



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Mastitis bovina en ganaderías de la Provincia de Ubaté, estudio de cohorte

David Jessé González Arenas

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia
Bogotá, Colombia
2019

Mastitis bovina en ganaderías de la provincia de Ubaté, estudio de cohorte

David Jessé González Arenas

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Magister en Salud Animal

Director:

(DVM, MPVM, PhD, DACT) Jorge Luis Zambrano Varón

Codirectora:

(DVM, M. Sc, DVSc, DACT) Claudia Jiménez Escobar

Línea de Investigación:

Salud de hato

Grupo de Investigación:

Grupo de investigación en Reproducción Animal y Salud de Hato

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina Veterinaria y Salud de Hato

Bogotá, Colombia

2019

A mi madre y su inspiradora fortaleza, a mis hermanas y su amor sin límites, a Fidel y su apoyo incondicional, a la memoria de mi padre, al bonito recuerdo de Luis David y a mi sobrino Jerónimo el portador de alegría en mi vida.

Agradecimientos

A mi director, el Doctor Jorge Luis Zambrano por la oportunidad de trabajar bajo su orientación, por todos los años de aprendizaje y dedicación a mi formación.

A la Doctora Claudia Jiménez por la dirección y valiosos aportes para el desarrollo de esta investigación y mi formación.

A Mónica Alejandra Vergara por su amistad incondicional y acompañamiento durante este proceso.

Al Doctor Juan Evangelista Carulla, director del proyecto Innovación, Ciencia y Tecnología para los Productores de Leche en la Provincia de Ubaté, Cundinamarca, los profesionales de campo y los productores de leche participantes de este proyecto por su contribución a hacer posible este trabajo.

A los miembros del Grupo de Investigación en Reproducción Animal y Salud de Hato dirigido por la Doctora Claudia Jiménez, por el aprendizaje en estos años, su dedicación y paciencia en este proceso.

A la Gobernación de Cundinamarca y el Sistema General de Regalías por hacer posible este logro gracias a la financiación de la investigación.

Resumen

Con el objetivo de determinar la ocurrencia, patógenos predominantes y factores de riesgo asociados con la presentación de la forma clínica y subclínica de mastitis bovina se diseñó un estudio epidemiológico longitudinal de veinticuatro meses de duración en la provincia de Ubaté, Cundinamarca. Se realizaron visitas bimensuales a 504 productores de leche con el propósito de recolectar información a nivel hato, individuo y cuarto, la cual fue analizada a través de modelos de regresión logística binaria con el fin de encontrar la asociación entre los factores evaluados y la presentación de mastitis clínica y subclínica. Los hatos estaban conformados en promedio por 6.2 ± 5.4 animales en producción, se observaron $n=1930$ animales en promedio por bimestre, con producción de 11.8 ± 9.1 L/día. La tasa de incidencia de mastitis clínica y subclínica varió entre 2-4 casos y 8-20 casos / 100 animales-año riesgo, respectivamente, mientras que patógenos clasificados como estafilococos coagulasa negativos y estreptococos ambientales fueron los microorganismos más prevalentes aislados en este estudio. Las variables asociadas con alta incidencia de mastitis clínica y subclínica fueron a nivel hato el método de ordeño, la higiene de la ropa del trabajador, la cantidad de ordeñadores y vacas en producción, el no uso de guantes para ordeño, la falta de higiene de las manos de los ordeñadores, el inadecuado uso de desinfectante pre y post ordeño y el ordeño de pezones mojados, entre los factores de riesgo individuales y de cuarto se encuentran el promedio de producción de leche, la higiene de la glándula mamaria y la presencia de lesiones en los pezones. Las infecciones de mastitis identificadas en este estudio fueron causadas en su mayoría por microorganismos de tipo ambientales y su presentación fue asociada con factores nivel individual como higiene de la glándula mamaria y presencia de lesiones de los pezones y de nivel hato como uso de ropa sucia o no adecuada para ordeñar e inadecuados procedimientos de ordeño.

Palabras clave: Tasa de incidencia de mastitis, factores de riesgo, estafilococos coagulasa negativos, estreptococos ambientales, hatos lecheros

Abstract

A twenty-four-month longitudinal study was conducted to identify risk factors, occurrence and predominant pathogens associated with clinical and subclinical mastitis in Colombian dairy farms located in the tropical highlands of Cundinamarca. Regular visits at 60 days follow up interval was carried out in 504 smallholder dairy farms to collect herd-, cow- and quarter-level data to determine the association between clinical and subclinical mastitis and those factors through logistic regression analysis. Average milking herd size was 6.2 ± 5.4 cows, an average of $n=1930$ cow was observed in each period, daily mean milk yield per cow was 11.8 ± 9.1 L. The incidence rate of clinical and subclinical mastitis was 2-4 and 8-20 cases per 100 cow-year at risk, respectively, whereas pathogens classified as coagulase negative staphylococci and environmental streptococci were the most prevalent microorganisms isolated in this study. Significant variables associated with the incidence of clinical and subclinical mastitis risk at the herd-level included the hygiene of the worker's clothes, the number of milkers and cows in production, the non-use of gloves, the lack of hygiene of the hands of the milkers, the inadequate use of pre and post milking disinfectant and the milking of wet teats; the individual and quarter risk factors included the average milk production, the hygiene of the mammary gland and the presence of lesions in the teats. The mastitis infections identified in this study were caused by environmental microorganisms and their presentation was associated with individual level factors such as hygiene of the mammary gland and presence of teat lesions and herd level such as the use of dirty clothes or not suitable for milking and inadequate milking procedures.

Keywords: Incidence rate mastitis, risk factors, coagulase negative staphylococci, environmental streptococci, dairy farm

Contenido

	Pág.
1. Revisión de literatura	7
1.1 Anatomía y fisiología de la glándula mamaria	7
1.2 Desarrollo de la glándula mamaria	9
Desarrollo embrionario	10
Desarrollo prepuberal	11
Desarrollo postpuberal	11
Desarrollo durante la gestación	11
1.3 Lactogénesis	12
Prolactina (PRL)	12
Insulina	12
Glucocorticoides	12
Progesterona	13
1.4 Galactopoyesis: mantenimiento de la lactancia	13
Hormona de crecimiento	14
Prolactina	14
Hormona adenocorticotrópica	14
Hormona liberadora de tirotrópina	14
Insulina	14
1.5 Expulsión de la leche	15
1.6 Involución de la glándula mamaria	15
1.7 Mastitis bovina	16
1.8 Patogénesis	18
Mecanismos innatos de defensa de la glándula mamaria	18
1.9 Etiología	23
1.10 Patógenos causales de mastitis bovina	26
<i>Staphylococcus aureus</i>	26
<i>Streptococcus agalactiae</i>	27
<i>Mycoplasma</i> spp.	27
<i>Corynebacterium</i> spp.	28
Estreptococos ambientales	28
Bacterias gram-negativas	29
Estafilococos coagulasa-negativos	29
1.11 Diagnóstico de mastitis	30
Métodos usados para el diagnóstico de mastitis	32
Métodos usados para el diagnóstico de infección intramamaria	34
1.12 Control de la mastitis	34
Control de mastitis causada por microorganismos contagiosos	35
Control de mastitis causada por microorganismos ambientales	36

Programa de control para mastitis	37
2. Factores de riesgo asociados con la ocurrencia de mastitis clínica en la Provincia de Ubaté.....	41
2.1 Introducción	43
2.2 Materiales y métodos.....	47
Población de estudio.....	47
Definiciones Clínicas.....	48
Protocolo de visita y toma de muestras.....	49
Evaluación de los Factores de riesgo.....	49
Análisis estadístico	50
2.3 Resultados.....	51
Características de los hatos.....	51
Ocurrencia de mastitis clínica	52
Agentes Etiológicos de mastitis clínica.....	54
Factores asociados con la ocurrencia de mastitis clínica	55
2.4 Discusión	58
2.5 Conclusiones	62
3. Mastitis subclínica en la provincia de Ubaté	65
3.1 Introducción	67
3.2 Materiales y métodos.....	71
Población de estudio.....	71
Protocolo de visita y toma de muestras.....	72
Definición de caso.....	73
Análisis de los Factores de riesgo.....	74
Análisis estadístico	75
3.3 Resultados.....	77
Características de los hatos.....	77
Ocurrencia de mastitis subclínica.....	78
Etiología de mastitis Subclínica.....	79
Factores de riesgo asociados a mastitis subclínica.....	80
Relación entre la prevalencia de MS y el conteo de células somáticas de cantinas	85
3.4 Discusión	86
3.5 Conclusiones	90
4. Conclusiones y recomendaciones	93
4.1. Conclusiones	93
4.2. Recomendaciones	94
5. Bibliografía.....	97

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 2-1: Variación de la Prevalencia de mastitis clínica por animal y por cuarto en Bovinos lecheros de la Provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016-2018...	53
Tabla 2-2: Prevalencia de microorganismos aislados de muestras de leche de cuartos con MC entre julio del año 2016 y junio del año 2017 en la Provincia de Ubaté	55
Tabla 2-3: Factores de riesgo nivel cuarto e individuo asociados con la ocurrencia de MC en Bovinos lecheros de la Provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016-2018	56
Tabla 2-4: Factores de riesgo nivel hato para la presentación de Mastitis Clínica en Bovinos lecheros de la Provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016-2018...	57
Tabla 3-1: Variación de la prevalencia de mastitis subclínica por animal y por cuarto en bovinos lecheros de la Provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016 -2018. .	78
Tabla 3-2: Prevalencia de microorganismos aislados de muestras de leche de cuartos con MS entre julio del año 2016 y junio del año 2017 en la Provincia de Ubaté	80
Tabla 3-3: Factores de riesgo nivel cuarto e individuo asociados con la ocurrencia de MS en Bovinos lecheros de la provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016-2018	81
Tabla 3-4: Factores de riesgo nivel hato (Características y manejo general) para la presentación de MS en Bovinos lecheros de Ubaté, Cundinamarca entre 2016-2018....	82
Tabla 3-5: Factores de riesgo nivel hato (Rutina de ordeño) asociados a la presentación de MS en la provincia de Ubaté.....	84
Tabla 3-6: Relación entre el conteo de células somáticas de cantina y la prevalencia de mastitis subclínica en hatos de la provincia de Ubaté.....	85

Lista de abreviaturas

Abreviatura	Término
<i>GM</i>	Glándula mamaria
<i>PRL</i>	Prolactina
<i>ACTH</i>	Hormona adenocorticotrópica
<i>MC</i>	Mastitis clínica
<i>MS</i>	Mastitis subclínica
<i>SCN</i>	Estafilococos coagulasa negativa
<i>BGN</i>	Bacilo gram negative
<i>Staph.</i>	<i>Staphylococcus</i>
<i>Strep.</i>	<i>Streptococcus</i>
<i>CCS</i>	Conteo de células somáticas
<i>CCSC</i>	Conteo de células somáticas de cantina
<i>CMT</i>	California Mastitis Test
<i>PMCV</i>	Prevalencia de mastitis clínica por animal
<i>PMCC</i>	Prevalencia de mastitis clínica por cuarto
<i>IAMCV</i>	Incidencia acumulada de mastitis clínica por animal
<i>IAMCC</i>	Incidencia acumulada de mastitis clínica por cuarto
<i>TIMCV</i>	Tasa de incidencia mastitis clínica por animal
<i>TIMCC</i>	Tasa de incidencia mastitis clínica por cuarto
<i>PMSV</i>	Prevalencia de mastitis subclínica por animal
<i>PMSC</i>	Prevalencia de mastitis subclínica por cuarto
<i>IAMSV</i>	Incidencia acumulada de mastitis subclínica por animal
<i>IAMSC</i>	Incidencia acumulada de mastitis subclínica por cuarto
<i>TIMSV</i>	Tasa de incidencia mastitis subclínica por animal
<i>TIMSC</i>	Tasa de incidencia mastitis subclínica por cuarto
<i>RR</i>	Riesgo relativo
<i>OR</i>	Odds ratio
<i>IC</i>	Intervalo de confianza
<i>p</i>	Valor de p

Introducción

Mastitis bovina es el término usado para describir la inflamación del tejido de la glándula mamaria junto a los cambios asociados a dicha inflamación tanto en la glándula como en la leche. Recientemente se usa el término para referirse específicamente a la inflamación causada por la infección del tejido mamario por microorganismos patógenos -infección intramamaria- (J. Roberson et al., 2009).

La mastitis bovina es la enfermedad infecciosa más costosa y común del ganado bovino lechero (Restrepo, Ortiz, Cardona, & Olivera, 2012; J. Roberson et al., 2009; A. P. Trujillo, Vásquez, & Martínez, 2009); en tres estudios realizados en Colombia se han determinado pérdidas económicas del siguiente orden: en la Sabana de Bogotá, durante el año 2006 se estimaron pérdidas de alrededor de COP\$ 41.580 diarios por hato, más adelante, en el 2009 (G. Martínez, 2006), en el Alto Chicamocha en Boyacá, se estableció un margen de pérdida económica diaria, por leche no producida en 34 hatos, entre COP\$ 757.513 y COP\$ 1'054.212 (A. P. Trujillo et al., 2009) y en el oriente antioqueño, en el año 2011, en 7 fincas evaluadas se calculó que los propietarios dejaban de ganar COP\$ 153.000 por día (C. M. Trujillo, Ramírez, & Palacio, 2011). El porcentaje de vacas afectadas con mastitis los hatos evaluados varió entre el 36 y 57% (Martínez, 2006; A. P. Trujillo et al., 2009; C. M. Trujillo et al., 2011).

Las pérdidas causadas por esta enfermedad son atribuibles no solo al efecto perjudicial que causa la inflamación sobre la producción de leche en el animal afectado, sino también al costo que genera la adquisición de medicamentos para tratar las vacas infectadas, honorarios a profesionales médicos veterinarios, leche descartada por retiro antibiótico o con alteraciones en el aspecto físico, cambio en la calidad composicional y sanitaria de la leche obtenida y descarte prematuro de animales. Los estudios publicados en Colombia hasta el 2014 solo muestran el impacto económico que la mastitis genera en términos de disminución de la producción de leche y no tienen en cuenta los costos adicionales

anteriormente mencionados. Siendo así, es de esperar que el efecto económico negativo de esta enfermedad sea mucho mayor al estimado actualmente.

Para mayor entendimiento de la mastitis bovina es necesario conocer las formas de presentación de esta enfermedad. Se describen dos formas de mastitis bovina: clínica y subclínica. La mastitis clínica es la forma más conocida, esta se define por la presencia de anomalías en la leche y en la glándula mamaria; la leche ordeñada de cuartos con mastitis clínica puede ser acuosa, espesa, descolorida con sangre, pus, grumos o coágulos, adicionalmente, los cuartos afectados pueden observarse inflamados, enrojecidos y dolorosos al tacto (J. R. Roberson, 2012; Royster & Wagner, 2015). La mastitis subclínica es una forma no sintomática de la mastitis bovina, no hay cambios visibles detectables en la leche o en la glándula mamaria (J L Gonçalves et al., 2018; Royster & Wagner, 2015) aun así la producción y composición de la leche se ve alterada y un número importante de bacterias son secretadas en la misma (Harmon, 1994).

El diagnóstico en campo de la forma clínica de la mastitis se hace a través de la observación de los cuartos de la glándula mamaria y de la leche recogida de cada uno de ellos al inicio del ordeño (J. R. Roberson, 2012), los casos de mastitis subclínica, en cambio, son identificados por el aumento en el conteo de células somáticas (CCS) en el cuarto afectado; CCS superiores a 200.000 células/mL son indicadores de la inflamación subclínica de uno o más cuartos de la glándula mamaria (Royster & Wagner, 2015). Las vacas con mastitis clínica son detectadas a través de la observación directa de la glándula mamaria y de leche en recipientes de fondo oscuro, para diagnosticar las vacas con mastitis subclínica en campo se usa de forma rutinaria la prueba californiana de mastitis (California Mastitis Test, CMT).

La mastitis, sin importar su forma de presentación, es casi siempre causada por la infección intramamaria con microorganismos patógenos (Klaas & Zadoks, 2017). En la actualidad se reconocen más de 150 microorganismos entre bacterias, hongos y levaduras, capaces de producir inflamación clínica y subclínica de la glándula mamaria (Almeida, Albuquerque, Araujo, Ribeiro, & Tavares, 2013; Watts, 1988), pero se presta mayor atención a las bacterias como agentes causales ya que estas son aisladas con mayor frecuencia de muestras de leche de cuartos con diagnóstico clínico o subclínico de mastitis (Bradley, 2002). Las bacterias patógenas que causan mastitis son usualmente clasificadas en dos grandes grupos, contagiosas o medioambientales, esta clasificación se hace con base en

el reservorio y ruta de transmisión de las mismas entre las vacas (J L Gonçalves et al., 2018). Los patógenos contagiosos son transmitidos usualmente de vaca a vaca durante el ordeño, la glándula mamaria y o los pezones son los reservorios principales para estas bacterias, por otro lado, los patógenos medioambientales no necesitan la glándula mamaria/vaca para multiplicarse, el ambiente es el reservorio para estos microorganismos (National Mastitis Council, 2015a; Vliegheer, Ohnstad, & Piepers, 2018).

La resolución 000017 del año 2012 del Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural, propone un modelo para la liquidación de la leche cruda al productor con base en la calidad higiénica y composicional de la misma y además formula un sistema de bonificaciones por calidad sanitaria a hatos libres de brucelosis y tuberculosis bovina, así como por la implementación de buenas prácticas ganaderas. Con esta premisa es de gran importancia conducir a los productores de la provincia de Ubaté en la adopción de prácticas de manejo que les permitan obtener leche con buena calidad higiénica, composicional y sanitaria.

Cinco aspectos definen la leche cruda de alta calidad (1) completa en su composición, con niveles de grasa y proteína dentro de la norma; (2) libre de sabores y olores desagradables; (3) libre de medicamentos, agua añadida u otros adulterantes; (4) bajos recuentos totales de bacterias; y (5) bajo CCS (Murphy, Martin, Barbano, & Wiedmann, 2016). La industria láctea demanda materia prima de buena calidad para la fabricación de productos derivados de la leche, sin embargo, las vacas afectadas con mastitis bovina producen leche de menor calidad con elevado recuento de CCS y bajas concentraciones de grasa y proteína (J L Gonçalves et al., 2018). La implementación de un sistema de seguimiento, control y prevención de la mastitis en los hatos intervenidos en la Provincia de Ubaté favorecerá la obtención de un producto óptimo para comercialización y transformación, impactando de forma directa en el recaudo de los productores por la venta de estos.

La inflamación producto de la infección de la glándula mamaria por cualquier patógeno causal de mastitis genera daño en el epitelio secretor de la misma afectando directamente la producción total de leche; en algunos casos la lesión al tejido puede resultar en la pérdida total de la capacidad de la glándula de sintetizar leche nuevamente (Auldist, 2011; J L Gonçalves et al., 2018). Martínez en el año 2006, en 10 hatos de la sabana de Bogotá, determinó que los cuartos de las vacas afectadas con diferentes grados de mastitis producían entre 20 y 70% menos leche que un cuarto sano (Martínez, 2006), por lo tanto,

controlar esta enfermedad permitiría a los productores obtener un producto de mejor calidad en mayor cantidad.

Prevenir la aparición de nuevos casos de enfermedad y determinar factores de riesgo asociados a estas nuevas apariciones, controlar aquellos que ya existen, hacer diagnóstico microbiológico de vacas con mastitis y proponer un sistema de seguimiento y alerta para determinar hatos con alta prevalencia son puntos clave para disminuir el impacto de esta enfermedad entre los pequeños productores de la provincia de Ubaté; un estudio de corte llevado a cabo en el valle de Ubaté en el año 2002 determinó que de 2355 vacas en producción evaluadas a través de la prueba de CMT 1385 presentaban algún grado de mastitis subclínica en uno o más de sus cuartos (58,8%) (Rodríguez, Contreras, & Ordoñez, 2002), esta alta prevalencia de vacas afectadas no solo es un indicativo de la magnitud del problema de esta enfermedad en la zona sino del potencial de mejora que se puede lograr con los pequeños productores de leche en la provincia de Ubaté.

Entender la epidemiología de los agentes causales de la mastitis bovina y la ocurrencia de esta es indispensable para proponer estrategias de control y prevención. La mastitis afecta a las vacas de manera individual, sin embargo los programas de control para esta enfermedad deben ser implementados a nivel de hato (Ruegg, 2012a). No es suficiente hacer una sola cosa bien en pro de prevenir la mastitis; el control efectivo de esta enfermedad resulta del efecto acumulativo de las buenas prácticas ganaderas. Los programas de control de mastitis no solo deben minimizar las infecciones ya existentes sino también deben reducir la aparición de nuevas infecciones; es importante mencionar que las estrategias de control no son estandarizadas para todos los hatos, ya que entre estos se observan diferencias ambientales, de manejo e infección que hacen que las medidas a tomar sean por lo tanto distintas (Philpot, 1979; Ruegg, 2012a). La detección temprana de los casos de mastitis, evaluación de opciones de tratamiento adecuado e implementación de prácticas preventivas que ayuden a disminuir factores de riesgo específicos de cada hato, deben ser factores a tener en cuenta para la creación de sistemas de control de la mastitis bovina (Royster & Wagner, 2015; Ruegg, 2012b).

Es labor de los médicos veterinarios ayudar a los productores a enfrentar los retos que representa la mastitis bovina a los sistemas de producción lecheros, determinar la estrategia adecuada para contrarrestar los efectos nocivos de esta enfermedad y asegurar la obtención de un producto seguro para el consumo. En este capítulo se presenta la

revisión de los aspectos básicos relacionados con la glándula mamaria, lactancia y desarrollo de la mastitis bovina que fueron tenidos en cuenta en el diseño de un estudio epidemiológico para esta enfermedad en la provincia de Ubaté.

1. Revisión de literatura

1.1 Anatomía y fisiología de la glándula mamaria

La glándula mamaria (GM) bovina es un compuesto de cuatro glándulas individuales cada una con su propio pezón o papila mamaria, usualmente llamada ubre; la base de cada glándula mamaria es ligeramente cóncava y se inclina hacia abajo y hacia adelante en relación con la pared abdominal a la cual se une por medio del ligamento suspensorio de la glándula mamaria (Dyce, Sack, & Wensing, 2018; Reece, Erickson, Goff, & Uemura, 2008; Sisson, Grossman, & Getty, 1975).

La ubre está suspendida por fuertes láminas de fascia que rodean, encierran y limitan el tejido glandular, estas láminas son continuas y se adhieren al armazón de tejido conectivo que da sostén e infiltran el órgano, conformándose así el ligamento suspensorio de la ubre (Dyce et al., 2018; Reece et al., 2008). La fascia forma una cubierta continua sobre cada mitad de la glándula, la parte externa está cubierta por la lámina lateral mientras la parte central está recubierta por la lámina medial, la unión de ambas láminas centrales forma un septo doble que separa las glándulas del lado derecho e izquierdo (Sisson et al., 1975). La lámina medial se origina de la túnica flava y el tendón sinfisiario y está formada principalmente por tejido elástico, la lámina lateral surge del pilar externo del anillo inguinal y de la fascia femoral medial y está formado por tejido conectivo denso; las diferencias en la estructura de las dos láminas explican el hundimiento de la porción media de la ubre (Dyce et al., 2018; Reece et al., 2008; Sisson et al., 1975).

Las distribuciones vasculares son abundantes, la arteria pudenda externa al llegar a la base de la ubre se divide en dos ramas divergentes, una transcurre en sentido craneal y otra caudal, ambas ramas están inmersas en el tejido glandular (Dyce et al., 2018). La rama caudal se anastomosa con una rama de la arteria perineal ventral lo que restringe su distribución a los ganglios linfáticos mamaros y a una porción de las glándulas mamaras

posteriores las cuales están irrigadas por ramas de la arteria perineal (Dyce et al., 2018; Sisson et al., 1975). El drenaje se realiza a través de las venas pudendas externas que pasan a través de los canales inguinales y las venas subcutáneas abdominales las cuales siguen recorridos subcutáneos sobre la pared abdominal antes de desaparecer para verter su contenido en las venas torácicas externas (Dyce et al., 2018; Reece et al., 2008).

Los pezones y la sustancia glandular están permeados por un plexo linfático del cual emergen vasos que drenan su contenido hacia dos pares de ganglios linfáticos mamarios ubicados dorsales a la porción caudal de la ubre, estos pueden detectarse por palpación profunda desde la parte posterior de la vaca hacia la parte dorsal de los cuartos caudales donde estos se unen a la pared abdominal. El flujo eferente de estos ganglios se dirige hacia el ganglio inguinal profundo (Dyce et al., 2018; Sisson et al., 1975).

La inervación cutánea de la ubre es difusa y proviene de las ramas ventrales de los dos primeros nervios lumbares, el nervio genitofemoral y ramas mamarias del nervio pudendo; el tejido glandular y la pared más profunda de los pezones son inervados por el nervio genitofemoral, el cual llega a la ubre a través del canal inguinal y nervios derivados del plexo simpático mesentérico posterior (Dyce et al., 2018).

La glándula mamaria es de origen lóbulo alveolar, está compuesta de un parénquima secretor y un estroma de tejido conectivo (Sacristán, 1996). La leche se forma en las células de los acinos las cuales se organizan en forma de vesículas o sacos llamados alvéolos, a estos se les conoce como la unidad secretora básica de la glándula. Cada alvéolo está formado por una capa de células secretoras que a su vez está rodeada de una membrana basal, pequeños lechos capilares y células mioepiteliales las cuales al contraerse fuerzan la salida de la leche desde el lumen a los conductos colectores; en glándulas sanas, fuertes uniones entre las células epiteliales mamarias proporcionan una barrera impermeable que previene la difusión de moléculas y iones entre la sangre y la leche (Anderson, MacLean, McManaman, & Neville, 2015; Reece et al., 2008; Sacristán, 1996). Numerosos alveolos con sus conductos colectores forman los lobulillos los cuales se agrupan formando lóbulos, estos últimos están recubiertos por tejido conectivo. Los conductos colectores de los alveolos mamarios se fusionan y forman ductos interlobulillares los cuales se agrupan formando conductos galactóforos o lactíferos que desembocan en la cisterna de la glándula. Cada pezón tiene un ducto el cual se ensancha

hacia arriba en un seno lactífero conocido como cisterna del pezón, la parte baja del ducto es estrecha y está cerrada por un esfínter de músculo liso y tejido elástico (Reece et al., 2008; Sacristán, 1996).

Los nutrientes necesarios para sintetizar la leche son entregados a la glándula mamaria por el sistema circulatorio y transportados hacia las células epiteliales o directamente al lumen alveolar; la caseína, grasa y la lactosa, componentes principales de la leche, son sintetizadas en las células epiteliales mamarias y secretadas hacia el lumen donde estas se mezclan con otros constituyentes de la leche (Anderson et al., 2015; Reece et al., 2008). La porción de la leche que es sintetizada entre los periodos de ordeño, o fracción cisternal, drena de los alveolos a través de una serie de conductos para ser almacenada en la cisterna de la glándula y el pezón, sin embargo, la mayoría de la leche permanece en los alveolos mamarios hasta que la expulsión de esta ocurre (Reece et al., 2008; Sacristán, 1996).

La manipulación de los pezones durante el ordeño activa receptores sensibles a presión en la piel de estos y desencadena un reflejo neuro-hormonal que conduce a la liberación de oxitocina al torrente sanguíneo por la glándula pituitaria (Reece et al., 2008). La leche es expulsada una vez las células mioepiteliales que rodean los alveolos y conductos galactóforos se contraen como respuesta a la acción de la oxitocina, cuando la resistencia de la cisterna de la glándula mamaria es superada por la presión de la leche en el pezón como consecuencia del ordeño o succión, esta es expulsada a través del orificio del pezón (Anderson et al., 2015; Reece et al., 2008). La activación del sistema nervioso simpático como respuesta al estrés, agitación o emoción, pueden inhibir la liberación de oxitocina por la glándula pituitaria y la unión de esta con los receptores de las células epiteliales resultando en la prevención de la eyección de la leche (Anderson et al., 2015; Reece et al., 2008; Sacristán, 1996).

1.2 Desarrollo de la glándula mamaria

Mamogénesis es el término usado para referirse al desarrollo de las estructuras que conforman la glándula mamaria durante la gestación y a lo largo de vida de la vaca; este proceso comienza muy temprano en el desarrollo embrionario y se extiende hasta la última lactancia, ya que la glándula mamaria es uno de los pocos órganos que de forma repetida

comienza ciclos de crecimiento, diferenciación funcional y regresión durante la vida adulta de la hembra bovina (Akers, 2017; Gorewit, 1988; Hurley & Piantoni, 2010; Reece et al., 2008; Sacristán, 1996).

Se reconocen cinco etapas en el desarrollo de la glándula mamaria, (1) durante el desarrollo embrionario, (2) entre el nacimiento y la pubertad seguido por (3) el desarrollo durante y después de la pubertad, (4) el final de la primera gestación y (5) durante cada lactancia que presenta la vaca (Hurley & Piantoni, 2010; Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005).

