

VISSIO, CLAUDIA
Prevalencia de masti

73217



2012

73217



CREER...CREAR...CRECER

Universidad Nacional de Río Cuarto.

Facultad de Agronomía y Veterinaria - Departamento de Patología Animal
Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales - Departamento de
Microbiología e Inmunología

**Prevalencia de mastitis, patógenos asociados y contribución del manejo del
rodeo a la salud mamaria en una muestra aleatoria de productores lecheros de la
cuenca de Villa María, Córdoba**

Tesis doctoral
Doctorado en Ciencias Biológicas

MV Claudina Vissio

Noviembre 2012

73217

71287

73217

MFN:
Clasif:
T. 879

El presente trabajo para optar al título de Doctor en Ciencias Biológicas fue realizado en el Departamento de Patología Animal de la Facultad de Agronomía y Veterinaria y en el Departamento de Microbiología e Inmunología de la Facultad de Ciencias Exáctas, Físico - Química y Naturales de la Universidad Nacional de Río Cuarto

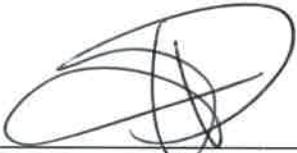
Prevalencia de mastitis, patógenos asociados y contribución del manejo del rodeo a la salud mamaria en una muestra aleatoria de productores lecheros de la cuenca de Villa María, Córdoba

MV Claudina Vissio
Doctorando

PhD Alejandro José Larriestra
Director

Dr Liliana Mónica Odierno
Co - director

Aprobado por el tribunal de tesis:



Dr Héctor Dante Tarabla



Dr Sergio Jorge Duffy



MS Héctor Luis Agnelli

Río Cuarto, Córdoba, Argentina, Noviembre 2012

Resumen

La mastitis bovina es considerada una de las principales enfermedades de la producción lechera porque produce importantes pérdidas económicas en los rodeos y en la industria láctea. Los objetivos de esta tesis fueron 1) estudiar la distribución de la prevalencia de mastitis y patógenos asociados en tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba), 2) identificar los tipos de manejo preventivos y curativos de la salud mamaria aplicadas por los productores, 3) evaluar el efecto del manejo de la salud mamaria sobre variación de la prevalencia entre rodeos y 4) estimar el efecto contextual del tambo sobre la variación del riesgo de mastitis de vaca a vaca. En total se recolectaron muestras compuesta de leche de 2296 vacas pertenecientes a 51 rodeos que poseían entre 100 y 250 vacas totales. El patógeno mayor más frecuentemente aislado fue *S. aureus*. La prevalencia de mastitis clínica y mastitis subclínica (MSC) para el conjunto de las vacas fue de 3,0 (IC 95% 2,3 - 3,7) y 19,4% (IC 95% 17,8 - 21,0), respectivamente. La mediana de recuento celular somático (RCS) para el conjunto de vacas estudiadas fue de 237.000 cél/ml (percentil 25% 93.000; percentil 75% 622.250). Las vacas en estadios de lactancia avanzados y con 2 o más partos mostraron elevados RCS y altas prevalencias de MSC. La frecuencia de MSC fue muy dispar entre establecimientos con un rango entre 2,2 y 50,0%. Los tambos estudiados fueron clasificados a partir de análisis multivariados en dos grupos. Los tambos del conglomerado I mostraron bajo nivel tecnológico. Las prácticas de sellado post ordeño y tratamiento al secado eran de baja aplicación en estos rodeos. Por el contrario, la mayoría de los establecimientos del conglomerado II tenían visitas veterinarias frecuentes y aplicaban un programa de salud mamaria. La evaluación de factores de rodeo e individuales en relación al RCS a nivel de vaca demostró que la ausencia de prácticas tales como tratamiento antibiótico al secado y despunte tienen un impacto incremental promedio de aproximadamente 70.000 cél/ml, asimismo a mayor edad del tambero los RCS en leche compuesta fueron superiores. Los días de lactancia y el número ordinal de partos tuvieron influencia significativa, vacas de 2 o más partos y en estadio de lactancia avanzada mostraron incrementos de RCS superiores a las 100.000 cél/ml. El efecto contextual del tambo explicó, según el coeficiente de correlación intraclase, un 12% de la variación total en el RCS en leche compuesta.

Abstract

Mastitis is one of the most important diseases of dairy production worldwide causing significant losses for farmers and the dairy industry. The aims of this thesis were 1) to study the mastitis prevalence distribution, and its related pathogens in dairy producers from Villa María, Córdoba, 2) to identify types of udder health farm program and their influence on mastitis herd prevalence, 3) to evaluate the farm udder health program effect on mastitis herd prevalence and 4) to estimate the cluster effect on mastitis risk variation from cow to cow. A total of 2296 composite milk samples were collected from 51 dairies which size ranged from 100 to 250 lactating cows. The major pathogen most frequently isolated was *S. aureus*. At cow level, clinical (CM) and subclinical mastitis (SM) prevalence were 3.0 (IC 95% 2.3 – 3.7) and 19.4% (IC 95% 17.8 – 21.0), respectively. The overall median somatic cell count (SCC) was 237,000 cell/ml (Q1 = 93,000; Q3 = 622,250). Multiparous cows at the end of lactation showed the highest SCC and SM prevalence levels. The SM herd prevalence range was between 2.2 and 50.0 %. Herds studied were classified in two groups using multivariate methods. Farms that belong to cluster I showed a low technological input regarding udder health program. In contrast, cluster II revealed farms that applied practices such post-dipping and dry cow therapy systematically and were frequently assisted by veterinarians. The evaluation of herd and cows factors on milk composite SCC, using a multilevel model, showed that herds that did not practice dry cow therapy and CM fore-milking detection had an average SCC of 70,000 cell/ml above compared to herds that apply those interventions. Days in milk and cow parity were statistically associated with composite SCC. Multiparous cows during late lactation showed a SCC average of 100,000 cell/mL above the reference cows (heifers during early lactation). The contextual effect of dairy herd as aggregation unit, showed an Intraclass Correlation Coefficient of 12 %, which means that the variability of composite SCC rested mainly on cow to cow composite SCC variations.

