiores que en los denominados patógenos mayores (*S. aureus*, *Str. agalactiae*, otros estreptococos, micoplasmas, coliformes; Reneau, 1986) y cuyos recuentos suelen superar el millón de céls/ml (Harmon, 1994; Scaramelli et al., 1999; Sampimon et al., 2009; Djabri et al., 2002).

En nuestro trabajo, los recuentos obtenidos tanto en los ECN como las corinebacterias (MA de 653.000 y 764.000 céls/ml, respectivamente; MG de 224.000 y 195.000 céls/ml, respectivamente) fueron de similar orden a los descritos en otros estudios llevados a cabo en muestras de cuarterones (Djabri et al., 2002) o en muestras de ubre (Wilson et al., 1997). Por el contrario, el resto de gérmenes (patógenos mayores) presentaron unos recuentos sensiblemente inferiores (MA de 380.000 a 1.014.000 céls/ml; MG de 209.000 a 389.000 céls/ml) a los encontrados habitualmente en otros experimentos (Wilson et al., 1997; Djabri et al., 2002).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.3. EFECTO DEL RCS Y LA MAMITIS SOBRE LA PRODUCCIÓN DE LECHE

3. PRODUCCIÓN DE LECHE INDIVIDUAL

La media aritmética ($\pm$ DS) de los 1470 registros de producción de leche disponibles fue de 15.7 kg/día ($\pm$ 6.8) y los valores mínimos y máximos registrados fueron de 1 y 38.6 kg/día, respectivamente. Así mismo, en la Tabla 22 podemos observar los valores medios en cada una de las diez granjas muestreadas.

Tabla 22. Producción de leche (kg/día) en cada una de las granjas muestreadas

Granja	n	Producción de leche (kg/día)		
		m $\pm$ DS	Mínimo	Máximo
1	142	17.9 $\pm$ 5.1	5.1	34.5
2	146	20.3 $\pm$ 6.0	5.6	33.8
3	152	20.6 $\pm$ 6.2	5.2	38.2
4	152	19.5 $\pm$ 7.0	2.1	38.6
5	134	15.1 $\pm$ 5.6	3.9	26.8
6	149	6.3 $\pm$ 2.2	2.3	15.1
7	151	12.8 $\pm$ 4.5	2.3	23.9
8	148	14.7 $\pm$ 5.9	2.6	28.6
9	143	13.9 $\pm$ 4.5	3.6	26.6
10	153	15.8 $\pm$ 6.5	1.0	29.1
Todas	1470	15.7 $\pm$ 6.8	1.0	38.6

m: media aritmética

DS: desviación estándar

Los resultados de los cuatro análisis estadísticos realizados (modelos 1, 2, 3 y 4) se han recogido en la Tabla 23. En el modelo 1 (sin considerar el efecto del RCS ni la presencia de infección intramamaria) todos los factores principales (Control, Sistema de Explotación, Número de Lactación, Estado de Lactación y Granja) influyeron significativamente sobre la producción de leche (Número de Lactación: $p < 0.05$; resto de factores: $p < 0.001$); respecto a las interacciones, solamente la correspondiente al Sistema de Explotación*Estado de Lactación resultó significativa ($p < 0.01$).

Las medias de producción de leche en los diferentes niveles de los factores anteriormente comentados se han recogido en la Tabla 24. En relación al efecto del Control, en Febrero se obtuvieron las mayores producciones (16.6 kg/día), disminuyendo de forma significativa en Julio (15.2 kg/día) y Noviembre (14.1 l/día).

Tabla 23. Valores de F y niveles de significación en los diferentes factores considerados en los cuatro análisis estadísticos realizados de la variable producción de leche

Factor	<i>Modelo de análisis estadístico</i>			
	1	2	3	4
Control	25.2***	11.5***	11.6***	24.7***
Sistema de Explotación (SE)	343.7***	207.3***	203.8***	340.6***
Número de Lactación (NL)	6.2*	7.2**	6.8**	6.0*
Estado de Lactación (EL)	93.7***	43.2***	43.1**	91.8***
NL * EL ¹	2.4 ^{NS}	3.4*	3.4*	2.6 ^{NS}
Granja	41.9***	27.5***	27.6***	41.4***
SE x EL	6.6**	5.1**	5.1**	6.5*
logRCS ²	-	15.8***	-	-
(coef. regresión)		(-1.12)		
Grupo RCS (Puntuación lineal)	-	-	4.0**	-
Estado Sanitario	-	-	-	1.2 ^{NS}

NS : efecto no significativo

* efecto significativo p<0.05

** efecto significativo p<0.01

*** efecto significativo p<0.001

Los animales estabulados también presentaron una mayor producción de leche respecto a los que practicaban el pastoreo (18.3 vs. 12.4 kg/día; p<0.001), mientras que las vacas primíparas tuvieron una ligera menor producción de leche que las multíparas (14.9 vs. 15.7 kg/día; p<0.05). Finalmente, la producción de leche disminuyó significativamente al avanzar la lactación (Inicio, Mitad y Final: 17.9, 15.5 y 12.5 kg/día, respectivamente).

Aunque la interacción Estado de Lactación*Número de Lactación no llegó a ser significativa (p=0.09), en la Tabla 25 se observa que las diferencias de producción de leche entre las vacas multíparas y las vacas primíparas tendieron a ser más elevadas al inicio de la lactación que a mitad o final de la lactación. Por otra parte, en la Tabla 26 también podemos apreciar que el descenso de la producción de leche a mitad de la lactación, respecto al inicio de la lactación, fue mayor en el sistema de pastoreo (descenso de 15.2 a 12 kg/día) que en el sistema de estabulación (descenso de 20.4 a 19.1 kg/día), lo que podría explicar que la

interacción Sistema de Explotación*Estado de Lactación resultara significativa ($p<0.01$; Tabla 23).

Tabla 24. Producción de leche (kg/día) en cada uno de los factores principales estudiados (control, sistema de producción, número de lactación y estado de lactación)

Factor	Nivel	n	m $\pm$ ES
Control	Febrero	485	16.6 $\pm$ 0.3 ^a
	Julio	488	15.2 $\pm$ 0.2 ^b
	Noviembre	497	14.1 $\pm$ 0.2 ^c
	<i>Niv. Sig.</i>	-	***
Sistema de Explotación	Estabulación	726	18.3 $\pm$ 0.2
	Pastoreo	744	12.4 $\pm$ 0.2
	<i>Niv. Sig.</i>	-	***
Número de Lactación	1	614	14.9 $\pm$ 0.2
	≥ 2	856	15.7 $\pm$ 0.2
	<i>Niv. Sig.</i>	-	*
Estado de Lactación	Inicio	484	17.9 $\pm$ 0.2 ^a
	Mitad	516	15.5 $\pm$ 0.2 ^b
	Final	470	12.5 $\pm$ 0.3 ^c
	<i>Niv. Sig.</i>	-	***

* efecto significativo $p<0.05$ ** efecto significativo $p<0.01$ *** efecto significativo $p<0.001$

a,b,c Letras diferentes en una misma columna indica diferencias significativas ($p<0.05$)

Tabla 25. Producción de leche (m $\pm$ ES; kg/día) según el número de lactación y estado de lactación de las vacas.

Número de Lactación	Estado Lactación					
	Inicio		Mitad		Final	
1	(208)	17.0 $\pm$ 0.4 ^a	(258)	15.2 $\pm$ 0.3 ^b	(148)	12.5 $\pm$ 0.5 ^c
≥ 2	(276)	18.7 $\pm$ 0.3 ^d	(358)	15.9 $\pm$ 0.3 ^b	(222)	12.6 $\pm$ 0.4 ^c

a,b,c,d Letras diferentes indica diferencias significativas ($p<0.05$)

() número de datos

Tabla 26. Producción de leche ($m \pm ES$; kg/día) según el sistema de explotación y el estado de lactación de las vacas

Sistema de Explotación	Estado Lactación					
	Inicio		Mitad		Final	
Estabulación	(227)	20.4 ± 0.3^a	(304)	19.1 ± 0.3^b	(195)	15.2 ± 0.4^c
Pastoreo	(257)	15.2 ± 0.3^c	(312)	12.0 ± 0.3^d	(175)	9.9 ± 0.4^e

a,b,c,d Letras diferentes indica diferencias significativas ($p < 0.05$)

() número de datos

3.1. RELACIÓN ENTRE EL RCS Y LA PRODUCCIÓN DE LECHE

Cuando el RCS (en log) se consideró como covariable en el análisis estadístico (modelo 2 de la Tabla 23), se observó que este factor tuvo un efecto significativo ($p < 0.001$) sobre la producción de leche. El coeficiente de regresión obtenido fue de -1.15, es decir, por cada unidad de incremento del logRCS la producción de leche tendió a disminuir en 1.15 kg/día. Las interacciones del logRCS con el número de lactación y con el estado de lactación no resultaron significativas.

Al introducir en el modelo estadístico el RCS como factor de agrupamiento según la puntuación lineal (modelo 3 de la Tabla 23), nuevamente se observó que este factor tuvo un efecto significativo sobre la producción de leche ($p < 0.01$); así mismo, ninguna de las interacciones entre el grupo de RCS y el resto de factores considerados en el modelo (Número de Lactación, Estado de Lactación etc..) resultaron significativas.