Desarrollo embrionario

El desarrollo de la glándula mamaria comienza en el embrión; en este se observa al día 32 del desarrollo dos bandas anchas de células ectodérmicas que se extienden a ambos lados del tronco, las cuales se consideran el primordio de este órgano (Gorewit, 1988; Hurley & Piantoni, 2010). Entre el día 32 y 60 del desarrollo embrionario, las células ectodérmicas que antes formaban dos bandas en la región abdominal del embrión continúan multiplicándose dentro de la lámina mesenquimal hasta formar dos estructuras globulares y esféricas llamadas yemas mamarias, las cuales se ubican en ese momento en la zona inguinal del feto. Los primordios de los pezones empiezan a aparecer luego del día 60 sobre las yemas mamarias, entre este momento y el día 80, las células mesenquimales de estos primordios se desarrollan y aparece la cisterna de la glándula, a estos se les conoce como brotes primarios. El desarrollo continúa y entre la semana 13 y 14 aparecen los brotes secundarios los cuales se ramifican desde los brotes primarios, posteriormente los brotes tanto primarios como secundarios comienzan un proceso de formación de lumen el cual se conoce como canalización; este proceso comienza alrededor del día 100 y continúa hasta el día 130 cuando aparece la cisterna del pezón (Hurley & Piantoni, 2010; Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005).

La canalización continúa hasta que la mayor parte de los brotes secundario presentan lumen; el desarrollo del pezón termina con la formación del esfínter externo (Sacristán, 1996). Adicionalmente entre el día 100 y 160 se forman los vasos sanguíneos y linfáticos y parte del ligamento suspensorio de la glándula. Al nacimiento se observan pezones bien desarrollados, los brotes primarios y la mayor parte de los brotes secundarios están

canalizados, el tejido no secretorio está bien formado (tejido conectivo de soporte, vasos linfáticos y sanguíneos), pero el tejido secretorio o glandular no está desarrollado en este momento (Hurley & Piantoni, 2010; Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005).

Desarrollo prepuberal

La glándula mamaria crece de forma isométrica desde el nacimiento hasta el tercer mes de edad, en esta etapa el sistema de ductos de la glándula crece un poco y la mayor parte del tamaño de la ubre se da por la acumulación de grasa y tejido conectivo en la misma (Hurley & Piantoni, 2010; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005). Entre el tercer y duodécimo mes de edad la glándula mamaria presenta crecimiento alométrico, se observa un amplio crecimiento y desarrollo de la red de conductos que invade el tejido adiposo que hasta el momento se ha venido acumulando en la ubre en desarrollo; la mayor parte del tejido de la glándula en el periodo prepuberal corresponde a grasa (Akers, 2017; Hurley & Piantoni, 2010; Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005; H Allen Tucker, 1981).

Desarrollo postpuberal

La aparición de la actividad ovárica durante la pubertad genera una rápida proliferación de conductos y la formación de una matriz muy ramificada pero poco desarrollada de estos gracias al efecto de los estrógenos sobre la glándula mamaria (Hurley & Piantoni, 2010; Sacristán, 1996). La proliferación de conductos viene acompañada del desarrollo del estroma conectivo, crecimiento de tejido adiposo y por el desarrollo complementario del mioepitelio y de los sistemas vascular y linfático (H Allen Tucker, 1981).

Desarrollo durante la gestación

El crecimiento y desarrollo de la glándula mamaria se acelera en el último tercio de la gestación, periodo que coincide con el mayor crecimiento fetal (Sacristán, 1996). Una vez se establece la gestación y hasta el 4 mes de esta se produce una expansión considerable del sistema de conducción unido a una baja formación de alveolos mamarios y la formación de lobulillos alveolares; durante la segunda mitad de la gestación la mayor parte del

crecimiento de la glándula es lóbulo alveolar (Hurley & Piantoni, 2010; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005).

1.3 Lactogénesis

El inicio de la lactación o lactogénesis ocurre durante el último tercio de la gestación; en este periodo ocurre la diferenciación citológica de las células mamarias unido a un aumento de la actividad enzimática responsable de la síntesis de los componentes de la leche. La actividad secretora de la glándula resulta de la interacción de diferentes hormonas y cambios endocrinos que se aprecian al final de la gestación (Gorewit, 1988; Hurley & Piantoni, 2010; Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005).

Prolactina (PRL)

La prolactina (PRL) es una hormona adenohipofisiaria que estimula la diferenciación celular en la glándula mamaria al final de la gestación, favorece el crecimiento glandular y está implicada en el inicio de la síntesis de leche; esta hormona presenta niveles basales durante la mayor parte de la gestación y dos semanas antes del parto comienza a elevarse hasta alcanzar un pico de 200 ng/ml justo antes de este. La prolactina estimula la síntesis de caseína controlando la expresión génica de la misma, además induce la síntesis de alfa-lactoalbúmina y lípidos dentro del epitelio mamario (Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005; H A Tucker, 2000; H Allen Tucker, 1981).

Insulina

La PRL sensibiliza al epitelio secretor de la glándula mamaria a la acción de la insulina, esta hormona facilita la diferenciación glandular por esteroides ováricos o suprarrenales debido a su acción mitogénica, aumenta la permeabilidad celular, la captación de glucosa y la incorporación y transformación del acetato en ácidos grasos (Hurley & Piantoni, 2010; Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005).

Glucocorticoides

La captación de grandes cantidades de glucocorticoides se ha asociado con el inicio de la lactación; estos inducen la diferenciación del retículo endoplásmico y aparato de Golgi de las células secretoras mamarias con el fin de permitir la síntesis de proteínas lácteas

(Caseína y alfa-lactoalbúmina) por acción de la PRL en estas células (Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005).

Progesterona

La progesterona inhibe el proceso lactogénico, su rápida disminución antes del parto está asociada con el inicio de la lactancia y el pico de PRL (H Allen Tucker, 1981). Esta hormona inhibe la capacidad de la PRL de incrementar el número de receptores propios en la glándula mamaria, retrasa la aparición de caseína y alfa-lactoalbúmina así como la secreción total de la glándula mamaria (Akers, 2017; Sacristán, 1996).

1.4 Galactopoyesis: mantenimiento de la lactancia

El mantenimiento de la lactancia depende del balance entre factores asociados a la acción de las hormonas galactopoyéticas, al estado fisiológico de las vacas y a elementos locales de regulación en la glándula mamaria (Gorewit, 1988; Sacristán, 1996; H A Tucker, 2000; H Allen Tucker, 1981). Entre los factores desencadenantes de la producción láctea se encuentra la sensibilización del tejido mamario a la acción de la PRL y glucocorticoides asociado a una menor concentración de esteroides fetoplacentarios al final del parto, adicionalmente, por efecto del parto y la posterior succión por parte del recién nacido de la glándula mamaria se genera un aumento en la producción de estas dos hormonas marcando de esta forma el inicio de la lactancia (Sacristán, 1996).

La galactopoyesis es dependiente de la extracción de la leche y del estímulo que genera el ordeño o el amamantamiento; la succión, asociada al amamantamiento u ordeño estimula la lactación reduciendo los efectos inhibidores de la presión intramamaria aumentada y estimula la secreción de prolactina y glucocorticoides (Gorewit, 1988; Sacristán, 1996; H A Tucker, 2000). Entre las hormonas asociadas al mantenimiento de la lactancia se incluyen la hormona de crecimiento, la PRL, hormona adenocorticotrópica (ACTH), Hormona liberadora de tirotrópina (TRH), insulina y hormona paratiroidea (Sacristán, 1996; H A Tucker, 2000).

Hormona de crecimiento

Esta hormona es la responsable del mantenimiento de la lactación en los rumiantes, actúa mejorando los rendimientos de leche sin que esto implique un aumento de la ingesta o reducción a corto plazo de las reservas del organismo. Su función consiste en la redistribución de energía disponible en las hembras en lactancia y redirección de esta desde diferentes tejidos hacia la glándula mamaria (Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005; H Allen Tucker, 1981).

Prolactina

En los rumiantes la PRL juega un papel importante en la primera parte de la lactogénesis ya que su acción al final de la gestación es esencial para el máximo desarrollo del proceso lactógeno (Gorewit, 1988; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005; H Allen Tucker, 1981).

Hormona adenocorticotrópica

Esta hormona se libera como resultado del estímulo generado por el amamantamiento o la succión durante el ordeño; la ACTH induce la liberación de glucocorticoides que en la glándula mamaria generan un aumento en la captación de glucosa por parte de las células secretorias del tejido mamario (Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005).

Hormona liberadora de tirotropina

La concentración de hormonas tiroideas en vacas en producción al inicio de la lactancia se encuentran en relación inversa con la producción de leche, situación que no ocurre posterior a este periodo; los cambios en la liberación de esta hormona durante este estado específico de la lactancia están relacionados a adaptaciones en el metabolismo de las vacas en balance energético negativo con el fin de generar una reducción en el metabolismo periférico de manera tal que mejore el aporte energético a la glándula mamaria (Reece et al., 2008; Sacristán, 1996; H A Tucker, 2000).

Insulina

Esta hormona está implicada en adaptaciones metabólicas por las cuales los nutrientes son desviados de la síntesis de leche a los tejidos del cuerpo de las vacas en producción (Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005).

1.5 Expulsión de la leche

La succión asociada al amamantamiento u ordeño es uno de los factores que favorecen el establecimiento de la lactación (Sacristán, 1996). La expulsión de la leche está regulada por un arco reflejo; las fibras sensitivas que constituyen la inervación funcional de la glándula se distribuyen ampliamente en la piel del pezón y su activación por la succión o presión generada en estos durante el ordeño o amamantamiento genera una señal nerviosa que es transmitida vía espinal a los núcleos supraóptico y paraventricular del hipotálamo que a su vez transmiten el impulso a la neurohipófisis estimulando la liberación de oxitocina y vasopresina al torrente sanguíneo (Gorewit, 1988; Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005).

La oxitocina liberada se distribuye en la glándula mamaria y en lecho capilar de los alveolos mamarios desde donde alcanza con facilidad las células mioepiteliales induciendo la contracción de estas, esta acción resulta en la expulsión de la leche contenida en el alveolo mamario hacia los ductos del mismo tejido (Gorewit, 1988; Sacristán, 1996). La presión intramamaria se eleva como resultado de la expulsión de la leche desde los alveolos a los conductos mayores y las cisternas de la glándula, por tanto la presión de la succión o del ordeño debe ser suficiente para vencer la resistencia del esfínter del pezón y conseguir la extracción completa de la leche (Gorewit, 1988; Sacristán, 1996; Svennersten-Sjaunja & Olsson, 2005).

1.6 Involución de la glándula mamaria

El proceso por el cual la glándula mamaria cambia de un estado lactante a no lactante se conoce como involución; este proceso puede ocurrir de forma natural luego de que la vaca haya superado el pico de producción y por disminución gradual de la succión o puede ser provocado de manera abrupta luego del cese repentino del ordeño o destete de animales jóvenes (Hurley & Piantoni, 2010).

La producción en el ganado lechero disminuye de forma progresiva a medida que avanza la lactancia luego de superado el pico y persistencia de la misma; posterior a esta etapa, la función tisular de la glándula mamaria se ve afectada a causa de la disminución en la cantidad de células mamarias que entran en apoptosis (Hurley & Piantoni, 2010; Knight & Wilde, 1993). Se han descrito además factores inhibidores de la lactancia inducidos por la

gestación, se cree que los estrógenos placentarios tienen un efecto en la transición de glándula mamaria lactante a un estado de involución (H Allen Tucker, 1981).

Una vez ha terminado la lactancia, cambios en el tejido y secreción de la glándula mamaria se empiezan a apreciar. La capacidad de concentración de lactosa dentro de los alveolos mamarios es menor lo que genera una disminución en el transporte de agua dentro de los mismos; la concentración de proteínas totales son mayores en la involución temprana a causa de la concentración de la mismas por efecto de los cambios en el transporte de agua dentro de alveolo, sin embargo, en esta etapa la síntesis de caseína y lacto-albumina disminuyen mientras la producción de lactoferrina aumenta (Hurley & Piantoni, 2010).

Las células mamarias presentan cambios estructurales importantes, grandes cantidades de vacuolas empiezan a aparecer en estas, la actividad del retículo endoplásmico y aparato de Golgi es menor lo que implica un cese en la síntesis en componentes de la leche, principalmente caseína (Knight & Wilde, 1993). Alrededor de 30 días después del cese de la lactancia se observa un reducción en el volumen de la glándula mamaria, el tejido secretor ha disminuido de tamaño y se observa una mayor proporción de tejido conectivo entre alveolos mamarios, además se observa un aumento en el recambio celular de este tejido (Hurley & Piantoni, 2010; Knight & Wilde, 1993).

1.7 Mastitis bovina

Mastitis es el término designado para definir el proceso inflamatorio de la glándula mamaria originado principalmente por la infección de bacterias que alcanzan el tejido secretor a través del canal del pezón que generan alteraciones en la estructura anatómica y en la secreción como consecuencia de su multiplicación dentro de la glándula mamaria (Harmon, 2017; Vlieghe et al., 2018). Se describen dos formas de presentación de esta enfermedad, la forma clínica y la forma subclínica.

Las mastitis clínica (MC) se caracteriza por la presencia de anomalías en leche acompañadas o no de cambios en la glándula mamaria, la leche puede contener coágulos, grumos, cambios de coloración, presentar sangre o ser acuosa mientras tanto la glándula puede exhibir signos típicos de inflamación tales como aumento de tamaño y temperatura, rubor y dolor (Hammer, Morton, & Kerrisk, 2012; Harmon, 2017; Vlieghe et al., 2018); en

la forma subclínica de esta enfermedad no se aprecian cambios en la glándula mamaria ni anomalías visibles en la leche (Harmon, 2017; Viguier, Arora, Gilmartin, Welbeck, & O’Kennedy, 2009; Vlieghe et al., 2018; Watts, 1990).

La inflamación que generan las bacterias patógenas en la glándula mamaria ocasiona disminución de la producción y alteración de la composición de leche (Harmon, 2017). El grado de inflamación presente en el órgano secretor está relacionado con el mayor o menor efecto en la producción y composición de la leche, siendo así, se observan dramáticas alteraciones en la calidad composicional de la leche y el volumen de esta producida por vacas con MC en comparación con vacas que presentan MS (Harmon, 1994)

La mastitis es una enfermedad multifactorial bastante compleja, su aparición en animales y hatos está determinada por la interacción entre las bacterias patógenas, medio ambiente, manejo y huésped (Leelahapongsathon, Schukken, & Suriyasathaporn, 2014; Vlieghe et al., 2018; Zadoks et al., 2001). La complejidad de mastitis bovina se refleja en la gran cantidad de agentes causales capaces de generar enfermedad, la variedad y magnitud de respuestas fisiológicas a estos patógenos y la gran variación en la eficacia de las medidas de control para diferentes agentes causales; un delicado equilibrio entre ambiente, bacterias huésped y manejo debe existir para prevenir la aparición de esta enfermedad (Vlieghe et al., 2018).

La susceptibilidad ante mastitis bovina es variable, y características de los cuartos, las vacas, el manejo, el ambiente además de particularidades de los agentes patógenos explican tal aspecto de la enfermedad (Harmon, 1994; Vlieghe et al., 2018; Watts, 1990). Algunas características de las vacas se han asociado a la aparición de enfermedad en animales y hatos, pero estas no explican completamente la variabilidad de la misma en todos los escenarios en que esta se presenta; factores relacionados al manejo explican algunas variaciones en la ocurrencia y susceptibilidad de mastitis, por ejemplo, hatos en los cuales no se realiza sellado de pezones o este se hace de forma inadecuada presentan mayor probabilidad de presentar alta incidencia de mastitis en comparación con aquellos hatos en los cuales se realiza sellado adecuado de los pezones al finalizar el ordeño (N. F. Ramírez et al., 2014).

Adicionalmente, es poco frecuente que una vaca presente mastitis en todos los cuartos de la GM a la vez, dejando entrever que hay ciertas características de estos que afectan la variabilidad en la presentación de la enfermedad a este nivel, razón por la cual determinar factores relacionados a la infección intramamaria en el cuarto explicaría variaciones adicionales a la susceptibilidad de mastitis bovina. Identificar el nivel donde se aprecia mayor susceptibilidad para presentar la enfermedad es de gran valor para dirigir las medidas de control de mastitis bovina en un hato.

1.8 Patogénesis

Mecanismos innatos de defensa de la glándula mamaria

La inmunidad innata es la principal línea de defensa de la GM cuando se expone a microorganismos patógenos causales de mastitis bovina, este tipo de defensa se caracteriza por activarse de forma rápida posterior a la exposición bacteriana inicial (Sordillo, 2018). Entre los mecanismos de defensa innata de la glándula mamaria se incluyen las barreras físicas del pezón y del canal del pezón y una gran variedad de mecanismos moleculares y celulares que facilitan la protección de esta (Rainard & Riollet, 2006; Sordillo, 2018). A continuación, se mencionan los mecanismos innatos de defensa predominantes de la glándula mamaria:

- **Piel:**

En perfectas estado la piel ofrece condiciones que limitan la proliferación bacteriana en su superficie. El estrato corneo actúa como una barrera evitando la pérdida de agua desde las capas más profundas de la piel manteniendo la elasticidad, flexibilidad y suavidad factores que previenen la formación de grietas y heridas que favorecen el crecimiento y proliferación de bacterias causales de mastitis. Adicionalmente, la secreción de ácidos por parte de las células de la piel se altera y la cantidad de ácido láctico, ácidos grasos libres y aminoácidos se ve afectada, estas alteraciones predisponen a la piel a la colonización bacteriana conformándose así una fuente de bacterias patógenas para el tejido mamario (Meglia & Mata, 2001).

- Características del pezón:

La primera línea de defensa contra las bacterias invasoras es el canal del pezón y los cambios en la conformación de la punta de este pueden favorecer la penetración de bacterias dentro de la glándula mamaria sana (Vlieghe et al., 2018). Normalmente, el canal del pezón está fuertemente cerrado por un esfínter que evita la entrada de bacterias a la glándula; este esfínter está delineado por una capa de queratina a la cual se le han atribuido funciones bactericidas o de adsorción bacteriana. La capa de queratina que se forma sobre el esfínter evita la entrada de bacterias al canal del pezón (Meglia & Mata, 2001; Viguier et al., 2009; Zadoks et al., 2001).

Algunos componentes lipídicos de la queratina contienen ácidos grasos antibacteriales que poseen actividad bactericida y bacteriostática. Aunque no está claro el efecto antibacteriano de esta proteína, se cree que los ácidos grasos de cadena larga contenidos en esta, disrumen la membrana lipídica de la bacteria generando la perforación y por ende muerte de la misma (Rainard & Riollet, 2006; Sordillo, 2018)

El diámetro del pezón y en menor medida la longitud de este se relaciona directamente con la incidencia de mastitis; cuando la glándula mamaria se encuentra en producción el diámetro del canal del pezón es considerablemente mayor en relación con el que se observa en glándulas mamarias en periodo seco. Así mismo, a medida que la involución del tejido mamario progresa, aumenta la resistencia de la glándula a infecciones bacterianas, esto como resultado de la formación de un tapón de queratina en el extremo ventral del canal del pezón y sobre el esfínter de este el cual previene del acceso y multiplicación bacteriana en la glándula mamaria (Meglia & Mata, 2001).

Durante la lactancia, el tapón de queratina que se forma entre ordeños es eliminado con la extracción de la leche (Viguier et al., 2009), adicionalmente, el canal del pezón y el esfínter de este durante el ordeño y por acción de la oxitocina se distienden-relajan aumentando el riesgo de colonización bacteriana de la glándula inmediatamente luego del ordeño. El esfínter y el canal del pezón vuelven a su estado contráctil alrededor entre una y dos horas después de finalizado el ordeño (Meglia & Mata, 2001; Viguier et al., 2009), por tal razón el uso de antimicrobiano post ordeño es una práctica recomendable para ayudar a optimizar esta línea de defensa inicial de la glándula mamaria.

- Reconocimiento de patógenos:

Cuando los microorganismos causales de mastitis logran superar la primera línea de defensa de la glándula mamaria, la capacidad de esta en reconocer dichos patógenos es esencial para el inicio de la respuesta inmunológica innata (Sordillo, 2018). Poblaciones celulares distribuidas a través del tejido mamario son capaces de identificar patrones moleculares asociados a patógenos a través de receptores de membrana conocidos como receptores reconocedores de patrones; entre estos receptores tiene importancia los receptores tipo Toll 2 y 4 ya que estos no solo están presentes en leucocitos si no también en células epiteliales, células endoteliales y fibroblastos de la GM (Sordillo, 2018). Los receptores tipo Toll reconocen patrones moleculares de peptidoglicanos asociados a bacterias gram-positivas como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus uberis*, además reconocen patrones de lipopolisacáridos asociados a bacterias gram-negativas como *Escherichia coli*, todas estas bacterias conocidas por tener capacidad de producir mastitis en glándulas mamarias sanas (Sordillo, 2018). Una vez establecido este reconocimiento temprano de patógenos por receptores en células epiteliales y fibroblastos en la GM, vías de señalización intracelular en estas se activan y desencadenan el inicio de la cascada inflamatoria.

- Citoquinas:

Glicoproteínas de bajo peso molecular secretadas por células inmunes y no inmunes con la capacidad de regular la respuesta inflamatoria (Rainard & Riollot, 2006). Las citocinas regulan la intensidad y duración de la respuesta del huésped a la infección a través de la activación, proliferación y diferenciación de células relacionadas con la respuesta inmune; respecto a la respuesta inflamatoria, estas moléculas facilitan la extravasación de leucocitos del torrente sanguíneo al sitio de invasión bacteriana (Meglia & Mata, 2001; Rainard & Riollot, 2006; Sordillo, 2018).

- Oxilípidos:

Son un grupo de moléculas de señalización inflamatorias también conocidos como eicosamidas (Sordillo, 2018). Estas moléculas son producidas en mayor cantidad por macrófagos y células endoteliales de la GM; la liberación de oxilípidos está determinada por el reconocimiento por parte de células endoteliales de lipopolisacáridos o peptidoglicanos a través de receptores reconocedores de patrones de células endoteliales

o por activación de macrófagos a través de citocinas (Rainard & Riollet, 2006; Sordillo, 2018). La exposición celular a los oxilípidos estimula la liberación de ácidos grasos poli-insaturados por acción de fosfolipasas sobre fosfolípidos de membranas celulares. Los ácidos grasos generados son oxidados posteriormente por especies reactivas del oxígeno y a través de diferentes rutas enzimáticas (Ciclooxigenasa, lipoxigenasa, citocromo P450) para generar una variedad de oxilípidos que pueden aumentar o disminuir la respuesta inflamatoria (Meglia & Mata, 2001; Rainard & Riollet, 2006; Sordillo, 2018)

- Lactoferrina:

La lactoferrina es una proteína producida por las células epiteliales y fagocitos en la glándula mamaria, esta proteína posee la capacidad de fijar moléculas de hierro (Fe). En leche de ubres sanas la concentración de esta proteína es baja mientras en casos de mastitis y durante la involución de la glándula mamaria su concentración suele ser alta. La lactoferrina inhibe el crecimiento de bacterias dependientes de este mineral, como estafilococos y bacterias coliformes, mientras su efecto es reducido sobre bacterias del género estreptococos las cuales tiene bajas necesidades de hierro (Meglia & Mata, 2001). La lactoferrina es inmunomoduladora y posee capacidad opsonizante características que le atribuyen la función de incrementar la función fagocítica y destructora de los polimorfonucleares (PMN) (Rainard & Riollet, 2006; Sordillo, 2018).

- Defensa celular:

Macrófagos, polimorfonucleares neutrófilos, células dendríticas y células natural killer conforman la barrera de defensa celular de la glándula mamaria frente a infecciones (Harmon, 2017; Meglia & Mata, 2001; Rainard & Riollet, 2006). Las células que contribuyen al sistema inmunológico de defensa celular en la GM pueden estar asociadas al tejido mamario o pueden estar libres en la leche; glándulas sanas contiene bajas cantidades de células suspendidas en la leche y la concentración de las mismas puede variar de acuerdo al estado de la lactancia, de manera tal que, al inicio de esta la concentración es menor que cuando la vaca está finalizando producción (Rainard & Riollet, 2006; Vlieghe et al., 2018).

Los macrófagos corresponden al grupo de células inmunológicas más comúnmente encontrada en la leche, secreción de la glándula mamaria involucionada y tejido glandular.

Los macrófagos en la leche se comportan como células fagocíticas, en el tejido estas células se comportan principalmente como presentadores de antígenos y adicionalmente ayudan a remodelar el tejido lesionado posterior a la resolución de la inflamación (Rainard & Riollet, 2006; Viguier et al., 2009).

Los neutrófilos se encuentran en baja concentración en la leche de GM sanas (Rainard & Riollet, 2006) sin embargo, esta población celular aumenta durante el proceso inflamatorio (Sordillo, 2018). El influjo de neutrófilos es iniciado por acción de las citoquinas y los oxilípidos los cuales actúan directamente sobre el endotelio vascular del tejido lesionado generando la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio vascular y reduciendo de la velocidad de la sangre hacia el tejido lesionado. Los neutrófilos se marginan y por acción de mediadores de inflamación se adhieren al endotelio vascular y empiezan a migrar de la sangre al sitio de infección entre las células endoteliales (Meglia & Mata, 2001).

La migración de neutrófilos desde el torrente sanguíneo al sitio de lesión ocurre entre 30 y 60 minutos luego de presentarse la injuria; la velocidad y magnitud de respuesta y migración de neutrófilos hacia la GM y la leche son considerados factores determinantes importantes en el establecimiento de la nueva infección. Los neutrófilos al igual que los macrófagos y en menor medida las células dendríticas se encargan de las bacterias en el tejido mamario y la leche a través de la fagocitosis, una vez las bacterias se encuentran dentro de estas células en los fagolisosomas son eliminadas a través de mecanismos dependientes de oxígeno (fosforilación oxidativa) o dependientes de proteínas (Mieloperoxidasa y superóxido-dismutasa) (Rainard & Riollet, 2006; Sordillo, 2018).

Las células natural killer tienen un rol importante en la defensa innata de la glándula mamaria frente a patógenos causales de mastitis; estas células poseen la capacidad de eliminar bacterias liberando proteínas bactericidas. Células natural killer aisladas de bovinos poseen actividad bactericida contra *staph. aureus* (Rainard & Riollet, 2006; Sordillo, 2018).

Una rápida y contundente respuesta celular es protectora frente a la invasión bacteriana del tejido mamario, sin embargo, reacciones agudas incontroladas o procesos inflamatorios crónicos pueden conducir a daño extenso del tejido mamario lo cual está asociado a la patogénesis de la enfermedad (Sordillo, 2018; Viguier et al., 2009). La

resolución de la inflamación es un proceso activo que involucra la activación de vías metabólicas y mediadores que disminuyen la infiltración de células inflamatorias hacia el tejido afectado, modificando la producción de mediadores solubles, remoción de detritos celulares y reparación del tejido dañado (Sordillo, 2018).

Por otra parte, si la infección persiste y las bacterias sobrepasan la capacidad inmunológica innata de la GM, entonces, se establece el proceso infeccioso; en este caso, la respuesta inflamatoria se sale de control y los alveolos del tejido secretor comienzan a perder integridad anatómica, la barrera hemática se rompe permitiendo el paso cloro (Cl), sodio (Na), hidrógeno (H), potasio (K) e iones hidroxilo (OH), componente del fluido extracelular, hacia la leche almacenada en la GM. Finalmente en casos de daño extremo del tejido mamario y la barrera hemática la sangre puede ser fácilmente detectada en la leche (Viguier et al., 2009).

La severidad del proceso inflamatorio a causa de la infección del tejido mamario continua hasta la aparición de alteraciones visible de la GM como aumento de tamaño y enrojecimiento de la piel del cuarto en el cual el proceso inflamatorio se está presentando, adicionalmente se presentan cambios en la leche como aumento de la conductividad, aumento del pH, aumento en el contenido de agua y presencia de coágulos en esta secreción (Viguier et al., 2009).

1.9 Etiología

Mastitis es causada principalmente por la infección bacteriana intramamaria (Klaas & Zadoks, 2017; Ruegg, 2017; Vlieghe et al., 2018). Un amplio espectro de microorganismos se han descrito como patógenos causales de mastitis (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012; Harmon, 2017; Ramirez, Fernandez, & Palacio, 2018; Watts, 1988), sin embargo, se atribuye especial atención a las bacterias como agentes causales ya que estas son aisladas con mayor frecuencia de muestras de leche de GM con diagnóstico clínico o subclínico de esta enfermedad (Bradley, 2002).

Las bacterias patógenas que causan mastitis en bovinos son generalmente clasificadas en contagiosas o ambientales en base con la fuente primaria de infección y el modo de transmisión de estas desde la fuente de origen a un animal susceptible (Harmon, 2017;

Keefe, 2012; Klaas & Zadoks, 2017; Makovec & Ruegg, 2003; Sommerhäuser et al., 2003; Watts, 1990). Los microorganismos contagiosos se transmiten de vaca a vaca a través de fómites durante el ordeño (Keefe, 2012; Royster & Wagner, 2015; Watts, 1990). Son especies de bacterias representantes de esta categoría de clasificación: *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium bovis* y *Mycoplasma spp.* (Makovec & Ruegg, 2003; National Mastitis Council, 2015a; Royster & Wagner, 2015; Watts, 1990).

Los microorganismos contagiosos están bien adaptados para sobrevivir y crecer en la glándula mamaria, entran a esta a través de canal del pezón y colonizan el tejido secretor donde logran permanecer por largos periodos de tiempo (Klaas & Zadoks, 2017; Sommerhäuser et al., 2003). El cuarto de glándula infectada con estas bacterias es la principal fuente de infección y transmisión a cuartos de vacas sanas durante el ordeño (Keefe, 2012; Makovec & Ruegg, 2003; National Mastitis Council, 2015a).

Los microorganismos considerados ambientales se encuentran en el medio ambiente donde viven las vacas (Royster & Wagner, 2015). En este grupo encontramos tres tipos de especies bacterianas principalmente: coliformes, enterococos y estreptococos ambientales, en este último grupo se incluyen todos los estreptococos a excepción de *Streptococcus agalactiae* el cual se considera un microorganismo contagioso. Bacterias gram-negativas como *E. coli*, y bacterias de los géneros *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Proteus spp.* y *Pasteurella spp.* también son incluidas en esta clasificación (El-Sayed, Awad, Abdou, & Castañeda Vázquez, 2017; Harmon, 1994; National Mastitis Council, 2015b; Watts, 1990).