Índice de contenidos

Introducción general	1
Hipótesis de la investigación	4
Objetivo general	5
Objetivos específicos	5
Bibliografía	7

Capítulo 1: Estimación y distribución de la frecuencia de mastitis y patógenos asociados en vacas y tambos de la cuenca lechera de Villa María (Córdoba)

Introducción	12
Hipótesis de la investigación	13
Objetivo	14
Material y métodos	14
• Población diana	14
• Selección de los tambos para el estudio	14
• Visita a los establecimientos	15
• Análisis de leche: Recuento de células somáticas y microbiología	16
• Definición del estatus de salud de la ubre de las vacas	17
• Análisis estadístico	17
Resultados	17
• Población diana y población de estudio	17
• Variación entre vacas	18
• Variación entre tambos	19
Discusión	19
Conclusión	22
Bibliografía	23

Capítulo 2: Prevalencia de cuartos con mastitis subclínica estimada a partir de muestras compuestas de leche en bovinos de tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba)

Introducción	34
Hipótesis de la investigación	35
Objetivo	35
Material y métodos	35

• Ensayo de validación	35
• Evaluación de los cambios en la sensibilidad y especificidad	36
• Evaluación de la influencia de las características de la vaca	36
• Predictibilidad del recuento celular somático en leche compuesta para detectar infecciones intramamarias y mastitis subclínica en al menos un cuarto	37
Resultados	38
• Descripción de la población del ensayo	38
• Análisis del umbral de recuento celular somático mediante curva ROC	39
• Evaluación de la influencia de las características de la vaca	39
• Predictibilidad del recuento celular somático en leche compuesta para detectar infecciones intramamarias y mastitis subclínica en al menos un cuarto	39
Discusión	40
Conclusión	43
Bibliografía	44

Capítulo 3: Perfiles de rodeos lecheros en relación al control de mastitis y a la calidad de leche en tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba)

Introducción	55
Hipótesis de la investigación	56
Objetivo	56
Material y métodos	56
• Recolección de datos	56
• Elaboración e implementación de la encuesta	57
• Retención y procesamiento de las muestras biológicas	57
○ Muestras de leche de tanque	57
○ Muestras de agua	58
• Análisis de los datos	58
Resultados	59
• Selección de variables	60
○ Grupos temáticos estructura del rodeo, nivel de tecnificación, infraestructura y características del ordeñador	60

○ Grupos temáticos calidad microbiológica del agua y calidad bacteriológica de la leche de tanque	60
○ Grupo temático rutina de ordeño y control de mastitis	60
• Clasificación de los tambos	61
• Distribución espacial de los conglomerados	62
Discusión	61
Conclusión	63
Bibliografía	65

Capítulo 4: Relación entre el estado de salud mamario e indicadores de riesgo a nivel individual y de rodeo

Introducción	79
Hipótesis de la investigación	80
Objetivo	81
Material y métodos	81
• Análisis estadístico	81
Resultados	83
• Patrones de variación de mastitis clínica	83
• Patrones de variación de recuento celular somático	84
Discusión	84
Conclusión	90
Bibliografía	91
Conclusión general y proyecciones futuras	102

Índice de tablas

Capítulo 1: Estimación y distribución de la frecuencia de mastitis y patógenos bacterianos en vacas y tambos de la cuenca lechera de Villa María (Córdoba)

Tabla 1.1. Perfil de tamaño (vacas totales/rodeo) de la población diana, de la población de estudio y del grupo no participante en tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)	28
Tabla 1.2. Frecuencia absoluta y relativa de los principales microorganismos aislados en vacas de tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)	28
Tabla 1.3. Concordancia entre los microorganismos estudiados y test estadístico Kappa	29
Tabla 1.4. Distribución del recuento celular somático para el total de vacas estudiadas (n = 2274) en 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)	29
Tabla 1.5. Distribución del recuento celular somático y prevalencia de mastitis de acuerdo a distintas características de la vaca en 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)	30

Capítulo 2: Prevalencia de cuartos con mastitis subclínica estimada a partir de muestras compuestas de leche en bovinos de tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba)

Tabla 2.1. Patógenos bacterianos aislados a nivel de cuarto (n = 219 vacas)	47
Tabla 2.2. Sensibilidad y especificidad estimada para cuatro puntos de corte de recuento celular somático en muestras compuesta de leche para detectar la presencia de infección intramamaria y mastitis subclínica	47
Tabla 2.3. Resultados obtenidos del modelo de regresión logística para infección intramamaria y mastitis subclínica considerando tres umbrales de recuento celular somático en muestras del leche compuesta	48

Capítulo 3: Perfiles de rodeos lecheros en relación al control de mastitis y a la calidad de leche en tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba)

Tabla 3.1. Descripción de las variables pertenecientes a los grupos temáticos nivel de tecnificación, infraestructura y características generales del tambero en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)	68
Tabla 3.2. Descripción de las variables pertenecientes al grupo temático	69

rutina de ordeñe y control de mastitis en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)	
Tabla 3.3. Descripción de las variables pertenecientes a estructura del rodeo y edad del tamero en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)	71
Tabla 3.4. Descripción estadísticas de los atributos de los conglomerados identificados en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)	71

Capítulo 4: Relación entre el estado de salud mamario e indicadores de riesgo a nivel individual y de rodeo

Tabla 4.1. Análisis bivariado entre las variables pertenecientes a los grupos temáticos nivel de tecnificación e infraestructura y la variable respuesta medida a nivel de vaca en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)	97
Tabla 4.2. Análisis bivariado entre las variables pertenecientes al grupo temático características generales del tamero y la variable respuesta medida a nivel de vaca en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)	98
Tabla 4.3. Análisis bivariado entre las variables pertenecientes al grupo temático rutina de ordeñe y control de mastitis y la variable respuesta medida a nivel de vaca en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)	99
Tabla 4.4. Análisis bivariado entre las variables pertenecientes al grupo temático estructura del rodeo y edad del tamero y la variable respuesta medidas a nivel de vaca en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)	100
Tabla 4.5. Resultado del modelo mixto considerando el tambo como efecto aleatorio	101

Índice de figuras

Capítulo 1: Estimación y distribución de la frecuencia de mastitis y patógenos bacterianos en vacas y tambos de la cuenca lechera de Villa María (Córdoba)

Figura 1.1. Distribución de RCS (A), prevalencia de infección (B) y distribución de los principales patógenos mayores asociados a mastitis (C) en 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)	31
Figura 1.2. Proporción de vacas con mastitis subclínica (A) y clínica (B) estimadas para 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)	32

Capítulo 2: Prevalencia de cuartos con mastitis subclínica estimada a partir de muestras compuestas de leche en bovinos de tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba)

Figura 2.1. Distribución de cuartos afectados por vaca en el diagnóstico de infección intramamaria (A) y mastitis subclínica (B)	49
Figura 2.2. Sensibilidad y especificidad del recuento celular somático en muestras compuesta de leche para predecir infección intramamaria (A) y mastitis subclínica (B) a nivel de cuarto	50
Figura 2.3. Análisis ROC de la sensibilidad y especificidad del recuento celular somático en leche compuesta para infección intramamaria (A) y mastitis subclínica (B) como pruebas de referencia	51
Figura 2.4. Probabilidad posterior promedio e intervalos de credibilidad de falsos negativos y falsos positivos en la predicción de infección intramamaria (A) y mastitis subclínica (B) para tres umbrales de recuento celular somático en leche compuesta en 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)	52
Figura 2.5. Distribución de la prevalencia posterior de mastitis subclínica en 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)	53

Capítulo 3: Perfiles de rodeos lecheros en relación al control de mastitis y a la calidad de leche en tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba)

Figura 3.1. Análisis de correspondencias múltiples para las variables del grupo nivel de tecnificación	72
Figura 3.2. Análisis de correspondencias múltiples para las variables del grupo características del ordeñador	73

Figura 3.3. Análisis de correspondencias múltiples para las variables del grupo rutina de ordeño y control de mastitis	74
Figura 3.4. Dendograma obtenido del Análisis de conglomerados	75
Figura 3.5. Análisis de Coordenadas Principales	76
Figura 3.6. Mapa temático: Distribución espacial de la muestra de establecimientos estudiados	77

Introducción general

La mastitis bovina es considerada a nivel mundial como una de las enfermedades más importantes en los sistemas de producción de leche (Schepers y Dijkhuizen, 1991; Seegers y col., 2003; Halasa y col., 2007). Es definida como la inflamación de la glándula mamaria (International Dairy Federation, 1971) causada principalmente por agentes infecciosos bacterianos que puede derivar en un elevado recuento de células somáticas (RCS) y, como consecuencia, en una disminución en la calidad y en la cantidad de leche producida.