En la Tabla 27 se aprecia que a partir de la puntuación 4 (141.000 - 282.000 céls/ml) inclusive la producción de leche tendió a disminuir, si bien las diferencias solo fueron significativas en las puntuaciones 6 (566.000 - 1.130.000 céls/ml) y 7 (1.131.000 - 2.262.000 céls/ml). En la puntuación 8 ($> 2.262.000$ céls/ml) las diferencias no fueron significativas, aunque habían pocos casos ($n=31$). Se observa que la disminución de la producción de leche fue de 0.4 a 0.6 kg/día cada vez que se incrementaba un nivel de puntuación (a partir de la puntuación 4). En porcentaje,

la producción de leche disminuyó desde un 3.4% en la puntuación 4 hasta un 13.7% en las puntuaciones 7 y 8 (Tabla 27).

Tabla 27. Producción de leche de las vacas según el RCS obtenido en las muestras del control lechero (agrupación según su puntuación lineal).

Puntuación RCS ¹	RCS (x10 ³ céls/ml)			Producción de leche		
	Media	Intervalo	n	m±ES (kg/día)	Descenso ² Kg/día	%
1	25	18-34	169	15.4 ± 0.3 ^a	-	-
2	50	35-70	212	15.5 ± 0.4 ^a	-	-
3	100	71-140	129	15.6 ± 0.5 ^a	-	-
4	200	141-282	154	15.0 ± 0.4 ^a	0.5	3.4
5	400	283-565	128	14.4 ± 0.5 ^{ab}	1.1	7.3
6	800	566-1130	120	13.8 ± 0.5 ^b	1.7	11.1
7	1600	1131-2262	81	13.4 ± 0.6 ^b	2.1	13.7
8	3200	>2262	25	13.4 ± 1.0 ^{ab}	2.1	13.7
Niv. Sig.	-	-	-	***	-	-

¹ Puntuación del RCS (Somatic Cell Score)= $\log_2(\text{RCS}/100.000)+3$

² Descenso respecto a la producción media obtenida en los niveles de puntuación ≤ 3 (15.5 kg/día)

a,b Letras diferentes en una misma columna indica diferencias significativas ($p<0.05$)

3.2. RELACIÓN ENTRE LA INFECCIÓN INTRAMAMARIA Y LA PRODUCCIÓN DE LECHE

La presencia de infección intramamaria no llegó a afectar significativamente a la producción de leche (modelo 4 de la Tabla 23), si bien los valores medios fueron ligeramente inferiores en las ubres con IIM respecto a las ubres sanas (15.4 y 15.9 kg/día, respectivamente; $P>0.05$; Tabla 28). Así mismo, ninguna de las interacciones del factor IIM con el resto de factores considerados en el modelo (Número de Lactación, Estado de Lactación, Sistema de Explotación, Control) resultaron significativas.

Tabla 28. Producción de leche (kg/día) según el estado sanitario de la ubre

Estado sanitario de la ubre	n	m ± ES
Sanas	1062	15.9 ± 0.2
Con IIM	384	15.4 ± 0.3
Niv Sig.	-	NS

Así mismo, al considerar de forma separada las infecciones provocadas por los gérmenes más frecuentemente aislados (*S. aureus*, ECN y *Streptococcus spp*), tampoco se observó que las diferencias de producción de leche de estas infecciones, respecto a las ubres sanas, llegaran a ser significativas (Tabla 29).

Tabla 29. Producción de leche (kg/día) según el tipo de germen aislado

Estado Sanitario de la Ubre	Germen	n	m ± ES
Sana	-	1062	15.9 ± 0.2
Con IIM	<i>S. aureus</i>	86	15.3 ± 0.6
	ECN	127	15.4 ± 0.5
	<i>Streptococcus spp.</i>	124	15.6 ± 0.5
Niv. Sig.	-	-	NS

3.3. DISCUSIÓN

El principal factor que influyó sobre la producción de leche fue el sistema de explotación, de modo que las vacas estabuladas tuvieron una mayor producción de leche respecto a las que estaban en pastoreo (17.7 vs. 12,2 kg/vaca y día, respectivamente), lo cual coincide con un trabajo previo (Bonetto, 2000). Dos aspectos podrían explicar este resultado. En primer lugar, en las granjas en estabulación es frecuente que tengan un número variable de vacas mestizas Carora (cruces con Holstein o Jersey), lo que significa que disponen de animales con mayor potencial productivo. En segundo lugar, los animales de estas explotaciones también suelen recibir un mayor nivel de alimentación y utilizan dietas más equilibradas respecto a las vacas de las granjas que practican el pastoreo. En

cualquier caso, podemos señalar que los valores medios de producción de leche citados anteriormente para las granjas en pastoreo son similares a los registrados por la Asociación de ganado de Raza Carora, y cuya producción media de esta raza se sitúa en 12 kg/vaca y día (ASOCRICA, 2009).

La producción de leche disminuyó al avanzar el estado de lactación (en los tres niveles considerados) y fue más elevada en las vacas multíparas que en las primíparas, lo cual coincide con lo descrito en innumerables trabajos (Bouman, 2005a; Acebo, 2005; Ávila y Gutiérrez, 2006, entre otros). Resulta interesante que el descenso productivo en la mitad de la lactación (respecto al inicio de la lactación) fue mayor en las granjas en pastoreo que en las estabuladas (interacción significativa Sistema de Explotación x Estado de Lactación), lo que nuevamente sugiere que las vacas de estas últimas explotaciones recibían una mejor alimentación respecto a las que practicaban el pastoreo. Así mismo, es difícil explicar porque la producción de leche fue más elevada en el control de Febrero (16.1 kg/día) que en el control de Julio (14.7 kg/día) y éste a su vez fue superior al control de Noviembre (13.7 kg/día). Aunque en los rebaños pudiera existir una cierta concentración de partos entre los meses de diciembre y enero (ASOCRICA, 2009), el diseño experimental y el análisis estadístico realizado deberían haber corregido el efecto del estado de lactación. Por consiguiente, este resultado sugiere que en la mayoría de las explotaciones habrían diferencias ambientales (alto calor y humedad en Julio) o de alimentación (peor nivel de alimentación en Julio y en Noviembre, con forrajes conservados) entre los controles de Febrero, Julio y Noviembre.

En los dos análisis estadísticos realizados (modelos 2 y 3) se confirmó que existe una relación negativa entre el RCS y la producción de leche. En el modelo estadístico 2, en el que se introdujo el logRCS como covariable, se obtuvo un coeficiente de regresión del logRCS respecto a la producción de leche de -1.15. Es decir, por cada unidad de aumento del logRCS la producción de leche disminuyó en 1.15 kg/día, si bien la magnitud de este efecto no llegó a diferir significativamente según el número y estado de la lactación (interacción no significativa entre logRCS y cada uno de los dos factores mencionados). Este coeficiente es similar al encontrado por Koldeweij et al. (1999) en vacas Frisona primíparas (coeficiente de regresión de -1.29), pero es marcadamente inferior al encontrado por estos mismos autores en las vacas multíparas (-2.04).

En el modelo estadístico 3, se categorizó el RCS en 8 puntuaciones o niveles (Somatic Cell Score; Raubertas y Shook, 1982; Harmon, 1994), de modo que el RCS se duplicaba al aumentar cada nivel. Aunque la producción de leche no disminuyó en las puntuaciones 2 (media de 50.000 céls/ml) y 3 (media de 100.000 céls/ml), en las puntuaciones superiores sí que descendió el nivel productivo entre 0,4 y 0,6 kg/día cada vez que el RCS aumentaba un nivel. Este resultado confirma que las citadas puntuaciones del RCS presentan una relación lineal con la producción de leche, tal y como ya había sido descrito anteriormente por otros autores (Raubertas y Shook, 1982; Reneau, 1986). El hecho de que en la puntuación 8 (más de 2.26 millones de céls/ml) no se observara una caída de producción de leche, respecto a la puntuación 7 (media de 2 millones de céls/ml), podría haber sido debido al escaso número de casos contemplados (solamente 25).

Prácticamente todos los trabajos consultados que han estudiado la relación entre el RCS y la producción de leche se han llevado a cabo con razas más productoras que la raza Carora (Frisona, Holstein y Jersey, principalmente). Pero, sorprendentemente, la mayoría de estos trabajos también encuentran un descenso productivo que coincide con nuestros resultados, con valores medios de unos 0.5 kg/día (0.4 en primíparas y 0.6 en multíparas) cada vez que se duplican los recuentos (Hortet y Seegers, 1998; Seegers et al., 2003). No obstante, también se han descrito pérdidas de producción de leche entre 0.6 y 0.8 kg/día (Pedraza et al, 2000) e incluso entre 1 y 1.5 kg/día (Dohoo et al., 1984; Dohoo y Martin, 1984; Quaassdorff et al., 1987) por cada incremento de puntuación lineal del RCS. Cuando la caída de producción de leche se expresó porcentualmente, los valores obtenidos (3-7%) también fueron similares a los encontrados por otros autores. Por ejemplo, Hagnestam-Nielsen et al. (2009) encuentran que con un RCS de 500.000 céls/ml se produce una caída de producción de leche entre el 3-9% en primíparas y del 4-18% en multíparas, mientras que Deluyker et al. (1993) citan una disminución de la producción de leche del 6.2% cuando compara los recuentos superiores a 245.000 céls/ml respecto a recuentos inferiores a 90.000 céls/ml. Por otra parte, Dürr et al. (2008) encuentran que la relación entre el RCS y la producción de leche también depende de la raza (Ayshire vs. Holstein), aspecto que, como ya se ha mencionado anteriormente, no se confirma con nuestros resultados.