Los patógenos ambientales son considerados microorganismos oportunistas que residen en el medio ambiente de la vaca y son capaces de producir mastitis; este tipo de microorganismos son menos adaptados para sobrevivir en la glándula mamaria y usualmente las infecciones generadas por estos generan una respuesta inmunológica aumentada que resulta en moderados signos de mastitis clínica (Ruegg, 2012b).

Entre las condiciones ambientales que pueden aumentar la exposición a patógenos medioambientales se encuentran el hacinamiento, lugares con ventilación deficiente en los cuales no se hace manejo adecuado del estiércol, áreas de alimentación y espera antes de ordeño húmedas, acceso a estanques o a lotes inundados, mal mantenimiento de zonas

de maternidad y paridera y en general la falta de limpieza y saneamiento de la finca (National Mastitis Council, 2015b).

En los diagnósticos de rutina de mastitis un grupo de bacterias conocidos como estafilococos coagulasa-negativa (SCN) se aíslan con cierta frecuencia (Pyörälä & Taponen, 2009). El género *Staphylococcus spp.* es dividido en estafilococos coagulasa-positivos y estafilococos coagulasa-negativos con base en la habilidad de estos de coagular plasma; entre las especies representativas del grupo de SCN aisladas con mayor frecuencia de muestras de leche de vacas con mastitis encontramos *staphylococcus epidermidis*, *staphylococcus chromogenes*, *staphylococcus simulans* y *staphylococcus hyicus* (Fry et al., 2014; Pyörälä & Taponen, 2009; Santos et al., 2008; Taponen & Pyörälä, 2009; Vanderhaeghen et al., 2014).

Los SCN han sido tradicionalmente considerados habitantes comunes de la piel de la glándula mamaria que pueden causar mastitis como bacterias oportunistas, sin embargo estudios recientes han establecido que estos también se encuentran abundantemente en el ambiente de las vacas (De Visscher et al., 2014). No se conoce de forma concreta como estos microorganismos se transmiten a las vacas no obstante, recientemente se ha establecido que de acuerdo a su distribución, cada hato tiene su propia microbiota en nichos extramamarios dejando entrever la importancia del ambiente en su transmisión (De Visscher et al., 2014; Pyörälä & Taponen, 2009).

La clasificación de patógenos causales de mastitis en dos grupos, ambientales y contagiosos, ha sido usado ampliamente en investigaciones llevadas a cabo alrededor del mundo, sin embargo, recientemente y gracias a la introducción de herramientas de diagnóstico moleculares en el estudio de la epidemiología de la mastitis bovina, se ha logrado demostrar que algunas especies de bacterias clasificadas o bien como de carácter contagioso o ambiental pueden adaptarse y presentar patrones de infección y métodos de transmisión no acorde a su clasificación, por ejemplo, se ha demostrado que cepas de bacterias de la especie *Staph. aureus* se transmiten a vacas susceptibles desde el medio ambiente en vez de la transmisión clásica para su especie de cuarto infectado a cuarto sano o entre vacas infectadas y sanas (El-Sayed et al., 2017; Gurjar et al., 2012; Klaas & Zadoks, 2017; Ruegg, 2012b).

Las técnicas de diagnóstico molecular abren una puerta para dilucidar el comportamiento epidemiológico de los agentes causales de mastitis bovina. El uso de estas en la epidemiología pretende no solo clasificar organismos en grupos filogenéticos sino que además permite identificar la fuente de contagio de patógenos causales de mastitis, sus relaciones biológicas y rutas de transmisión, posibles genes asociados a la virulencia y resistencia antibiótica e identificación de antígenos relevantes para el desarrollo de vacunas (Gurjar et al., 2012).

1.10 Patógenos causales de mastitis bovina

Staphylococcus aureus

Las bacterias de esta especie son comúnmente encontradas en la superficie de la piel tanto de las vacas como de los humanos, las mucosas nasal y de la vulva de las vacas y también puede ser encontrado en nichos en el ambiente (Keefe, 2012). Aunque se puede encontrar en el ambiente el reservorio o fuente de origen de estos patógenos se considera la piel de la GM y mucosas de la vaca (Keefe, 2012; Ruegg, 2012b).

La infección intramamaria causada por *S. aureus* es principalmente de tipo subclínica aunque evolucionan rápidamente a infecciones crónicas persistente de por vida (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012; Yang et al., 2011). Estas bacterias se propagan velozmente en el hato y poseen la capacidad de generar daño de moderado a severo en el tejido secretor lo cual causa disminución en la producción de leche (Sommerhäuser et al., 2003); se ha reportado que un cuarto infectado con *S. aureus* produce 45% menos leche que un cuarto sano, por otra parte, una vaca con mastitis subclínica causada por este patógeno puede producir 15% menos leche que una vaca sin mastitis subclínica (National Mastitis Council, 2015a).

Hatos con recuentos de células somáticas en tanque (RCST) entre 300.000 y 500.000 cel./ml o más a menudo presentan alta prevalencia de MS causada por estos microorganismos (National Mastitis Council, 2015a). Durante estado tempranos de infección el daño generado por la multiplicación bacteriana en el tejido mamario puede revertirse, sin embargo, en casos severos de inflamación puede haber gangrena y severo daño del tejido (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012; National Mastitis Council, 2015a).

Un factor de virulencia importante de esta especie de estafilococo es la capacidad de formar microabscesos para evadir las barreras inmunológicas de la GM, es gracias a esta capacidad que estas infecciones pueden permanecer durante toda la vida productiva de la vaca y son difíciles de erradicar de los hatos (National Mastitis Council, 2015a).

Streptococcus agalactiae

Es un patógeno obligado de la GM, no sobrevive por periodos prolongado de tiempo fuera de esta y es altamente contagioso (Keefe, 2012). Este tipo de bacterias produce mastitis generalmente subclínica, invade la cisterna de la glándula mamaria generando irritación e inflamación pero no cambios visibles en la leche (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012). Las infecciones intramamarias causadas por *Strep. agalactiae* se relacionan con RCST de alrededor de 1'000.000 cel./ml o superiores (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012; Keefe, 2012; National Mastitis Council, 2015a).

Las fuentes de infección o reservorios de este patógenos son los cuartos de GM infectadas y se transmiten entre vaca a través de la leche; las manos de los ordeñadores; las maquinas con restos de leche contaminada con este patógenos son considerados fómites para transmisión (Keefe, 2012; National Mastitis Council, 2015a).

Altos recuentos de células somáticas en tanque y marcada disminución de leche son signos importantes en la presentación de prevalencia alta de este patógenos en los hatos; la acumulación y multiplicación de bacterias en el tejido secretor resulta en daño moderado y por lo tanto disminución en la producción de leche y agalactia (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012).

Mycoplasma spp.

Son bacterias que carecen de pared celular; estos microorganismos son altamente contagiosos y suelen causar brotes de mastitis clínicas resistentes a terapia antibiótica (National Mastitis Council, 2015a). Las bacterias del género *mycoplasma* spp. generan inflamación severa del tejido mamario e inducen a la formación de fibrosis glandular, aparición de abscesos y linfosis glandular (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012).

Las vacas afectadas con mastitis a causa de estas bacterias tienen a presentar disminución dramática de la producción de leche y usualmente se asocia su infección a conteos altos de células somáticas en tanque (National Mastitis Council, 2015a). Las vacas infectadas con este tipo de mastitis eliminan bacterias al ambiente convirtiéndose estas en el reservorio o fuente de infección (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012; National Mastitis Council, 2015a).

***Corynebacterium* spp.**

Corynebacterium bovis es un microorganismo contagioso frecuentemente aislado en vacas con mastitis subclínica (Juliano Leonel Gonçalves et al., 2016). Los efectos de la infección intramamaria con estas bacterias en la composición y producción de leche, así como su efecto sobre el RCST es vagamente conocido; las infecciones por *corynebacterium* spp. suelen ser moderadas con limitada pérdida en la producción de leche sin embargo se han observado alto recuentos de células somáticas en cuartos infectado con bacterias de este género (Rachah, Dalen, Reksen, Norstebo, & Barlow, 2017).

Corynebacterium bovis ha sido descrito como microorganismos comensales de la GM bovina y se cree que los cuartos colonizados por estas bacterias son menos susceptibles a la infección bacteriana con otras bacterias casuales de mastitis (Juliano Leonel Gonçalves et al., 2016; Rachah et al., 2017).

Estreptococos ambientales

Estreptococos ambientales es el nombre usado para referirse al grupo de bacterias de este género encontradas en muestras de leches de vacas con mastitis con excepción de *Streptococcus agalactiae* el cual es considerado un microorganismo contagioso (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012; National Mastitis Council, 2015b). Este grupo de bacterias se encuentra en los hatos causando mastitis tanto clínica como subclínica; la presencia de estas en hatos ha venido en aumento a causa de la implementación de estrategias de control contra microorganismos patógenos como *S. aureus* (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012; National Mastitis Council, 2015b).

El recuento de células somáticas de taques puede verse afectado en casos de altas tasas de infección con este tipo de microorganismos, sin embargo, el impacto de la infección

causada por estos no se puede evaluar de manera confiable con esta medida (National Mastitis Council, 2015b).

Bacterias gram-negativas

Escherichia coli (*E. coli*) se lista como el patógeno sobresaliente de este grupo de bacterias (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012). Los casos de mastitis ocasionados por *E. coli* son usualmente transitorios, de corta duración, y el resultado de la enfermedad está estrechamente relacionado con el estado del huésped (estado de lactancia, balance energético y estado de vacunación, entre otros) (Klaas & Zadoks, 2017).

Las formas subclínicas de infección causadas por microorganismos coliformes comienzan en el periodo seco y pueden manifestarse de forma clínica al inicio de la lactancia (Breen, Green, & Bradley, 2009). El inicio de la infección en el período seco que conduce a MC en la lactancia temprana también se ha observado para bacterias de los géneros *Klebsiella*, *Citrobacter* y *Serratia* spp (Klaas & Zadoks, 2017).

En general tanto los estreptococos ambientales como las bacterias gram-negativas causales de mastitis están menos adaptados a la glándula mamaria y la infección intramamaria con cualquiera de estos patógenos desencadena una respuesta inmune que produce síntomas clínicos leves a moderados (Ruegg, 2012b). La duración de la infección con patógenos ambientales varía entre los patógenos y puede asociarse con el grado de adaptación del patógeno al huésped (Klaas & Zadoks, 2017). Patógenos ambientales como de *E. coli* son completamente oportunistas y la respuesta inmune a menudo tiene éxito en la eliminación de estos después de un breve período de enfermedad clínica leve. Patógenos ambientales como *Streptococcus* spp. o bacterias el género *Klebsiella* spp. parecen haberse adaptado levemente al huésped y pueden presentarse como casos clínicos leves que parecen resolverse cuando en realidad el caso ha vuelto a un estado subclínico (Ruegg, 2012b).

Estafilococos coagulasa-negativos

Las bacterias del género *Staphylococcus* spp. que no poseen coagulasas son denominados estafilococos coagulasa-negativos. Estos microorganismos, habitantes normales de la biota de la piel pueden generar mastitis principalmente subclínica y en muy

raras ocasiones se encuentra asociados a casos de mastitis clínica (De Visscher et al., 2014; Pyörälä & Taponen, 2009; Santos et al., 2008; Taponen & Pyörälä, 2009). Los casos clínicos de mastitis causados por este tipo de bacterias usualmente son leves en comparación a los causados por microorganismos ambientales como *E. coli* o *Streptococcus uberis* (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012).

Estos patógenos son usualmente considerados oportunistas; recientemente se ha demostrado que algunas especies clasificadas en este grupo pueden encontrarse de forma abundante en el ambiente de las vacas implicando un rol en el comportamiento epidemiológico de estas bacterias como agentes causales de mastitis (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012; De Visscher et al., 2014). Bacterias como *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus fleurettii*, *staphylococcus saprophyticus* y *Staphylococcus sciuri* se han aislado de instalaciones de ordeño sin embargo la presencia de estas bacterias en muestras de leche de vacas con mastitis subclínica es relativamente baja (Piessens et al., 2011; Taponen & Pyörälä, 2009); por el contrario, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus simulans* se aíslan de forma común tanto en el medio ambiente de las vacas como en muestras de leche de cuartos infectados con mastitis bovina (Piessens et al., 2011). Bacterias del tipo *Staphylococcus chromogenes* son aisladas constantemente de muestras de leche de vacas con mastitis, pero muy rara vez son encontradas en el ambiente acentuando el hecho de que el comportamiento epidemiológico de este grupo de bacterias como agentes causales de mastitis es heterogéneo y no está restringido a un único comportamiento en su transmisión (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012).

1.11 Diagnóstico de mastitis

Mastitis e infección intramamaria son dos términos que se usan indistintamente para referirse a la mastitis bovina tanto clínica como subclínica en las vacas (Adkins & Middleton, 2018). Mastitis se usa principalmente para referirse a la inflamación de la glándula mamaria entretanto el término infección intramamaria es usado para referirse a la presencia de un microorganismo patógeno en la glándula capaz de producir tal inflamación (Carrillo-casas & Miranda-morales, 2012; Viguier et al., 2009). Aunque es evidente la relación entre estos dos términos actualmente no existe una prueba diagnóstica capaz de definir ambos comportamientos a la misma vez (Adkins & Middleton, 2018).

El diagnóstico de mastitis se basa en la detección o medición de la respuesta inflamatoria causada principalmente por patógenos mientras tanto el diagnóstico de la infección intramamaria se logra demostrando la presencia de este en la glándula mamaria o la leche de cuartos afectados (Adkins & Middleton, 2018; Viguier et al., 2009). El diagnóstico temprano de esta enfermedad es una prioridad en los hatos debido a los efectos negativos que ocasiona (Hillerton, 2000). Los casos de mastitis clínica son relativamente fáciles de detectar el verdadero reto se encuentra en el diagnóstico acertado y a tiempo de los casos subclínicos de la enfermedad.

El diagnóstico de mastitis clínica se hace principalmente por observación; cambios asociados a inflamación de tejido mamario como dolor, rubor y aumento de tamaño son a menudo encontrados en glándulas con mastitis clínica, sin embargo, los signos más extensamente asociados a esta patología son aquellos que se observan en la leche producida por cuartos severamente inflamados (Adkins & Middleton, 2018). Entre estos signos se listan: la presencia de coágulos, grumos, sangre, pus, cambios de coloración o secreción traslucida (Adkins & Middleton, 2018; Harmon, 2017; Jashari, Piepers, & De Vliegher, 2016). El examen visual del flujo de leche antes de realizar la rutina de ordeño, o despunte, es el método usado para la detección de anomalías en la leche presuntivas de esta enfermedad (Adkins & Middleton, 2018; Hillerton, 2000).

Mastitis subclínica es definida como la inflamación de la glándula mamaria con normal apariencia de esta y leche visiblemente sin alteraciones (Adkins & Middleton, 2018; Ruegg, 2012a). Una amplia variedad de métodos se han desarrollado para el diagnóstico de esta forma de mastitis, entre los más usados encontramos la medición de células somáticas, los análisis enzimáticos en leche y pruebas indirectas de determinación de células somáticas (Pyörälä, 2003; Viguier et al., 2009). Recuentos de CS de leche de vacas superiores a 200.000 cs/ml son usualmente indicativo de inflamación subclínica, éstas se determinan a través del uso de hemocitómetros o contadores celulares (Viguier et al., 2009). Se han diseñado pruebas colorimétricas y fluorométricas para determinar enzimas de fase aguda de inflamación en leche como N-acetil-B-glucosaminidasa (NAGasa) Lactato deshidrogenasa (LDH) y Haptoglobulinas las cuales se encuentran elevadas en vacas con mastitis (Pyörälä, 2003; Viguier et al., 2009).

Métodos usados para el diagnóstico de mastitis

- Conteo o recuento de células somáticas (RCS)

Es el método más usado para el diagnóstico de mastitis subclínica; la detección de células somáticas puede hacerse a través de la observación directa de estas en microscopios ópticos o a través del uso de contadores electrónicos automatizados de células los cuales comúnmente están basados en métodos de citometría de flujo (Adkins & Middleton, 2018).

El conteo de células somáticas realizado en leche de vacas tiene como finalidad detectar aquellas con glándulas mamarias saludables así como también identificar casos agudos, crónicos o resueltos de mastitis subclínica (Adkins & Middleton, 2018; Hillerton, 2000) y aunque es útil para este propósito, la interpretación del resultado puede conducir a diagnósticos erróneos. Cuando esta prueba se usa en muestras de leche compuestas (proporciones iguales de la secreción de los cuatro cuartos en la misma muestra) como indicador de infección intramamaria se espera una sensibilidad de la prueba entre el 30 y el 80%, mientras la especificidad varía entre 60 y 90% (Jashari et al., 2016). Como indicador de infección intramamaria en muestras de cuartos individuales la sensibilidad de esta prueba varía entre 60 y 96% (Andersen, Dohoo, Olde Riekerink, & Stryhn, 2010). El RCS a nivel de hato proporciona información de la salud general de las glándulas mamarias que contribuyen a la leche de tanques o cantinas (Adkins & Middleton, 2018).

A continuación, se describen algunos de los métodos disponibles actualmente para determinar o aproximarse al número de células somáticas en leche de vacas.

Fossomatic:

Este contador electrónico automático de células somáticas opera bajo el principio de la fluorescencia óptica; las células son teñidas con bromuro de etidio el cual penetra el ADN nuclear de las células de la leche y genera fluorescencia de estas, la señal luminiscente es detectada y usada para estimar el RCS (Adkins & Middleton, 2018; Dohoo & Meek, 1982). Por medio de esta técnica se puede tener un conteo preciso y rápido de células presentes en un volumen de leche sin embargo el equipo usado para la determinación de estas es costoso y difícil de usar (Viguier et al., 2009).

Delaval cell counter:

Este contador de células aplica el mismo principio que el Fossomatic; en este caso el marcador usado para la identificación de células somáticas es Yoduro de propidio. El Delaval cell counter es un equipo fácil de transportar y ofrece una respuesta rápida, sin embargo es costoso cuando se usa en pocas muestras de leche (Viguiet et al., 2009).

California mastitis test (CMT):

Ofrece una medida cualitativa del RCS (Adkins & Middleton, 2018; Viguiet et al., 2009). Esta prueba usa como reactivo un detergente que causa lisis de las membranas celulares y precipitación del ADN celular y proteínas lo que resulta en la formación de un material viscoso que es proporcional al número de leucocitos presentes en la muestra evaluada (Adkins & Middleton, 2018; Hillerton, 2000; Viguiet et al., 2009). Entre las ventajas del uso de esta prueba está la facilidad de usarla al lado de la vaca, la rápida respuesta en la evaluación de muestras de leche, el bajo costo de su uso, sin embargo, esta prueba puede ser difícil de interpretar, es de baja sensibilidad y su interpretación es bastante subjetiva (Viguiet et al., 2009).

Wisconsin mastitis test (WMT):

Al igual que el CMT esta prueba determina indirectamente el RCS de muestras de leche. La mayor desventaja para su aplicación es la necesidad de refrigerar la muestra de leche a evaluar dentro de las 5 primeras horas de la prueba (Adkins & Middleton, 2018).

Prueba de la actividad de esterasa:

Es una prueba cualitativa que basa su resultado en la reacción enzimática para estimar el RCS, esta prueba requiere en general de un periodo de incubación entre 5 y 45 minutos (Adkins & Middleton, 2018).

- Evaluación de conductividad eléctrica de la leche

Esta prueba mide el incremento de la conductancia de la leche causada por la elevación en la concentración de iones como cloro, calcio, magnesio y sodio durante inflamación. Esta prueba se usa en sitio, durante el ordeño lo que proporcionan una respuesta rápida del estado de salud de la glándula mamaria, sin embargo es una prueba de baja

sensibilidad y especificidad ya que pueden presentarse alteraciones de la conductancia de la leche no asociadas a mastitis bovina (Adkins & Middleton, 2018; Viguier et al., 2009).

- Pruebas de pH

La leche producida por las vacas con mastitis suele presentar pH alcalino; el pH de la leche puede ser determinado de forma rápida a través del uso de Azul de bromotimol, violeta de genciana o azul de metileno sin embargo la detección de este con dichos indicadores es de baja sensibilidad (Viguier et al., 2009).

- Pruebas enzimáticas

Se han diseñado pruebas colorimétricas y fluorométricas para determinar enzimas de fase aguda de inflamación en leche como N-acetil-B-glucosaminidasa (NAGasa) Lactato deshidrogenasa (LDH) y Haptoglóbulinas las cuales se encuentran elevadas en vacas con mastitis (Pyörälä, 2003; Viguier et al., 2009).

Métodos usados para el diagnóstico de infección intramamaria

Usualmente el cultivo microbiológico es considerada el gold estándar para el diagnóstico de la infección intramamaria (El-Sayed et al., 2017). El objetivo de la determinación de agentes patógenos es esencial para seleccionar protocolos de tratamiento o determinar medidas de control a implementar para intervenir en la presentación de casos nuevos de la enfermedad en un hato (Adkins & Middleton, 2018). Los cultivos microbiológicos y la reacción en cadena de la polimerasa son los métodos más comunes usados para determinar agentes patógenos causales de mastitis en muestras de leche (El-Sayed et al., 2017).

1.12 Control de la mastitis

La mastitis es una enfermedad de origen bacteriano que afecta a las vacas de manera individual, sin embargo los programas de control para esta enfermedad deben ser implementados a nivel de hato (Ruegg, 2012a).

No es suficiente hacer una sola cosa bien en pro de prevenir la mastitis; el control efectivo de esta enfermedad resulta del efecto acumulativo de las buenas prácticas ganaderas. Los

programas de control de mastitis no solo deben minimizar las infecciones ya existentes sino también deben reducir la aparición de nuevas infecciones; es importante mencionar que las estrategias de control no son estandarizadas para todos los hatos, ya que entre estos se observan diferencias ambientales, de manejo e infección que hacen que las medidas a tomar sean por lo tanto distintas (Philpot, 1979; Ruegg, 2012a).

La detección temprana de los casos de mastitis, evaluación de opciones de tratamiento adecuado e implementación de prácticas preventivas que ayuden a disminuir factores de riesgo específicos de cada hato, deben ser factores a tener en cuenta para la creación de sistemas de control de la mastitis bovina (Royster & Wagner, 2015; Ruegg, 2012b).

Control de mastitis causada por microorganismos contagiosos

Staphylococcus aureus: El control de este microorganismo es difícil ya que la tasa de cura con antibióticos durante el periodo de lactancia es baja, menos del 20%, además estas infecciones tienden a progresar a procesos inflamatorios crónicos. El éxito en el tratamiento de este patógeno está en la detección temprana y tratamiento antibiótico adecuado durante la lactancia.

Streptococcus agalactiae: Los casos de mastitis generados por estos microorganismos responden bien a la terapia antibiótica durante lactancia y puede ser erradicado de los hatos a través de la implementación de buenas prácticas de ordeño (Schroeder, 2012).

▪ Prevención:

Mejoramiento de prácticas de ordeño:

- Ordeñar pezones secos
- Desinfección de pezones post-ordeño
- Uso adecuado de desinfectantes post-ordeño
- Mantenimiento de sistemas de ordeño

Eliminación de infecciones:

- Se recomienda tratar todos los cuartos de todos los animales que entren en periodo seco
- Uso de antibióticos de acuerdo con resultados de sensibilidad bacteriana
- Descarte de vacas con infecciones crónicas

Control de mastitis causada por microorganismos ambientales

▪ Prevención:

Disminuir el número de bacterias a las que se expone el pezón

Manejo del ambiente:

- Mantener el ambiente de las vacas tan limpio y seco como sea posible, tanto de las vacas en lactancia como el de aquellas en periodo seco
- Evite que las vacas tengan acceso a estiércol, barro o charcos de agua estancada
- Mantener el área de parto lo más limpia posible

Sellado de pezones:

- Sellado post ordeño con desinfectantes germicidas
- Controlar la diseminación de mastitis contagiosas
- Uso de desinfectantes post ordeño de barrera para reducir nuevas infecciones de bacterias coliformes

Terapia de vaca seca:

- Se recomienda tratar todos los cuartos de todas las vacas que entren en periodo seco
- Uso de antibióticos de acuerdo con resultados de sensibilidad antibiótica
- Ayuda a controlar los estreptococos ambientales durante el período seco temprano
- Tiene poco o ningún valor en el control de coliformes
- No es efectivo durante el período anterior al parto

Mejoramiento prácticas de ordeño:

- Lave los pezones en caso de exceso de suciedad, pero no la glándula mamaria.
- Limpie y seque los pezones antes de ordeñar.
- El ordeño de glándulas mamarias húmedas aumenta la aparición de nuevos casos de mastitis
- La desinfección de pezones pre-ordeño reduce la aparición de nuevos casos de mastitis por microorganismos ambientales

Programa de control para mastitis

Adecuados procedimientos de ordeño son importantes para prevenir la mastitis y asegurar una completa extracción de la leche de la glándula mamaria (National Mastitis Council, 2009)

- Movimiento de las vacas:
 - Las vacas deben ser movidas al lugar de ordeño de manera tranquila y silenciosa.
 - Si las vacas se sienten asustadas o apuradas el proceso de bajada de la leche se puede ver interrumpido.
- Detección de casos clínicos y subclínicos de mastitis:
 - El ordeño debe comenzar con una comprobación de todos cuartos con el fin de identificar signos de mastitis clínica en la glándula mamaria.
 - Examinar los primeros chorros de leche sobre una vasija de fondo oscuro para determinar alteraciones físicas en la misma.
 - Aquellas vacas en las que se detectan signos compatibles con mastitis clínica deben ser examinadas para tomar medidas apropiadas de tratamiento.
 - Se debe realizar pruebas tamiz para la detección de mastitis subclínica por lo menos una vez al mes a todas las vacas en producción
 - Identificar, diagnosticar y tratar las vacas afectadas con mastitis subclínica
- Preparación de la glándula mamaria
 - Objetivo: asegurar que se ordeñen glándulas mamarias y pezones limpios y secos

- Aplicar desinfectante pre-ordeño que cubra completamente la piel del pezón, este debe dejarse actuar por al menos treinta (30) segundos, luego secar usando un papel por cada pezón. Los pezones deben quedar completamente secos.
 - La preparación de la glándula mamaria hasta este punto debe tomar entre sesenta (60) y noventa (90) segundos
 - Usar guantes durante el proceso de ordeño para limitar la propagación de patógenos contagiosos
 - Aplicar desinfectante para pezones inmediatamente finalice el ordeño
 - Vacas confirmadas con infecciones intramamarias a causa de microorganismos contagiosos deben ser ordeñadas al final
- Registro de información
 - Para cada caso de mastitis se debe registrar la identificación de la vaca, fecha en que se detectó el caso, días en leche, cuarto(s) afectado(s), número y tipo de tratamiento y si es posible el resultado de cultivo microbiológico y antibiograma en caso de que se haya realizado.
- Manejo adecuado de casos de mastitis clínica durante la lactancia
 - Desarrollar e implementar protocolos para el tratamiento de casos clínicos de mastitis con el médico veterinario que realiza asistencia profesional en la finca.
 - Tomar de manera aséptica una muestra de leche pretratamiento para la realización de cultivo microbiológico y antibiograma
 - No tratar infecciones crónicas que no responden al tratamiento antibiótico
 - Identificar claramente las vacas tratadas
 - Respetar los tiempos de retiro de antibiótico en leche
- Efectivo manejo de vacas en periodo seco
 - Secado abrupto de las vacas el día programado después del último ordeño de la lactancia
 - Desinfectar la punta de los pezones con toallas de alcohol antes de realizar la infusión del antibiótico de secado

-
- Tratar todos los cuartos de todas las vacas con antibióticos de secado disponibles comercialmente
 - Usar productos comerciales que contengan principios activos a los cuales las bacterias aisladas de muestras de leches provenientes de cuartos con mastitis resultaron sensibles en los antibiogramas
 - Usar el método de infusión parcial de la jeringa de aplicación de tratamiento intramamario
 - Desinfectar los pezones inmediatamente después de aplicar el antibiótico intramamario de secado.
 - Proveer una adecuada nutrición para mejorar la función del sistema inmunológico.

2. Factores de riesgo asociados con la ocurrencia de mastitis clínica en la Provincia de Ubaté

D.J. González¹, C. Jiménez-Escobar¹, J.L. Zambrano-Varón¹

¹ Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Bogotá, Colombia.