La manifestación de la mastitis puede ser clínica, con alteraciones visibles de la leche y/o de la ubre, o subclínica, debiendo acudir a métodos microbiológicos, citológicos o enzimáticos para su diagnóstico (Pyörälä, 2003). Además de esta clasificación general, la mastitis puede ser definida como mastitis clínica subaguda, mastitis aguda y mastitis crónica de acuerdo a la duración del cuadro infeccioso y a la presentación de los signos y síntomas (NMC, 2003).

La mastitis se considera una enfermedad multifactorial compleja que resulta de la interacción entre la vaca, el medio ambiente y el patógeno. Por lo tanto, la magnitud de esta enfermedad depende de la virulencia del patógeno, la efectividad de los mecanismos de defensa de la ubre y la presencia de factores de riesgo (Oviedo - Boyso y col., 2007). En este contexto, distintas investigaciones nacionales se han llevado a cabo en estos últimos años para abordar los diferentes aspectos de la mastitis bovina. Desde este punto de vista, se han realizado estudios para caracterizar fenotípicamente y genotípicamente a los principales agentes patógenos asociados a esta enfermedad (Calvinho y col., 1998; François y col., 2001; dos Santos Nascimento y col., 2002; Odierno y col., 2006; Reinoso y col., 2007; Reinoso y col., 2008; Reinoso y col., 2011; Lasagno y col., 2011). Un control exitoso de la mastitis implica la aplicación de prácticas terapéuticas y preventivas con el propósito de reducir el grado y duración de la infección y evitar nuevas infecciones intramamarias. En relación al control de la mastitis, entendido este como la reducción del número de vacas enfermas en la población, se pueden considerar dos aspectos, por un lado la reducción del número de portadores y por otro, la prevención de nuevos casos. En relación al primero, resultan de interés los estudios dirigidos a conocer la susceptibilidad a antibióticos de cepas regionales (Calvinho y col., 2002; Gentilini y col., 2002; Pellegrino y col., 2011; Russi y col., 2008) y, considerando el segundo aspecto, el desarrollo de una vacuna eficaz contra la mastitis es una demanda constante por parte de los veterinarios y los productores lecheros. En este sentido, una línea de investigación ha sido desarrollada en nuestro país (Calzolari y col., 1997; Girauo y col., 1997; Pellegrino y col., 2008).

Recientemente, la investigación se ha centrado en realzar los mecanismos de defensas naturales de la vaca mediante el desarrollo de métodos innovadores como los probióticos, para el tratamiento y la prevención de la mastitis bovina (Frola y col., 2011; Espeche y col., 2012). El monitoreo de la salud mamaria en los rodeos se basa en el resultado de las pruebas diagnósticas disponibles y la predictibilidad de las mismas depende de varios factores. En este sentido, Signorini (2008) plantea la importancia de la elección de la técnica diagnóstica, en términos de sensibilidad y especificidad, considerando la prevalencia de infecciones intramamarias en el rodeo y el tamaño muestral.

El impacto económico de la mastitis puede ser evaluado considerando aspectos tales como disminución en la producción de leche, costos asociados a tratamiento de casos clínicos, disminución en la calidad de leche, descarte prematuro de vacas enfermas, presencia de enfermedades concomitantes (Gill y col., 1990; Schepers y Dijkhuizen, 1991; Fetrow, 2000; Halasa y col., 2007). Revisiones, en relación a las pérdidas económicas asociadas a mastitis, muestran claramente que esta enfermedad es de gran impacto y que existen variaciones entre estudios en el cálculo de estas pérdidas (Schepers y Dijkhuizen, 1991; Seegers y col., 2003; Halasa y col., 2007; Hogeveen y col., 2011). Asimismo, las consecuencias económicas de la mastitis varía entre rodeos, por ende, su impacto potencial no es uniforme entre tambos, regiones o países y el control justificado en un contexto puede no ser económicamente rentable en otro (McInerney, 1992). En este sentido, en nuestro país no se dispone de cifras actualizadas sobre el impacto económico de la mastitis que permitan visualizar, más allá de la percepción general de que la enfermedad es importante, las pérdidas monetarias, tanto a nivel de rodeo como de vacas enfatizando en las diferencias entre predios.

El manejo de la salud mamaria es uno de los campos en donde la toma de decisiones de los productores no se basa estrictamente en las recomendaciones dadas por veterinarios u otros asesores. Existen factores de motivación, interna y externa, que pueden ser identificados, entre ellos, la percepción de las pérdidas económicas debido a la mastitis. El conocimiento del productor respecto de la disminución en producción y de los gastos adicionales que produce la mastitis lo puede motivar a tomar medidas en relación a la prevención y control de la enfermedad. La actitud de los productores explica en parte las diferencias en la frecuencia de mastitis entre

los rodeos. La racionalidad que aplica a la hora de implementar medidas de control y prevención son aspectos que están siendo abordados en otros países del mundo (Valeeva y col., 2007; Huijps y col., 2008; Jansen y col., 2009; van Asseldonk y col., 2010; Young y col., 2010).

En Argentina, existe un entendimiento incompleto de diferentes aspectos epidemiológicos de la mastitis bovina, en particular sobre la prevalencia de infección y la distribución entre los rodeos. Los reportes más recientes sobre la prevalencia de patógenos que afectan la salud de la ubre se han realizado hace más de 10 años (Chaves y col., 2001), y es muy escasa la información con respecto a la frecuencia de mastitis considerando la información de RCS o el resultado de otros métodos indirectos.

El impacto de la implementación de estrategias para el control de la mastitis con el propósito de reducir el grado y la duración de la infección intramamaria y evitar la aparición de nuevos casos ha sido muy importante en la reducción de los niveles de mastitis y de RCS en leche de tanque según reportes de distintos países del mundo (Bradley, 2002; Zadoks y Fitzpatrick, 2009). En Argentina, no hay estudios que reflejen cuán frecuente es el grado de aplicación de estas prácticas, aunque existe una presunción que entre los medianos y pequeños productores no debe ser alta. Considerando que las medidas de control y la eficacia de las mismas varían por predio y por región (Hogeveen y col., 2011; Dufour y col., 2011) existe la necesidad de evaluar no solo el grado de aplicación sino también la efectividad bajo nuestros sistemas de producción. Esto puede ser investigado a nivel experimental, pero el enfoque observacional parece ser más adecuado (Thrusfield, 1996; Dohoo y col., 2003). Ante la ausencia en nuestro país de sistemas de monitoreo de amplia cobertura geográfica, se torna relevante la realización de estudios con diseño aleatorio y un número suficiente de vacas y establecimientos que posibilite realizar estimaciones con niveles de precisión aceptables de la frecuencia de mastitis clínica y subclínica, de los patógenos mamarios y del grado de aplicación de las prácticas de control de la enfermedad.