Un aspecto a destacar es que, tal y como ya se ha comentado, la producción de leche empezó a disminuir cuando los recuentos alcanzaron un valor

medio de 200.000 céls/ml (puntuación 4: 141.000 - 282.000 céls/ml), lo que coincide con otros trabajos previos. Por ejemplo, Tyler et al. (1989) observan que la producción de leche disminuye a partir 245.000 céls/ml, mientras que Meijering et al. (1978) y Green et al. (2006) lo sitúan a partir de 200.000 céls/ml. Sin embargo, otros autores encuentran que las pérdidas de producción de leche aparecen en recuentos inferiores, a partir de 100.000 céls/ml (Pedraza et al., 1994b; More, 2009), o de 50.000 céls/ml (Hortet y Seegers, 1998; Hortet et al., 1999; Pedraza et al., 2000), e incluso, a partir de valores tan bajos como 17.000 céls/ml (Coldebella et al., 2004) o 7.400 céls/ml (Dürr et al., 2008).

En varios experimentos se ha encontrado que la magnitud de la pérdida de producción de leche, al aumentar el RCS, depende del estado y número de la lactación, siendo más elevada al avanzar la lactación y en las vacas multíparas que en las primíparas (Hortet y Seegers, 1998; Hortet et al., 1999; Koldeweij et al., 1999; Dürr et al., 2008; Hagnestam-Nielsen et al., 2009). Sin embargo, en nuestro trabajo se obtuvo un resultado distinto, dado que la caída de producción, al aumentar el RCS, fue similar en las vacas de primer y superior partos y en los tres estados de lactación considerados, ya que no fueron significativas las interacciones Grupo RCS x Número de Lactación y Grupo RCS x Estado de Lactación.

La asociación entre aumento de RCS y disminución de la producción de leche puede venir explicada por dos efectos. En primer lugar por la existencia de un fenómeno de dilución, de modo que cuando aumenta la producción de leche tiende a disminuir la concentración de células somáticas en la leche y viceversa; en este caso se considera que la relación entre producción de leche y el RCS es lineal y negativa (Schepers et al., 1997). En segundo lugar, porque el RCS también aumenta cuando existe un proceso inflamatorio, generalmente provocado por una infección intramamaria, lo que genera daños en el tejido secretor de la glándula y, en consecuencia, un descenso productivo; en este caso la relación del RCS y la producción de leche se considera que es negativa y lineal respecto al logaritmo del RCS (Deluyker et al., 1993; Green et al., 2006). Además, en este caso, algunos autores también cuestionan si las pérdidas de producción de leche no solo dependen de la magnitud de la inflamación, estimada por el RCS, sino también del patógeno involucrado (Seegers et al., 2003). De acuerdo a Green et al. (2006) cuando los recuentos son bajos (hasta 100.000 céls/ml), la relación existente entre el RCS y la producción de leche es lineal, lo que sugiere que está actuando principalmente el efecto de dilución; por el contrario, en recuentos más elevados la

caída de producción de leche se relaciona linealmente con el logRCS, lo que indicaría que existe un efecto de inflamación. En este caso, la coexistencia del efecto de dilución puede provocar una ligera sobreestimación del descenso productivo (Green et al., 2008).

Un resultado inesperado es que la producción de leche de las ubres afectadas de IIM apenas disminuyó respecto a las ubres sanas (diferencias no significativas), si bien es probable que esta diferencia hubiera sido mayor si el estudio se hubiera llevado a cabo a nivel de cuarterón. En otros trabajos, realizados también a nivel de ubre (control lechero), sí que han encontrado una menor producción de leche en las vacas afectadas de mamitis subclínica respecto a las vacas sanas (Wilson et al., 1997; Jaramillo, 2006; Monardes y Barria, 2006). Por ejemplo, Wilson et al. (1997) encontraron que la producción de leche en las vacas infectadas era un 4,6% inferior respecto a las vacas sanas, siendo esta diferencia más elevada en las infecciones causadas por *Str. agalactiae*, *S. aureus* y los gérmenes Gram-negativo que en las infecciones producidas por *Corynebacterium* spp y los ECN.

V. CONCLUSIONES

Prevalencia, incidencia y etiología de la mamitis

1. La prevalencia media de infecciones intramamarias (IIM) a nivel de ubre, en las granjas estudiadas de ganado vacuno de raza Carora, varió desde el 9.9 al 49.7%, obteniéndose un valor medio global del 26.3%. Esta prevalencia fue significativamente mayor en las explotaciones que utilizaban el sistema de pastoreo (32.7%) que en aquellas que tenían las vacas en estabulación permanente (19.9%). Por el contrario la prevalencia no difirió significativamente según el Control y el Número y Estado de lactación de los animales.
2. La incidencia media de IIM a nivel de ubre durante la lactación fue del 24.5%, destacando también la gran variabilidad encontrada entre explotaciones (desde un 9 hasta un 50%). Ninguno de los factores estudiados influyó significativamente sobre este parámetro.
3. La mayoría de las infecciones intramamarias fueron ocasionadas por ECN (32.9% de los aislamientos), *Streptococcus* spp (31.9%) y *Staphylococcus aureus* (23.0%). El resto de gérmenes (*S. agalactiae*, *Corynebacterium* spp., coliformes y otros bacilos Gram-negativo) representaron, cada uno, menos del 5% de las IIM.

Recuento de Células Somáticas

4. Las medias aritméticas y geométricas del RCS en la leche de tanque fueron de 593.000 y 490.000 céls/ml, respectivamente. Tan solo el 36% de las muestras analizadas tuvieron recuentos inferiores a 400.000 céls/ml, y solamente en 6 explotaciones, de las 10 muestreadas, la media geométrica de los recuentos fueron inferiores a 400.000 céls/ml.
5. El factor control o época del año afectó significativamente al RCS en la leche de tanque, obteniéndose valores más elevados en el control de Febrero (847.000 céls/ml) respecto a los controles de Julio (413.000 céls/ml) y Noviembre (512.000 céls/ml). El Sistema de Explotación (pastoreo vs. estabulación permanente) no llegó a afectar significativamente al RCS en la leche de tanque.

6. El principal factor que influyó sobre el RCS en leche de ubre fue el Estado de Lactación, de modo que, tanto en las ubres sanas como en las infectadas, los recuentos aumentaron significativamente al avanzar la lactación (Inicio, Mitad y Final). En las ubres sanas los recuentos fueron significativamente inferiores en las vacas primíparas respecto a las multíparas, y en el control de Julio respecto a los otros dos controles (Febrero y Noviembre); en las ubres infectadas se observaron las mismas tendencias, pero ambos factores (Número de Lactación y Control) no llegaron a tener un efecto significativo. El Sistema de Explotación y la interacción Estado de Lactación x Número de Lactación no afectaron significativamente a los recuentos.
7. La presencia de infección intramamaria elevó significativamente el RCS en leche de ubre. En las ubres sanas las medias aritméticas y geométricas del RCS fueron de 335.000 y 141.000 céls/ml, mientras que los valores respectivos en las ubres infectadas fueron de 737.000 y 219.000 céls/ml. Las interacciones del Estado Sanitario de la ubre con el Estado de Lactación y con el Número de Lactación no resultaron significativas.
8. Cada uno de los grupos de gérmenes aislados ocasionaron una respuesta inflamatoria muy variable, de modo que los recuentos no llegaron a diferir significativamente entre estos grupos. Solamente en aquellos gérmenes que fueron aislados con mayor frecuencia (*S. aureus*, ECN y *Streptococcus* spp) el RCS a nivel de ubre llegó a diferir significativamente respecto a las ubres sanas.

Producción de leche

9. La producción media de leche obtenida en las explotaciones muestreadas de ganado vacuno de raza Carora fue de 15.7 kg por vaca y día. Esta producción varió significativamente con el Sistema de Explotación, el Número y Estado de Lactación y la interacción Sistema de Explotación x Número de lactación.
10. Al aumentar el RCS de la leche tendió a disminuir la producción de leche de las vacas. El descenso fue de 1.15 kg/día por cada unidad de incremento del logRCS y entre 0.4 y 0.6 kg/día (2.5 a 3.5%) cada vez que se duplicaban los recuentos a partir de la puntuación lineal 3 (100.000 céls/ml). La relación entre

el RCS y la producción de leche no varió significativamente según el Número y Estado de Lactación de los animales.

11. Las vacas afectadas de infección intramamaria presentaron, de media, una producción de leche ligeramente inferior respecto a las vacas sanas, si bien las diferencias no llegaron a ser significativas.