Resumen

Información relacionada con la prevalencia de patógenos, así como de los factores de riesgo asociados mastitis, son necesarios para el diseño e implementación de programas que promuevan la salud de la glándula mamaria. Se diseñó un estudio epidemiológico longitudinal de veinticuatro meses de duración en la provincia de Ubaté, Cundinamarca, con el objetivo de determinar la ocurrencia, patógenos predominantes y factores de riesgo asociados con mastitis clínica (MC) en condiciones de trópico alto colombiano. Datos de N=504 pequeños productores de leche, n=4233 animales en producción, 133 casos de enfermedad y 53 muestras de leche de cuartos afectados fueron analizados. Se calculó la ocurrencia de la enfermedad, así como la prevalencia de patógenos aislados de muestras de leche de vacas con MC; factores de riesgo nivel hato, animal y cuarto fueron medidos y usados en análisis estadísticos, los cuales incluyeron evaluación univariada seguida de un diseño de modelos de regresión logística binaria tomando como variable respuesta la incidencia de la enfermedad en los hatos y la presencia o no de MC en los individuos. La enfermedad se presentó en los hatos con una tasa de incidencia por animal y por cuarto entre 2.0–4.0 y 0.6-1.0 casos nuevos por 100 animales/cuarto-año riesgo respectivamente, adicionalmente, patógenos como estafilococos coagulasa negativo y estreptococos ambientales fueron los microorganismos más prevalentes aislados en este estudio. Los

factores de riesgo nivel individuo y cuarto identificados en este estudio fueron: 1) glándula mamaria sucia, y 2) presencia de hiperqueratosis y heridas en pezones; entre los factores de riesgo nivel hato se destacaron: 1) el uso de ordeño mecánico, 2) alta prevalencia de papilomas, heridas y prolapsos de la punta de los pezones, 3) ropa de ordeño sucia, 4) uso inadecuado de desinfectantes de pezones, 5) uso de guantes para ordeñar e 6) inadecuado lavado de las manos antes de ordeñar. Los resultados sugieren que los programas de control en estos hatos deben dirigirse a la intervención de factores de riesgo relacionados con la higiene y rutina de ordeño ya que estos se asocian con la presentación de mastitis clínica causada por microorganismos ambientales que finalmente fueron los más prevalentes en vacas afectadas en este estudio.

Palabras clave: Tasa de incidencia de mastitis, factores de riesgo, estafilococos coagulasa negativos, estreptococos ambientales, hatos lecheros

Abstract

Information related to prevalence of mastitis pathogens, as well as risk factors are necessary to design udder health programs. A twenty-four-month longitudinal study was conducted to determine the occurrence, predominant pathogens and risk factors associated with clinical mastitis (CM) in Colombian high-altitude conditions. Data from N=504 smallholder's dairy farms, n=4233 dairy cows, 133 CM cases and 53 milk samples from CM quarters were analyzed. The CM occurrence was calculated, as well as the prevalence of pathogens isolated from milk samples from quarters with CM; herd-, cow- and quarter-level risk factors were determinate by using binary logistic regression models with the incidence and the presence or absence of CM as predictive variables. The disease occurred in herds with an incidence rate per animal and quarter between 2.0-4.0 and 0.6-1.0 new cases per 100 animals/quarter-year at risk respectively, coagulase negative staphylococci (CNS) and environmental streptococci were the most prevalent microorganisms in this study. Cow- and quarter-level risk factors identified in this study were ($p < 0.05$): 1) poor udder hygiene, 2) presence of teat injuries (hyperkeratosis and wounds). And the herd-level risk factors were, 1) milking machine, 2) high herd prevalence of teat injuries, 3) hygiene of the milker's clothes, 4) inadequate disinfection of the teat, 5) no use of gloves for milking and 6) inadequate hygiene of milker's hands. The results

suggest that control programs in these herds should be focused in reducing risk factors related to poor hygiene and inadequate milking procedures, that are associated to environmental pathogens which were isolated in MS quarters in this study.

Keywords: Incidence rate mastitis, risk factors, coagulase negative staphylococci, environmental streptococci, dairy farm

2.1 Introducción

La inflamación de la glándula mamaria o mastitis, es una enfermedad de gran importancia en los sistemas de producción lecheros que genera importantes pérdidas económicas en la industria de lácteos alrededor del mundo (Andersen et al., 2010; Breen et al., 2009; Giannechini, Concha, Rivero, Delucci, & Moreno López, 2002; González-Sedano, Marin-Mejia, Maranto, Leme de Magalhães-Labarthe, & Alonso-Diaz, 2010; Halasa, Huijps, Østerås, & Hogeveen, 2007; Kivaria & Noordhuizen, 2007). La mastitis bovina se presenta de forma subclínica y clínica, siendo esta última la menos prevalente en sistemas productivos lecheros en Colombia. La mastitis clínica (MC) se caracteriza por la aparición de anomalías en leche como la presencia de coágulos, grumos, alteraciones de coloración y consistencia, presencia de sangre, pus y en algunos casos la leche se torna acuosa (Hammer et al., 2012). Adicionalmente, los cambios en la leche comúnmente están acompañados con signos típicos de inflamación de la glándula mamaria tales como aumento de tamaño, temperatura, rubor, dolor, y eventualmente se encuentran asociados con signos sistémicos de enfermedad (Hammer et al., 2012; Vlieghe et al., 2018).

Los efectos negativos de la MC están relacionados directamente con la ocurrencia de esta enfermedad en un hato en un periodo de tiempo, así, el número de animales enfermos es directamente proporcional con las pérdidas que se generan. Las consecuencias económicas de la enfermedad se han asociado con la disminución y pérdida de la producción neta de leche, aumento de costos por servicios veterinarios, sobrecostos por el uso de pruebas diagnósticas para la detección de patógenos asociados a la infección de la glándula mamaria y el costo de los medicamentos para controlar los casos severos de la enfermedad, descarte de leche con antibiótico o por mala calidad y descarte prematuro de las vacas afectadas (Halasa et al., 2007). Usualmente se describen dos medidas para determinar la ocurrencia de esta enfermedad en poblaciones de bovinos a nivel mundial, la prevalencia y la incidencia.

La prevalencia de MC por animal en países subtropicales entre los años 2006 y 2015 ha variado entre 8.7 - 14.2%, mientras que la prevalencia calculada con base en el número de cuartos ordeñados ha reportado variaciones entre 3.7 – 4.0% (Karimuribo et al., 2006; Tolosa et al., 2015; Yang et al., 2011). En algunos países de Centro y Sur América la variación de la prevalencia de esta enfermedad se reportó entre 1.0 - 5.2 % a nivel de animales afectados, y de entre 0.5 -3.7% de los cuartos estudiados (Bonifaz & Colango, 2016; Bravo, 2009; Giannechini et al., 2002; Ruiz et al., 2011). En Colombia, entre los años 2006 y 2014 en estudios llevados a cabo la cuenca lechera del Altiplano Cundiboyacense se estimó la prevalencia por cuarto de entre 0.3 - 5.7% (Calderón & Rodríguez, 2008; Caro-carvajal, 2014; Martínez, 2006; A. P. Trujillo et al., 2009) mientras tanto en la cuenca lechera de Antioquía esta enfermedad se detectó en 1.7 - 3.8% de los animales observadas y 0.6 – 1.0% de los cuartos en producción (N. Ramírez et al., 2011; C. M. Trujillo et al., 2011).

La velocidad de aparición de nuevos casos (Incidencia) de MC en vacas lecheras entre los años 2009 y 2015 a nivel mundial reportó una variación de 31.0 – 47.0 casos nuevos / 100 vacas en producción-año; en China la incidencia acumulada (IA) se estimó en 40 casos / 100 vacas a riesgo-año, mientras que en el Reino Unido y Alemania esta se estimó en 47 y 33 casos nuevos/ 100 animales a riesgo al año respectivamente (Bradley, Leach, Breen, Green, & Green, 2007; Gao et al., 2017; Santman-Berends, Lam, Keurentjes, & van Schaik, 2015). Adicionalmente un estudio en Brasil la incidencia de casos nuevos de MC fue de 31 casos / 100 animales ordeñados al año (Oliveira et al., 2015).

La tasa de incidencia de mastitis clínica (TIMC) en Tanzania se estimó en 32 y 43 casos por 100 vacas-año riesgo durante los años 2006 y 2007 respectivamente (Karimuribo et al., 2006; Kivaria, Noordhuizen, & Msami, 2007); en el año 2008 en Canadá se reportaron en promedio 23 casos nuevos por 100 vacas-año a riesgo (Olde Riekerink, Barkema, Kelton, & Scholl, 2008) y más adelante, en el año 2016, se calculó la aparición de casos de MC a una velocidad de 13 nuevos casos por 100 vacas-año a riesgo (Levison et al., 2016). Durante el año 2009 en Reino Unido se presentaron en promedio 56 casos nuevos de MC por 100 vacas-año riesgo (Breen et al., 2009) y en Australia, 7 años más tarde, se estimaba la aparición de nuevos casos de esta enfermedad a una velocidad similar, 52 casos por 100 vacas-año riesgo (Hammer et al., 2012). Recientemente en Colombia, en la cuenca lechera del altiplano Antioqueño se calculó la TIMC en 13.8 casos por 100 vacas-año riesgo (Ramírez et al., 2018) medida similar a la reportada en Uruguay en el año 2002

donde se estimó que la velocidad en la que cambió el estado de salud de las vacas en producción fue de 14.4 casos nuevos de MC por 100 vacas-año riesgo (Gianneechini et al., 2002).

Adicionalmente, algunos investigadores han determinado la velocidad en que los cuartos se infectan con patógenos causales de episodios clínicos de mastitis bovina; en Tanzania en el año 2006 se estableció que los cuartos presentaron MC con incidencia de 38.4 cuartos por cada 100 cuartos-año a riesgo (Kivaria et al., 2007) y en Brasil en el año 2018 se estimó que anualmente se presentaron 1,2 casos de MC por 100 cuartos-año riesgo (Tomazi et al., 2018).

La ocurrencia de MC es compleja y su presentación depende de la interacción de tres factores: 1) exposición a microorganismos patógenos, 2) mecanismos de defensa de la glándula mamaria, y 3) factores relacionados con el ambiente y manejo (Suriyasathaporn, Schukken, Nielen, & Brand, 2000). Los factores de riesgo asociados con la ocurrencia de esta enfermedad han sido identificados a través de la aplicación de estudios epidemiológicos que usan como unidad de muestreo el cuarto de la glándula mamaria, el animal individual o el hato, permitiendo así una mejor definición y clasificación de los niveles de riesgo de MC (Leelahapongsathon et al., 2014).

Entre los factores de riesgo que se conocen a nivel cuarto está la presencia de edema en la ubre o el pezón (Waage, Odegaard, Lund, Brattgjerd, & Røthe, 2001), lesiones en la punta de los mismos (heridas, hiperqueratosis, papilomas) (Breen et al., 2009; Tolosa et al., 2015), posición de los pezones (Tolosa et al., 2015), historia previa de MC, cuartos con fugas de leche o que se ordeñan rápido (Breen et al., 2009; Hammer et al., 2012; Mungube et al., 2004) y baja producción de leche (Hammer et al., 2012) entre otros.

Factores asociados con la enfermedad a nivel individual han implicado el número de partos, la edad, y la duración de lactancia entre otros (Breen et al., 2009; Green, Bradley, Medley, & Browne, 2007; Oliveira et al., 2015; Tolosa et al., 2015). Adicionalmente, se ha reportado una inadecuada higiene del animal antes del ordeño (Breen et al., 2009), la baja condición corporal (Green et al., 2007; Tolosa et al., 2015) y la raza (Oliveira et al., 2015; Tolosa et al., 2015). De la misma manera, se han descrito factores de riesgo específicos a nivel hato que involucran las diferencias entre las características de estos y que se relacionan con deficiencias en el manejo de los animales dentro de la finca. Entre los

factores de riesgo específicos de hato que favorecen una alta incidencia de mastitis clínica se han reportado: la inadecuada rutina de ordeño, ordeño con terneros a lado (Tolosa et al., 2015), el número de animales en ordeño, el promedio de producción de leche (Tomazi et al., 2018), y el inadecuado manejo del periodo seco (Green et al., 2007) entre otros. En resumen, el conocimiento de los factores de riesgo asociados con esta enfermedad es de gran importancia, ya que es fundamental para el diseño y formulación de estrategias de control y prevención apropiadas con el fin de mitigar los efectos negativos que se generan por la presencia de esta en los hatos.

Los casos clínicos de mastitis bovina son ocasionados por una amplia variedad de microorganismos con diferente patogenicidad y frecuencia entre hatos; se reconocen más de 200 especies de patógenos capaces de generar inflamación clínica y subclínica de la glándula mamaria (J L Gonçalves et al., 2018; Watts, 1988). La mayoría de las infecciones intramamarias clínicas son causadas por estafilococos, estreptococos y bacilos gram negativos. Por su forma de transmisión estos microorganismos han sido clasificados frecuentemente como: ambientales y contagiosos (Watts, 1990).

El manejo de los hatos es un factor determinante en la distribución de la frecuencia de aislamientos de patógenos en muestras de leches de vacas con MC. En un estudio llevado a cabo en Brasil se pudo determinar que el 19% de los casos de MC fueron causados por infección con patógenos ambientales del tipo bacilos gram negativos, 14% fueron causados por patógenos ambientales del tipo *streptococcus* spp. y 9% de los casos obedecieron a infecciones con estafilococos coagulasa negativos (SCN) (Oliveira et al., 2015); posteriormente se determinó que el 28% de los casos de MC fueron causados por microorganismos ambientales, 14% por bacilos gram negativos y 14% estreptococos ambientales seguidos por 13% de aislamiento de microorganismos contagiosos y 6% de SCN (J L Gonçalves et al., 2018). Se ha observado diferencias entre estudios, así en la China los microorganismos aislados con mayor frecuencia fueron patógenos ambientales del tipo bacilos gram negativo los cuales fueron aislados en 28% de las muestras evaluadas, seguidos de microorganismos contagiosos los cuales se aislaron en 21% de las muestras de leche y 11% de aislamientos de SCN (Gao et al., 2017). En Colombia, se reportó la prevalencia de aislamientos de microorganismos de 130 muestras de leche provenientes de vacas con MC. En el 54% de los casos se aisló por lo menos un microorganismo clasificado como agente contagioso, seguido por 25% de aislamientos de

microorganismos oportunistas del tipo CNS y 16% de patógenos ambientales (Ramirez et al., 2018).

Entender la epidemiología de los agentes causales de la mastitis bovina y la ocurrencia de esta es indispensable para proponer estrategias de control y prevención. La mastitis afecta a las vacas de manera individual, sin embargo, los programas de control para esta enfermedad deben ser implementados a nivel de hato (Ruegg, 2012a). No es suficiente hacer una sola cosa bien en pro de prevenir la mastitis; el control efectivo de esta enfermedad resulta del efecto acumulativo de las buenas prácticas ganaderas. Los programas de control de mastitis no solo deben minimizar las infecciones ya existentes sino también deben reducir la aparición de nuevas infecciones; es importante mencionar que las estrategias de control no son estandarizadas para todos los hatos, ya que entre estos se observan diferencias ambientales, de manejo e infección que hacen que las medidas a tomar sean por lo tanto distintas (Klaas & Zadoks, 2017; Ruegg, 2012b). La detección temprana de los casos de MC, evaluación de opciones de tratamiento adecuado e implementación de prácticas preventivas que ayuden a disminuir factores de riesgo específicos de cada hato, deben ser factores a tener en cuenta para la creación de sistemas de control de la mastitis bovina (Royster & Wagner, 2015).

El objetivo de este trabajo fue estimar la frecuencia de presentación de MC, determinar factores de riesgo asociados con la ocurrencia de esta enfermedad y estimar la prevalencia de aislamientos de microorganismos patógenos en muestras de leche de vacas afectadas en hatos lecheros de la microcuenca de la Provincia de Ubaté.

2.2 Materiales y métodos

Población de estudio

El presente estudio epidemiológico longitudinal tuvo una duración de 24 meses entre febrero del año 2016 y febrero del 2018 y se desarrolló en 10 municipios de la provincia de Ubaté, Cundinamarca. Se incluyeron en el estudio 504 productores de leche organizados en 23 asociaciones ubicadas en los municipios de Carmen de Carupa, Cucunubá, Fúquene, Guachetá, Lenguaque, Simijaca, Susa, Sutatausa, Tausa y Ubaté. Se definió un pequeño productor con base en el número de animales en producción presentes en el hato, así se incluyó un promedio de $n=1.930$ animales elegibles por periodo de visita.

Los municipios de la provincia se encuentran ubicados entre los 2500 - 3200 msnm, con promedio de temperatura de 13°C, las lluvias se presentan de forma bimodal y el promedio de precipitación anual se estima en 698 mm de agua. La provincia de Ubaté es considerada una de las principales cuencas lecheras del Departamento de Cundinamarca, allí se producen cerca de 600.000 L/día los cuales representan más del 20% de la producción lechera de Cundinamarca y cerca del 4% de la producción lechera del país (ENA, 2012). La producción de leche en la región se hace principalmente por pequeños y medianos productores los cuales poseen cerca del 60% del inventario bovino de la zona, que corresponde a 52806 vacas en producción (FEDEGAN, 2016). El promedio de producción por animal en la región se ha estimado en 11 litros por vaca por día (ENA, 2012).

Definiciones Clínicas

Se consideró un caso clínico de MC cuando se observaron cuartos donde la leche producida presentaba alguno de los siguientes cambios: 1) coágulos o grumos, 2) cambios de color en la secreción (traslucida, rojiza), 3) cambios en el tipo de secreción como presencia de pus, fibrina u otros detritos celulares, y se consideraron signos típicos de inflamación a nivel de la glándula mamaria o el cuarto, dolor, rubor, calor, edema, y eventualmente la presentación de signos sistémicos como fiebre y deshidratación, entre otros, (Hammer et al., 2012; Harmon, 1994; Klaas & Zadoks, 2017). Se consideró como un caso de MC todo animal que presentó en uno o más de sus cuartos una de las alteraciones descritas anteriormente. Con fines del seguimiento, se consideró como caso nuevo de MC aquel que se diagnosticó transcurridos 14 días entre la desaparición de signos asociados con la enfermedad y la nueva aparición de signos clínicos en el mismo cuarto.

Adicionalmente se definió que un cuarto estaba infectado, cuando en la leche de este se identificó uno o máximo dos patógenos causales de mastitis bovina; un animal se consideró infectado, si la leche de uno o más de sus cuartos presentaba cultivos bacteriológicos positivos. Se debe aclarar, que en aquellos casos en los cuales en los cultivos de leche se identificaron más de tres especies de bacterias, se consideró que la muestra estaba contaminada (National Mastitis Council, 2009).

Protocolo de visita y toma de muestras

Se aplicó una encuesta epidemiológica a cada uno de los productores antes de comenzar el seguimiento con el fin de establecer una línea de base para el estudio y determinar la información de manejo en tres niveles: nivel cuarto, animal y hato. Los cuartos y casos de MC fueron diagnosticados por Médicos Veterinarios quienes realizaron visitas bimestrales durante los 24 meses de duración de la investigación o por información directa del productor cuando estos fueron detectados por su propia cuenta, en cuyo caso se realizó la verificación por parte del Médico Veterinario. Se diseñó una herramienta de recolección de información ajustado al análisis de datos de la encuesta inicial, esta se diligenció en cada visita realizada a los productores.

El diagnóstico de MC se hizo a través de la observación directa de la leche obtenida del despunte de cada cuarto en copas de fondo oscuro u otras vasijas al inicio del ordeño. Muestras de leche de los cuartos afectados fueron tomada por profesionales Médicos Veterinarios capacitados para tal fin durante todo el periodo de seguimiento. Previo a la toma de muestras de leche, se desinfectó la punta del pezón con paños desechables individuales impregnadas con alcohol isopropílico al 70%, una vez secos los pezones se procedió a tomar 5 ml de leche en tubos estériles previamente rotulados con la información del animal, la finca, el productor, la fecha, y el cuarto afectado. Las muestras fueron refrigeradas a 4°C y transportadas al laboratorio donde se realizó aislamiento e identificación bacteriana por medio de cultivo microbiológico. Métodos estándares de identificación bacteriana fueron aplicados para tal fin.

Evaluación de los Factores de riesgo

Las variables con potencial de riesgo seleccionadas para este estudio se centraron en características y manejo de los animales en los hatos, rutina de ordeño, características de las vacas, estado de higiene y salud de la glándula mamaria. Potenciales factores de riesgo y sus respectivos niveles fueron definidos en base a la literatura y experiencia de los autores.

- Información nivel hato

Información relacionada con la cantidad de animales y producción promedio del hato, cantidad de ordeñadores, método de ordeño, promedio de días en lactancia, conteo de

células somáticas en tanque, prevalencia de heridas y papilomas en pezones, prevalencia de hiperqueratosis y prolapso de punta de pezones, uso de ropa exclusiva para ordeñar, estado higiénico de la ropa usada durante el ordeño, lugar donde se realizaba el ordeño y calidad percibida del agua fue evaluada y registrada en cada visita a los productores, esta información se presenta como factores asociados a las características y manejo general del hato.

Información sobre el lavado de manos antes y durante el ordeño, uso de lazos para restricción de los animales durante el ordeño, uso de guantes, lavado de pezones, adecuado uso de desinfectante pre y post-ordeño, ordeño de pezones secos, “despunte de pezones”, lugar de eliminación de la leche de “despunte”, escurrido, sobreordeño, secado radical o progresivo y uso de antibiótico al momento de secado fue evaluada, registrada y se presenta en este estudio como factores asociados a la rutina de ordeño.

- Información nivel individuo y cuarto

La información almacenada de cada vaca fue la siguiente: forma de ordeño, raza, número de partos, días en lactancia, producción diaria, condición corporal, higiene de la glándula mamaria, historia de mastitis subclínica en cuarto, presencia de papilomas, heridas, hiperqueratosis y prolapso en la punta del pezón.

Análisis estadístico

Los datos colectados en cada visita fueron digitados en hojas de Excel© y luego se exportaron al software estadístico IBM SPSS Statistics 23 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp). Las bases de datos creadas fueron evaluadas y depuradas, los datos considerados erróneos o improbables fueron eliminados de estas. Se calculó la prevalencia de MC por animal y por cuarto afectado al final de cada ciclo de visitas, adicionalmente se estimó la incidencia acumulada (IA) y la densidad o tasa de incidencia (TI) por cuarto y por animal afectado (Zambrano, 2009).

- Medidas de enfermedad

La prevalencia se estimó al dividir el número de casos-cuartos de MC registrados en el periodo de seguimiento sobre el total de vacas-cuartos evaluados al final de este, el resultado de esta operación se presentó en forma de porcentaje. Para el cálculo de la IA

fue necesario determinar los animales a riesgo en el periodo de evaluación. Se consideraron a riesgo aquellos animales libres de la enfermedad al inicio del periodo de seguimiento y que al final de este se encontraban en producción el hato. Los casos clínicos de mastitis que se presentaron en esta cohorte de animales sanos se dividieron en el número de vacas a riesgo durante el periodo de tiempo del seguimiento; la IA de MC se expresó en casos nuevos por 100 vacas-cuarto por mes. La tasa de incidencia se calculó dividiendo la cantidad de casos-cuartos nuevos de MC que se presentaron en el bimestre sobre la suma del tiempo libre de enfermedad en días de todas las vacas y cuartos a riesgo en el periodo de evaluación, el resultado de esta operación se corrigió usando un factor de ajuste poblacional 10^n ; la TI se expresó en casos por 10^n vacas-mes riesgo.

- Análisis de los factores de riesgo

La asociación entre MC en los animales como variable respuesta y los potenciales factores de riesgo a nivel cuarto, individuo y hato, fueron determinados inicialmente usando un modelo univariado, donde siguiendo los lineamientos de Hosmer & Lemeshow, se seleccionaron todas aquellas variables con un valor $P < 0.2$ con el fin de incorporadas al Modelo final de Regresión Logística Binaria. La magnitud de la asociación fue determinada por el riesgo relativo (RR) con un intervalo de confianza del 95%, todo valor $p < 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo. Adicionalmente se incluyeron dentro del modelo términos de interacción como el número de lactancias con la edad del animal, y la producción de leche con el número de lactancias. También se consideraron dentro del modelo algunos factores de confusión como la edad y la producción de leche, lo cuales fueron analizados de manera continua y luego categórica, para determinar si tenían o no un efecto sobre el modelo. Los posibles sesgos de información obtenidos de la encuesta epidemiológica inicial fueron subsanados a través de las visitas veterinarias de rutina para verificar la veracidad de la información recolectada.

2.3 Resultados

Características de los hatos

Durante el estudio se recolectó información de 504 hatos de pequeños productores organizados en 23 diferentes asociaciones en los 10 municipios que conforman la provincia

de Ubaté en el Departamento de Cundinamarca. Los hatos estaban conformados en promedio por 6.2 ± 5.4 animales en producción, 61% de las fincas tenía entre 1.0- 5.0 animales en ordeño, 26% entre 6.0-10.0, 11% entre 11.0-20.0 y solamente el 2% de los hatos ordeñaban más de 21.0 animales. Los animales estaban mantenidos bajo un sistema de pastoreo rotacional con cuerda eléctrica en praderas de pasto kikuyo (*Penisetum clandestinum*) en algunos casos en intersiembra con RyeGrass Perenne (*Lolium perenne*), se realizaba suplementación con concentrado durante el ordeño y dependiendo de la época del año y la disponibilidad se adicionaba a la dieta ensilaje de avena o maíz. Se evaluaron un total $n=4233$ animales diferentes en el periodo de dos años de seguimiento, en promedio por bimestre se observaron $n=1930$ animales en producción, el promedio de producción estimado por vaca fue de 11.8 ± 9.1 L/día (rango: 2 – 26 L/día), el total diario de producción se estimó en 26000 ± 5000 L. El 59% de los hatos estaban conformados por vacas de la raza Holstein-Friesian, el 16% por vacas de la raza Normando, 4% por vacas de la raza Jersey y cerca del 21% de estos estaban conformados por cruces entre las razas anteriormente mencionadas.

Los productores ordeñaban sus vacas dos veces al día, el 92% de estos obtenía la leche de forma manual y el 8% lo hacía usando equipos de ordeño mecánicos; de los productores que usaban equipos de ordeño, el 24% de estos ordeñaban en sala y 76% usaba equipos de ordeño móviles. Se realizaron en total 21244 evaluaciones a vacas y 84896 a cuartos en producción durante los 24 meses de estudio.

Ocurrencia de mastitis clínica

▪ Prevalencia de mastitis clínica

En promedio se evaluaron 1929 ± 150 animales en producción en cada uno de los periodos de seguimiento. Los animales y cuartos que presentaron uno o más signos indicativos de mastitis clínica fueron designados como casos. La Tabla 2-1 resume la prevalencia de MC por vaca (PMCV) y por cuarto (PMCC) entre mayo del año 2016 y febrero del año 2018 en la Provincia de Ubaté, Cundinamarca. La prevalencia de mastitis clínica por vaca varió entre 0.5 - 1.1%, el valor más alto de la prevalencia se presentó en el año 2016 en el cual

dicho parámetro fluctuó entre 0.7 – 1.1%, luego de este periodo y hasta el final del seguimiento (14 meses) se observó baja variación de la prevalencia de MC (0.4 - 0.6%). El comportamiento de la prevalencia por cuarto de MC durante el periodo de evaluación presentó similares variaciones a las observadas en el parámetro calculado con base en el número de animales en producción y se presenta en la tabla 2-1.

Tabla 2-1: Variación de la Prevalencia de mastitis clínica por animal y por cuarto en Bovinos lecheros de la Provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016-2018.

	2016						2017				2018
	Jun	Ago	Oct	Dic	Feb	Abr	Jun	Ago	Oct	Dic	Feb
Casos-vacas	21	14	13	12	10	7	9	13	14	10	10
Casos-cuartos	27	23	24	21	14	8	10	22	16	12	11
Cuartos perdidos	34	31	43	36	42	39	35	36	38	30	26
PMCV (%)	1.1	0.8	0.8	0.7	0.5	0.4	0.5	0.6	0.6	0.5	0.5
PMCC (%)	0.4	0.3	0.4	0.3	0.2	0.1	0.1	0.3	0.2	0.2	0.1
n Vacas	1865	1810	1643	1796	1920	1883	2000	2071	2157	2004	2075
n Cuartos	7460	7240	6572	7184	7680	7532	8000	8284	8628	8016	8300

PMCV Prevalencia de mastitis clínica por Animal

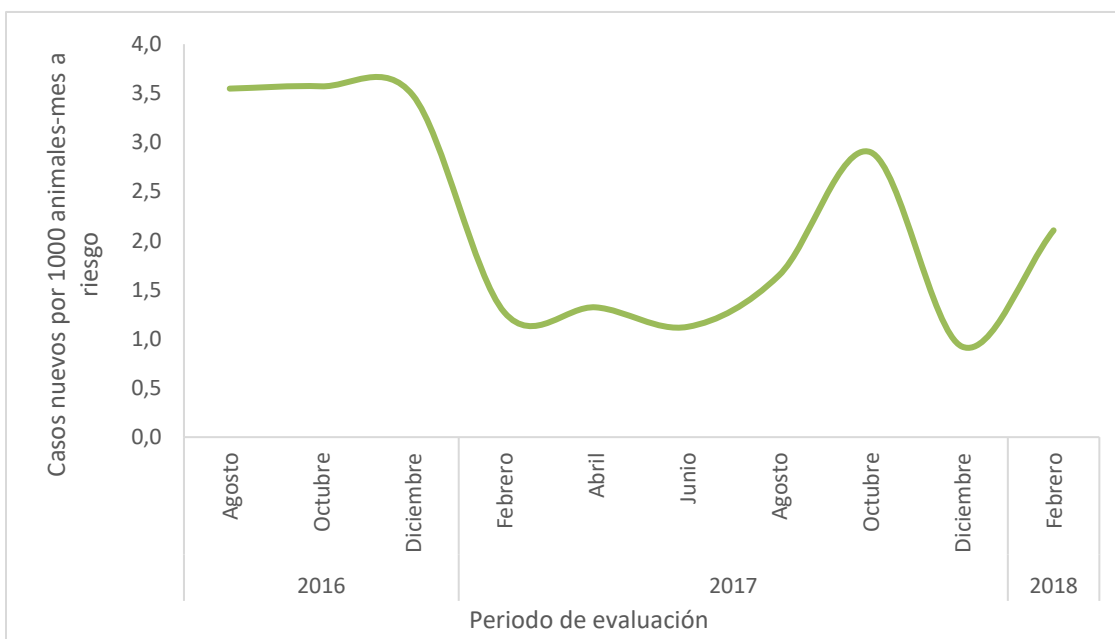
PMCC Prevalencia de mastitis clínica por Cuarto

▪ Incidencia acumulada de mastitis clínica

La incidencia, de forma general, refleja el cambio del estado de salud al de enfermedad en una población en un periodo determinado. Con la información obtenida en cada uno de los ciclos de seguimiento se calculó la incidencia acumulada de MC en animales y cuartos susceptibles a enfermar en la provincia de Ubaté. La incidencia acumulada de mastitis clínica por animal por año varió entre 2.0 y 8.0 casos nuevos por 100 animales a riesgo por año, la IA de MC por cuarto varió entre 1.0 y 3.0 nuevos cuartos enfermos por 100 cuartos a riesgo por año.