Hipótesis de la investigación

I. Se postula la existencia de una gran variación en la importancia relativa de cada patógeno mamario aislado y una gran disparidad en la proporción de vacas con mastitis entre los tambos estudiados.

II. Se estima a priori que existen diferencias entre rodeos lecheros, respecto de las prácticas de manejo relacionadas al diagnóstico, terapéutica y profilaxis de la mastitis, las cuales permiten clasificarlos en base a estos criterios. Estos grupos indicarían cambios en la magnitud de la prevalencia de la mastitis o en algún otro de los indicadores sanitarios a utilizar en la definición del estatus sanitario del rodeo.

III. Se especula que la fuente de variación de la prevalencia de mastitis en las vacas estudiadas está representada, de forma relevante, por el efecto contextual del tambo.

Objetivo general

El objetivo general de este trabajo está dirigido a profundizar en el conocimiento de aspectos epidemiológicos de la mastitis bovina, con énfasis en la distribución de la prevalencia de la enfermedad y de los patógenos asociados en rodeos lecheros de la cuenca de Villa María (Córdoba), e identificar los tipos de manejo de la salud mamaria basados en prácticas preventivas y terapéuticas aplicadas por los productores. Además, se evaluará la contribución de estos tipos o esquemas de manejos en la variación de la prevalencia entre rodeos, y el efecto del tambo, como un contexto que influye decisivamente en la magnitud de la mastitis en la población de vacas.

En su conjunto, se espera contribuir al desarrollo de estrategias tendientes a la reducción de la prevalencia de la mastitis, y al mejoramiento de la calidad de la leche producida, aportando de esta manera a que el sector lechero cordobés sea más competitivo.

Objetivos específicos

I. Estimar la prevalencia de mastitis y de patógenos bacterianos asociados en tambos de la cuenca lechera de Villa María (Córdoba) y evaluar la variación a nivel de vaca y de rodeo.

II. Estimar la predictibilidad del RCS en muestras compuestas de leche bovina para detectar vacas con al menos un cuarto afectado con infección intramamaria y mastitis subclínica en tambos de la cuenca de Villa

María (Córdoba). Además, evaluar la influencia de atributos de la vaca sobre la sensibilidad y especificidad del RCS en muestras compuestas de leche.

III. Caracterizar el manejo de la salud mamaria respecto de las prácticas implementadas por el productor y relacionadas al diagnóstico, terapéutica y profilaxis de la mastitis, con énfasis en la tipificación de los sistemas de producción y esquema de control.

IV. Evaluar la relación entre la variación del estado de salud mamaria de la vaca y los indicadores de riesgo a nivel de individuo y de rodeo, y estimar la proporción de la varianza total en la prevalencia de mastitis clínica y subclínica que es atribuida al efecto contextual del tambo.

Bibliografía

Bradley A. 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. *Vet J* 164: 116 - 128.

Calvinho LF, Almeida RA, Oliver SP. 1998. Potential virulence factors of *Streptococcus dysgalactiae* associated with bovine mastitis. *Vet Microbiol* 61: 93 - 110.

Calvinho LF, Toselli F, Weimann WR, Canavesio VR, Neder VE, Iguisquiza IA. 2002. Susceptibilidad a antimicrobianos de cepas de estafilococos coagulasa positivos aislados de mastitis bovina en la cuenca lechera central de la Argentina. *Rev Argent Microbiol* 34: 171 - 175.

Calzolari A, Giraudo JA, Rampone H, Odierno L, Giraudo AT, Frigerio C, Bettera S, Raspanti C, Hernandez J, Wehbe M, Mattea M, Ferrari M, Larriestra A, Nagel R. 1997. Field trials of a vaccine against bovine mastitis. 2. Evaluation in two commercial dairy herds. *J Dairy Sci* 5: 854 - 858.

Chaves CJ, Tirante L, Pol M, Bas D, Vandoni R, Olivieri R. 2001. Prevalence of intramammary infections in 74 dairy herds located in Argentina. In Proc. 40th. Annual Meeting. National Mastitis Council. Reno, Nevada. pp 205 - 206.

Dohoo I, Martin W, Stryhn H. 2003. *Veterinary Epidemiology Research*. Prince Edward Island Ed, 706 pag.

dos Santos Nascimento J, dos Santos KR, Gentilini E, Sordelli D, de Freire Bastos Mdo C. 2002. Phenotypic and genetic characterisation of bacteriocin - producing strains of *Staphylococcus aureus* involved in bovine mastitis. *Vet Microbiol* 85: 133 - 144.

Dufour S, Fréchette A, Barkema HW, Mussell A, Scholl DT. 2011. Invited review: Effect of udder health management practices on herd somatic cell count. *J Dairy Sci* 94: 563 - 579.

Espeche MC, Pellegrino M, Frola I, Larriestra A, Bogni C, Nader - Macías ME. 2012. Lactic acid bacteria from raw milk as potentially beneficial strains to prevent bovine mastitis. *Anaerobe* 18: 103 - 109.

Fetrow J. 2000. Mastitis: An economic consideration. in Proceeding 39th Annual Conference National Mastitis Council, Atlanta GA, Feb 13 - 16, pp 3 - 47

François S, Limansky A, Toresani I, Ebner G, Viale A, Sutich E. 2001. Caracterización de Streptococcus causantes de mastitis bovina en Argentina mediante métodos fenotípicos y genotípicos. *Vet Mex* 32: 305 - 309.

Frola ID, Pellegrino MS, Espeche MC, Giraudo JS, Nader - Macias MEF, Bogni CI. 2011. Effects of intramammary inoculation of *Lactobacillus perolens* CRL1724 in lactating cows' udders. *J Dairy Res* 14: 1 - 9.

Gentilini E, Denamiel G, Betancor A, Rebuelto M, Rodriguez Fermepin M, De Torres RA. 2002. Antimicrobial Susceptibility of Coagulase - Negative Staphylococci Isolated from Bovine Mastitis in Argentina. *J Dairy Sci* 85: 1913 - 1917.

Gill R, Howard WH, Leslie KE, Lissemore K. 1990. Economics of mastitis control. *J Dairy Sci* 73: 3340 - 3348.

Giraudo JA, Calzolari A, Rampone H, Rampone A, Giraudo AT, Bogni C, Larriestra A, Nagel R. 1997. Field trials of a vaccine against bovine mastitis. 1. Evaluation in heifers. *J Dairy Sci* 5: 845 - 853.

Halasa T, Huijps K, Østerås O, Hogeveen H. 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: a review. *Vet Q* 29: 18 - 31.

Hogeveen H, Huijps K, Lam TJGM. 2011. Economic aspects of mastitis: New developments. *New Zeal Vet J* 59: 16 - 23.