IMPLICACIONES

Los valores medios del RCS en las explotaciones muestreadas de ganado vacuno de raza Carora han sido, en general, superiores a los observados en otros países que están desarrollando, desde hace bastante años, estrategias para disminuir la prevalencia de IIM y el RCS de la leche. Por tanto, sería deseable que en las citadas explotaciones (y en general para toda la raza y todas las explotaciones lecheras de Venezuela), se establecieran actuaciones para disminuir el RCS en la leche de tanque y que estarían basadas en tres aspectos: a) Los técnicos de campo, junto a los ganaderos, deberían establecer programas de control de mastitis operativos y adaptados a las peculiaridades de las explotaciones; b) La industria debería pagar la leche a los ganaderos con primas y penalizaciones según el RCS de la leche de tanque; c) La administración venezolana debería fijar un límite en el RCS en la leche de tanque para que ésta pudiera ser comercializada.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ACEBO, V.M. (2004). Mastitis: Afecta la producción y la calidad de la leche. Intervet Ecuador S.A. www.intervet.com.ec/Binaries/63.74032.doc.
- ACUÑA, C.N., CHERTCOFF, R.E., MARTÍNEZ, M.B., NIMO, J.M. (2001). Udder pathogens prevalence in dairy cows from Argentina. Proceedins of the National Mastitis Council 41 Annual Meeting, pp 177-178.
- AGROTENDENCIA. (2007). No hay otro camino más que producir nuestra propia leche. N° 2. pp. 10-14. www.agrotendencia.com
- ALBURQUERQUE, G.M.T. (1999). Incidencia de Mastitis Subclínica de la Glándula Mamaria en el Valle de Tumbes.
- ALI, A.K.A., SHOOK, G.E. (1980). An optimum transformation for somatic cell concentration in milk. J. Dairy Sci. 63: 487-490
- ARAVE, C.W., ALBRIGHT, J.L. (1976). Social rank and physiological traits of dairy cows as influenced by changing group memberships. J. Dairy Sci., 59:974-981.
- ARMENTEROS, M., PONCE, P., CAPDEVILA, J., ZALDÍVAR, V., HERNÁNDEZ, R. (2006). Prevalencias de mastitis en vacas lecheras de primer parto y patrón de sensibilidad de las bacterias aisladas en una lechería especializada. Centro de Ensayo para el Control de la Calidad de la leche y Derivados Lácteos (CENLAC). Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA). La Habana Cuba. Rev. Salud Ani. Vol. 28 N° 18-12.
- ASOCIACIÓN VENEZOLANA DE CRIADORES DE GANADO RAZA CARORA. (ASOCRICA). (2006a). La Raza Carora. Carora. Estado Lara. Venezuela. www.razacarora.com
- ASOCIACIÓN VENEZOLANA DE CRIADORES DE GANADO RAZA CARORA (ASOCRICA). (2006b). Ventajas del Raza Carora. www.razacarora.com
- ASOCIACIÓN VENEZOLANA DE CRIADORES DE GANADO RAZA CARORA (ASOCRICA). (2006c). Patrón Racial del Ganado Raza Carora. www.razacarora.com
- ASOCIACIÓN VENEZOLANA DE CRIADORES DE GANADO RAZA CARORA (ASOCRICA). (2006d). Características del Ganado Raza Carora. www.razacarora.com
- ASOCIACIÓN VENEZOLANA DE CRIADORES DE GANADO RAZA CARORA (ASOCRICA.). (2006e). Reglamentos de Clasificación del Ganado Raza Carora. www.razacarora.com
- ASOCIACIÓN VENEZOLANA DE CRIADORES DE GANADO RAZA CARORA (ASOCRICA. f). (2006). Historia de ASOCRICA. www.razacarora.com
- ASOCIACIÓN VENEZOLANA DE CRIADORES DE GANADO RAZA CARORA (ASOCRICA). (2009). Datos del registro computarizado de la Asociación

- Venezolana de criadores de ganado Carora. Carora Estado Lara. Venezuela.
- AVILA, T.S., GUTIERREZ, A.J. (2006). Mastitis en Ganado Bovino. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. www.Veterinaria.uady.mx/programas/MV2006.pdf.
- AZÓCAR, S.J.E. (2008). Prevalencia, incidencia y etiología de mastitis en un centro de acopio lechero, comuna de María Pinto, Región Metropolitana. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. http://www.cybertesis.cl/tesis/uchile/2001/azocar_i/html/indexframes.htmlhttp://hdl.handle.net/2250/1049
- BARKEMA, H.W., OLDE RIEKERINK, R. G. M., STRYHN, H., SCHUKKEN, Y. H. (2005). The effect of season of bulk milk somatic cell count and incidence rate of clinical mastitis . Mastitis in dairy production. Pp 941.
- BATRA, T.R. (1986). Comparasion of two mathematical models in fitting lactation curves for pureline and crossline dairy cows. Canadian Journal of Animal Science, v.66, n.2, p.405- 414.
- BATRA, T.R. (1986). Relationship of somatic cell concentration with milk yield in dairy cows. Can. J. Anim. Sci. 66: 607-614.
- BONETTO, C. (2000). Recuento de Células Somáticas su importancia y aplicación en el control de Mastitis. www.labim@arnet.com.ar
- BERMÚDEZ, V. (2001). La sanidad animal y la producción lechera en Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela.
- BERRY, E.A. (1998). Mastitis incidence in straw yards and cubicles. Veterinary Record, 142: 517-518.
- BERRY, D. P., O'BRIEN, B., O'CALLAGHAN, E. J., SULLIVAN, K. O., W. J. MEANEY, W. J. (2006). Temporal Trends in Bulk Tank Somatic Cell Count and Total Bacterial Count in Irish Dairy Herds During the Past Decade. J. Dairy Sci. 89:4083-4093
- BLOWEY, R., EDMONDSON, P. (1999). Control de la Mastitis en granjas de vacuno de leche. Ed. Acribia S.A., Zaragoza. 208 pp
- BOSCAN, L., FARIA, J., SÁNCHEZ, M. (1992). Calidad Química y Microbiológica de la Leche en Venezuela. En: Carlos González-Stagnaro (Editor). Ganadería Mestiza de Doble Propósito. Universidad del Zulia. Venezuela. pp. 605-629.
- BOUMAN, M. (2005a). Células somáticas: cómo interpretar los datos? Publicado en: El Tambo, ANPL COLAVECO, Parque el Retiro, Nueva Helvecia. Colonia Uruguay. www.vet.uy.com/colaveco/publicaciones/001/001.htm.
- BOUMAN, M., BIANCO, R., GIANNEECHINI, E., HIRIGOYEN, D., DE TORRES, E. (2005b). Mastitis control in Uruguay: Strengths and weaknesses. Mastitis in dairy production. Pp 703-708.

- BRADLEY, A.J., GREEN, M.J. (2000). A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. *J. Dairy Sci.* 83:1957-1965
- BRADLEY, A.J. (2002). Bovine mastitis: an evolving disease. *The Veterinary Journal*, 164: 116-128
- BRADLEY, A.J., LEACH, K.A., GREEN, L.E., GREEN, M.J. (2007). Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *The Veterinary Record*, 160: 253-258.
- BUSTAMANTE, R., ORTIZ, J., FERNÁNDEZ, R. (2006). Incidencia de la Mastitis Subclínica en la Zona Lechera de la Coop. Ichoa Prov. Carrasco. Dpto. CCBA. Universidad Autónoma Gabriel Rene Moreno. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Santa Cruz. Bolivia.
- BRUCKMAIER, R.M., ROTHENANGER, E., BLUM, J.W. (1994). Measurement of mammary gland cistern and determination of the cistern milk fraction in dairy cows. *Milchwissenschaft* 49: 543-546.
- CAPRILES, M. (1998). Avances en la Metodología: Perfiles Productivos y Funcionalidad Tecnológica en Sistemas de Producción de Leche y Carne con Vacunos en Venezuela. Facultad de Agronomía. Sistemas de Producción con Rumiantes en los Trópicos. Universidad Central de Venezuela. (mimeo) 7 pp.
- CARINA, F. (2007). Evaluación de la eficacia de un tratamiento antibiótico intramamario (Cepravin VS) sobre la sanidad de la glándula mamaria y efectos en los niveles de de producción Láctea. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Valencia - España. 233 p.
- CASTAÑEDA, H., WOLTER, W., JAGER, S.P., SZCHOCK, M., CASTAÑEDA, M.A., PEREZ, G., BEDOLLA, C. (2008). Prevalence of bovine mastitis and causal agents in the state of Jalisco, México.
- CAVILAC. (2007). Informe sobre la Producción y Mercado de la Leche en el 2007. Cámara Venezolana de la Industria Láctea-CAVILAC. Caracas. Venezuela.
- CAVILAC. (2008). La Industria Lechera en Venezuela su evolución en el 2008 Cámara Venezolana de la Industria Láctea-CAVILAC. 13 edición. Caracas. Venezuela.
- CLAVIJO, M.L. (1992). Efectos de las Políticas Gubernamentales sobre la Calidad de la Leche. I Seminario sobre Producción de Leche de Calidad. Guanare. Estación Experimental San Nicolás. Universidad Central de Venezuela-Fundación INLACA. pp 1-26.
- COLDEBELLA, A., MACHADO, P.F., GARCIA, C.B.D., PAULO JUSTINIANO RIBEIRO, P.J.J., PAULA MARQUES, P.M., CORASSIN, C.H, DAGHER, L.C. (2004). Contagem de Células Somáticas e Produção de Leite em Vacas Holandesas Confinadas¹.