▪ Tasa de incidencia de mastitis clínica

Se observaron en promedio 40 casos de MC por año. La TIMC varió entre 1.0 – 3.5 nuevos casos/1000 animales-mes riesgo y los cambios observados de esta medida se observan en la gráfica 2-1. El comportamiento de la incidencia de MC presenta un descenso de 3.6 nuevos casos/1000 animales-mes riesgo a 1.3 nuevos casos/1000 animales-mes riesgo luego del mes de diciembre del año 2016 y posterior a este se observa un leve aumento en el número de nuevos casos diagnosticados en la población durante el mes de octubre (de 1.1 nuevos casos/1000 animales-mes riesgo a 2.9 nuevos casos/1000 animales-mes riesgo). Adicionalmente y con el propósito de ampliar la discusión del resultado de esta medida se estimó la TIMC anual entre 2.0 – 4.0 casos nuevos por 100 animales-año riesgo y entre 0,6 - 1,1 nuevos cuartos con MC por 100 cuartos-año riesgo.



Gráfica 2-1: Variación de la tasa de incidencia de mastitis clínica por animal en Bovinos lecheros de la Provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016-2018.

Agentes Etiológicos de mastitis clínica

Un total de n=56 casos de MC se presentaron en el periodo de tiempo comprendido entre julio del año 2016 y junio del año 2017, sin embargo, solo 53 muestras de leche de cuartos diagnosticados con la enfermedad fueron tomadas y enviadas al laboratorio para cultivo bacteriológico. Estafilococos coagulasa negativo (ECN) fueron las bacterias aisladas con mayor frecuencia de estas muestras seguido por estreptococos de origen ambiental,

microorganismos contagiosos y bacterias coliformes ambientales, en el 6% de los casos no hubo aislamiento bacteriano, La tabla 2-2 resume los resultados de los cultivos microbiológicos realizados en muestras de leche proveniente de cuartos con signos de MC en la provincia de Ubaté.

Tabla 2-2: Prevalencia de microorganismos aislados de muestras de leche de cuartos con MC entre julio del año 2016 y junio del año 2017 en la Provincia de Ubaté

Tipo de microorganismo aislado	Microorganismos	Total (n)	Prevalencia (%)
Estafilococos coagulasa negativa	<i>Staphylococcus chromogenes</i> , <i>Staphylococcus haemolyticus</i> , <i>Staphylococcus hominis</i> , <i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Staphylococcus pseudointermedius</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Staphylococcus schleiferi</i> , <i>Staphylococcus sciuri</i> , <i>Staphylococcus suis</i> , <i>staphylococcus no aureus</i>	23	43
Estreptococos ambientales	<i>Streptococcus uberis</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i> , <i>Streptococcus bovis</i> , <i>Streptococcus canis</i> , <i>Streptococcus equisimilis</i> , <i>streptococcus zooepidemicus</i> , <i>Streptococcus no agalactiae</i>	17	32
Contagiosos	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i>	9	17
Coliformes ambientales	<i>BGN</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumonie</i> y <i>oxytoca</i>	1	2
	No se aislaron microorganismos	3	6
TOTAL		53	100.0

Factores asociados con la ocurrencia de mastitis clínica

Las Tablas 2-3 resume los factores de riesgo nivel cuarto-animal afectados asociados a la ocurrencia de MC en bovinos de la provincia de Ubaté, Cundinamarca. El riesgo de presentar esta enfermedad es mayor en aquellos cuartos que presentaban heridas o alteraciones en los pezones, adicionalmente, la carencia de adecuada higiene de la glándula mamaria en el ordeño aumentó el riesgo de presentación de MC. El tipo de ordeño se consideró un factor adicional que incrementa el riesgo de presentación de MC. En los modelos de regresión del presente estudio no se encontraron interacciones entre las variables sugeridas ($P > 0,05$).

Tabla 2-3: Factores de riesgo nivel cuarto e individuo asociados con la ocurrencia de MC en Bovinos lecheros de la Provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016-2018

Variable	Categoría	n	Riesgo Relativo (RR)	95% I.C.		P
				Inferior	Superior	
Método de ordeño	Manual	1455	5.7	2.4	12.9	0.000
	Mecánico	411				
Higiene de la glándula mamaria	Limpia	1696	4.1	1.6	10.2	0.004
	Sucia-muy sucia	170				
Hiperqueratosis punta de pezón	Ausencia	1787	14	3.3	44.1	0.001
	Presencia	24				
Heridas en pezón	Ausencia	2239	19.9	2.2	73.5	0.009
	Presencia	11				

RR (Riesgo Relativo)

95% IC (Interval de confianza del 95%)

p<0.05 es estadísticamente significativo

No se encontró asociación con los términos de interacción incluidos en el modelo

La tabla 2-4 resume los factores de riesgo que afectan la incidencia de MC a nivel hato, incluye factores de manejo y la rutina de ordeño. Los hatos en los cuales se observó una mayor prevalencia de lesiones del pezón (heridas, papilomas e hiperqueratosis) tuvieron mayor riesgo de presentar MC, de la misma forma se pudo observar que los hatos con mayor presentación de casos de Mastitis Subclínica tuvieron mayor riesgo de presentación de mastitis Clínica (RR= 7.6, IC 95% (1.5-30.7), P= 0.014). Los hatos que contaban con más de un ordeñador tuvieron casi 6 veces mayor probabilidad de presentar alta incidencia de MC en comparación con los hatos donde solo una persona fue la encargada de realizar el ordeño de la o las vacas (RR= 5.7, IC 95% (1.2 – 23.4), p=0.029). Hatos en los cuales los ordeñadores usaban la ropa de trabajo de diario para ordeñar en vez de usar ropa o dotación exclusiva para hacer esta tarea tuvieron 8 veces mayor probabilidad de presentar alta incidencia de MC, de igual forma, aquellos hatos en los cuales la ropa usada por los ordeñadores se encontraba sucia mostraron tener mayor aparición de nuevos casos de vacas con MC (RR= 6.5, IC 95% (1.6 – 26.4), p=0.02).

Tabla 2-4: Factores de riesgo nivel hato para la presentación de Mastitis Clínica en Bovinos lecheros de la Provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016-2018

	Variable	Categoría	n	Riesgo	95% C.I.		p
				Relativo (RR)	Inferior	Superior	
Características y manejo general del hato	Prevalencia prolapso punta de pezón	Menor 5%	358				
		Mayor igual a 5%	13	27.1	4.9	72.9	0.000
	Prevalencia heridas pezón	Menor o igual al 5%	361				
		Mayor a 5%	14	17.1	2.4	63.4	0.006
	Ropa exclusiva para el ordeño	Sí	33				
		No	270	7.6	1.6	29.7	0.012
	Prevalencia mastitis subclínica	Menor 20%	285				
		Mayor igual a 20%	78	7.6	1.5	30.7	0.014
	Método de ordeño	Manual	308				
		Mecánico	33	6.8	2.0	20.6	0.002
	Estado ropa de ordeño	Limpia	224				
		Sucia	57	6.5	1.3	26.4	0.020
	Fuente de agua usada durante el ordeño	Acueducto	243				
		Río, pozo, vallado, otra	81	5.7	1.5	19.3	0.011
	Número de ordeñadores	1 ordeñador	202				
		Más de 1 ordeñador	173	5.7	1.2	23.4	0.029
Prevalencia Papilomas en el pezón	Menor 5%	270					
	Mayor igual a 5%	51	4.3	1.4	12.4	0.011	
Cantidad de vacas en producción	Menor igual a 5 vacas	190					
	Mayor igual a 5 vacas	122	4.0	1.3	12.0	0.018	
Rutina de ordeño	Uso de guantes	Sí	252				
		No	51	16.1	1.6	69.6	0.020
	Uso adecuado de desinfectante pre-ordeño	Sí	67				
		No	214	15.7	3.1	51.8	0.001
	Lavado de manos previo a ordeño	Sí	222				
		No	153	11.7	2.0	46.8	0.008
	Lugar donde se despunta	Fondo oscuro, otro	212				
		Piso	40	8.7	1.4	38.3	0.019
	Ordeño de pezones secos	Sí	277				
		No	64	5.2	1.6	15.6	0.006
Escurrido de cuartos	Sí	238					
	No	133	5.2	1.3	18.5	0.021	

RR (Riesgo Relativo)

95% IC (Intervalo de confianza del 95%)

p<0.05 es estadísticamente significativo

No se encontró asociación con los términos de interacción incluidos en el modelo

Los hatos en los cuales no se utiliza rutinariamente guantes para el ordeño tuvieron 16 veces más oportunidades de presentar nuevos casos de mastitis clínica comparados con aquellos donde su uso era parte indispensable de la rutina (RR= 16.1, IC 95% (1.6 – 69.6), $p=0.02$), adicionalmente, se observó mayor riesgo de presentación de casos nuevos MC cuando los trabajadores no tenían como rutina el lavado de manos antes de comenzar a ordeñar.

No realizar secado de los pezones y no usar adecuadamente del desinfectante pre-ordeño, incrementaron la ocurrencia de mastitis clínica comparados con hatos donde estas prácticas sí se realizaban correctamente (RR= 5.2, IC 95% (1.6 – 15.6), $p=0.006$; RR= 15.7, IC 95% (3.1 – 51.8), $p=0.001$, respectivamente). El término “escurrido” se emplea para describir la práctica en la cual el ordeñador extrae de forma manual la leche residual de la glándula mamaria al final del ordeño; aquellos hatos en los cuales los animales no fueron expuestas a esta práctica tuvieron mayor riesgo de presentar alta proporción de mastitis clínica en comparación con los hatos en los que esta práctica se realizó.

2.4 Discusión

Los hallazgos del presente estudio permitieron dilucidar factores determinantes en la presentación de mastitis clínica tanto a nivel de cuarto, como a nivel individual y de hato en pequeños productores de la provincia de Ubaté, los cuales son de vital importancia para el establecimiento de medidas de control y prevención. La prevalencia de MC en el presente estudio varió entre 0.5 – 1.1% mientras la prevalencia por cuarto presentó variaciones entre 0.1 – 0.4% la cual fue menor al compararla con estudios realizados en Antioquia y el Altiplano Cundiboyacense donde se reportó una prevalencia por individuo entre 2.2 – 4.7% y por cuarto entre 0.6 y 1.3% (Calderón & Rodríguez, 2008; Martínez, 2006; N. Ramírez et al., 2011; C. M. Trujillo et al., 2011). Se debe resaltar que en este estudio la población de interés fueron hatos de pequeños productores con 6.2 ± 5.4 animales en producción / día, con predominio de ordeño manual (92%), y con una producción promedio de leche de 11 L/día, donde el manejo durante el ordeño era mínimo, y era administrado por productores con escaso conocimiento tanto del riesgo como de las medidas de control y prevención de la enfermedad. En contraste, los estudios realizados en la cuenca lechera antioqueña y el Altiplano Cundiboyacense se estimó la presencia de la enfermedad en hatos medianos (mínimo 29 animales), con mayor proporción de sistemas de ordeño mecánico (> 60%), con un manejo más técnico del ordeño y con algún

conocimiento de la mastitis bovina (Calderón & Rodríguez, 2008; Martínez, 2006; N. Ramírez et al., 2011); los diferentes resultados entre estudios pueden corresponder no solo a la metodología y diseño epidemiológico adoptados en estos, sino a las diferencias en los tipos y sistemas de manejo evaluados.

En la actualidad no se conocen estudios que reporten la incidencia acumulada de MC en Colombia. Estudios internacionales han reportado una alta incidencia acumulada de MC entre 30 – 47 nuevos casos/100 animales a riesgo por año (Bradley et al., 2007; Gao et al., 2017; Santman-Berends et al., 2015), la cual se pudo atribuir a factores como el clima y nivel de producción y la estabulación de animales entre otros (Giannechini et al., 2002). Un factor que puede explicar la baja incidencia acumulada observada (2-8 casos nuevos/100 animales a riesgo por año) es que el manejo de los animales se realiza en pastoreo y no en establo donde se ha reportado un mayor riesgo de infección atribuible al sistema (Giannechini et al., 2002; Klaas & Zadoks, 2017; National Mastitis Council, 2015b).

Por otro lado, la TIMC observada en el presente (2-4 casos nuevos por 100 animales-año) contrasta con los resultados de un estudio reciente en la cuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, el cual determinó una tasa de incidencia de 13.8 nuevos casos de MC / 100 animales-año a riesgo (Ramírez et al., 2018), diferentes estudios realizados en sistemas estabulados y semiestabulados, reportaron una variación en la TI de 23-52 casos /100 vacas-año a riesgo (Hammer et al., 2012; Karimuribo et al., 2006; Kivaria et al., 2007; Olde Riekerink et al., 2008). El resultado de la TIMC en este estudio se explica por el bajo riesgo que representa el sistema de manejo en pastoreo respecto a sistemas de estabulación (Morton, Penry, Malmo, & Mein, 2014), donde las condiciones higiénicas de los establos, las camas, los pasillos son difíciles de mantener y favorecen la proliferación de bacterias Gram negativas y estreptococos ambientales patógenos asociados con la presentación de signos moderados de mastitis clínica (Klaas & Zadoks, 2017). La ocurrencia de esta enfermedad es el resultado de la falta de higiene durante el ordeño unido con factores como el inadecuado uso del desinfectante pre y post-ordeño, (Morton et al., 2014), los cuales fueron también detectados en este estudio. Juntos, se ha reportado que favorecen la colonización de bacterias presentes en el medio ambiente a través del canal del pezón en entornos con alta carga bacteriana (Ruegg, 2012b).

Aunque algunos factores de riesgo a nivel individual en los casos de MC podrían indicar susceptibilidad entre animales. La presentación de hiperqueratosis en la punta del pezón fue reportada por Breen et al., 2009 quienes determinaron que esta entidad genera mayor riesgo de MC (OR= 2.19, IC 95%: 1.26-3.83 $p<0,05$), debido que se altera la barrera física de protección del pezón, además se ha demostrado que la carga bacteriana en la piel del pezón es mayor en presencia de hiperqueratosis comparados con aquellos que no la presentan (Paduch, Mohr, & Krömker, 2012). Adicionalmente, la presentación de prolapso y papilomas en la el pezón genera una mayor susceptibilidad a la infección clínica de la glándula mamaria (Kivaria et al., 2007; Tolosa et al., 2015). En conjunto, nuestros hallazgos confirman que la disrupción de la anatomía del esfínter y la piel del pezón altera los mecanismos de defensa de la GM y predispone a la infección con patógenos presentes en la piel. Es importante conocer que en perfecto estado la piel ofrece condiciones que limitan la proliferación bacteriana en su superficie (Meglia & Mata, 2001). Se conoce que las lesiones en la piel de los pezones favorecen la proliferación de bacterias como el estafilococo coagulasa negativo (De Visscher et al., 2014), trayendo como consecuencia la formación de fuentes de bacterias sobre la piel (Meglia & Mata, 2001) lo que, en unión con las fallas en la desinfección efectiva del pezón, pueden ocasionar mastitis luego de la colonización de la glándula mamaria a través del esfínter del pezón (Meglia & Mata, 2001; Sarker, Parvin, Rahman, & Islam, 2013).

De manera adicional, la presencia de materia orgánica, barro o suciedad de la glándula mamaria ha sido descrito como un riesgo en la presentación de mastitis clínica (Kivaria et al., 2007). En este estudio se pudo observar que aquellos animales que entraron al ordeño con más del 50% de la piel de la glándula mamaria y los pezones sucios tuvieron mayor riesgo de presentar MC (RR=4.1, IC 95% (1.6-10.2), $p=0.004$), esta información concuerda con la reportada en otro estudio (Breen et al., 2009) y resalta la importancia del control de situaciones que promuevan la proliferación de microorganismos ambientales (Klaas & Zadoks, 2017; Ruegg, 2012b). Vale la pena enfatizar que, aunque se aislaron microorganismos ambientales con alta frecuencia en las muestras de leche de este estudio, la frecuencia de aislamiento de microorganismos coliformes fue del 2% y no parece representar un problema comparado con la alta prevalencia de estreptococos de origen ambiental (37%). Es importante mencionar que en los sistemas de pastoreo condiciones como el encharcamiento, acumulo de barro y materia fecal en lugares de congregación de animales como el sitio de ordeño, puede explicar la prevalencia de aislamientos de

patógenos ambientales especialmente durante las épocas de lluvias (Giannechini et al., 2002). Se debe considerar adicionalmente, que el efecto de los desinfectantes usados antes y después del ordeño pierde eficiencia sobre pezones sucios (Munoz et al., 2008). Otros factores adicionales para considerar, que contribuyeron al riesgo de infecciones clínicas en el presente, y que se pudieron asociar con la poca higiene del ordeño, fueron la falta de higiene de las manos de los ordeñadores, el ordeño de pezones mojados, el uso de ropa sucia y no apta para el ordeño. Una vez más, se resalta la importancia de la implementación adecuada de rutinas y prácticas de desinfección e higiene que contribuyen al entendimiento de la epidemiología de la MC en los hatos estudiados.

De manera interesante, factores como el uso de la ropa de trabajo diario para ordeñar, la falta de limpieza de esta y el uso de agua de fuentes diferentes al acueducto en las labores del ordeño, fueron factores asociados con la incidencia de mastitis clínica en hatos de la provincia de Ubaté. A la fecha, ninguno de estos factores ha sido determinado como riesgo en los estudios revisados. Sin embargo, se puede especular que estos afectan la higiene del ordeño y pueden ser consideradas como fuentes o nichos de bacterias medioambientales. Otros factores como la cantidad de ordeñadores y el tamaño de los hatos han sido identificado como factores de riesgo, de esta forma, los hatos en los que ordeñan más de 2 personas tienen 5.7 veces mayor probabilidad de presentar alta incidencia de MC y hatos con más de 5 vacas en producción presentaron 4 veces mayor riesgo de tener alta incidencia de enfermedad, esta información es similar a la reportada por Mekonnen et al. y Kivaria et al. 2007, quienes establecieron que hatos con más de 10 animales tenían una susceptibilidad aumentada a la presentación de MC. En las investigaciones realizadas por Tolosa et al. 2013, aunque se evaluó el efecto de la cantidad de ordeñadores como factor de riesgo, este no fue asociado a la presentación de MC.

Los sistemas con ordeño mecánico presentaron mayor riesgo de exhibir signos clínicos de mastitis. Las bacterias contagiosas causales de mastitis se transmiten de animales infectados a sanos a través de las pezoneras o de las manos de los operarios durante el ordeño (Klaas & Zadoks, 2017; Ruegg, 2012b; Taponen & Pyörälä, 2009), asimismo, se conoce que el riesgo de transmisión aumenta por el inadecuado uso de guantes y desinfectantes pre-ordeño así como por el uso de equipos de ordeño con poco mantenimiento y/o mal calibrados (Centers for Epidemiology and Animal Health, 2008; Keefe, 2012; National Mastitis Council, 2015a; Ruegg, 2012b): Un hallazgo adicional, fue la relativamente alta prevalencia de microorganismos contagiosos, los cuales se aislaron

en 17% de las muestras de leche de animales con MC, esta información en conjunto con la identificación del inadecuado lavado de las manos, el no uso de guantes para ordeñar y la utilización de ordeños mecánicos como factores de riesgo evidencia la importancia de estos en la epidemiología de la transmisión de este tipo de microorganismos y la presentación de MC. Es posible que problemas asociados con la higiene, situaciones de calibración y mantenimiento del equipo pudieron influir dado que se pudo observar que, en promedio, se realizó un mantenimiento y calibración del equipo en 2 años, sumado a estas observaciones, una práctica común fue que el lavado de los equipos se realizaba después de cada ordeño con agua y jabón de forma rutinaria y solo se usaba los detergentes para lavado una sola vez a la semana. Se ha reportado que la falta de higiene (De Visscher et al., 2014), sumado a la implementación de prácticas inadecuadas de mantenimiento y desinfección del equipo (National Mastitis Council, 2015a; Ruegg, 2012b), han sido factores determinantes en la presentación clínica de mastitis por este tipo de patógenos.

Una cantidad importante de factores de riesgo se asociaron a la falta de higiene durante el ordeño los cuales aumentan el riesgo de presentación de mastitis de origen medioambiental, sin embargo, una proporción del riesgo parece estar también relacionada con la distribución de microorganismos contagiosos. Los programas de control en esta zona deben ser direccionados a mejorar la higiene durante el ordeño y a implementar medidas de control general, específicamente en la rutina de ordeño, para controlar la transmisión de mastitis tanto del ambiente al animal como entre animales. Los factores de riesgo presentados en este estudio fueron estadísticamente significativos e indican la relación causal con la presentación de mastitis clínica en la provincia de Ubaté por lo tanto son la base para el diseño de medidas de control y prevención de esta enfermedad en la zona.

2.5 Conclusiones

La incidencia anual de MC fue de 2.0 – 4.0 casos nuevos /100 animales-año riesgo, y la prevalencia mensual varió entre 0.5- 1.1%. En su mayoría las infecciones clínicas fueron causadas por estafilococos coagulasa negativo (43%), estreptococos ambientales (32%) y en baja medida por coliformes ambientales (4%). Los factores de riesgo observados que favorecen la presentación de casos clínicos en la región a nivel individual fueron la presencia de lesiones de la piel de los pezones, el grado de suciedad de la glándula mamaria. A nivel de hato los factores asociados con la ocurrencia clínica de mastitis fueron

el uso de ropa sucia para ordeñar, la calidad del agua y la falta de un secado correcto, sumado con la falta de higiene de las manos, y el hecho de no usar guantes, así como el inadecuado uso de las rutinas desinfectantes pre-ordeño, y el mantenimiento de los equipos de ordeño. Los resultados de este estudio indican la relación causal de estos factores con la presentación de mastitis clínica en la Provincia de Ubaté y se constituyen en la base para el diseño de medidas de control y prevención de esta enfermedad.

3. Mastitis subclínica en la provincia de Ubaté

D.J. González¹, C. Jiménez-Escobar¹, J.L. Zambrano-Varón¹

¹ Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Bogotá, Colombia.

Resumen

Información relacionada con la prevalencia de patógenos, así como de los factores de riesgo asociados mastitis subclínica (MS), son necesarios para el diseño e implementación de programas que promuevan la salud de la glándula mamaria. Se diseñó un estudio epidemiológico longitudinal de veinticuatro meses de duración en la provincia de Ubaté, Cundinamarca, con el objetivo de determinar la ocurrencia, patógenos predominantes y factores de riesgo asociados con MS en condiciones de trópico alto colombiano. Datos de 504 pequeños productores de leche, 4233 vacas en producción, 7041 casos de enfermedad y 887 muestras de leche de cuartos afectados fueron analizados. Se calculó la ocurrencia de la enfermedad, así como la prevalencia de patógenos aislados de muestras de leche de vacas con MS grado 3; factores de riesgo nivel hato, animal y cuarto fueron medidos y usados en análisis estadísticos, los cuales incluyeron evaluaciones univariadas y diseño de modelos de regresión logística binaria tomando como variable respuesta la incidencia de la enfermedad en los hatos y la presencia o no de MS en los individuos. La enfermedad se presentó en los hatos con una tasa de incidencia por animal y por cuarto entre 8.0–20.0 y 5.0-14.0 casos nuevos por 100 animales/cuarto-año riesgo respectivamente, adicionalmente, patógenos como estafilococos coagulasa negativo y estreptococos ambientales fueron los microorganismos más prevalentes aislados en este estudio. Factores de riesgo nivel individuo y cuarto identificados en este estudio ($p < 0.05$): 1) animales múltiparos (más de dos partos), 2) lactancias de más de 200 días, 3) producción promedio superior a 10 litros, 4) glándula mamaria sucias, 5) presencia de

hiperqueratosis y prolapso en la punta del pezón, 6) heridas y papilomas en pezones; entre los factores de riesgo nivel hato destacamos: 1) el uso de ordeño mecánico, 2) la alta prevalencia de mastitis clínica, 3) ropa de ordeño sucia, 4) no uso de antibiótico al secado, 5) uso inadecuado de desinfectantes de pezones, 6) uso de guantes para ordeñar principalmente. Los resultados sugieren que los programas de control en estos hatos deben dirigirse a la intervención de factores de riesgo relacionados con la higiene y rutina de ordeño ya que estos se asocian con la presentación de mastitis causada por microorganismos ambientales que finalmente fueron los más prevalentes en vacas afectadas en este estudio.

Palabras clave: Tasa de incidencia de mastitis, factores de riesgo, estafilococos coagulasa negativos, estreptococos ambientales, hatos lecheros

Abstract

Information related to prevalence of mastitis pathogens, as well as risk factors are necessary to design udder health programs. A twenty-four-month longitudinal study was conducted to determine the occurrence, predominant pathogens and risk factors associated with subclinical mastitis (SM) in Colombian high-altitude conditions. Data from 504 smallholder's dairy farms, 4233 dairy cows, 7041 SM cases and 887 milk samples from SM quarters were analyzed. The SM occurrence was calculated, as well as the prevalence of pathogens isolated from milk samples from quarters with SM; herd-, cow- and quarter-level risk factors were determinate by using binary logistic regression models with the incidence and the presence or absence of SM as predictive variables. The disease occurred in herds with an incidence rate per animal and quarter between 8.0-20.0 and 5.0-14.0 new cases per 100 animals/quarter-year at risk respectively, coagulase negative staphylococci (CNS) and environmental streptococci were the most prevalent microorganisms in this study. Cow- and quarter-level risk factors identified in this study were ($p < 0.05$): 1) parity (more than two calves), 2) days in milk (> 200 days), 3) poor udder hygiene, 4) presence of teat injuries (hyperkeratosis, prolapse, wounds and papilloma). And the herd-level risk factors were, 1) milking machine, 2) high herd prevalence of clinical mastitis, 3) hygiene of the milker's clothes, 4) no dry antibiotic use, 5) inadequate disinfection of the teat, and 6) none use of gloves for milking. The results suggest that control programs in these herds should be focused in reducing risk factors related to poor hygiene and inadequate milking

procedures, that are associated to environmental pathogens which were isolated in MS quarters in this study.

Keywords: Incidence rate mastitis, risk factors, coagulase negative staphylococci, environmental streptococci, dairy farm

3.1 Introducción

La inflamación de la glándula mamaria o mastitis, es una enfermedad de gran importancia en los sistemas de producción lecheros que genera importantes pérdidas económicas en la industria de lácteos alrededor del mundo (Andersen et al., 2010; Breen et al., 2009; Giannechini et al., 2002; González-Sedano et al., 2010; Halasa et al., 2007; Kivaria et al., 2007). La mastitis bovina se presenta de forma clínica y subclínica, siendo esta última la más prevalente en sistemas productivos lecheros en Colombia. La mastitis subclínica (MS) es una forma no sintomática de inflamación intramamaria (Tomazi et al., 2018), la glándula mamaria y la leche son visiblemente normales (Adkins & Middleton, 2018) aun así esta enfermedad se caracteriza por elevar el conteo de células somáticas (CCS) y reducir la producción de las vacas lecheras (Juliano Leonel Gonçalves et al., 2016).

La mastitis clínica (MC) es una entidad bien conocida por los productores de leche en Colombia, sin embargo, la MS cuya frecuencia de aparición en un hato es mucho mayor que la de MC, recibe menos atención por parte de los productores. Los efectos negativos de la MS están relacionados directamente con la ocurrencia de esta enfermedad en un hato, así, el número de animales enfermos es directamente proporcional con las pérdidas que se generan. Las consecuencias económicas de la enfermedad se han asociado con la disminución de la producción neta de leche, aumento de costos por servicios veterinarios, sobrecostos por el uso de pruebas diagnósticas para la detección de patógenos asociados a la infección de la glándula mamaria, pérdida de leche por mala calidad y descarte prematuro de las vacas afectadas (Halasa et al., 2007).

India es el mayor productor mundial de leche, seguido por Estados Unidos, China, Pakistán y Brasil (FAO, 2013); en estos países en los últimos veinte años se ha reportado la prevalencia de mastitis subclínica por animal entre 25 - 60% y por cuarto entre 16 - 55% (Bachaya et al., 2011; Kader et al., 2003; Makovec et al., 2003; Sharma et al., 2012). En India durante el año 2012 se calculó la prevalencia de mastitis subclínica en 55% de las vacas estudiadas y en 31% de los cuartos evaluados (Bhutto et al., 2012), en Tailandia y

Bangladesh durante los años 2013 y 2014 esta forma de la enfermedad se diagnosticó en 56% de los animales y entre 20 y 27% de los cuartos analizados (Leelahapongsathon et al., 2014; Sarker et al., 2013).

En China y Pakistán durante los años 2011 y 2012 se observó la prevalencia de mastitis subclínica por animal entre 37 - 39% y 35 - 36% respectivamente (Bachaya et al., 2011; Sharma et al., 2012). En el estado de Pernambuco en Brasil, en el 2011, se estimó la prevalencia de mastitis subclínica por vaca entre 25 - 42%, (Ruiz et al., 2011). En países como Venezuela, Ecuador, Uruguay y Chile, se ha reportado la prevalencia de la forma subclínica de mastitis por cuarto entre 20 - 66% (Bonifaz et al., 2016; Bravo, 2009; Ferraro et al., 1999; Giannechini et al., 2002).