Huijps K, Lam TJGM, Hogeveen H. 2008. Costs of mastitis: facts and perception. *J Dairy Res* 75: 113 - 120.

International Dairy Federation. 1971. A monograph on bovine mastitis. *Intl. Dairy Fed. Bull. No. 60*, Intl. Dairy Fed., Brussels, Belgium.

Jansen J, van den Borne BHP, Renes RJ, van Schaik G, Lam TJGM, Leeuwis C. 2009. Explaining mastitis incidence in Dutch dairy farming: The influence of farmers' attitudes and behavior. *Prev Vet Med* 92: 210 - 223.

Lasagno M, Reinoso E, Dieser S, Calvinho L, Buzzola F, Vissio C, Bogni C, Odierno L. 2011. Phenotypic and genotypic characterization of *Streptococcus uberis* isolated from bovine subclínica mastitis in Argentinean dairy farms. *Rev Argent Microbiol* 43: 212 - 217.

McInerney JP, Howe KS, Schepers JA. 1992. A framework for the economic analysis of disease in farm livestock. *Prev Vet Med* 13: 137 - 54.

NMC, National Mastitis Council. 2003. *Current Concepts of Bovine Mastitis*, 4th ed., Madison, WI.

Odierno L, Calvino L, Traversa M, Lasagno M, Bogni C, Reinoso E. 2006. Conventional identification of *Streptococcus uberis* isolated from bovine mastitis in Argentinean dairy herds. *J Dairy Sci* 89: 3886 - 3890.

Oviedo - Boyso J, Valdez - Alarcon JJ, Cajero - Juarez M, Ochoa - Zarzosa A, Lopez - Meza JE, Bravo - Patino A, Baizabal - Aguirre VM. 2007. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J Infect* 54: 399 - 409.

Pellegrino M, Giraudo J, Raspanti C, Nagel R, Odierno L, Primo V, Bogni C. 2008. Experimental trial in heifers vaccinated with *Staphylococcus aureus* avirulent mutant against bovine mastitis. *Vet Microbiol* 127: 186 - 90.

Pellegrino MS, Frola ID, Odierno LM, Bogni C. 2011. Mastitis Bovina: Resistencia a antibióticos de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de leche. *REDVET Revista electrónica de Veterinaria Volumen 12 N° 7* <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070711.html>

Pyörälä S. 2003. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet Res* 34: 565 - 578.

Reinoso E, Bettera S, Odierno L, Bogni C. 2007. Rep - PCR of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bovine mastitis in Argentina. *Braz J Vet Res Anim Sci* 44: 115 - 121.

Reinoso EB, El - Sayed A, Lämmler C, Bogni C, Zschöck M. 2008. Genotyping of *Staphylococcus aureus* isolated from humans, bovine subclínica mastitis and food samples in Argentina. *Microbiol Res* 163: 314 - 322.

Reinoso EB, Lasagno MC, Dieser SA, Odierno LM. 2011. Distribution of virulence - associated genes in *Streptococcus uberis* isolated from bovine mastitis. *FEMS Microbiol Lett* 318: 183 - 188.

Russi NB, Bantar C, Calvino LF. 2008. Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* causing bovine mastitis in Argentine dairy herds. *Rev Argent Microbiol* 40: 116 - 119.

Schepers JA, Dijkhuizen AA. 1991. The Economics of Mastitis and Mastitis Control in Dairy Cattle - a Critical Analysis of Estimates Published Since 1970. *Prev Vet Med* 10: 213 - 224.

Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F. 2003. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res* 34: 475 - 491.

Signorini ML, Canavesio VR, Neder VE, Molineri AI, Vitulich CA, Tarabla HD, Calvino LF. 2008. Valores predictivos y sensibilidad a nivel de rodeo de

mastitis a partir de las características de las pruebas diagnósticas individuales y el tamaño del muestreo. *In Vet* 8: 91 - 102.

Thrusfield M. 1996. *Veterinary Epidemiology*. 2ed Oxford, Blackwell Science. pag. 958.

Valeeva NI, Lam TJGM, Hogeveen H. 2007. Motivation of dairy farmers to improve mastitis management. *J Dairy Sci* 90: 4466 - 4477.

Van Asseldonk MAPM, Rene RJ, Lam TJGM, Hogeveen H. 2010. Awareness and perceived value of economic information in controlling somatic cell count. *Vet Rec* 166: 263 - 267.

Young I, Rajic A, Hendrick S, Parker S, Sanchez J, McClure JT, McEwen SA. 2010. Attitudes towards the Canadian quality milk program and use of good production practices among Canadian dairy producers. *Prev Vet Med* 94: 43 - 53.

Zadoks RN, Fitzpatrick JL. 2009. Changing trends in mastitis. *Ir Vet J* 62: 59 - 70.

Capítulo 1

**Estimación y distribución de la frecuencia de mastitis y patógenos bacterianos
en vacas y tambos de la cuenca lechera de Villa María (Córdoba)**

Introducción

La mastitis bovina es mundialmente considerada una enfermedad de la producción como consecuencia de las pérdidas económicas que produce en los rodeos lecheros atribuidas no sólo a la disminución en la producción (Raubertas y Shook, 1982; Bartlett y col., 1990; Hortet y Seegers, 1998; Huijps y col., 2008; Durr y col., 2008), sino también a los costos asociados al tratamiento, descarte de leche y secado prematuro de animales en lactación con mastitis clínica (MC) (Seegers, 2003). Asimismo, se afecta la calidad de la leche y, por ende, altera su procesamiento, con disminución en la producción de quesos (Politis y Ng - Kwai - Hang, 1988) y en la durabilidad de la leche para consumo (Ma y col., 2000).

La causa más común de mastitis clínica y mastitis subclínica (MSC) son las infecciones intramamarias (IIM) producidas por una variedad de patógenos bacterianos. El conocimiento de los agentes involucrados es de trascendencia, porque difieren tanto en aspectos epidemiológicos, como es la capacidad de difusión de las cepas en el rodeo, y en aspectos relacionados a la virulencia de las cepas dentro de una especie. En conjunto, contribuye a orientar las estrategias de control dirigidas a blancos específicos.

Los patógenos de mastitis se clasifican en mayores y menores según la severidad y el grado de respuesta que se genera en la glándula mamaria. Los patógenos mayores del tipo contagioso incluyen *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma* spp. *Corynebacterium bovis* es considerado patógeno contagioso menor. Los patógenos de naturaleza contagiosa sobreviven en la ubre de la vaca y las nuevas infecciones se suceden primariamente en las acciones de manipulación durante el ordeño. Los patógenos ambientales se denominan así no sólo porque están en el ambiente, sino también porque ingresan a la ubre de forma directa desde el ambiente. Las bacterias incluidas son patógenos mayores y pertenecen al grupo de las Gram - negativas (*Pseudomonas* spp. y bacterias coliformes tales como *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp.) y de las Gram - positivas como *Streptococcus* spp. (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, y otros *Streptococcus* spp. no identificados como *Streptococcus agalactiae*). *Staphylococcus coagulasa* negativo son considerados como patógenos menores. Otros microorganismos pueden causar IIM, tales como hongos y algas, pero estos no son patógenos comunes (Wilson y col., 1997).