- CONTRERAS, A. (2000). Recuento de células somáticas en pequeños rumiantes II. Caprino. Ovis 67: 74 páginas
- CORNEJO, V.E.I. (1995). Prevalencia de mastitis subclínica en la cuenca lechera de Cochabamba Tesis de Grado. Facultad de Medicina Veterinarias y Zootecnia. Tesis de Grado. U.A.G.R.M
- COULON, J.B., PRADEL, P., COCHARD, T., POUTREL, B. (1998). Effect of extreme walking conditions for dairy cows on milk yield, chemical composition, and somatic cell. J. Dairy Sci., 81: 994-1003
- COVENIN. (1993). Leche Cruda. Norma Venezolana Covenin 903. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento. Caracas, Venezuela.
- CREMONESI, P., CASTIGLIONI, B., MORONI, P., PISONI, G. (2008). Molecular testing, epidemiological aspects, prevalence and distributor of mastitis pathogens in Dairy bovine, caprine and ovine herds. Mastitis control-From science to practice.
- CURBELO, R. J. (2007). Relación entre el Recuento de Células Somáticas y practicas de manejo de patógenos causantes de mastitis en hatos lecheros de Puerto Rico. (Tesis Maestro en Ciencias Industrias Pecuarias). Universidad de Puerto Rico de Mayaguez.
- CHAVES, J., TIRANTE, L., POL, M., BAS, D., VANDONI, R., OLIVIERI, R. (2001). Prevalence of intramammary infections in 74 dairy herds located in Argentina. Proceedins of the National Mastitis Council 41 Annual Meeting, pp 205-206.
- DELUYKER, H.A., GAY, J.M., WEAVER, L.D., (1993). Interrelationships of somatic-cell count, mastitis, and milk-yield in a low somatic-cell count herd. J. Dairy Sci. 76, 3445–3452
- DJABRI, B., BAREILLE, N., BEAUDEAU, F., SEEGER, H. (2002) Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. Vet. Res. 33: 335–357
- DOHOO, I.R.; MEEK, A.H.; MARTIN, S.W.; BARNUM, D.A. (1984). Somatic cell counts in bovine milk: Relationship to production and clinical episodes of mastitis. Can. J. Comp. Med. 48: 130-135
- DOHOO, I.R. (2001). Setting SCC cutpoints for cow and herd interpretation. Proceedins of the National Mastitis Council 40 Annual Meeting, pp 10-18.
- DÖPFER, D., BARKEMA, H.W., LAM, T.J.G.M., SCHUKKEN, Y.H., GAASTRA, W. (1999). Recurrent clinical mastitis caused by *Escherichia coli* in dairy cows. J. Dairy Sci., 82:80-85.
- DÜRR, J.W., CUE, A.R.I., MONARDES B.H.G., MORO-MÉNDEZ, B.J., WADE, B., K.M. (2008) Milk losses associated with somatic cell counts per breed, parity and stage of lactation in Canadian dairy cattle Received 13 September 2007.

- EBERHART, R.J., GILMORE, H.C., HUTCHINSON, L.J., SPENCER, S.B. (1979). Somatic cell counts in DHI samples. Proceedins of the National Mastitis Council 18 Annual Meeting, pp 32.
- EBERHART, R.J., HARMON, R.I., JASPER, D.E., NATZKE, R.P., NICKERSON, S.C., RENEAU, J.K., ROW, E.H., SMITH, K.L., SPENCER, S.B. (1987). Current concepts of bovine mastitis. 3rd. ed. National Mastitis Council, Inc. Arlington, V.A.
- ELY, F., PETERSEN, W.E. (1941). Factors involved in the ejection of milk. J. Dairy Sci. 24:211-223.
- ERSKINE, R.J., EBERHART, R.J., HUTCHINSON, L.J., SPENCER, S.B., CAMPBELL, M.A. (1988). Incidence and types of clinical mastitis in dairy herds with high and low somatic cell counts. J. Am. Vet. Med. Assoc. 192: 761.
- FARIA-REYES, JF., VALERO, L.K., D'POOL, G., GARCIA, U.A., ALLARA, C.M., MORALES, D. (2005a). Agentes bacterianos y conteaje de células somáticas en leche de cuarto de bovino mestizos doble propósito ordeñados en forma manual o mecánica en cuatro fincas lecheras del estado Zulia, Venezuela.
- FARIA-REYES, JF., GARCIA, U.A., D'POOL, G., VALERO, L.K., ALLARA, C.M., ANGELOSANTE, G. (2005b). Detección de Mastitis subclínica en bovinos mestizos doble propósito ordeñados en forma manual o mecánica. Comparación de tres pruebas diagnósticas. Maracaibo-Venezuela.
- FERRARO, L. (1992). Análisis de prevalencia de mastitis subclínica en vacas lecheras en Venezuela, mediante la prueba de California Mastitis Test (CMT) y bacteriología. Universidad central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. (Trabajo de Ascenso). 80pp.
- FOX, L.K. (2009). Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. Veterinary Microbiology, 134: 82-88.
- FOSSOMATIC TM 5000. Introduction and characteristics [serial online [2005: 1[33 screens[. Available from: URL: <http://www.foss.dk/c/p/solutions/products/showprodfamily.asp?width=800&prodfamilypkid=83>
- FUSAGRI. (1989). Fundación Servicio Para el Agricultor. Producción de Leche. Sistemas de Explotación. Serie Petróleo y Agricultura N° 12. Editado por FUSAGRI. Venezuela. pp 20-25.
- GARCÍA-ALVARO, D. (2004). Células somáticas y alto recuento bacteriano ¿Cómo controlarlos? Dairy Science College of Agriculture & Biological Sciences/South Dakota State University/usda, Dairy Science Department.
- GREEN, M.J., BRADLEY, A.J., NEWTON, H., BROWNE, W.J. (2006). Seasonal variation of bulk milk somatic cell counts in UK dairy herds: Investigations of the summer rise. Preventive Veterinary Medicine 74: 293–308

- GREEN, M.J., BRADLEY, A.L., MEDLEY, G.F., BROWNE, W.J. (2008). Management during my dry period influences cow somatic cell counts in Carty lactation. *J. Dairy Sci.* 914.1403-1415.
- GUNASEKERA, T.S., VEAL, D.A., ATTFIELD, P.V. (2003). Potential for broad applications of flow cytometry and fluorescence techniques in microbiological and somatic cell analyses of milk. *Int. J. Food Microbiol.*, 25;85(3):269-279.
- GUIDRY, A.J., PAAPE, M.J., PEARSON, R.E. (1975). Effects of estrus and exogenous estrogen on circulating neutrophils and milk somatic cell concentrations, neutrophil phagocytosis and occurrence of clinical mastitis in cows. *Am. J. Vet. Res.* , 36:1555.
- GONZÁLEZ, Z. (2000). Efectividad del California Mastitis Test como prueba diagnosticas en infecciones Mastiticas en tres fincas del Estado Falcón. Trabajo de Ascenso. Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado".Barquisimeto. Venezuela.
- GOREWIT, R.C., ANESHANSLEY, D.J., PRICE, L.R. (1992). Effects of voltages on cows over a complete lactation. 1. Milk production and composition. *J. Dairy Sci.*, 75:2719-2725.
- HAGNESTAM-NIELSEN, C., EMANUELSON, U., BERGLUND, B. STRANDBERG. E. (2009). Relationship between somatic cell count and milk yield in different stages of lactation.
- HAMANN, J. (2005). Diagnosis of Mastitis and Indicators of Milk Quality. In: Hogeveen, H. (Ed.) *Proceedings of 4th IDF International Dairy Conference: Mastitis in Dairy Production-Current Knowledge and Future Solutions*. Wageningen Academic Publishers. pp. 82-90.
- HARMON, R.J. (1994). ¿Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts?. *J. Dairy Sci.* 77:2103-2112.
- HARMON, R.J. (2001). Somatic cell counts: a primer. *Proceedins of the National Mastitis Council 41 Annual Meeting*, pp 3-9.
- HERNÁNDEZ, R.J.M., BEDOYA, C.J.L. (2008). Importancia del conteo de células somáticas en la calidad de la leche. *Revista electrónica de Veterinaria*. Agosto. Vol IX. No 9
- HIDALGO, V., PAREDES, L., CAPRILES, M. (2002). Estudio estructural y funcional de pequeños sistemas de producción de leche y carne con vacunos en el municipio Obispo del estado Barinas. *Rev. Cientif. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia.* (12)Supl.2:639-643.
- HOGAN, J.S., SMITH, K.L., HOBLET, K.H., SCHOENBERGER, P.S., TODHUNTER, D.A., HUESTON, W.D., PRITCHARD, D.E., BOWMAN, G.L., HEIDER, L.E., BROCKETT, B.L., CONRAD, H.R. (1989). Field survey of mastitis in low somatic cell count herds. *J. Dairy Sci.* 72: 1547-1556.
- HOGAN, J.S., SMITH, K.L. (2003). Environmental Streptococcal Mastitis: facts, fables and fallacies. *Proceedins of the National Mastitis Council 42 Annual Meeting*, pp 162-170.