En Colombia, entre los años 2006 y 2014 en estudios llevados a cabo la cuenca lechera del Altiplano Cundiboyacense se estimó la prevalencia por cuarto de MS entre 17.8 y 49.2% (Calderón & Rodríguez, 2008; Caro-carvajal, 2014; Martínez, 2006; A. P. Trujillo et al., 2009) mientras tanto en la cuenca lechera de Antioquía esta enfermedad se detectó entre 36.2% - 42.4% de las vacas observadas y 16,5 - 21% de los cuartos en producción (N. Ramírez et al., 2011; N. F. Ramírez et al., 2014; C. M. Trujillo et al., 2011). En la provincia de Pamplona en el año 2017 se estimó que esta enfermedad afectó al 56% y a 21,6% de los animales y cuartos evaluados respectivamente (Mendoza et al., 2017).

La velocidad de aparición de nuevos casos (Incidencia) de MS en China en el año 2010 se estimó en 32 casos nuevos / 100 animales a riesgo por año (Cheng et al., 2010), siete años más tarde en Ecuador la incidencia acumulada (IA) de MS se calculó en 22 casos nuevos / 100 vacas a riesgo de enfermar por año (Bonifaz & Colango, 2016). La tasa de incidencia (TI) de MS por vaca en México, durante el año 2010, se estableció entre 29 - 46 nuevos casos de enfermedad por 100 vacas-año a riesgo (González-Sedano et al., 2010) y más recientemente en Brasil, se estimó que esta enfermedad se presentó en los hatos a una velocidad de 20,4 nuevos casos por 100 vacas-año a riesgo (Busanello et al., 2017), adicionalmente un estudio en Canadá se determinó la TI de MS en 36 nuevos casos por 100 cuartos-año a riesgo (Dufour & Dohoo, 2013), en Colombia no existen reportes de incidencia de MS.

La mastitis es causada por una amplia variedad de especies de bacterias asociadas a diferentes dinámicas de infección intramamaria y pérdidas de producción (Gröhn et al., 2004). Bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*,

Corynebacterium spp. y *Mycoplasma* spp. son consideradas patógenos contagiosos ya que estos se transmiten de vaca a vaca durante el ordeño y la fuente de origen de estos son animales con infección intramamaria activa causada por estas bacterias (Makovec & Ruegg, 2003; Royster & Wagner, 2015), por otra parte especies bacterianas de los géneros *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp. y en general coliformes son consideradas patógenos ambientales, estos se transmiten del ambiente a la glándula mamaria de los animales susceptibles (El-Sayed, Awad et al., 2017; Royster & Wagner, 2015).

Los microorganismos contagiosos generalmente están bien adaptados a la glándula mamaria y usualmente se han relacionado con casos de mastitis subclínica y clínica de signos leves a moderados, en contraste los microorganismos ambientales no están adaptados a esta y usualmente generan mastitis con signos entre moderados y severos, adicionalmente también se han asociado casos de MS (Adkins & Middleton, 2018; Royster & Wagner, 2015; Ruegg, 2012a). Estudios realizados en Colombia en los últimos 10 años permiten concluir que se aíslan con mayor frecuencia, de muestras de leche con vacas con MS, microorganismos de tipo contagioso más específicamente *Streptococcus agalactiae*. La prevalencia de estos microorganismos en el departamento de Antioquía varió entre el 23 - 34%, seguido por bacterias oportunistas del género *Staphylococcus* spp. los cuales se aislaron entre el 13% y 38% de muestras analizadas y en menor proporción se aislaron microorganismos considerados de tipo ambiental (N. Ramírez et al., 2011; N. F. Ramírez et al., 2014; C. M. Trujillo et al., 2011). *Staphylococcus aureus* se aisló entre 8 - 11% de las muestras de vacas con infección intramamaria subclínica (N. Ramírez et al., 2011; C. M. Trujillo et al., 2011).

Por otra parte, en la cuenca lechera del altiplano cundiboyacense, entre los años 2006 y 2014, *Staphylococcus aureus* se encontró con mayor frecuencia en muestras de leche de vacas con MS, la prevalencia de aislamientos varió entre 8,4 - 29%. La prevalencia de aislamientos de *Strep. Agalactiae* se estimó entre 6,4 - 32% mientras la prevalencia de estafilococos coagulasa negativos se calculó entre el 1 - 12 % (Becerra et al., 2014; Calderón & Rodríguez, 2008; Caro-carvajal, 2014; A. P. Trujillo et al., 2009).

La ocurrencia de mastitis es compleja y presentación depende de la interacción de tres factores: 1) exposición a microorganismos patógenos, 2) mecanismos de defensa de la glándula mamaria, y 3) factores relacionados con el ambiente y manejo (Suriyasathaporn

et al., 2000). Los factores de riesgo asociados con la ocurrencia de esta enfermedad han sido identificados a través de la aplicación de estudios epidemiológicos que usan como unidad de muestreo el cuarto de la glándula mamaria, el animal individual, o el hato, permitiendo así una mejor definición y clasificación de los niveles de riesgo de mastitis bovina (Leelahapongsathon et al., 2014).

Entre los factores de riesgo que se conocen a nivel cuarto está la presencia de lesiones en la punta de los pezones (heridas, hiperqueratosis, papilomas) (Tolosa et al., 2013), posición de estos en la glándula mamaria (Busato et al., 2000), e historia previa de MC (Sarker et al., 2013), adicionalmente se ha reportado que las vacas con glándulas mamarias sucias presentan mayor riesgo de presentar MS durante la lactancia (N. F. Ramírez et al., 2014).

Factores asociados con la enfermedad a nivel individual han implicado el número de partos, la edad y la duración de lactancia, entre otros (Mungube et al., 2004; N. F. Ramírez et al., 2014; Sarker et al., 2013; Tolosa et al., 2013). Adicionalmente se ha reportado la inadecuada higiene del animal antes del ordeño (Mekonnen et al., 2017; N. F. Ramírez et al., 2014), baja condición corporal (Mekonnen et al., 2017; Mungube et al., 2004; Sarker et al., 2013) y la raza (N. F. Ramírez et al., 2014; Sarker et al., 2013). De la misma manera, se han descrito factores de riesgo específicos a nivel hato que involucran las diferencias entre las características de estos y que se relacionan con deficiencias en el manejo de los animales dentro de la finca. Entre los factores de riesgo específicos de hato que favorecen una alta incidencia de MS se han reportado: la inadecuada rutina de ordeño (Mekonnen et al., 2017; Mungube et al., 2004; N. F. Ramírez et al., 2014; Sarker et al., 2013), el número de animales en ordeño (Mekonnen et al., 2017), el promedio de producción de leche (Mungube et al., 2004), el inadecuado manejo del periodo seco (Green et al., 2007), el método de ordeño (Mekonnen et al., 2017; Sarker et al., 2013) entre otros. En resumen, el conocimiento de los factores de riesgo asociados con la MS es importante, ya que es fundamental para el diseño y formulación de estrategias de control y prevención apropiadas con el fin de mitigar los efectos negativos que se generan por la presencia de esta en los hatos.

Entender la epidemiología de los agentes causales de la mastitis bovina y la ocurrencia de esta es indispensable para proponer estrategias de control y prevención. La mastitis afecta a las vacas de manera individual, sin embargo, los programas de control para esta

enfermedad deben ser implementados a nivel de hato (Ruegg, 2012a). No es suficiente hacer una sola cosa bien en pro de prevenir la mastitis; el control efectivo de esta enfermedad resulta del efecto acumulativo de las buenas prácticas ganaderas. Los programas de control de mastitis no solo deben minimizar las infecciones ya existentes sino también deben reducir la aparición de nuevas infecciones; es importante mencionar que las estrategias de control no son estandarizadas para todos los hatos, ya que entre estos se observan diferencias ambientales, de manejo e infección que hacen que las medidas a tomar sean por lo tanto distintas (Klaas & Zadoks, 2017; Ruegg, 2012b). La detección temprana de los casos de MC, evaluación de opciones de tratamiento adecuado e implementación de prácticas preventivas que ayuden a disminuir factores de riesgo específicos de cada hato, deben ser factores a tener en cuenta para la creación de sistemas de control de la mastitis bovina (Royster & Wagner, 2015).

Los objetivos de este trabajo fue estimar la frecuencia de presentación MS, determinar factores de riesgo asociados con los cambios de la ocurrencia, estimar la prevalencia de aislamientos de microorganismos patógenos en muestras de leche de vacas afectadas con MS y establecer la relación entre la ocurrencia y el recuento de células somáticas en tanque en hatos lecheros de la microcuenca de la Provincia de Ubaté.

3.2 Materiales y métodos

Población de estudio

El presente estudio epidemiológico longitudinal tuvo una duración de 24 meses entre febrero del año 2016 y febrero del 2018 y se desarrolló en 10 municipios de la provincia de Ubaté, Cundinamarca. Se incluyeron en el estudio 504 pequeños productores de leche organizados en 23 asociaciones ubicadas en los municipios de Carmen de Carupa, Cucunubá, Fúquene, Guachetá, Lenguazaque, Simijaca, Susa, Sutatausa, Tausa y Ubaté. Se definió un pequeño productor con base en el número de animales en producción presentes en el hato, así se incluyó un promedio de $n=1930$ animales elegibles por periodo de visita.

Los municipios de la provincia se encuentran ubicados entre los 2500 - 3200 msnm, con promedio de temperatura de 13°C, las lluvias se presentan de forma bimodal y el promedio de precipitación anual se estima en 698 mm de agua. La provincia de Ubaté es considerada

una de las principales cuencas lecheras del Departamento de Cundinamarca, allí se producen cerca de 600.000 L/día los cuales representan más del 20% de la producción lechera de Cundinamarca y cerca del 4% de la producción lechera del país (ENA, 2012). La producción de leche en la región se hace principalmente por pequeños y medianos productores los cuales poseen cerca del 60% del inventario bovino de la zona, que corresponde a 52806 vacas en producción (FEDEGAN, 2016). El promedio de producción por animal en la región se ha estimado en 11 litros por vaca por día (ENA, 2012).

Protocolo de visita y toma de muestras

Se aplicó una encuesta epidemiológica a cada uno de los productores antes de comenzar el seguimiento con el fin de establecer una línea de base para el estudio y determinar la información de manejo en tres niveles: cuarto, animal y hato. Los cuartos y casos de MS fueron diagnosticados por Médicos Veterinarios quienes realizaron visitas bimestrales durante los 24 meses de duración de la investigación. Se diseñó una herramienta de recolección de información ajustado al análisis de datos de la encuesta inicial, esta se diligenció en cada visita realizada a los productores.

El diagnóstico de MS se hizo a través de la prueba de mastitis de California (CMT por sus siglas en inglés). La prueba de CMT fue descrita y usada por primera vez en 1957 (Schalm & Noorlander, 1957) y actualmente es aceptada como una prueba simple para la predicción del conteo de células somáticas (CCS) de leche de cuartos individuales o muestras de leche compuestas (Adkins & Middleton, 2018).

Se realizó la prueba de CMT a vacas con más de 4 días post-parto en cada hato durante la visita de observación (Ramírez et al., 2018). Luego que los productores prepararon los pezones como parte de la rutina pre-ordeño se tomaron muestras de leche de cada cuarto en los pozos correspondientes de las paletas de CMT. Para asegurar un volumen de leche similar en cada pozo de la paleta, esta se inclinó de manera tal que los pozos con mayor volumen de leche perdieran el exceso de esta y quedaran al nivel de los pozos con menor volumen, posteriormente, se adicionó a cada pozo de la paleta el reactivo Sodio Dodecil Sulfato a una relación de volumen 1:1 con la muestra de leche (N. F. Ramírez et al., 2014).

Con un movimiento circular en el plano horizontal durante 15 segundos se homogenizó el contenido de los pozos de las paletas de CMT e inmediatamente se dio paso a la lectura e interpretación del resultado de la prueba; el resultado se clasificó en función de la

viscosidad de la mezcla de la leche y el reactivo en cada pozo, los cuartos considerados sin MS fueron designados con el número cero (0), con los números uno (1), dos (2) y tres (3) se designaron respectivamente los cuartos con grado leve, moderado y severo de inflamación intramamaria o MS (Tolosa et al., 2013). Los cuartos positivos a la prueba de CMT fueron muestreados para realizar posteriormente CCS. El CCS se realizó con la ayuda de un viscosímetro, las muestras de leche con conteos superiores a 200000 cel/ml se consideraron con MS. Los cuartos con MS grado 3 fueron adicionalmente muestreados para realización de cultivo microbiológico.

Previo a la toma de leche se desinfectó la punta del pezón con toallas desechables individuales impregnadas con alcohol isopropílico al 70%, una vez secos los pezones se procedió a tomar 5 ml de leche en tubos estériles previamente rotulados con la información de la vaca, la finca, el productor y la fecha. Las muestras fueron refrigeradas a 4°C y transportadas al laboratorio donde se realizó aislamiento e identificación bacteriana por medio de cultivo microbiológico. Métodos estándares de identificación bacteriana fueron aplicados para tal fin (Hillerton, 2000).

Definición de caso

Un cuarto fue considerado con mastitis subclínica cuando en la visita de evaluación presentó reacción positiva a la prueba de mastitis de California y además el CCS de la leche de este fue superior a 200000 cel/ml (Ramírez et al., 2014). Un animal con al menos uno de los cuartos diagnosticados con MS fue considerado afectado por la enfermedad.

Los cuartos que se encontraron sanos durante alguna de las visitas de evaluación que en el ciclo posterior a este presentaron reacción positiva a la prueba de CMT y además presentaban CCS superiores a 200000 cel/ml fueron considerados como casos nuevos de enfermedad. Los animales previamente libres de la enfermedad en las cuales se encontró por lo menos un cuarto diagnosticado con MS en el chequeo posterior al diagnóstico inicial fueron considerados como nuevos casos. Cuartos identificados con MS en dos visitas consecutivas a través de la prueba CMT fueron considerados como cuartos crónicos; vacas en las cuales se identificó el o los mismos cuarto con MS en dos evaluaciones consecutivas fueron consideradas como casos crónicos de enfermedad. Se consideró un cuarto infectado cuando en la leche de este se identificó uno o máximo dos patógenos causales de mastitis bovina, las muestras de leche en las que se identificaron más de tres

especies bacterianas se consideraron contaminadas; una vaca se consideró infectada si la leche de uno o más de sus cuartos presentó cultivos bacteriológicos positivos (National Mastitis Council, 2015b).

Análisis de los Factores de riesgo

Las variables con potencial de riesgo seleccionadas para este estudio se centraron en características y manejo de los animales en los hatos, rutina de ordeño, características de las vacas, estado de higiene y salud de la glándula mamaria. Potenciales factores de riesgo y sus respectivos niveles fueron definidos en base a la literatura y experiencia de los autores.

- Información nivel hato

Información relacionada con la cantidad de animales y producción promedio del hato, cantidad de ordeñadores, método de ordeño, promedio de días en lactancia, conteo de células somáticas en tanque, prevalencia de heridas y papilomas en pezones, prevalencia de hiperqueratosis y prolapso de punta de pezones, uso de ropa exclusiva para ordeñar, estado higiénico de la ropa usada durante el ordeño, lugar donde se realizaba el ordeño y calidad percibida del agua fue evaluada y registrada en cada visita a los productores, esta información se presenta como factores asociados a las características y general del hato.

Información sobre el lavado de manos antes y durante el ordeño, uso de lazos para restricción de los animales durante el ordeño, uso de guantes, lavado de pezones, adecuado uso de desinfectante pre y post-ordeño, ordeño de pezones secos, “despunte de pezones”, lugar de eliminación de la leche de “despunte” de pezones, escurrido, sobre-ordeño, secado radical o progresivo y uso de antibiótico al momento de secado fue evaluada, registrada y se presenta en este estudio como factores asociados a la rutina de ordeño.

- Información nivel individuo y cuarto

La información almacenada de cada vaca fue la siguiente: forma de ordeño, raza, número de partos, días en lactancia, producción diaria, condición corporal, higiene de la glándula mamaria, presencia de mastitis subclínica en cuarto, presencia de papilomas, heridas, hiperqueratosis y prolapso en la punta del pezón.

Análisis estadístico

Los datos colectados en cada visita fueron digitados en hojas de Excel y luego se exportaron al software estadístico IBM SPSS Statistics 23 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp). Las bases de datos creadas fueron evaluadas y depuradas, los datos considerados erróneos o improbables fueron eliminados de estas. Se calculó la prevalencia de MS por vaca y por cuarto al final de cada ciclo de visitas, adicionalmente se estimó la incidencia acumulada (IA) y la densidad o tasa de incidencia (TI) por cuarto y por vaca afectada (Zambrano, 2009).

- Medidas de enfermedad

La prevalencia se estimó al dividir el número de casos-cuartos de MS registrados en el periodo de seguimiento sobre el total de vacas-cuartos evaluados al final de este, el resultado de esta operación se presentó en forma de porcentaje. Para el cálculo de la IA fue necesario determinar los animales a riesgo en el periodo de evaluación; se consideraron vacas a riesgo aquellas libres de la enfermedad al inicio del periodo de seguimiento y que al final de este se encontraban en el hato en estado de producción. Los casos subclínicos de mastitis que se presentaron en esta cohorte de vacas sanas se dividieron en el número de vacas a riesgo durante el periodo de tiempo del seguimiento; la IA de MS se expresó en casos nuevos por 100 vacas-cuartos por mes.

La tasa de incidencia se calculó dividiendo la cantidad de casos-cuartos nuevos de MS que se presentaron en el bimestre sobre la suma del tiempo libre de enfermedad en días de todas las vacas y cuartos a riesgo en el periodo de evaluación, el resultado de esta operación se corrigió usando un factor de ajuste poblacional 10^n ; la TI se expresó en casos por 10^n vacas-mes riesgo.

- Análisis de los factores de riesgo

La asociación entre MS en los animales como variable respuesta y los potenciales factores de riesgo a nivel cuarto, individuo y hato, fueron determinados inicialmente usando un modelo univariado, donde siguiendo los lineamientos de Hosmer & Lemeshow, se seleccionaron todas aquellas variables con un valor $P < 0.2$ con el fin de seleccionar las

variables que serían incorporadas al Modelo final de Regresión Logística Binaria; una vez las variables fueron seleccionadas, se corrió el modelo paso a paso. La magnitud de la asociación fue determinada por el riesgo relativo (RR) con intervalos de confianza del 95%, todo valor $p < 0.05$ fue considerado como estadísticamente significativo. Adicionalmente se incluyeron dentro del modelo términos de interacción como el número de lactancias con la edad del animal, y la producción de leche con el número de lactancias. También se consideraron dentro del modelo algunos factores de confusión como la edad y la producción de leche, lo cuales fueron analizados de manera continua y luego categórica, para determinar si tenían o no un efecto sobre el modelo. Los posibles sesgos de información obtenidos de la encuesta epidemiológica inicial fueron subsanados a través de las visitas veterinarias de rutina para verificar la veracidad de la información recolectada.

- Relación conteo de células somáticas en cantina y prevalencia de MS

Se diseñó y ajustó un modelo de regresión lineal simple con el propósito de explorar la relación de dependencia del conteo de células somáticas en cantinas (CCSC) respecto a la presentación de mastitis subclínica en hatos de la provincia de Ubaté. Las variables incluidas en este modelo fueron la prevalencia de mastitis subclínica y CCSC, ambas de tipo cuantitativo, la primera de estas se introdujo al modelo de regresión como variable independiente mientras CCSC se usó como variable dependiente. Los supuestos del modelo se probaron a través del análisis de residuos y tanto la normalidad como la independencia y homogeneidad de la varianza del error se cumplieron, razón por la cual se consideraron válidas las conclusiones entre la relación de las variables. Con base en el modelo de regresión se diseñó una tabla de comparativa entre la prevalencia de MS y el CCSC esperado con el fin de establecer hatos con alta, media o baja prevalencia de la enfermedad.

3.3 Resultados

Características de los hatos

Durante el estudio se colectó información de 504 hatos de pequeños productores organizados en 23 diferentes asociaciones en los 10 municipios que conforman la provincia de Ubaté. Los hatos estaban conformados en promedio por 6.2 ± 5.4 animales en producción, 61% de las fincas poseían entre 1 y 5 vacas en ordeño, 26% entre 6 y 10, 11% entre 11 y 20 y en 2% de los hatos se ordeñaron más de 21 animales. Los animales estaban mantenidos bajo un sistema de pastoreo rotacional con cuerda eléctrica en praderas de pasto kikuyo (*Penisetum caldestinum*) en algunos casos en intersiembra con RyeGrass Perenne (*Lolium perenne*), se realizaba suplementación con concentrado durante el ordeño y dependiendo de la época del año y la disponibilidad se adicionaba a la dieta ensilaje de avena o maíz. Se evaluaron en total 4233 vacas diferentes en el periodo de dos años de seguimiento, en promedio por bimestre se observaron 1930 vacas en producción, el promedio de producción estimado por vaca fue de 11.8 ± 9.1 L/día (rango: 2 – 26 L/día), el total diario de producción se estimó en 23000 L aproximadamente. El 59% de los hatos estaban conformados por vacas de la raza Holstein-Friesian, el 16% por vacas de la raza normando, 4% por vacas de la raza Jersey y cerca del 21% de estos estaban conformados por cruces entre las razas anteriormente mencionadas.

Los productores ordeñaban sus animales dos veces al día, el 92% de estos obtenía la leche de forma manual y el 8% lo hacía usando equipos de ordeño mecánicos; de los productores que usaban equipos de ordeño, el 24% de estos ordenaban en sala y 76% usaba equipos de ordeños móviles. Se realizaron en total 21244 evaluaciones a vacas y 84896 a cuartos en producción durante los 24 meses de estudio.

Ocurrencia de mastitis subclínica

▪ Prevalencia de mastitis subclínica

En promedio se evaluaron 1917 ± 150 animales en producción en cada periodo de seguimiento. Las vacas y cuartos diagnosticados con mastitis subclínica fueron designados como casos. La tabla 3-1 resume la prevalencia de MS por vaca (PMSV) y por cuarto (PMSC) entre mayo del año 2016 y febrero del año 2017 en la Provincia de Ubaté, Cundinamarca.

Tabla 3-1: Variación de la prevalencia de mastitis subclínica por animal y por cuarto en bovinos lecheros de la Provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016 -2018.

	2016						2017				2018
	Jun	Ago	Oct	Dic	Feb	Abr	Jun	Ago	Oct	Dic	Feb
Casos-vacas	877	859	668	636	617	532	565	615	606	550	526
Casos-cuartos	1911	1984	1479	1333	1408	1127	1244	1379	1349	1238	1140
Cuartos perdidos	34	31	43	36	42	39	35	36	38	30	26
PMSV (%)	47.6	47.8	41.0	35.7	32.3	28.4	28.4	29.9	28.3	27.6	25.5
PMSC (%)	25.7	27.5	22.7	18.6	18.4	15.0	15.6	16.7	15.7	15.5	13.8
n Vacas	1844	1796	1630	1784	1910	1876	1991	2058	2143	1994	2065
n Cuartos	7460	7240	6572	7184	7680	7532	8000	8284	8628	8016	8300

PMSV Prevalencia de mastitis subclínica por Animal

PMSC Prevalencia de mastitis subclínica por Cuarto

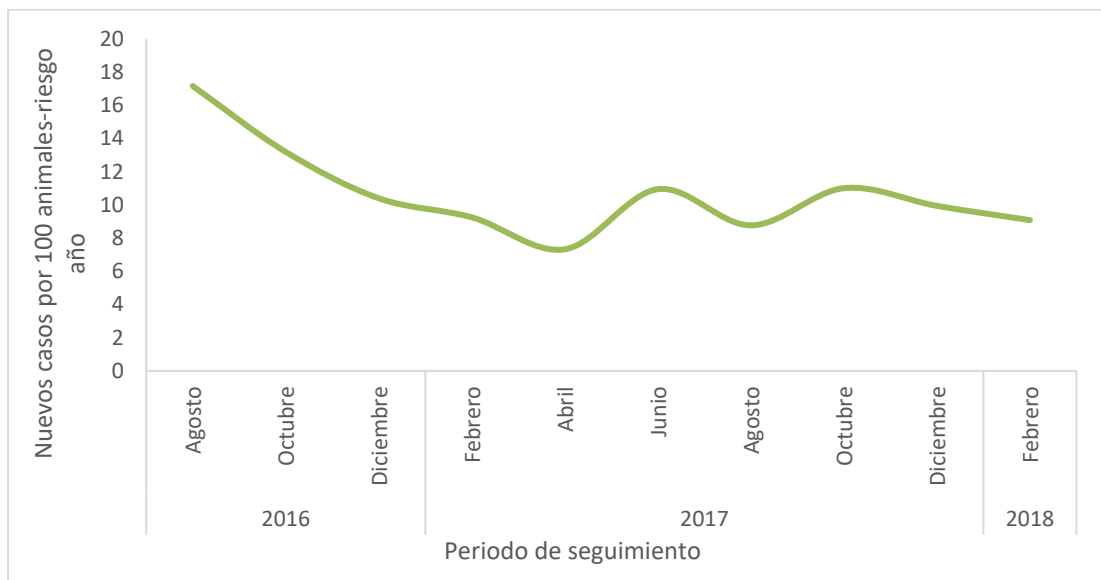
▪ Incidencia acumulada de mastitis subclínica

Esta medida de enfermedad se calculó de manera anual en animales y cuartos susceptibles a enfermar en la provincia de Ubaté. La incidencia acumulada de mastitis clínica por animal varió entre 12 y 37 casos nuevos por 100 vacas a riesgo por año, la IA de MC por cuarto varió entre 7 y 25 nuevos cuartos enfermos por 100 cuartos a riesgo por año.

▪ Tasa de incidencia de mastitis subclínica

La TIMS fluctuó entre 7 y 17 nuevos casos/100 animales-mes riesgo durante el periodo de evaluación, la gráfica 3-1 muestra la variación de esta medida durante los años 2016 a 2018. La incidencia de mastitis subclínica disminuyó progresivamente entre agosto del año 2016 y abril del año 2017, periodos en los cuales esta media se estableció en 17 nuevos

casos/100 animales-mes riesgo y 7 nuevos casos/100 animales-mes riesgo, respectivamente. Posterior a este periodo la variación de esta medida fue baja y se estabilizó la aparición de nuevos casos de MS, entre junio del año 2017 y febrero del año 2018 la TIMS varió entre 9.0 – 11.0 casos nuevos de MS/100 animales-mes riesgo. Se realizó un ajuste de tiempo al cálculo de la TI con el fin de determinar la cantidad de casos nuevos de MS que se presentan de forma anual, de esta forma se estableció la TIMS anual entre 8.0 – 20.0 casos nuevos por 100 vacas-año riesgo y entre 5.0 – 14.0 nuevos cuartos con MS por 100 cuartos-año riesgo.



Gráfica 3-1: Variación de la tasa de incidencia de mastitis clínica por animal en Bovinos lecheros de la Provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016-2018.

Etiología de mastitis Subclínica

En el periodo de tiempo comprendido entre julio del año 2016 y junio del año 2017 se recibieron 887 resultados de cultivos microbiológicos de leche de vacas identificadas con mastitis subclínica grado 3. En 86 muestras de leche (9,7%) no se presentó aislamiento bacteriano, estafilococos coagulasa negativos (SCN) fueron las bacterias aisladas con mayor frecuencia de estas muestras seguido por estreptococos de origen ambiental, microorganismos contagiosos y bacterias coliformes ambientales. La tabla 3-2 resume los

resultados de los cultivos microbiológicos realizados a muestras de leche de cuartos con MS en el periodo de tiempo ya mencionado en la provincia de Ubaté.

Tabla 3-2: Prevalencia de microorganismos aislados de muestras de leche de cuartos con MS entre julio del año 2016 y junio del año 2017 en la Provincia de Ubaté

Tipo de microorganismo aislado	Microorganismos	Total (n)	%
Estafilococos coagulasa negativa	<i>Staphylococcus chromogenes</i> , <i>Staphylococcus haemolyticus</i> , <i>Staphylococcus hominis</i> , <i>Staphylococcus intermedius</i> , <i>Staphylococcus pseudointermedius</i> , <i>Staphylococcus saprophyticus</i> , <i>Staphylococcus schleiferi</i> , <i>Staphylococcus sciuri</i> , <i>Staphylococcus suis</i> , <i>staphylococcus no aureus</i>	393	44.3
Estreptococos ambientales	<i>Streptococcus uberis</i> , <i>Streptococcus dysgalactiae</i> , <i>Streptococcus bovis</i> , <i>Streptococcus canis</i> , <i>Streptococcus equisimilis</i> , <i>streptococcus zooepidemicus</i> , <i>Streptococcus no agalactiae</i>	235	26.5
Contagiosos	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Corynebacterium spp.</i>	103	11.6
Coliformes ambientales	BGN, <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> y <i>oxytoca</i>	38	4.3
	No se aísla microorganismos	86	9.7
	CCS menos a 500000 cel/ml	29	3.3
	Muestra contaminada	3	0.3
TOTAL		887	100

Factores de riesgo asociados a mastitis subclínica

La tabla 3-3 resume los factores de riesgo nivel cuarto y vaca asociados a MS. El riesgo de presentar esta enfermedad es mayor en aquellos cuartos que tienen heridas o alteraciones en la punta de los pezones, adicionalmente, la carencia de adecuada higiene de la glándula mamaria en el ordeño aumenta el riesgo de aparición de MS en el cuarto. Las vacas que producen más de 10 litros de leche al día son ordeñadas de forma mecánica y tienen más de 200 días en lactancia presentan mayor riesgo de contraer algún patógeno asociado a la infección con MS. Se evaluaron las interacciones entre las variables respuesta de los modelos de regresión logística binaria y no se encontraron relaciones

entre ellas; la bondad del ajuste de Hosmer-Lemeshow indica que el modelo propuesto se ajusta a lo observado ($p=0.861$).