El cultivo microbiológico es usado para definir el estatus de infección de las vacas y permite así, estimar la prevalencia de infección en los rodeos. Asimismo, constituye una herramienta útil para el desarrollo de programas de control de la mastitis. Las muestras de leche pueden ser obtenidas individualmente de cada vaca o del tanque concentrador de leche. El cultivo de leche de tanque es aplicado con el propósito de inferir cuales son los patógenos más frecuentes en los rodeos. Sin embargo, en particular, el cultivo bacteriológico de muestras de leche de vaca es la estrategia más efectiva para identificar el organismo causal de la mastitis y desarrollar una estrategia de control (Bramley y col., 1996; Ruegg, 2001). Las muestras de leche de cada vaca pueden ser colectadas de cada cuarto o una muestra compuesta de los cuatro cuartos (Schukken y col., 2003).

La mastitis infecciosa, ya sea de carácter contagiosa o ambiental, es una enfermedad en la que interactúan múltiples factores para dar forma a su presentación, clínica o subclínica, como así también para determinar su magnitud en la población y severidad en los individuos (Elbers y col., 1998; Barkema y col., 1999; Zadoks y col., 2001; Ruegg, 2001).

El conocimiento de la prevalencia de patógenos que causan mastitis en relación al número de partos, el estadio de lactación y otros posibles factores de agrupación dentro de la vaca o del rodeo sería de importancia en términos de desarrollo de una estrategia de control de la enfermedad dado que nos permite inferir cuales son los grupos de alto riesgo.

Si bien existen estudios relacionados a mastitis y patógenos asociados en diferentes cuencas de la República Argentina, no se ha realizado un estudio epidemiológico con selección aleatoria de tambos que permita estimar la prevalencia y distribución de la mastitis y los principales microorganismos bacterianos involucrados.

Hipótesis de la investigación

Este capítulo es de carácter inductivo, por lo tanto no tiene hipótesis previa, siendo sus propósitos estimar la prevalencia promedio de mastitis en tambos de la cuenca lechera de Villa María (Córdoba) y la predominancia de patógenos bacterianos identificados como asociados a mastitis.

Asimismo, se espera que en la población de vacas estudiadas y de

acuerdo a distintos atributos individuales se visualicen variaciones en el riesgo, expresado en las diferentes prevalencias específicas.

Objetivo

Estimar la prevalencia de mastitis y de patógenos bacterianos asociados en tambos de la cuenca lechera de Villa María (Córdoba). Evaluar la variación de la prevalencia de mastitis a nivel de vaca y de rodeo.

Material y métodos

Población diana

La población diana u objetivo de la inferencia en este estudio fueron los establecimientos lecheros de la cuenca de Villa María (Córdoba) que tenían entre 100 y 250 vacas totales.

Selección de los tambos

El estudio estuvo constituido por una muestra de 51 tambos pertenecientes a la Unidad Ejecutora Local (UEL) Villa María (Córdoba) que fueron seleccionados en forma simple y al azar, a partir de un universo de 334 rodeos lecheros que poseían entre 100 a 250 vacas totales. Esta información corresponde a los datos obtenidos del censo ganadero en el marco de la campaña de fiebre aftosa realizado durante el año 2006.

Los productores seleccionados para participar en el estudio fueron contactados inicialmente mediante una carta de presentación del grupo de investigación en sobres con el membrete de la UNRC. La carta enviada resaltaba la experiencia del grupo de trabajo en el área de calidad de leche, los propósitos y características más destacadas del proyecto, y una explicación de cómo su participación en el estudio redundaría en beneficio de su sistema de producción. Luego, se estableció un contacto telefónico y finalmente se realizó una reunión con los productores para describir en detalle los objetivos del proyecto.

De los 51 establecimientos elegidos, 7 (13,7%) no se mostraron deseosos de participar, razón por la cual fueron reemplazados por otros productores seleccionados

también al azar de la lista original. Los establecimientos incluidos en el estudio fueron visitados una única vez entre los meses de marzo y septiembre de 2007.

Visita a los establecimientos

Cada tambo fue visitado durante el ordeño y se procedió a seleccionar las vacas a muestrear mediante un procedimiento de selección al azar sistemático. Para esto, el total de vacas en ordeño se dividió por el tamaño de la muestra establecido previamente. De esta manera se identificó el número a sistematizar, para posteriormente elegir al azar el punto de arranque (Thrusfield, 1996). El total de vacas muestreadas en cada tambo fue en promedio de 45 vacas ($DS = 3$). Este tamaño fue suficiente para estimar una prevalencia de MSC del 20%, con una precisión absoluta del 10,3% en un rodeo con 200 vacas en ordeño. Además, fue apropiado para detectar la presencia de al menos una vaca con MC, si la frecuencia fuese en el rodeo de al menos el 5%. En ambos casos la confianza elegida fue del 95%. La ecuaciones utilizadas en el cálculo fueron aquellas descritas por Thrusfield (1996), e implementada en el programa EPIDAT (OPS, 2003).

Cada muestra de leche fue obtenida de manera aséptica inmediatamente antes del ordeño. El procedimiento utilizado consistió en realizar el descarte de los primeros chorros de leche (milk strip) para detectar la presencia de MC a través de la visualización de alteraciones físicas en la leche (NMC, 2003) y posteriormente desinfectar los pezones con un algodón embebido en etanol 70%. Así, un volumen aproximado de 50 ml de una muestra compuesta de los 4 cuartos se recolectó en tubos de plástico estéril, conservándose las muestras a 4°C hasta su recepción en el laboratorio. Una alícuota de 10 ml fue transferida a un tubo de ensayo estéril premarcado y conservado a -20°C hasta su procesamiento bacteriológico dentro de los 20 días posteriores al muestreo. Al volumen restante de leche (40 ml) se le adicionó un conservante (azidiol) para la posterior determinación de recuento de células somáticas (RCS).

De cada vaca seleccionada se registró, el número ordinal de partos, los días de lactación al momento del muestreo, el índice de suciedad de la ubre (Schreiner y Ruegg, 2003) y la distancia comprendida entre la punta del pezón anterior y el piso. La variable días de lactancia, fue clasificada en menos de 90

días, entre 90 y 180 días y más de 180 días de lactancia, mientras que la variable *número ordinal de partos* fue clasificada en vaquillonas de primer parto y vacas de dos o más partos. El índice de suciedad fue utilizado usando una escala de 1 a 4 a partir de la observación posterior de la ubre, donde 1 correspondió a aquellas ubres libre de suciedad, 2 ubres con suciedad leve (2% - 10% de superficie cubierta), 3 ubres con suciedad moderada (10% - 30% de superficie cubierta) y 4 ubres con más del 30% de la superficie cubierta de suciedad apelmazada. La variable distancia comprendida entre la punta del pezón y el piso fue considerada como binaria. A tal fin, se calculó la media del total de mediciones realizadas y se clasificó a la variable según estuviera por encima o debajo de dicho valor.