- HORTET, P., SEEGER, H. (1998). Calculated milk production losses associated with elevated somatic cell counts in dairy cows: review and critical discussion. Unité gestion de la santé animale, Inra - École vétérinaire de Nantes, BP 40706, 44307 Nantes cedex 03, France.
- HORTET, P.F., BEAUDEAU, H., SEEGER, C., FOURICHON. (1999). Reduction in milk yield associated with somatic cells count up to 600.000 Cél/ml in Frech Holstein cows with clinical mastitis. *Livest. Prod. Sci.* 61: 33-42
- HUXLEY, J.H., GREEN M.J., GREEN, L.E., BRADLEY, A.J. (2002). Evaluation of the efficacy of an internal teat sealer during the dry period. *J. Dairy Sci.* 85: 551-561.
- IDF. (1999). Suggested interpretation of mastitis terminology. Bulletin n° 338/1999. International Dairy Federation, Brussels, pp 3-26.
- ISO/IDF. (2008). Milk-Enumeration of somatic cells. Part 1:Microscopic method (reference method). ISO 13366-1 .IDF 148-1.
- JARAMILLO, C. (2006). Células Somáticas y Mastitis. Asistencia Colanca.
- JAYARAO, B.M., PILLAI, S.R., SAWANT, A.A., WOLFGANG, D.R., HEGDE, N.V. (2004). Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell count and bacterial counts. *J. Dairy Sci.* 87:3561-3573
- JEMELJANOV, A., KONOSONOVA, I.H., BLUZMANIS, J., IKAUNIECE, D. (2008). Chances of pathogen spectrum in dairy herds of Latvia. University of Agriculture Research Institute of Biotechnology and Veterinary Medicine Signa.
- JONES, G.M., PEARSON, R.E., CLABAUGH, G.A. (1984). Relationships between cell counts and milk production. *Journal of Dairy Science*, v.67, p.1823-1831.
- KLEINSCHORTH, E., KARL, R., JURGEN, D. (1991). La Mastitis, Diagnóstico, Prevención y Tratamiento. Colección EDIMEC, de Ganadería. Ediciones Médicas. Barcelona. España.
- KOLDEWEIJ, E., EMANUELSON, U., JANSON, L., (1999). Relation of milk production loss to milk somatic cell count. *Acta Vet. Scand.* 40, 47–56.
- KRUZE, J. (2005). Milk production and mastitis control in emerging dairy countries: the experience in Chile. *Mastitis in dairy production*. Pp 123-128.
- LAEVENS, H., DELUKER, H., SCHUKKEN, Y.H., DE MEULEMEESTER, L., VANDERMEERSCH, R., DE MUELENAERE, E., 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.
- LAM, T.J.G.M., OLDE RIEKERINK, R.G.M., SAMPIMON, O.C., SMITH, H. (2009). Mastitis diagnostics and performance monitoring: a practical approach. *Irish Veterinary Journal*. Volume 62 Supplement 34-39.

- LEE, C.S., WOODING, F.B.P., KEMP, P. (1980). Identification properties and differential counts of cell populations using electron microscopy of dry cow secretion, colostrums and milk from normal cows. *J. Dairy Res.* 47: 49.
- LEFCOURT, A.M., KAHL, S., AKERS, R.M. (1986). Correlation of indices of stress with intensity of electrical shock for cows. *J. Dairy Sci.*, 69: 833-842.
- LONDOÑO, D. (2005). Prevalencia de los principales microorganismos causantes de mastitis en vacas lecheras del centro del Valle del Cauca en los años 2003 a 2006. Trabajo de Grado.
- LOOR, J.J., JONES, G.M., BAILEY, T.L. (1998). Aspectos básicos sobre el desarrollo de mastitis. Cooperativa de Virginia, Sección de Calidad de la leche y Manejo del Ordeño; Instituto y Universidad Politécnica de Virginia, Blacksburg. Factores que afectan el Recuento de Células Somáticas (RCS) en la leche. Publication 404-233W.
- LUKAS, J. M., RENEAU, J.K., KINSEL, M.L. (2008). Predicting Somatic Cell Count Standard Violations Based on Herd's Bulk Tank Somatic Cells Count. Part. 1: Analizing variation. *J. Dairy Sci.* 91: 427-432
- MAKOVEC, J.A., RUEGG, P.L. (2003). Results of Milk Samples Submitted for Microbiological Examination in Wisconsin from 1994 to 2001. American Dairy Science Association *J. Dairy Sci.* 86:3466–3472
- MELDRANO, V.W.G. (1998). Prevalencia de mastitis subclínica en el área lechera de la Provincia Carrasco, departamento de Cochabamba. Tesis de Grado. Facultad de Medicina Veterinarias y Zootecnia. Tesis de Grado. U.A.G.R.M
- MEIJERING, A., JAARTSVELD, F.H.J., VERSTEGEN, M.W.A., TIELEN, M.J.M. (1978). The cell count of milk in relation to milk yield. *J. Dairy Res.* 45:5.
- MILLER, R.H., EMANUELSSON, U., PERSSON, E., BROLUND, L., PHILIPSSON, J., FUNKE, H. (1983). Relationship of milk somatic cell counts to daily milk yield and composition. *Acta Agric. Scand.* 33: 209-223.
- MONARDES, H., BARRIA, N. (2006). Recuentos de Células Somáticas y Mastitis. http://www.tecnovet.uchile.cl/CDA/tecnovet_articulo/0,1409,SCID%253D8519%2526ISID%253D427,00.html
- MORE. S.J. (2009). Global trends in milk quality: Implications for the Irish dairy industry. *Irish Veterinary Journal*, April 2009. Volume 62 Supplement 5-14
- NEAVE, F.K., DODD, F.H., KINGWILL, R.G. (1966). A method of controlling udder disease. *Veterinary Record*, 78: 521-523.
- NIGHTINGALE, C., SCHUKKEN, Y. (2005). The importance of a low SCC premium policy in the reduction of population wide SCC levels. *Mastitis in dairy production*. Pp 558-563.
- NMC. (1996). Current concepts of bovine mastitis. Four Edition. National Mastitis Council Incorporate., Madison WI. (U.S.A.).

- NMC. (1997). A practical look at environmental mastitis. National Mastitis Council Factsheet, pp 3.
- NMC. (2010). The value and use of Dairy Herd Improvement Somatic Cell Count. National Mastitis Council. <http://nmconline.org/dhiscc.htm>
- NORMAN, H.D., MILLER, R.H., WRIGHT, J.R., WIGGANS, G.R. (2000). Herd and state means for somatic cell counts from dairy herd improvement. J. Dairy Sci., 83(12):2782-2788.
- OLDE-RIEKERINK, R.G.M., BARKEMA, H.W., STRYHN, H. (2007). The Effect of Season on Somatic Cell Count and the Incidence of Clinical Mastitis J. Dairy Sci. 90:1704-1715.
- O'ROURKE, D. (2009). Nutrition and udder health in dairy cows: a review. Irish Veterinary Journal, 62: 15-25.
- OSTENSSON, K. (1993). Variations during lactation in total and differential leukocyte counts, N-acetyl-beta-Dglucosaminidase, antitrypsin and serum albumin in foremilk and residual milk from noninfected quarters in the bovine. Acta Vet Scand; 34(1):83-93.
- OSTERAS, O., SOLVEROD, L. (2005). Mastitis control Systems: The Norwegian experience. Mastitis in dairy production. Pp 91-100.
- OSTERAS, O., SOLVEROD, L. REKSENT, O. (2006). Milk culture results norwegian Surrey-effects of seasons, parity, days in milk, resistance and clustering. Journal Dairy Sci. 89: 1010-1023.
- OSTERAS, O., STEINE, T. (2007). Role of genetic selection for udder health in Scandinavia. Proceedins of the National Mastitis Council 47 Annual Meeting, pp 68-75.
- OSTERAS, O., SOLVEROD, L. (2009). Norwegian mastitis control programme. Irish Veterinary Journal, 62: 26-33.
- PAAPE, M.J., TUCKER, H.A. (1966). Somatic cell content variation in fraction-collected milk. J. Dairy Sci., 49:265.
- PAAPE, M.J., SCHULTZE, W.D., MILLER, R.H., SMITH, J.W. (1973). Thermal stress and circulating erythrocytes, leucocytes, and milk somatic cells. J. Dairy Sci. 56:84.
- PAAPE, M.J., MILLER, R.H. (1988). Identification of epithelial cells in bovine milk. J. Dairy Sci. 71 (Suppl 1); 232 (Abstr).
- PAAPE, M.J., WIGGANS, G.R., BANNERMAN, D.D., THOMAS, D.L., SANDERS, A.H., CONTRERAS, A., MORONI, P., MILLER, R.H. (2007). Monitoring goat and sheep milk somatic cell counts. Small Ruminant Research. 68 1-2:114-125.
- PAREDES, L. (2004). Visión presente y futuro de la ganadería de leche en Venezuela. Jornadas nacionales de actualización en producción de leche.