Tabla 3-3: Factores de riesgo nivel cuarto e individuo asociados con la ocurrencia de MS en Bovinos lecheros de la provincia de Ubaté, Cundinamarca entre los años 2016-2018

Variable	Categoría	n	Riesgo Relativo (RR)	95% C.I.		p
				Inferior	Superior	
Hiperqueratosis punta de pezón	Ausencia	2239				
	Presencia	11	3.2	1.3	4.5	0.015
Método de ordeño	Manual	1713				
	Mecánico	537	2.0	1.7	2.3	0.000
Higiene de la glándula mamaria	Limpia	1475				
	Sucia-muy sucia	188	1.9	1.6	2.3	0.000
Días en lactancia	Menor igual a 200	878				
	Mayor a 200	785	1.8	1.6	2.1	0.000
Papilomas en punta de pezón	Ausencia	1868				
	Presencia	74	1.8	1.3	2.3	0.001
Número de partos	Primer parto	332				
	2 o más partos	1331	1.5	1.2	1.9	0.000
Herida en pezón	Ausencia	1764				
	Presencia	102	1.4	1.1	1.9	0.031
Prolapso punta de pezón	Ausencia	1753				
	Presencia	117	1.4	1.1	1.9	0.023
Raza	Holstein	991				
	Otras razas	672	1.3	1.1	1.5	0.001

RR (Riesgo Relativo)

95% IC (Intervalo de confianza del 95%)

$p < 0.05$ es estadísticamente significativo

No se encontró interacción con los términos de interacción incluidos en el modelo

Las tablas 3-4 y 3-5 resumen los factores de riesgo de manejo del hato y la rutina de ordeño asociados a la incidencia de MS. Los hatos en los cuales la prevalencia de heridas y papilomas en la punta del pezón fue superior a 5% tuvieron mayor riesgo de presentar alta incidencia de MS, de la misma forma se encontró asociación entre la alta prevalencia de la forma clínica de la enfermedad y la incidencia de la forma subclínica de esta.

Tabla 3-4: Factores de riesgo nivel hato (Características y manejo general) para la presentación de MS en Bovinos lecheros de Ubaté, Cundinamarca entre 2016-2018

Variable	Categoría	n	Riesgo Relativo (RR)	95% C.I.		p
				Inferior	Superior	
Prevalencia MC	Menor o igual al 5%	350	3.9	1.6	4.8	0.011
	Mayor a 5%	13				
Método de ordeño	Manual	336	3.7	2.4	4.5	0.000
	Mecánico	39				
Prevalencia herida pezones	Menor o igual al 5%	361	3.0	1.4	4.3	0.012
	Mayor a 5%	14				
Lugar de ordeño	Ordeño en potrero	310	2.9	1.4	4.2	0.009
	Otro	13				
Ropa para ordeño	Sí	53	2.9	1.7	4.0	0.001
	No	318				
Estado de la ropa de ordeño	Limpia	259	2.7	1.5	3.8	0.003
	Sucia	44				
Prevalencia papiloma en pezones	Menor o igual al 5%	321	2.5	1.5	3.5	0.002
	Mayor a 5%	32				
Promedio de días en lactancia	Menor igual a 200	226	2.1	1.4	2.9	0.001
	Mayor a 200	149				
Producción promedio por vaca	Menor igual a 10 litros/día	192	2.1	1.4	2.8	0.000
	Mayor a 10 litros/día	179				
Calidad agua	Buena	184	2.0	1.4	2.7	0.001
	Regular-Mala	119				
Uso de antibiótico al secado	Sí	234	1.9	1.2	2.7	0.008
	No	141				
Presencia de moscas sobre la glándula mamaria	No	170	1.9	1.2	2.6	0.006
	Sí	154				
Número de ordeñadores	1 ordeñador	177	1.8	1.2	2.6	0.006
	Más de 1 ordeñador	186				
Método de secado	Radical	49	1.9	1.2	2.5	0.022
	Progresivo	322				
Recorte de pelos de la cola	Sí	78	1.8	1.1	2.8	0.029
	No	174				

RR (Riesgo Relativo)

95% IC: Intervalo de confianza 95%

p<0.05 es estadísticamente significativo

No se encontró asociación con los términos de interacción incluidos en el modelo

Características y manejo general del hato

Los hatos con ordeño mecánico tuvieron casi 4 veces más probabilidades de presentar alta incidencia de esta enfermedad en comparación con aquellos donde se ordeñaba de forma manual, por otra parte, hatos en los cuales las vacas eran ordeñadas en instalaciones con pisos de cemento, grava o tierra presentaron casi tres veces mayor probabilidad de presentar alta incidencia de MS.

La forma en que se maneja un hato puede influir negativa o positivamente en el establecimiento de enfermedades que afectan la producción; los hatos que contaban con más de un ordeñador tuvieron casi 2 veces mayor probabilidad de presentar alta incidencia de MS en comparación con los hatos donde solo una persona fue la encargada de realizar el ordeño de la o las vacas (RR=1.8, IC 95% (1.2 – 2.6), p=0.006). Hatos en los cuales los ordeñadores usaban la ropa de trabajo de diario para ordeñar en vez de usar ropa o dotación exclusiva para hacer esta tarea tuvieron 3 veces mayor probabilidad de presentar alta incidencia de MS, de forma similar, aquellos hatos en los cuales la ropa usada por los ordeñadores se encontraba sucia mostraron tener mayor aparición de nuevos casos de MS (RR= 2.7, IC 95% (1.5 – 3.8), p=0.003).

Hatos con vacas con promedios de días en lactancia superiores a 200 días que además fueron secadas de forma progresiva y en las cuales no se usó antibiótico de secado presentaron mayor riesgo de mostrar elevados casos de MS. Entre otros factores asociados a la presentación de MS se identificaron el uso de agua proveniente de ríos, vallados y pozos, a los cuales no se hacía ningún tipo de tratamiento antes de su uso, la presencia de moscas en altas densidades sobre la glándula mamaria y la no realización de recorte de los pelos de la cola de las vacas en ordeño.

Los hatos en los cuales los ordeños se llevaban a cabo sin que los ordeñadores usaran guantes para manipular la glándula mamaria y extraer la leche de las mismas tuvieron 2 veces más probabilidad de presentar nuevos casos de vacas enfermas con mastitis clínica versus aquellos donde era parte indispensable de la rutina el uso adecuado de guantes para realizar dicha actividad (R.R: 1.9, I.C: 1.1 – 2.7, p=0.015), adicionalmente, aquellos hatos en los que los ordeñadores no tenían como rutina el lavado de manos de manos antes de comenzar a ordeñar, presentaron mayor riesgo de tener elevados casos nuevos de infecciones con patógenos causales de MS.

Tabla 3-5: Factores de riesgo nivel hato (Rutina de ordeño) asociados a la presentación de MS en la provincia de Ubaté

Variable	Categoría	n	Riesgo	95% C.I.		p
			Relativo (RR)	Inferior	Superior	
Rutina de ordeño	Lavado de manos entre ordeños	Sí	71			
		No	253	2.6	1.5	3.7
	Lavado de manos previo a ordeño	Sí	278			
		No	85	2.1	1.4	2.9
	Uso adecuado de desinfectante preordeño	Sí	67			
		No	214	2.5	1.7	3.3
	Uso adecuado de desinfectante post ordeño	Sí	246			
		No	117	2.5	1.7	3.2
	Escurrido cuartos al final del ordeño	No	112			
		Sí	140	1.9	1.2	2.7
	Uso de guantes para ordeñar	No	232			
		Sí	49	1.9	1.1	2.7
	Lugar/utensilio donde se despunta	No despunte - otro	239			
		Piso	85	1.8	1.1	2.6
Despunte	No	81				
	Sí	231	1.7	1.1	2.3	0.015

RR (Riesgo Relativo)

95% IC (Intervalo de confianza 95%)

p<0.05 es estadísticamente significativo

No se encontró asociación con los términos de interacción incluidos en el modelo

Aquellos animales en hatos en los cuales durante la ejecución de la rutina de ordeño no se usaba adecuadamente el desinfectante pre-ordeño y post-ordeño, presentaron mayor riesgo de presentar mastitis subclínica comparados con hatos donde estas prácticas sí se realizaban correctamente (RR= 2.5, IC 95% (1.7 – 3.3), p=0.000; RR= 2.5, IC 95% (1.7 – 2.2), p=0.000, respectivamente). El término “escurrido” se emplea para describir la práctica en la cual el ordeñador extrae de forma manual la leche residual de la glándula mamaria al final del ordeño; aquellos hatos en los cuales las vacas fueron expuestas a esta práctica tuvieron 1.9 veces también un riesgo aumentado de mastitis subclínica versus hatos en los que esta práctica no fue realiza (R.R: 1.9, I.C: 1.2 – 2.7, p=0.006). Adicionalmente en los hatos en los cuales el despunte o eliminación de los dos a tres primeros chorros de leche previos al ordeño fue realizado presentaron mayor cantidad de casos nuevos de MS, de

similar forma, aquellos hatos en los cuales este despunte terminaba en el suelo o lugar de ordeño en vez de en una vasija o utensilio para despunte presentaron alta incidencia de MS.

Relación entre la prevalencia de MS y el conteo de células somáticas de cantinas

La tabla 3-6 muestra la relación entre el CCSC y la prevalencia de MS en los hatos de la provincia de Ubaté. La relación entre las dos variables evaluadas fue significativa ($p=0.000$), así, la recta que relaciona el CCSC y la prevalencia de MS es:

$$Y = 85.786 + 7.327 X$$

El error típico de la pendiente se estableció en 0.116 y el coeficiente de determinación (R^2) del modelo de regresión lineal simple fue de 0.637. Se rechazó la hipótesis nula de la prueba de ajuste del modelo por lo tanto no hay razón para dudar en la validez de este, se confirmaron los supuestos de normalidad, independencia y homogeneidad de la varianza del error a través del análisis de los residuos.

Tabla 3-6: Relación entre el conteo de células somáticas de cantina y la prevalencia de mastitis subclínica en hatos de la provincia de Ubaté

Prevalencia de MS %	CCSC ($\times 10^3$) cel/mL		Clasificación
0 - 10	85.8	159.1	Baja prevalencia
11 - 20	166.4	232.3	
21 - 30	239.6	305.6	Moderada prevalencia
31 - 40	312.9	378.9	
41 - 50	386.2	452.1	Alta prevalencia
51 - 60	459.4	525.4	
61 - 70	532.7	598.7	
71 - 80	606.0	671.9	
81 - 90	679.2	745.2	
91 - 100	752.5	818.5	

Los hatos con CCSC entre 85.800 – 232.300 cel/mL se consideraron con riesgo bajo de presentación de Mastitis subclínica, mientras aquellos con CCSC entre 232.301 – 378.900 cel/mL y entre 378.901 – 818.500 fueron considerados con riesgo medio y alto de presentación de MS respectivamente.

3.4 Discusión

La mastitis subclínica es una enfermedad altamente prevalente en sistemas productivos lecheros en Colombia. La prevalencia individual de MS observada en el presente estudio varió entre 26 - 48% mientras la prevalencia de cuartos afectados varió entre 14-26%. Este resultado es comparable con un reporte de las cuencas lecheras de Antioquia en el cual los resultados oscilaron entre el 37-42% de los animales y entre el 17-21% de los cuartos de animales en producción (N. Ramírez et al., 2011; N. F. Ramírez et al., 2014; C. M. Trujillo et al., 2011), y similar a lo observado en las cuencas del Altiplano Cundiboyacense en las cuales se reportó entre 31 – 48% por animal (Calderón & Rodríguez, 2008; Martínez, 2006) y entre 18 – 49% por cuarto afectado (Calderón & Rodríguez, 2008; Caro-carvajal, 2014; Martínez, 2006; A. P. Trujillo et al., 2009). Los estudios indican que, en las principales zonas de lechería especializada del país, la mastitis subclínica es una enfermedad frecuente que afecta a un número importante de animales, y refleja el alto riesgo de infección en sistemas de producción lechero con base en pastoreo de pequeños y medianos productores.

En la actualidad no se conocen reportes sobre la tasa de incidencia acumulada de MS en Colombia que permitan hacer un seguimiento del riesgo temporal de la misma y con los cuales se pueda comparar los resultados obtenidos en el estudio. Estudios de otros países han reportado la incidencia acumulada de MS entre 22 – 32 nuevos casos/100 animales a riesgo por año (Bonifaz & Colango, 2016; Cheng et al., 2010), en contraste con nuestros resultados donde la incidencia acumulada de mastitis subclínica se estimó entre 12 - 37 casos nuevos/100 vacas a riesgo por año y entre 7 – 25 nuevos casos/100 cuartos a riesgo por año, los resultados de estos estudios similares indican una alta incidencia acumulada de MS en la Provincia de Ubaté. Por otra parte, la tasa de incidencia de MS por animal y por cuarto observada en el este estudio se estableció respectivamente en 8 – 20 casos nuevos / 100 animales-año riesgo y en 5 – 14 nuevos casos/ 100 cuartos-año a riesgo, valores menores a los reportados en Brasil y México y Canadá donde esta medida se estableció en 20, 29 y 36 casos nuevos / 100 animales-año riesgo respectivamente (Busanello et al., 2017; Dufour & Dohoo, 2013; González-Sedano et al., 2010). El resultado de la TIMS se puede explicar por el bajo riesgo que representa el sistema de manejo en pastoreo con ordeño manual respecto a sistemas de manejo en semi-estabulación con ordeño mecánico (Morton et al., 2014; Ruegg, 2017), en los cuales tras lograr un control eficiente de microorganismos contagiosos presentan un aumento en la aparición de

mastitis subclínica a causa de microorganismos ambientales los cuales se encuentran en gran proporción en camas, pasillos e instalaciones con deficiente higiene (Ruegg, 2012a). La ocurrencia de esta enfermedad se cree es el resultado de la falta de higiene durante el ordeño unido a factores como el ordeño de pezones húmedos e inadecuado uso del desinfectante pre y post-ordeño, (Morton et al., 2014), los cuales fueron factores asociados con la infección en este estudio, y que favorecen altas cargas y colonización de bacterias medioambientales (Leelahapongsathon et al., 2014; N. F. Ramírez et al., 2014; Ruegg, 2012b).

Los factores que favorecen la aparición de mastitis subclínica no son muy diferentes de aquellos asociados a la presentación de mastitis clínica y de manera similar a lo discutido en el capítulo dos, las lesiones en la piel de los pezones, en algunos caso ocasionadas por la presencia de moscas sobre la glándula mamaria, y la alta prevalencia papilomas, hiperqueratosis y prolapsos en los hatos, favorece la proliferación de estafilococos coagulasa negativos (De Visscher et al., 2014), trayendo como consecuencia la formación de fuentes de bacteria sobre la piel (Meglia & Mata, 2001) que, en presencia de incorrectos procesos de ordeño, como las fallas en desinfectar efectivamente el pezón, pueden ocasionar mastitis luego de la colonización de la glándula mamaria a través del esfínter del pezón (Meglia & Mata, 2001; Sarker et al., 2013); cada uno de estos factores de riesgo se hicieron visibles en el estudio, así, los animales que presentaban cualquier tipo de herida en el pezón o los hatos que presentaban altas prevalencia de la entidad tuvieron mayor riesgo de MS, adicionalmente el riesgo parece hacerse mayor cuando se presenta compromiso del esfínter del pezón a causa de papilomas, heridas, hiperqueratosis y prolapsos como se presentó anteriormente (de Pinho Manzi et al., 2012; Paduch et al., 2012).

Por otra parte, la incidencia de MS se ha asociado con algunos factores como el número de partos, duración de la lactancia, acceso a pastura, manejo y factores ambientales (Laevens et al., 1997) algunos de los cuales fueron observados en este estudio. Adicionalmente, la suciedad de la glándula mamaria ha sido asociada con la transmisión de patógenos medioambientales y estafilococos coagulasa negativos (Leelahapongsathon et al., 2014; Schreiner & Ruegg, 2002), sugiriendo que los animales con un puntaje de suciedad alto, podrían tener una mayor incidencia de mastitis (de Pinho Manzi et al., 2012). Se puede sumar el encharcamiento, acúmulo de barro y materia fecal en los sitios de ordeño, además de miembros posteriores y colas sucias, donde se puede presumir una

alta carga de microorganismos medioambientales (Klaas & Zadoks, 2017; Ruegg, 2017). Factores adicionales como la falta de higiene de las manos de los ordeñadores, la falla del adecuado secado de los pezones, el uso de ropa sucia y no apta para el ordeño y la presencia de moscas sobre la glándula mamaria, contribuyen de manera importante a generar una alta carga bacteriana que puede influir en la mayor contaminación de la glándula mamaria en estos sistemas (Mungube et al., 2004).

Se pudo estimar una relativamente alta prevalencia de microorganismos contagiosos, los cuales se aislaron en 12% de las muestras de leche de animales con MS. Se ha descrito que el riesgo de transmisión de estos microorganismos aumenta por el inadecuado uso de guantes y desinfectantes pre-ordeño, así como por el uso de equipos de ordeño con poco mantenimiento o mal calibrados (Centers for Epidemiology and Animal Health, 2008; Keefe, 2012; National Mastitis Council, 2015a; Ruegg, 2012b). Estos hallazgos en conjunto evidencian su importante participación en el entendimiento de la epidemiología de la transmisión de este tipo de microorganismos y la presentación de MS en el presente estudio. Evidencia de estas situaciones en la región se pudo comprobar al observar que la realización del mantenimiento y calibración de los equipos podía tener intervalos hasta de dos años. Adicionalmente, la rutina de lavado de estos se realizaba después de cada ordeño únicamente con agua y jabones anti-grasa usados en cocina no diseñados para el lavado de equipos y los detergentes (Ácidos y alcalinos) solo se utilizaba una sola vez a la semana unido a esto, no se realizaba identificación ni segregación de vacas infectadas con mastitis razón por la cual es posible sugerir un rol importante de estos animales en la transmisión de este tipo de microorganismos en los hatos. Se ha reportado que la falta de higiene (De Visscher et al., 2014), sumado a la implementación de prácticas inadecuadas de mantenimiento y desinfección del equipo han sido factores determinantes en la transmisión de patógenos contagiosos (National Mastitis Council, 2015a; Ruegg, 2012b; Zadoks et al., 2001).

La detección temprana de MC reduce el riesgo de presentación de nuevos casos de MS ya que permite la adopción temprana de medidas de control y tratamiento interviniendo de forma oportuna en la transmisión de la infección entre vacas (Mekonnen et al., 2017). La alta prevalencia de MC se identificó como factor de riesgo nivel hato en este estudio lo cual sugiere que la posibilidad que los cuartos afectados pueden comportarse como fuente de microorganismos patógenos aumentando el riesgo de transmisión y presentación de la forma subclínica de la enfermedad (Leelahapongsathon et al., 2014) siendo mayor la

transmisión en condiciones anteriormente descritas. Por otra parte, es posible que los casos de MC que no son adecuadamente tratados, ya sea porque el diagnóstico no fue oportuno o el tratamiento antibiótico no fue adecuado, predisponen a la aparición de casos crónicos de MS los cuales juegan un papel importante en la diseminación de la enfermedad en los hatos (Mekonnen et al., 2017). El despunte de leche en el suelo del lugar donde se ordeña podría tener una relación importante con la carga microbiológica ambiental en hatos donde el ordeño se realiza en el potrero y en la epidemiología de la transmisión de patógenos desde cuartos afectados al ambiente de las vacas; los microorganismos ambientales y algunos estafilococos coagulasa negativo están adaptados a condiciones de alta humedad y exceso de materia orgánica como barro y materia fecal (Munoz et al., 2008; Tomazi et al., 2018) y es posible suponer que la eliminación de leche de contaminada directamente en los potreros, favorece la aparición de nichos de bacterias con potencial de infección que en condiciones de inadecuados procesos de ordeño generan la aparición de nuevos casos de mastitis.

La administración intramamaria de antibióticos al final de la lactancia o terapia de secado de las vacas es importante para eliminar infecciones existentes y prevenir la aparición nuevas infecciones (Dingwell, Kelton D F, Leslie K E, & Edge V L, 2001). El no uso de antibiótico al final de lactancia fue identificado como un factor de riesgo en la presentación de MS, este hallazgo enfatiza en la importancia de la realización de esta práctica en hatos de alta incidencia de la enfermedad y es considerado un punto importante en la prevención y el control de mastitis causada por microorganismos contagiosos (Ruegg, 2012b). Por otra parte, los hatos en los cuales el secado de las vacas se realizó de forma progresiva se asociaron a mayor presentación de casos de mastitis subclínica; la producción de leche de los animales estudiados es comparativamente baja y la reducción en la producción de leche al final de la lactancia no es necesaria (Mungube et al., 2004), adicionalmente, la leche de animales con baja producción contiene mayores concentraciones de factores protectores como lactoferrina, inmunoglobulinas y células fagocíticas (Dingwell et al., 2001) los cuales al ser eliminados intermitentemente predisponen a la glándula mamaria a infecciones al final de la lactancia.

La mastitis subclínica se caracteriza por aumentar el recuento de células somáticas de la leche (Bhutto et al., 2012) y dicho aumento ha sido usado ampliamente como un indicador de infección intramamaria (Barkema et al., 1999). Este indicador varía de acuerdo con la ocurrencia de la enfermedad en el hato y es atribuible a infecciones con patógenos

específicos (Keefe, 2012). Es de esperar que hatos con alta prevalencia de MS presenten altos conteos de células somáticas en leche de tanque sin embargo, no todos los agentes causales de esta enfermedad generan la misma respuesta inmunológica celular y esto podría generar variaciones importantes en este parámetro (Ruegg, 2012b). En este estudio se determinó que los hatos con menores prevalencias de mastitis subclínica presentaron más bajos recuentos de células somáticas en cantina mientras aquellos con prevalencias superiores presentaron recuentos más altos de este parámetro, aunque el resultado obtenido no se asoció con los resultados microbiológicos de las muestras de leche de vacas con mastitis subclínica, este resultado es un indicador de la prevalencia de la enfermedad y podría ser usado para dirigir medidas de control y prevención a hatos con alta y moderada prevalencia en aquellas zonas donde no es posible hacer monitoreo constante a todos individuos. El monitoreo de este parámetro a lo largo del tiempo brinda la oportunidad de evaluar el progreso y estimar la eficacia de los programas de control de mastitis bovina además en el caso de los hatos de la provincia de Ubaté, podría ser implementado como indicador de intervención en hatos con valores altos de este indicador.

3.5 Conclusiones

La tasa de incidencia de mastitis subclínica observada en la Provincia de Ubaté fue de 8.0 – 20.0 casos-100 animales a riesgo-año, y la prevalencia varió entre 25.0 -48.0 %. En su mayoría los casos detectados fueron causados por estafilococos coagulasa negativo (44 %) estreptococos ambientales (26%). Se identificaron causas multifactoriales tanto a nivel individuo como de hato. Situaciones individuales como la suciedad de la glándula mamaria, las lesiones de piel y del esfínter del pezón, y de nivel hato como la falta de ropa limpia para el ordeño, la calidad del agua, la presencia de moscas sobre la glándula mamaria, la falta de aseo de las manos, el inadecuado uso de desinfectantes pre-ordeño, y la baja tasa de tratamiento en el periodo seco, juegan un papel fundamental en la epidemiología de la mastitis subclínica en la región. Sin duda la identificación de estos factores de riesgo contribuirá de manera importante en el establecimiento de medidas de prevención encaminadas al control de la transmisión de patógenos causantes de mastitis.

De manera adicional, el monitoreo periódico del conteo de células somáticas en cantinas de leche brinda la oportunidad de evaluar el progreso de la eficacia de los programas de control y prevención de mastitis bovina, y puede ser implementado como un método de

vigilancia epidemiológica al ser utilizado como un indicador de intervención en hatos de alto riesgo.

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1. Conclusiones

La incidencia anual de MC fue de 2.0 – 4.0 casos nuevos /100 animales-año riesgo, mientras para mastitis subclínica esta se estableció entre 8.0 – 20.0 casos-100 animales a riesgo-año. La prevalencia de mastitis clínica y subclínica varió entre 0.5- 1.1% y entre 25.0 -48.0 %, respectivamente

Las infecciones de mastitis tanto clínicas como subclínicas identificadas en este estudio fueron causadas en su mayoría por estafilococos coagulasa negativo (43-44%) y estreptococos ambientales (32-26%) y su presentación fue asociada con factores nivel individual como grado de suciedad de la glándula mamaria y presencia lesiones en los pezones y de nivel hato como uso de ropa sucia o no adecuada para ordeñar, la mala calidad percibida del agua usada para lavar los pezones, la falta de aseo de las manos y el inadecuado uso del desinfectante pre-ordeño.

El bajo aislamiento de bacterias coliformes de muestras de leche de vacas con mastitis clínica (2%) explica el comportamiento de esta enfermedad en hatos de la provincia de Ubaté, donde la presentación de signos clínicos sistémicos asociados a MC es muy baja, adicionalmente, evidencia el bajo riesgo de presentación de esta en sistemas en pastoreo.

En este estudio se determinaron diferentes factores de riesgo asociados con la presentación de mastitis bovina clínica y subclínica los cuales deben ser considerados en el control de esta enfermedad, sin embargo, debería prestarse mayor atención a aquellos relacionados con la higiene y rutina de ordeño ya que estos se han descrito como factores asociados con la presentación de mastitis causada por estafilococos coagulasa negativa y estreptococos ambientales que finalmente fueron los más prevalentes en vacas afectadas por esta enfermedad.

Aumentar la tasa de uso de medicamentos en el periodo seco debe ser un factor importante por considerar en el diseño de programas de prevención y control de la mastitis subclínica, ya que su uso ha demostrado no solo ser importante en la eliminación infecciones existentes sino también en la prevención de la aparición nuevos casos de enfermedad.

El monitoreo periódico del conteo de células somáticas de cantina a largo del tiempo brinda la oportunidad de evaluar el progreso y estimar la eficacia de los programas de control de mastitis bovina además en el caso de los hatos de la provincia de Ubaté, podría ser implementado como indicador de intervención en hatos altos recuentos de estas células en la leche de cantinas.

4.2. Recomendaciones

- Implementar y/o mejorar la rutina de ordeño en los sistemas productivos de la provincia de Ubaté es necesario para intervenir de forma efectiva con la transmisión de bacterias patógenas causales de mastitis bovina.
- Las prácticas de higiene relacionadas con el lugar donde se obtiene la leche, la higiene personal y de los animales ordeñados deben ser mejoradas con el fin de disminuir los riesgos de infección y presentación de mastitis bovina, esto se puede lograr a través de la continua capacitación y entrenamiento del personal encargado del ordeño.
- Es importante capacitar al personal encargado del manejo de los animales en los hatos en las medidas básicas de higiene para la obtención de leche de manera inocua, adicionalmente se debe ofrecer entrenamiento en buenas prácticas de manejo y de ordeño.
- Se debe diagnosticar oportunamente los casos de mastitis subclínica en campo; adicionalmente es importante determinar el agente causal y la sensibilidad antibiótica de los mismos con el fin de escoger adecuadamente los antibióticos para el tratamiento de casos de mastitis clínica y terapia de vaca seca.
- Utilizar las medidas de enfermedad para la vigilancia epidemiológica de esta enfermedad en los hatos.