Análisis de leche: RCS y cultivo bacteriológico

El RCS fue determinado mediante el método de Fluorocitometría Laser recomendado por la Federación Internacional de Lechería (FIL - IDF 148A:1995). Las muestras conservadas con azidol y frío fueron procesadas dentro de las 24 h posteriores a su recolección en el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario Villa María (LabVIMA) con un equipo Somacount 300 (Bentley, USA). Inicialmente la muestra de leche fue colocada en un baño María a 40°C, luego homogeneizada con un agitador incorporado al equipo para la posterior determinación de RCS. Los resultados fueron registrados como cél/ml x 1000.

Un volumen de 10 µl de la muestra fue sembrada en agar sangre ovina 5%, y las placas fueron incubadas a 37°C y examinadas a las 24 h y 48 h. Los aislados fueron analizados según morfología, color y tamaño de la colonia, como así también presencia y tipo de hemólisis. Cada aislado fue examinado por su respuesta a la tinción de Gram (NMC, 2004). La identificación preliminar de organismos Gram positivos se realizó en base a la prueba de la catalasa. Los cocos Gram positivos catalasa positivos considerados estafilococos fueron clasificados como coagulasa positivo o negativo por medio de la prueba de la coagulasa de 24 h (NMC, 2004). Los cocos Gram positivos catalasa positivos coagulasa positivo fueron identificados como *S. aureus* teniendo en cuenta datos históricos citados en la siguiente bibliografía (Gil Turnes, 1977; Tessi y col., 1979; Giraud y Busso, 1980; Rivero y col., 1984; Rampone y col., 1993; Bogni y col., 1997; NMC, 1999). Los cocos Gram positivos catalasa negativos fueron identificados como estreptococos (NMC, 2004). Los bacilos Gram positivos catalasa positivos fueron clasificados como *Bacillus* spp. Los bacilos

Gram positivos, pleomórficos, catalasa positivos se clasificaron dentro del género *Corynebacterium* spp., mientras que los catalasa negativos se identificaron como *Arcanobacterium pyogenes* (NMC, 2004). La identificación preliminar de los bacilos Gram negativos se realizó según la prueba de la oxidasa. Los microorganismos oxidasa positivos fueron clasificados como *Pseudomonas* spp., mientras que los oxidasa negativos fueron identificados como pertenecientes al grupo de las enterobacterias (NMC, 2004). Una muestra fue considerada positiva cuando se aislaron 3 o más colonias de hasta 3 tipos coloniales distintos; mientras que el aislamiento de 3 o más tipos de colonias bacterianas diferentes permitió identificar a la muestra como contaminada (Ruegg y Sekito, 2004). Para realizar el análisis se consideró la presencia de un solo tipo de colonia (cultivo puro) y de dos tipos de colonia (cultivo mixto).

Definición del estatus de salud de la ubre de las vacas

La salud mamaria de cada vaca fue definida considerando los siguientes criterios operativos: 1) Presencia de patógenos bacterianos 2) Valor de RCS en leche compuesta, 3) Presencia de patógenos mayores y RCS mayor a 250000 cél./ml, criterio establecido para definir MSC y 4) Presencia de MC

Análisis estadístico

La descripción del muestreo se realizó a nivel de vacas y tambos, considerando las distintas definiciones operativas del estatus sanitario de la ubre.

Las comparaciones entre individuos o establecimientos se realizaron mediante el cálculo de los intervalos de confianza binomiales (Thrusfield, 1996) en el caso de las proporciones (prevalencias de microorganismos, MSC y MC) y mediante el cálculo de los percentilos 25, 50 y 75% en el caso del RCS.

Se estudió la concordancia de distintos aislamientos de géneros bacterianos utilizando para tales efectos el índice Kappa, indicador que fue evaluado mediante una prueba de Chi Cuadrado (Iraola y col., 2004).

Resultados

Población diana y población de estudio

El tamaño de los rodeos estudiados, considerando el número de vacas totales, mostró un perfil similar respecto de los datos censales disponibles de los tambos pertenecientes a la UEL de Villa María (Tabla 1.1). Además, la distribución de tamaño de los rodeos que fueron seleccionados en primera instancia pero que no aceptaron participar fue similar al del conjunto de tambos que conformaron la población de estudio (Tabla 1.1)

Variación entre vacas

En total se recolectaron muestras compuesta de leche de 2296 vacas. De éstas, la proporción de vacas con cultivo positivo fue 78,2% (IC 95% 76,4 - 79,8), mientras que 15,6% (IC 95% 14,1 - 17,1) y 6,2% (IC 95% 5,2 - 7,2) de las vacas presentaron cultivos negativos y contaminados, respectivamente.

El patógeno mayor más frecuentemente aislado fue *S. aureus*, seguido por bacterias identificadas como *Streptococcus* spp. y luego por el grupo de las enterobacterias. El 41,9% del total del vacas muestreadas presentó aislamiento de *Staphylococcus* coagulasa negativo (Tabla 1.2).

Las proporciones de cada tipo de aislamiento bacteriano fueron comparadas entre categorías de vaca y vaquillonas, como así también entre distintos estadios de lactancia. Considerando a los patógenos mayores, la especie contagiosa *S. aureus* fue la predominante en las distintas categorías.

La concordancia de patógenos bacterianos fue estudiada para la especie de mayor importancia, *S. aureus* en relación a *Streptococcus* spp. y a SCN. En ambos casos el índice Kappa fue inferior a cero, indicando que la presencia de un patógeno bacteriano es independiente de la presencia de otro (Tabla 1.3).

La distribución de RCS para el conjunto de las vacas estudiadas presentó una mediana de 237.000 cél/ml (Tabla 1.4). El RCS no fue determinado en 22 vacas porque las muestras de leche presentaban grumos y correspondían a vacas con MC.

La prevalencia de MC y MSC para el conjunto de las vacas muestreadas fue de 3,0 (IC 95% 2,3 - 3,7) y 19,4% (IC 95% 17,8 - 21,0), respectivamente.

La variación de RCS y mastitis, de acuerdo a las distintas categorías de vaca, mostró que el RCS y la prevalencia de MSC fueron superiores en estadios de lactancia

más avanzados y en vacas con 2 o más partos (Tabla 1.5). Por el contrario, las prevalencias de MC no experimentaron patrón de variación alguno (Tabla 1.5).

El índice de suciedad implementado de acuerdo a protocolos previamente diseñados (Schreiner y Ruegg, 2003) y bajo las condiciones de este estudio mostró que en las vacas con ubres más limpias (categoría 1) la frecuencia de MSC fue superior al resto de las vacas (categoría 2, 3 y 4) (Tabla 1.5).

La distancia comprendida entre la punta del pezón y el piso, presentó distribución normal con media 51,3 cm. (DS = 6,25) y estuvo correlacionada negativamente con el número ordinal de parto (Coeficiente de correlación de Spearman = -0,43, valor $p \leq 0,001$). En base a la media se formaron dos grupos y al realizar la comparación se observó un incremento en la mediana de RCS y de la prevalencia de MSC en el grupo de menor distancia (Tabla 1.5).