- PEDRAZA, C., AGÜERO, H., GOMEZ, N., JAHN, E., LANUZA, F., HAZARD, S., VIDAL, A., FAJARDO, P., LEIVA, R. (1994a). Recuento bacteriano.
- PEDRAZA, C.G., AGÜERO, H.E., GÓMEZ, M.C., FLORES, H.P., MANSILLA, A.M. FAJARDO, P.R. (1994b). Relación entre el recuento de células somáticas y características de la curva de lactancia en vacas lecheras. *Agricultura Técnica (Chile)* 54: 268-276.
- PEDRAZA, G.C., RODRIGUEZ, S.D. (1988). Nuevo índice para medir declinación y/o persistencia de la curva de leche. *Agricultura Técnica* 48: 341-344
- PEDRAZA, C.G., MANSILLA, A.M., FAJARDO, P.R., AGÜERO, H.E. (2000). Cambios en la producción y composición Láctea por efecto del incremento de Células Somáticas en leche de vacas. *Agricultura Técnica Chile* 60(3)251-258.
- PHILPOT, W.N. (1980). Manejo de la Mastitis. Babson BROS. Co. (U.S.A.)
- PHILPOT, W.N., NICKERSON, S.C. (1992). Mastitis Bovina. Efectos sobre la calidad de la leche y los programas de control. Impacto Económico. Manual del curso internacional de producción lechera. Inta, Rafaela, Argentina. Tomo III.
- PHILPOT, W.N., NICKERSON, S.C. (2002). Ganando la lucha contra la Mastitis. WESTFALIA SURGE, INC. NAPERVILLE, IL, USA. P. 28-37.
- PIEPERS, S., DE MEULEMEESTER, L., DE KRUIF, A., OPSOMER, G., BARKEMA, H.W., VLIEGHER, S.D. (2007). Prevalence and distribution of mastitis pathogens in subclinically infected dairy cows in Flanders, Belgium. *Journal of Dairy Research*, 74: 478-483.
- PIGHETTI, G.M. (2006). Selecting for disease resistance: fact or fiction?. *Proceedins of the National Mastitis Council 46 Annual Meeting*, pp 97-102.
- PINHO, J.F., CABRAL, C.R., LAMEIRA, R., MEIRELES, P., VAZ, F., CARVALHEIRA, J., THOMPSON, G. (2008). Prevalence of mastitis pathogens in milk samples from Portuguese dairy cattle. *Mastitis control - From science to practice*.
- PETERS, R.R. (2002). Evaluating herd milk quality using DHI somatic cell counts. Arizona Dairy Production conferencia, October 17, 2002, Phoenix, Arizona.
- PITKALA, A., HAVERL, M., PYÖRÄLÄ, S., MYLLYS, V., HONKANEN-BUZALSKI, T. (2004). Bovine mastitis in finland 2001-Prevalence, distribution of bacteria, and Antimicrobial Resistance. *J. Dairy Sci.* 87:2433-2441.
- POUTREL, B. (1983). La sensibilité aux mammites: revue des facteurs liés à la vache. *Ann. Rech. Vet.*, 14, 89-104.
- QUAASSDORFF, G.E., BRINGE, A.N., SHOOK, G.E. (1987). Relation of sample day milk yield with bacteriological status and somatic cell score, *J. Dairy Sci.* 70 (suppl. I) 214.

- RAUBERTAS, R.F., SHOOK, G.E. (1982). Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield. J. Dairy Sci., 65:419.
- REGLAMENTO GENERAL DE ALIMENTOS. 1959. Gaceta Oficial No 25864. Resoluciones Generales. Ministerio de Sanidad y Asistencia Social. Caracas. Venezuela.
- RENEAU, J.K. (1986). Journal of Dairy Science. 69:1708 Effective use of dairy herd improvement somatic cells counts in mastitis control. J. Dairy Sci. 69: 1708-1720.
- RIEKERINK, R.O., BARKEMA, H., VEENSTRA, W., BERG, F., HORNEY, B. (2006). Somatic cell count during and between milkings. Proceedins of the National Mastitis Council 46 Annual Meeting, pp 310-311.
- RIEKERINK, R.G.M.O., BARKEMA, H.W., KELTON, D.F., SCHOLL, D.T. (2008). Incidence rate of clinical mastitis on Canadian Dairy Farms. J. Dairy Sci., 91: 1366-1377.
- RUPP, R., BEAUDEAU, D., BOICHARD. (2000). Relationship between milk somatic cell count in the first lactation and clinical mastitis occurrence in the second lactation of French Holstein cow. Prev. Vet. Med. 46: 99-111
- RUPP, R., BOICHARD, D., BERTRAND, C., BAZIN, S. (2000). Bilan national des numérations cellulaires dans le lait des différentes races bovines laitières françaises. INRA Prod. Anim., 13, 257-267.
- SALSBERG, E., MEEK, A.H., MARTIN, S.W. (1984). Somatic cell counts: Associated factors and relationship to production. Can. J. Comp. Med. 48: 251-257.
- SAMPIMON, S.L., SNOEP, J.J. (2001). Factors associated with bacteriological curse during lactation offer therdpy for subclinical study of risk factors for clinical mastitis in post partum dairy lerbors. J. Dairy Sci. 84: 392-399.
- SAMPIMON, O., SOL, J., KOCK, P. (2005). Changes in bulk milk somatic cell count and in mastitis pathogens over the past 50 years in the Netherlands. Mastitis in dairy production. Pp 963.
- SAMPIMON, O.C., OLDE RIEKERINK, R.G.M., LAM, T.J.G.M. (2008). Prevalence of subclinical mastitis pathogens and adoption of udder health management practices on Dutch dairy farms: preliminary resultads. Mastitis control - From science to practice.
- SAMPIMON, O.C., BARKEMA, H.W., BERENDS, I.M.G.A., SOL, J., LAM, T.J.G.M., (2009). Prevalence and herd-level risk factors for intramammary infection with coagulase-negative *staphylococci* in dutch dairy herds. Veterinary Microbiology, 134: 37-44.
- SARGEANT, J.M., SCHUKKEN, Y.H., KENNETH, E.L. (1998). Ontario Bulk Milk Somatic Cell Count Reducing Program: Progress and Outlook. J. Dairy Sci. 81: 1545-1554

- SARIKAYA, H., BRUCKMAIER, R.M. (2006). Importance of the sampled milk fraction for the prediction of total quarter somatic cell count. *J. Dairy Sci.*, 89:4246-4250.
- SAS, (2008). User guide statistics. Version 9.1. SAS Institut, Cary, NC, EE.UU.
- SCARAMELLI, A.M. (1988). Comparación de tres métodos indirectos de detección de mastitis subclínica. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. (Tesis de Grado). 109 pp.
- SCARAMELLI, A.M. (1993). Evaluación de la aceptación y efectividad de un programa de control de mastitis, basado en la higiene y terapia de vacas secas en once fincas de Venezuela. Tesis de Grado. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Edo. Aragua.
- SCARAMELLI, A.M., FERRARO, L., TROYA, H. (1999). Recuento Electrónico de Células Somáticas aplicado a la detección de mastitis subclínica bovina en fincas lecheras de los estados Aragua y Carabobo Venezuela. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Edo. Aragua.
- SCARAMELLI, A., GONZÁLEZ, Z. (2005). Epizootiología y Diagnóstico de la Mastitis Bovina. Manual de Ganadería Doble Propósito. www.avpa.ula.ve/docuPDFs/libros_online/manual-ganaderia/seccion5/articulo9-s5.pdf
- SHELDRAKE, R.F., MCGREGOR, G.D., HOARE, R.J.T. (1983). Lactation stage, parity, and infection affecting somatic cells, electrical conductivity, and serum albumin in milk. *J. Dairy Sci.* 66: 542-547
- SCHEPERS, A.J., LAM, T.J.G.M., SCHUKKEN, Y.H., WILMINK, J.B.M., HANEKAMP, W.J.A. (1997). Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *Journal of Dairy Science.* 80:1833-1840.
- SCHULTZ, L.H. (1977). Somatic cell counting of milk in production testing programs as a mastitis control technique. *J.A.V.M.A.* 170 (10), Part. 2: 1244-1246.
- SCHULTZ, L.H. (1977). Somatic cells in milk-physiological aspects and relationship to amount and composition of milk. *J. Food Prot.* 40:125
- SCHUKKEN, Y.H., BENNETT, G., GREEN, L., WERVEN, T.V. (2001). Can somatic cell counts get too low?. *Proceedins of the National Mastitis Council 40 Annual Meeting*, pp 19-28.
- SCHUKKEN, YNTE H., WILSON, D.J., WELCOME, F., GARRISON-TIKOFSKY, L., GONZALEZ, R.N. (2003). Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet. Res.* 34 (2003) 579–596
- SCHUKKEN, Y.H., BARKEMAN, H.W., LAM, T.J., ZADOKS, R.N. (2008). Improving udder health on weell managed farm: mitigating the perfect storm. *International conference on the mastitis control-from science to practice.*