- Adoptar el sistema de clasificación de hatos de acuerdo al recuento de células somáticas en cantinas como un indicador de la ocurrencia de esta enfermedad con el fin de dirigir

5. Bibliografía

- Adkins, P. R. F., & Middleton, J. R. (2018). Methods for Diagnosing Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 34(3), 479–491. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.07.003>
- Akers, R. M. (2017). A 100-Year Review: Mammary development and lactation. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10332–10352. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2017-12983>
- Almeida, A., Albuquerque, P., Araujo, R., Ribeiro, N., & Tavares, F. (2013). Detection and discrimination of common bovine mastitis-causing streptococci. *Veterinary Microbiology*, 164(3–4), 370–377. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.03.011>
- Andersen, S., Dohoo, I. R., Olde Riekerink, R., & Stryhn, H. (2010). Diagnosing intramammary infections: Evaluating expert opinions on the definition of intramammary infection using conjoint analysis. *Journal of Dairy Science*, 93(7), 2966–2975. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2726>
- Anderson, S. M., MacLean, P. S., McManaman, J. L., & Neville, M. C. (2015). Chapter 46 - Lactation and its Hormonal Control. In T. M. Plant & A. J. B. T.-K. and N. P. of R. (Fourth E. Zeleznik (Eds.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (pp. 2055–2105). San Diego: Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397175-3.00046-6>
- Auldust, M. (2011). Milk Quality and Udder Health | Effect on Processing Characteristics A2 - Fuquay, John W. BT - Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition) (pp. 902–907). San Diego: Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374407-4.00354-X>
- Bachaya, H. A., Raza, M. A., Murtaza, S., & Akbar, I. U. R. (2011). Subclinical bovine mastitis in Muzaffar Garh district of Punjab (Pakistan). *Journal of Animal and Plant Sciences*, 21(1), 16–19. Retrieved from [http://thejaps.org.pk/docs/21\(1\)2011/SUBCLINICAL-BOVINE.pdf](http://thejaps.org.pk/docs/21(1)2011/SUBCLINICAL-BOVINE.pdf)
- Barkema, H. W., Van der Ploeg, J. D., Schukken, Y. H., Lam, T. J. G. M., Benedictus, G., & Brand, A. (1999). Management Style and Its Association with Bulk Milk Somatic Cell Count and Incidence Rate of Clinical Mastitis. *Journal of Dairy Science*, 82(8), 1655–1663. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(99\)75394-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(99)75394-4)
- Becerra, A., José, R., Carvajal, C., Elizabeth, Z., Eugenia, A., Científica, R., & Zulia, U. (2014). Redalyc.Prevalencia de mastitis subclínica bovina y su etiología infecciosa en fincas lecheras del altiplano boyacense (Colombia). *Red de Revistas Científicas de*

- América Latina, El Cribre, España y Portugal*, 24(4), 305–310.
- Bhutto, a. L., Murray, R. D., & Woldehiwet, Z. (2012). California mastitis test scores as indicators of subclinical intra-mammary infections at the end of lactation in dairy cows. *Research in Veterinary Science*, 92(1), 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.10.006>
- Bonifaz, N., & Colango, F. (2016). Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de California Mastitis Test con identificación del agente etiológico, en Paquiestancia, Ecuador. *La Granja: Revista de Ciencias de La Vida*, 24(2), 43–52. <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.04>
- Bonifaz, N., & Conlago, F. (2016). Prevalencia e incidencia de mastitis bovina mediante la prueba de California Mastitis Test con identificación del agente etiológico, en Paquiestancia, Ecuador. *La Granja*, 24(2), 43–52. <https://doi.org/10.17163/lgr.n24.2016.04>
- Bradley, A. J. (2002). Bovine Mastitis: An Evolving Disease. *The Veterinary Journal*, 164(2), 116–128. <https://doi.org/10.1053/tvjl.2002.0724>
- Bradley, A. J., Leach, K. A., Breen, J. E., Green, L. E., & Green, M. J. (2007). Survey of the incidence and aetiology of mastitis on diary farms in England and Wales. *Veterinary Record*, 160(8), 253–258. <https://doi.org/10.1136/vr.160.8.253>
- Bravo, K. (2009). DE LA X REGIÓN " " STUDY OF INCIDENCE AND PREVALENCE OF MASTITIS AND ITS ECONOMIC IMPACT ON DAIRIES OF X REGION ", 61.
- Breen, J. E., Green, M. J., & Bradley, a J. (2009). Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. *Journal of Dairy Science*, 92(6), 2551–61. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1369>
- Busanello, M., Rossi, R. S., Cassoli, L. D., Pantoja, J. C. F., & Machado, P. F. (2017). Estimation of prevalence and incidence of subclinical mastitis in a large population of Brazilian dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 100(8), 6545–6553. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2016-12042>
- Busato, A., Trachsel, P., Schällibaum, M., & Blum, J. W. (2000). Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. *Preventive Veterinary Medicine*, 44(3–4), 205–220. [https://doi.org/10.1016/S0167-5877\(00\)00104-5](https://doi.org/10.1016/S0167-5877(00)00104-5)
- Calderón, A., & Rodríguez, V. (2008). Prevalencia de mastitis bovina y su etiología infecciosa en sistemas especializados en producción de leche en el altiplano cundiboyacense (Colombia). *Revista Colombiana de Ciencias ...*, 21, 582–589. Retrieved from <http://rccp.udea.edu.co/index.php/ojs/article/view/369>
- Caro-carvajal, Z. E. (2014). Prevalence of Mastitis Causing - Bacteria in the Milking Farms of Toca (Boyacá , Colombia). *Ciencia y Agricultura*, 11(1), 47–53.
- Carrillo-casas, E. M., & Miranda-morales, R. E. (2012). Bovine Mastitis Pathogens : Prevalence and Effects on Somatic Cell Count. *Intech Open Science*, 17, 360–373.

- <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/51032>
- Centers for Epidemiology and Animal Health. (2008). *Prevalence of Contagious Mastitis Pathogens on U . S . Dairy Operations , 2007. animal and plant health inspection service info sheet.*
- Cheng, D. R., Zhu, S. Y., Yin, Z. H., Ding, W. W., Mu, Z. X., Su, Z. R., & Sun, H. C. (2010). Prevalence of bacterial infection responsible for bovine mastitis. *J Microbiol*, 4(11), 1110–6.
- de Pinho Manzi, M., Nóbrega, D. B., Faccioli, P. Y., Troncarelli, M. Z., Menozzi, B. D., & Langoni, H. (2012). Relationship between teat-end condition, udder cleanliness and bovine subclinical mastitis. *Research in Veterinary Science*, 93(1), 430–434. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2011.05.010>
- De Visscher, A., Supré, K., Haesebrouck, F., Zadoks, R. N., Piessens, V., Van Coillie, E., ... De Vliegher, S. (2014). Further evidence for the existence of environmental and host-associated species of coagulase-negative staphylococci in dairy cattle. *Veterinary Microbiology*, 172(3–4), 466–474. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.06.011>
- Dingwell, R. T., Kelton D F, Leslie K E, & Edge V L. (2001). Deciding To Dry-Off: Does Level of Production Matter? *National Mastitis Council Annual Meeting*, (January), 69–79.
- Dohoo, I. R., & Meek, A. H. (1982). Somatic cell counts in bovine milk. *The Canadian Veterinary Journal. La Revue Vétérinaire Canadienne*, 23(4), 119–25. Retrieved from <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1790153&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
- Dufour, S., & Dohoo, I. R. (2013). Monitoring herd incidence of intramammary infection in lactating cows using repeated longitudinal somatic cell count measurements. *Journal of Dairy Science*, 96(3), 1568–80. <https://doi.org/10.3168/jds.2012-5902>
- Dyce, K. M., Sack, W. O., & Wensing, C. J. G. (2018). *Textbook of Veterinary Anatomy. Equine Veterinary Journal* (4th Editio, Vol. 20). American Medical Association (AMA). <https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1988.tb01554.x>
- El-Sayed, A., Awad, W., Abdou, N.-E., & Castañeda Vázquez, H. (2017). Molecular biological tools applied for identification of mastitis causing pathogens. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 5(2), 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.ijvsm.2017.08.002>
- FAO. (2013). *Milk and dairy products in human nutrition.* (E. Muehlhoff, A. Bennett, & D. McMahon, Eds.), *Milk and Dairy Products in Human nutrition.* Roma. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/018/i3396e/i3396e.pdf>
- Ferraro, L., Scaramelli, A., & Troya, H. (1999). Prevalencia de la mastitis subclínica bovina en Venezuela y evaluació de la prueba de mastitis california (CMT) como prueba diagnóstica. *Revista Científica, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Del Zulia*, IX(2), 81–90.

- Fry, P. R., Middleton, J. R., Dufour, S., Perry, J., Scholl, D., & Dohoo, I. (2014). Association of coagulase-negative staphylococcal species, mammary quarter milk somatic cell count, and persistence of intramammary infection in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, *97*(8), 4876–85. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7657>
- Gao, J., Barkema, H. W., Zhang, L., Liu, G., Deng, Z., Cai, L., ... Han, B. (2017). Incidence of clinical mastitis and distribution of pathogens on large Chinese dairy farms. *Journal of Dairy Science*, *100*(6), 4797–4806. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2016-12334>
- Giannechini, R., Concha, C., Rivero, R., Delucci, I., & Moreno López, J. (2002). Occurrence of clinical and sub-clinical mastitis in dairy herds in the west littoral region in Uruguay. *Acta Veterinaria Scandinavica*, *43*(4), 221–230. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-43-221>
- Gonçalves, J. L., Kamphuis, C., Martins, C. M. M. R., Barreiro, J. R., Tomazi, T., Gameiro, A. H., ... dos Santos, M. V. (2018). Bovine subclinical mastitis reduces milk yield and economic return. *Livestock Science*, *210*(January), 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2018.01.016>
- Gonçalves, J. L., Tomazi, T., Barreiro, J. R., Beuron, D. C., Arcari, M. A., Lee, S. H. I., ... Santos, M. V. dos. (2016). Effects of bovine subclinical mastitis caused by *Corynebacterium* spp. on somatic cell count, milk yield and composition by comparing contralateral quarters. *Veterinary Journal*, *209*, 87–92. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2015.08.009>
- González-Sedano, M., Marin-Mejia, B., Maranto, M. I., Leme de Magalhães-Labarthe, A. C., & Alonso-Diaz, M. A. (2010). Effect of residual calf suckling on clinical and sub-clinical infections of mastitis in dual-purpose cows: Epidemiological measurements. *Research in Veterinary Science*, *89*(3), 362–366. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2010.04.002>
- Gorewit, R. C. (1988). Lactation Biology and Methods of Increasing Efficiency. In *Designing Foods: Animal product options in the marketplace* (pp. 345–355). <https://doi.org/10.17226/661>
- Green, M. J., Bradley, A. J., Medley, G. F., & Browne, W. J. (2007). Cow, Farm, and Management Factors During the Dry Period that Determine the Rate of Clinical Mastitis After Calving. *Journal of Dairy Science*, *90*(8), 3764–3776. <https://doi.org/10.3168/jds.2007-0107>
- Gröhn, Y. T., Wilson, D. J., González, R. N., Hertl, J. A., Schulte, H., Bennett, G., & Schukken, Y. H. (2004). Effect of Pathogen-Specific Clinical Mastitis on Milk Yield in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, *87*(10), 3358–3374. [https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(04\)73472-4](https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(04)73472-4)
- Gurjar, A., Gioia, G., Schukken, Y., Welcome, F., Zadoks, R., & Moroni, P. (2012). Molecular Diagnostics Applied to Mastitis Problems on Dairy Farms. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.07.011>
- Halasa, T., Huijps, K., Østerås, O., & Hogeveen, H. (2007). Economic effects of bovine

- mastitis and mastitis management: a review. *The Veterinary Quarterly*, 29(1), 18–31. <https://doi.org/10.1080/01652176.2007.9695224>
- Hammer, J. F., Morton, J. M., & Kerrisk, K. L. (2012). Quarter-milking-, quarter-, udder- and lactation-level risk factors and indicators for clinical mastitis during lactation in pasture-fed dairy cows managed in an automatic milking system. *Australian Veterinary Journal*, 90(5), 167–174. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2012.00917.x>
- Harmon, R. J. (1994). Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *Journal of Dairy Science*, 77(7), 2103–12. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77153-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8)
- Harmon, R. J. (2017). Physiology of Mastitis and Factors Affecting Somatic Cell Counts. *Journal of Dairy Science*, 77(7), 2103–2112. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(94\)77153-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77153-8)
- Hillerton, E. (2000). Detecting mastitis at cow-side. *ANNUAL MEETING-NATIONAL MASTITIS COUNCIL ...*, 48–53. Retrieved from <http://www.nmconline.org/articles/cowside.pdf>
- Hurley, W. L., & Piantoni, P. (2010). Lactation Biology. Retrieved from <http://ansci.illinois.edu/static/ansc438/Mamdevelop/mamdevelopresources.html>
- Jashari, R., Piepers, S., & De Vliegher, S. (2016). Evaluation of the composite milk somatic cell count as a predictor of intramammary infection in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 99(11), 9271–9286. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-10753>
- Kader, M. A., Samad, M. A., & Saha, S. (2003). Influence of host level factors on prevalence and economics of subclinical mastitis in dairy milch cows in Bangladesh. *Indian Journal of Dairy Science*, 56(4), 235–240. Retrieved from <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=15414154>
- Karimuribo, E. D., Fitzpatrick, J. L., Bell, C. E., Swai, E. S., Kambarage, D. M., Ogden, N. H., ... French, N. P. (2006). Clinical and subclinical mastitis in smallholder dairy farms in Tanzania: risk, intervention and knowledge transfer. *Preventive Veterinary Medicine*, 74(1), 84–98. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2006.01.009>
- Keefe, G. (2012). Update on control of staphylococcus aureus and streptococcus agalactiae for management of mastitis. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.010>
- Kivaria, F. M., & Noordhuizen, J. P. T. M. (2007). A retrospective study of the aetiology and temporal distribution of bovine clinical mastitis in smallholder dairy herds in the Dar es Salaam region of Tanzania. *Veterinary Journal*, 173(3), 617–622. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.01.008>
- Kivaria, F. M., Noordhuizen, J. P. T. M., & Msami, H. M. (2007). Risk factors associated with the incidence rate of clinical mastitis in smallholder dairy cows in the Dar es Salaam region of Tanzania. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 173(3), 623–9. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.01.009>

- Klaas, I. C., & Zadoks, R. N. (2017). An update on environmental mastitis: Challenging perceptions. *Transboundary and Emerging Diseases*, (April), 1–20. <https://doi.org/10.1111/tbed.12704>
- Knight, C. H., & Wilde, C. J. (1993). Mammary cell changes during pregnancy and lactation. *Livestock Production Science*, 35(1), 3–19. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0301-6226\(93\)90178-K](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0301-6226(93)90178-K)
- Laevens, H., Deluyker, H., Schukken, Y. H., De Meulemeester, L., Vandermeersch, R., De Muëlenaere, E., & De Kruif, a. (1997). Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 80(12), 3219–26. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(97\)76295-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(97)76295-7)
- Leelahapongsathon, K., Schukken, Y. H., & Suriyasathaporn, W. (2014). Quarter, cow, and farm risk factors for intramammary infections with major pathogens relative to minor pathogens in Thai dairy cows. *Tropical Animal Health and Production*, 46(6), 1067–1078. <https://doi.org/10.1007/s11250-014-0603-8>
- Levison, L. J., Miller-Cushon, E. K., Tucker, A. L., Bergeron, R., Leslie, K. E., Barkema, H. W., & DeVries, T. J. (2016). Incidence rate of pathogen-specific clinical mastitis on conventional and organic Canadian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 99(2), 1341–1350. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2015-9809>
- Makovec, J. A., & Ruegg, P. L. (2003). Results of Milk Samples Submitted for Microbiological Examination in Wisconsin from 1994 to 2001. *Journal of Dairy Science*, 86(11), 3466–3472. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(03\)73951-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(03)73951-4)
- Martínez, G. (2006). Comportamiento de la mastitis bovina y su impacto económico en algunos hatos de la Sabana de Bogotá, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*, 35–55. Retrieved from <http://revistas.lasalle.edu.co/index.php/mv/article/view/2052>
- Meglia, G. E., & Mata, H. T. (2001). Mecanismos específicos e inespecíficos de defensa, con referencia a la glándula mamaria de los bovinos productores de leche. *Ciencia Veterinaria. UNLPam*, 1, 29–40. Retrieved from <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=a9h&AN=20018784&lang=es&site=ehost-live>
- Mekonnen, S. A., Koop, G., Melkie, S. T., Getahun, C. D., Hogeveen, H., & Lam, T. J. G. M. (2017). Prevalence of subclinical mastitis and associated risk factors at cow and herd level in dairy farms in North-West Ethiopia. *Preventive Veterinary Medicine*, 145, 23–31. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2017.06.009>
- Mendoza, J. A., Vera, Y., & Peña, L. C. (2017). Prevalencia de mastitis subclínica, microorganismos asociados y factores de riesgo identificados en hatos de la provincia de Pamplona, Norte de Santander. *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 64(2), 11–24. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v64n2.67209>
- Morton, J. M., Penry, J. F., Malmo, J., & Mein, G. A. (2014). Premilking teat disinfection: Is it worthwhile in pasture-grazed dairy herds? *Journal of Dairy Science*, 97(12), 7525–7537. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2014-8185>

- Mungube, E. O., Tenhagen, B. A., Kassa, T., Regassa, F., Kyule, M. N., Greiner, M., & Baumann, M. P. O. (2004). Risk factors for dairy cow mastitis in the central highlands of Ethiopia. *Tropical Animal Health and Production*, 36(5), 463–472. <https://doi.org/10.1023/B:TROP.0000034999.08368.f3>
- Munoz, M. A., Bennett, G. J., Ahlström, C., Griffiths, H. M., Schukken, Y. H., & Zadoks, R. N. (2008). Cleanliness Scores as Indicator of Klebsiella Exposure in Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 91(10), 3908–3916. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2008-1090>
- Murphy, S. C., Martin, N. H., Barbano, D. M., & Wiedmann, M. (2016). Influence of raw milk quality on processed dairy products: How do raw milk quality test results relate to product quality and yield? *Journal of Dairy Science*, 99(12), 10128–10149. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11172>
- National Mastitis Council. (2009). Recommended mastitis control program. *Global Milk Quality*, 1–2.
- National Mastitis Council. (2015a). A practical look at contagious mastitis. *Global Milk Quality*, 1–4. <https://doi.org/10.1109/MDT.2004.44>
- National Mastitis Council. (2015b). National Mastitis Council A Practical Look at Environmental Mastitis. *Global Milk Quality*, 1–4.
- Olde Riekerink, R. G. M., Barkema, H. W., Kelton, D. F., & Scholl, D. T. (2008). Incidence Rate of Clinical Mastitis on Canadian Dairy Farms. *Journal of Dairy Science*, 91(4), 1366–1377. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2007-0757>
- Oliveira, C. S. F., Hogeveen, H., Botelho, A. M., Maia, P. V., Coelho, S. G., & Haddad, J. P. A. (2015). Cow-specific risk factors for clinical mastitis in Brazilian dairy cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, 121(3–4), 297–305. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.08.001>
- Paduch, J. H., Mohr, E., & Krömker, V. (2012). The association between teat end hyperkeratosis and teat canal microbial load in lactating dairy cattle. *Veterinary Microbiology*, 158(3–4), 353–359. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.02.032>
- Philpot, W. N. (1979). Control of mastitis by hygiene and therapy. *Journal of Dairy Science*, 62(1), 168–76. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(79\)83218-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(79)83218-X)
- Piessens, V., Van Coillie, E., Verbist, B., Supré, K., Braem, G., Van Nuffel, A., ... De Vliegher, S. (2011). Distribution of coagulase-negative Staphylococcus species from milk and environment of dairy cows differs between herds. *Journal of Dairy Science*, 94(6), 2933–2944. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2010-3956>
- Pyörälä, S. (2003). Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis Satu. *Veterinary Research*, 34, 565–578. <https://doi.org/10.1051/vetres>
- Pyörälä, S., & Taponen, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci-Emerging mastitis pathogens. *Veterinary Microbiology*, 134(1–2), 3–8. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.015>

- Rachah, A., Dalen, G., Reksen, O., Norstebo, H., & Barlow, J. W. (2017). Modelling and dynamics of intramammary infections caused by *Corynebacterium* species. *2017 7th International Conference on Modeling, Simulation, and Applied Optimization, ICMSAO 2017*, 101(1), 472–479. <https://doi.org/10.1109/ICMSAO.2017.7934858>
- Rainard, P., & Riollet, C. (2006). Innate immunity of the bovine mammary gland. *Veterinary Research*, 37, 369–400. <https://doi.org/10.1051/vetres>
- Ramírez, N. F., Keefe, G., Dohoo, I., Sánchez, J., Arroyave, O., Cerón, J., ... Palacio, L. G. (2014). Herd- and cow-level risk factors associated with subclinical mastitis in dairy farms from the High Plains of the northern Antioquia, Colombia. *Journal of Dairy Science*, 97(7), 4141–50. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-6815>
- Ramirez, N., Fernandez, J., & Palacio, L. (2018). Tasa de incidencia de mastitis clínica y susceptibilidad antibiótica de patógenos productores de mastitis en ganado lechero del norte de Antioquia, . *Revista Medicina Veterinaria, Universidad De Antioquia*, 36, 75–87. <https://doi.org/10.19052/mv.5173>
- Ramírez, N., Henao, O. A., Cerón-Muñoz, M., Jaramillo, M., Cerón, J., & Palacio, L. G. (2011). Factores asociados a mastitis en vacas de la microcuenca lechera del altiplano norte de Antioquia, Colombia. *Revista de Medicina Veterinaria*.
- Reece, W. O., Erickson, H., Goff, J. P., & Uemura, E. (2008). *Dukes' Physiology of Domestic Animals*. (W. O. Reece, Ed.), *Australian Veterinary Journal* (13th Editi, Vol. 83). Wiley/Blackwell (10.1111). <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2005.tb13089.x>
- Restrepo, J., Ortiz, L., Cardona, X., & Olivera, M. (2012). EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL DIAGNÓSTICO MOLECULAR DEL *Staphylococcus aureus* EN LECHE DE EVALUATION OF SENSITIVITY AN D SPECIFICITY OF MOLECULAR aureus IN MILK OF COWS AFFECTED BY MASTITIS. *Biosalud*, 11(2), 40–51.
- Roberson, J. R. (2012). Treatment of Clinical Mastitis. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.011>
- Roberson, J., Sølvørød, L., Piccinini, R., Kelton, D., Lehmusto, H., Niskala, S., & Salmikivi, L. (2009). Analytical specificity and sensitivity of a real-time polymerase chain reaction assay for identification of bovine mastitis pathogens. *Journal of Dairy Science*, 92(3), 952–959. <https://doi.org/10.3168/jds.2008-1549>
- Rodríguez, G., Contreras, D., & Ordoñez, M. (2002). *Caracterización de la mastitis bovina en el Valle de Ubaté*. *Rev. Med. Vet. (Bogotá)* (Vol. 2).
- Royster, E., & Wagner, S. (2015). Treatment of Mastitis in Cattle. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 31(1), 17–46. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2014.11.010>
- Ruegg, P. L. (2012a). Mastitis in Dairy Cows. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*, 28(2), xi–xii. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.04.003>
- Ruegg, P. L. (2012b). New Perspectives in Udder Health Management. *Veterinary Clinics of North America - Food Animal Practice*. Elsevier.

- <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2012.03.001>
- Ruegg, P. L. (2017). A 100-Year Review: Mastitis detection, management, and prevention. *Journal of Dairy Science*, *100*(12), 10381–10397. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2017-13023>
- Ruiz, A. K., Ponce, P., Gomes, G., Mota, R. A., Sampaio, E., Lucena, E. R., & Benone, S. (2011). Prevalencia de Mastitis Bovina Subclínica y Microorganismos Asociados: Comparación entre Ordeño Manual y Mecánico, en Pernambuco, Brasil. *Revista de Salud Animal*, *33*(1), 57–64.
- Sacristán, A. G. (1996). *Fisiología veterinaria* (1st Editio). Interamericana McGraw-Hill. Retrieved from <https://books.google.com.co/books?id=FJbEAAAACAAJ>
- Santman-Berends, I. M. G. A., Lam, T. J. G. M., Keurentjes, J., & van Schaik, G. (2015). An estimation of the clinical mastitis incidence per 100 cows per year based on routinely collected herd data. *Journal of Dairy Science*, *98*(10), 6965–6977. <https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.2015-9642>
- Santos, O. C. da S., Barros, E. M., Brito, M. A. V. P., Bastos, M. do C. de F., Dos Santos, K. R. N., & Giambiagi-Demarval, M. (2008). Identification of coagulase-negative staphylococci from bovine mastitis using RFLP-PCR of the groEL gene. *Veterinary Microbiology*, *130*(1–2), 134–40. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.12.009>
- Sarker, S. C., Parvin, M. S., Rahman, a K. M. A., & Islam, M. T. (2013). Prevalence and risk factors of subclinical mastitis in lactating dairy cows in north and south regions of Bangladesh. *Tropical Animal Health and Production*, *45*(5), 1171–6. <https://doi.org/10.1007/s11250-012-0342-7>
- Schalm, O. W., & Noorlander, D. O. (1957). Experiments and observations leading to development of the California mastitis test. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *130*(5), 199–204. Retrieved from <http://europepmc.org/abstract/MED/13416088>
- Schreiner, D. A., & Ruegg, P. L. (2002). Effects of Tail Docking on Milk Quality and Cow Cleanliness¹. *Journal of Dairy Science*, *85*(10), 2503–2511. [https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(02\)74333-6](https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(02)74333-6)
- Schroeder, J. W. (2012). Bovine Mastitis and Milking Management. *NDSU Extention Service*, *1129*(April), 1–16.
- Sharma, N., GyuJin, R., YeongHo, H., TaeYoung, K., HakKyo, L., TaiYoung, H., & DongKee, J. (2012). Bovine mastitis: an Asian perspective. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. Retrieved from <http://scialert.net/fulltext/?doi=ajava.2012.454.476&org=10>
- Sisson, S., Grossman, J. D., & Getty, R. (1975). *Sisson and Grossman's The Anatomy of the Domestic Animals*. Saunders. Retrieved from <https://books.google.com.co/books?id=KjHxAAAAMAAJ>
- Sommerhäuser, J., Kloppert, B., Wolter, W., Zschöck, M., Sobiraj, A., & Failing, K. (2003).

- The epidemiology of *Staphylococcus aureus* infections from subclinical mastitis in dairy cows during a control programme. *Veterinary Microbiology*, 96(1), 91–102. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(03\)00204-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(03)00204-9)
- Sordillo, L. M. (2018). Mammary Gland Immunobiology and Resistance to Mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 34(3), 507–523. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2018.07.005>
- Suriyasathaporn, W., Schukken, Y. H., Nielen, M., & Brand, A. (2000). Low Somatic Cell Count: a Risk Factor for Subsequent Clinical Mastitis in a Dairy Herd. *Journal of Dairy Science*, 83(6), 1248–1255. [https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74991-5](https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74991-5)
- Svennersten-Sjaunja, K., & Olsson, K. (2005). Endocrinology of milk production. *Domestic Animal Endocrinology*, 29(2), 241–258. <https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2005.03.006>
- Taponen, S., & Pyörälä, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis- not so different from *Staphylococcus aureus*? *Veterinary Microbiology*, 134(1–2), 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.09.011>
- Tolosa, T., Verbeke, J., Ayana, Z., Piepers, S., Supré, K., & De Vlieghe, S. (2015). Pathogen group specific risk factors for clinical mastitis, intramammary infection and blind quarters at the herd, cow and quarter level in smallholder dairy farms in Jimma, Ethiopia. *Preventive Veterinary Medicine*, 120(3–4), 306–312. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2015.05.001>
- Tolosa, T., Verbeke, J., Piepers, S., Supré, K., & De Vlieghe, S. (2013). Risk factors associated with subclinical mastitis as detected by California Mastitis Test in smallholder dairy farms in Jimma, Ethiopia using multilevel modelling. *Preventive Veterinary Medicine*, 112(1–2), 68–75. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2013.06.009>
- Tomazi, T., Ferreira, G. C., Orsi, A. M., Gonçalves, J. L., Ospina, P. A., Nydam, D. V., ... dos Santos, M. V. (2018). Association of herd-level risk factors and incidence rate of clinical mastitis in 20 Brazilian dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2018.10.007>
- Trujillo, A. P., Vásquez, F. C. M., & Martínez, G. R. (2009). Efectos de la mastitis subclínica en algunos hatos de la cuenca lechera del Alto Chicamocha (departamento de Boyacá). *Revista de Medicina Veterinaria*, (17), 23–35. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Trujillo, C. M., Ramírez, N., & Palacio, L. G. (2011). Prevalence of Mastitis in Dairy Herds In Eastern Antioquia. *Revista Colombiana de Ciencias ...*, 24, 11–18.
- Tucker, H. A. (1981). Physiological Control of Mammary Growth, Lactogenesis, and Lactation1. *Journal of Dairy Science*, 64(6), 1403–1421. [https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(81\)82711-7](https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(81)82711-7)
- Tucker, H. A. (2000). Hormones, Mammary Growth, and Lactation: a 41-Year Perspective1.

- Journal of Dairy Science*, 83(4), 874–884. [https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(00\)74951-4](https://doi.org/https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(00)74951-4)
- Vanderhaeghen, W., Piepers, S., Leroy, F., Van Coillie, E., Haesebrouck, F., & De Vliegher, S. (2014). Invited review: Effect, persistence, and virulence of coagulase-negative Staphylococcus species associated with ruminant udder health. *Journal of Dairy Science*, 97(9), 5275–5293. <https://doi.org/10.3168/jds.2013-7775>
- Viguiet, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., & O’Kennedy, R. (2009). Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in Biotechnology*, 27(8), 486–493. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.05.004>
- Vliegher, S. De, Ohnstad, I., & Piepers, S. (2018). Management and prevention of mastitis : A multifactorial approach with a focus on milking , bedding and data-management. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(6), 60345–7. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61893-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61893-8)
- Waage, S., Odegaard, S. A., Lund, A., Brattgjerd, S., & Røthe, T. (2001). Case-control study of risk factors for clinical mastitis in postpartum dairy heifers. *Journal of Dairy Science*, 84(2), 392–399. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74489-X](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74489-X)
- Watts, J. L. (1988). Etiological agents of bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, 16(1), 41–66. [https://doi.org/10.1016/0378-1135\(88\)90126-5](https://doi.org/10.1016/0378-1135(88)90126-5)
- Watts, J. L. (1990). *Bovine Mastitis. Diagnostic Procedure in Veterinary Bacteriology and Mycology* (Fifth Edit). Academic Press, Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-161775-2.50038-4>
- Yang, F.-L., Li, X.-S., He, B.-X., Du, Y.-L., Li, G.-H., Yang, B.-B., & Quin-Hua, H. (2011). Bovine Mastitis in SUBtropical Dairy Farms, 2005-2009. *Journal of Animal And Veterinary Advances*, 10(1), 68–72.
- Zadoks, R. N., Allore, H. G., Barkema, H. W., Sampimon, O. C., Wellenberg, G. J., Gröhn, Y. T., & Schukkent, Y. H. (2001). Cow- and quarter-level risk factors for Streptococcus uberis and Staphylococcus aureus mastitis. *Journal of Dairy Science*, 84, 2649–2663. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(01\)74512-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(01)74512-2)
- Zambrano, J. . (2009). Herd health Definitions and strategies for the establishment of Veterinary Preventive Medicine Programs. *Revista de La Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 56, 147–162.