- SCHUKKEN, Y.H., BARKEMA, H.W., LAM, T.J.G.M., ZADOKS, R.N. (2008). Improving udder health on well managed farms: mitigating the 'perfect storm'. En: "Mastitis control. From science to practice". Proceedings of international conference. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands, ed. T.J.G.M. Lam. Pp 21-35.
- SCHUKKEN, Y.H., GONZÁLEZ, R.N., TIKOFSKY, L.L., SCHULTE, H.F., SANTISTEBAN, C.G., WELCOME, F.L., BENNETT, G.J., ZURAKOWSKI, M.J., ZADOKS, R.N. (2009). CNS mastitis: nothing to worry about?. *Veterinary Microbiology*, 134: 9-14.
- SEARS, P.M. (1987). Manejo del Hato Lechero: Una Revisión Comprensiva del Control de Mastitis. The Upjohn Company. Michigan. (U.S.A.).
- SEEGERS, H., FOURICHON, CH., BEAUDEAU, F. (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds Unit of Animal Health Management, UMR 708 ENVN/INRA, National Veterinary School, BP 40706, 44307 Nantes Cedex 03, France. 475 *Vet. Res.* 34 (2003) 475–491
- SENGE, P. (1992). La Quinta Disciplina. Como Impulsar el Aprendizaje en la Organización Inteligente. Ediciones Granica. 492 pp.
- SERIEYS, F. (1985). Interpretation des concentrations cellulaires du lait individuel de vache pour le diagnostic de l'état d'infection mammaire. *Annales de Recherches Vétérinaires*. 16(3):363-369.
- SERIEYS, F. (1985). Concentration cellulaire du lait individuel de vache: influence de l'état d'infection mammaire, du numéro, du stade de lactation et de la production laitière. *Ann Rech Vét* 16(3):255-261.
- SIANA, H.M. (1997). Determinación de mastitis subclínica en vacas lecheras de la provincia de Ichilo, Dpto de Santa Cruz. Facultad de Medicina Veterinarias y Zootecnia. Tesis de Grado. U.A.G.R.M.
- SMITH, K.L., HOGAN, J.S. (2001). The world of mastitis. *Proc. 2nd Intern. Symp. Mastitis and Milk Quality*, Vancouver, British Columbia, Canada: 1-12.
- SORDILLO, L.M. (2005). Factors affecting mammary gland immunity and mastitis susceptibility. *Livestock Production Science*, 98: 89-99.
- STAGNARO, G.C. (1992). Ganadería mestiza de doble propósito. Facultad de Agronomía. Facultad de ciencias Veterinarias. Universidad del Zulia. Fusagri. Girarz. pp. 27-40.
- STAGNARO, C.G., SOTO, E.B., RAMIREZ, L.I. (2002). Avances en la ganadería de Doble propósito. Fundación Girarz. Ediciones Astro Data, S.A. Maracaibo Venezuela.
- SVENNERSTEN-SJAUNJA, K. (2004). The science behind milk ejection. *National Mastitis Council Annual Meeting Proceedings*: 215-228.
- TAPONEN, S., PYÖRÄLÄ, S. (2007). How important is coagulase-negative staph as a cause of mastitis?. *Proceedings of the National Mastitis Council 46 Annual Meeting*, pp 81-91.

- TAPONEN, S., KOORT, J., BJORKROTH, J., SALONIEMI, H., PYÖRÄLÄ, S. (2007). Bovine intramammary infections caused by coagulase-negative staphylococci may persist throughout lactation according to amplified fragment length polymorphism-based analysis. *J. Dairy Sci.* 90: 3301-3307.
- TENHAGEN, A., KÖSTER, G., WALLMANN, J., HEUWIESER, W. (2006). Prevalence of mastitis pathogens and their resistance Against Antimicrobial Agents in Dairy Cows in Brandenburg, Germany. *Mastitis control – From science to practice.*
- TENHAGEN, A., HANSEN, I., REINECKE, A., HEUWIESER, W. (2008). Prevalence of pathogens in milk samples of dairy cows with clinical mastitis and in heifers at first parturition. *Mastitis control - From science to practice.*
- TEN NAPEL, J., DE HAAS, Y., DE JONG, G., LAM, T.J.G.M., OUWELTJES, W., WINDIG, J.J. (2008). Characterization of distributions of somatic cell counts *J. Dairy Sci.* 92:1253-1264 doi:10.3168/jds.2007-0824
- TINOCO, A.R. (2002). Criterio para un Plan Lechero Nacional. CAVILAC.
- TYLER, J.W., THURMOND, M.C., LASSLO, L. (1989). Relationships between test-day measures of somatic cells count and milk production in California dairy cows. *Can. J. Vet. Res.* 53(2): 182-187
- TODHUNTER, D.A., SMITH, K.L., HOGAN, J.S., SCHOENBERGER, P.S. (1991). Gram-negative bacterial infections of the mammary gland in cows. *American Journal of Veterinary Research*, 52: 184-188.
- TODHUNTER, D.A., CANTWELL, L.L., SMITH, K.L., HOBLET, K.H., HOGAN, J.S. (1993). Characteristics of coagulase-negative *Staphylococci* isolated from bovine intramammary infections. *Veterinary Microbiology*, 34: 373-380.
- TODHUNTER, D.A, SMITH, K.L., HOGAN, J.S. (1995). Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 78: 2366-2374.
- VAN DER ZWAAG, H.G., VAN SCHAİK, G., LAM, J.G.M. (2005). Mastitis control program in the Netherlands: Goal, Tools and conditions. *Mastitis in dairy production.* Pp 599.
- VAN SCHAİK, G., LOTEM, M., SCHUKKEN, H. (2002). Trends in Somatic Cell Counts, Bacterial Counts, and Antibiotic Residue Violations in New York State During 1999-2000. *J. Dairy Sci.* 85: 782-789.
- VAN WERVEN, T. (1999). The role of leukocytes in bovine *Escherichia coli* mastitis. PhD Thesis. Utrecht.
- VARGAS, T. (2000). Calidad de la Leche: Visión de la Industria Láctea. X Congreso Venezolano de Zootecnia. Guanare. Conferencia: 297-302.
- VARNER, M.A., JOHNSON, B.H., BRITT, J.H., DANIEL, B.T., MOCHRIE, R.D. (1983). Influence of herd relocation upon production and endocrine traits of dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 66:466-74.

- WATTS, J.L. (1988). Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, 46: 41-46.
- WEGNER, T.N., SCHUH, J.D., NELSON, F.E., STOTT, G.H. (1976). Effect of stress on blood leucocyte and milk somatic cell counts in dairy cows. *J. Dairy Sci.*, 59:949.
- WEIS, W.P. (2002). Relationship of mineral and vitamin supplementation with mastitis and milk quality. *Proceedings of the National Mastitis Council 42 Annual Meeting*, pp 37-44.
- WILSON, D.J., GONZALEZ, R.N., DAS, H.H. (1997). Bovine mastitis pathogens in new York and Pennsylvania: Prevalence and effects on Somatic Cell count and milk production. *Quality Milk promotion services, cornell University, Ithaca, NY 14850*.
- WOOLFORD, M.W., WILLIAMSON, J.H., DAY, A.M., COPEMAN, P.J.A. (1998). The prophylactic effect of a teat sealer on bovine mastitis during the dry period and the following lactation. *New Zealand Veterinary Journal*, 46: 12-19.
- WOLTER, W., KLOPPERT, B., ZSCHÖCK, M. (1997). Management von *Streptococcus agalactiae*-Infektionen des Rindes in hessischen Milcherzeugerbetrieben *Milchkonferenz, Berlin*.
- WOLTER, W., CASTAÑEDA, V.H., KLOPPERT, B., ZSCHOECK, M. (2004). LA MASTITIS BOVINA y Agropecuarias. Jalisco, México. hcastane@cucba.udg.mx
- YAGI, Y., SHIONO, H., CHIKAYAMA, Y., OHNUMA, A., NAKAMURA, I., YAYOU, K.I. (2004). Transpot stress increase somatic cell in milk, and enhances the migration capacity of peripheral blood neutrophils of dairy cows. *J. Vet. Med. Sci.*, 66:381-387.
- YOUL, B.S., NICHOLLS, T.J. (1987). The relationship between somatic cell counts and lactation yield of dairy cows. *Aust. J. Dairy Technol.* 42(3/4):68-70.
- ZADOKS, R.N., ALLORE, H.G., BARKEMA, H.W., SAMPIMON, O.C., GRÖHN, Y.T., SCHUKKEN, Y.H. (2001). Analysis of an outbreak of *Streptococcus uberis* mastitis. *J. Dairy Sci.*, 84:590.
- ZADOKS, R.N., SCHUKKEN, Y.H. (2006). Use of molecular epidemiology inveterinary practice. *Vet. Clin. North Am Food Anim. Pract.* 22:229-261.
- ZADOKS, R.N., FITZPATRICK, J.L. (2009). Chnagin trends in mastitis. *Irish Veterinary Journal*, 62: 59-70.

VII. ANEJOS

Anejo 1. Prevalencia de la IIM obtenida en cada uno de los controles realizados en las 10 granjas muestreadas en ganado vacuno de Raza Carora.

Granja	Control 1				Control 2				Control 3				Total			
	Inicio	Mitad	Final	Total	Inicio	Mitad	Final	Total	Inicio	Mitad	Final	Total	Inicio	Mitad	Final	Total
1	17	23	14	18	29	9	0	16	0	30	8	20	19	21	9	18
2	60	40	22	37	13	25	29	24	19	16	27	20	27	27	26	27
3	21	14	11	16	0	30	17	22	21	20	31	24	20	22	20	21
4	19	32	27	25	0	23	25	22	33	17	32	27	21	24	29	25
5	0	2	6	4	0	14	25	12	19	9	14	14	8	10	13	10
6	62	35	12	38	37	24	16	35	67	38	18	41	60	31	29	38
7	44	27	0	28	29	39	33	35	29	47	23	33	33	36	20	32
8	33	37	17	31	50	43	23	40	9	12	20	12	27	32	20	27
9	55	33	42	44	44	46	100	52	59	41	60	53	53	41	61	50
10	14	18	23	18	40	14	0	16	0	13	19	16	19	13	18	16
Total	28	26	20	26	28	25	30	27	29	23	26	26	28	25	26	26