Variación entre tambos

La mediana de RCS en la mayoría de los tambos fue inferior a 500.000 cél/ml (Figura 1.1 A). Las estimaciones fueron hechas sobre la base de 45 (DS = 3) vacas muestreadas por tambo y una fracción de muestreo promedio del 37% (DS = 11).

La prevalencia de infección fue muy dispar entre establecimientos (Figura 1.1 B), así como también la importancia relativa de la proporción de *S. aureus* y *Streptococcus* spp. (Figura 1.1 C). En la mayoría de los establecimientos, *S. aureus* fue el patógeno mayor predominante, mientras que en unos pocos tambos el patógeno de mayor importancia pertenecía al género *Streptococcus*. En aproximadamente el 20% de los establecimientos coexistían los dos tipos de patógenos bacterianos.

Entre los establecimientos estudiados se observó una gran variación en relación a la prevalencia de MSC con un rango entre 2,2% y 50% (Figura 1.2 A). En cuanto a MC, el rango fue entre 0% y 13%, con intervalos de confianza poco precisos debido al bajo número de muestras (Figura 1.2 B).

Discusión

A los efectos de evaluar el desempeño de los muestreos aleatorios y como una medida de la calidad de las estimaciones derivadas del estudio realizado, es aconsejable evaluar la tasa de respuesta y cuan comparables eran los establecimientos estudiados de aquéllos que no desearon participar (Groves, 2006; Draugalis y col., 2008).

Un aspecto central de la tasa de no respuesta es su magnitud, si ésta es elevada, las posibilidades de sesgo aumentan considerablemente (Groves y col., 2004). Las tres causas que aumentan la tasa de no respuesta son la imposibilidad de contactar al entrevistado, el rechazo a participar y la incapacidad para participar (Groves y col., 2004). La tasa de respuesta obtenida en este estudio fue del 86%, lo cual es considerado apropiado para estudios basados en entrevistas (Babbie, 2007; Singleton y Straits, 2005). Los aspectos críticos que han sido identificados como asociados a elevadas tasas de respuesta son múltiples y están relacionadas con el diseño previo a la administración de la encuesta, el cual debe ser bien planificado. En el caso particular de nuestro estudio tres elementos fueron tenidos en cuenta durante la etapa de diseño del estudio. Estos fueron, las múltiples formas de contacto que se establecieron con los productores, las repetidas invitaciones a participar y la administración de un cuestionario amigable (Dillman, 2000; Groves y col., 2004; Rothman y col., 2008), los que en el marco de esta investigación pueden ser causas plausibles de la buena tasa de respuesta obtenida.

Por otro lado, el grupo de productores que no aceptó participar del estudio fue similar a la población de estudio respecto del total de vacas (tamaño del rodeo), y representa una evidencia del buen desempeño del muestreo (Fink, 1995). A pesar de que no se pudo disponer de otros indicadores para comparar entre los productores que no participaron del resto, se asume que el tamaño de rodeo está asociado a otros aspectos de manejo y tecnológicos. La elevada tasa de respuesta y la similaridad de los productores reflejarían el buen desempeño del proceso de selección y reclutamiento de los productores para el estudio.

Los aislamientos bacteriológicos obtenidos en este estudio muestran que *S. aureus* fue el patógeno mayor más prevalente, en acuerdo con investigaciones realizadas en otros países (Wilson, 1997; Giannechini y col., 2002; Pitkälä, 2004; Haltia y col., 2006; Karimuribo y col., 2006; Ferguson y col., 2007; Lakew y col., 2009; Persson y col., 2011). Si bien en Argentina no hay precedentes de estudios cuyo diseño sea de las características del presente y, por ende, permita realizar una comparación, una revisión sistemática de los trabajos relacionados a mastitis realizada

por Calvinho y Tiranti (2005) reportó que en estudios realizados en los últimos años en diferentes cuencas y provincias del país, *S. aureus* fue el patógeno más frecuentemente aislado.

Sin embargo, el grupo de patógenos menores, y en particular el de SCN fue el más prevalente (41,9%) considerando el total de bacterias aisladas. Este es un hallazgo reiteradamente reportado por la bibliografía (Myllys y col., 1998; Pitkälä y col., 2004; Tenhagen y col., 2006; Ferguson y col., 2007; Nam y col., 2010; Schwarz y col., 2010), y por ello, es un grupo reconocido como emergente (Pyörälä y Taponen, 2009). Algunos autores explican este aumento en la importancia relativa de CNS como consecuencia de la implementación de medidas de control de la mastitis bovina dirigida a la erradicación y/o reducción de patógenos contagiosos. Así, aumenta el pool de cuartos mamarios susceptibles a infecciones por patógenos menores (Smith y Hogan, 2007; Sampimon y col., 2009). Por otro lado, la relevancia de este patógeno para la industria lechera esta sujeto a escrutinio e intenso debate en cuanto a su relevancia sobre la salud mamaria. En este sentido, estudios moleculares se están llevando adelante para dilucidar las diferencias en patogenicidad de las especies del grupo de CNS (Santos Nascimento y col., 2005; da Silva y col., 2005; Türkyilmaz y Kaya, 2006; Martins y Cunha, 2007; Cunha y col., 2007; Taponen y col., 2007; Nemati y col., 2008; Park y col., 2011).

Streptococcus spp. fue aislado en muchos establecimientos, pero sólo excepcionalmente se presentó con elevada prevalencia. Este género incluye especies contagiosas y ambientales, cuya diferenciación es determinante para establecer pautas específicas acerca del control (Godking, 1997; Ruegg, 2001).

Si bien, la utilización de muestras compuestas de leche permitiría especular la presencia de infecciones mixtas, los resultados obtenidos muestran la ausencia de asociación entre la presencia de uno y otro microorganismo. Sin embargo, es importante aclarar que el valor del índice Kappa produce resultados sesgados cuando las prevalencias son muy bajas o muy elevadas, y además cuando hay gran disparidad entre las prevalencias estimadas de los dos criterios en disputa (Szklo y Nieto, 2000). En este estudio las prevalencias fueron bastantes dispares entre los patógenos estudiados y se produjeron resultados sesgados.

La mediana de RCS fue de 237.000 cél/ml para el conjunto de vacas muestreadas y se encuentra en valores aceptables como indicador de la salud

mamaria (Heeschen, 2005). Sin embargo, los valores de RCS no fueron iguales cuando se compararon diferentes categorías de animales. Valores mayores de RCS fueron encontrados en vacas con mayor número de partos y en estadios de lactancia avanzada. Este hallazgo ha sido reiteradamente reportado (Eberhart y col., 1987; Sheldrake y col., 1983; Harmon, 1994). Dicho incremento del RCS ha sido atribuido a las múltiples exposiciones a infecciones a medida que avanza la edad y la lactancia, considerando que en vacas no infectadas el RCS se mantiene bajo de manera constante e independiente del estadio de lactación y el número de partos (Eberhart y col., 1987; Leavens y col., 1997).

El mayor valor de RCS en vacas con pezones próximos al suelo es consistente con lo hallado por Kuczaj (2003) y Monardes (1990), quienes también detectaron una correlación entre la distancia punta del pezón - piso con el número de partos de la vaca. Estos autores sostienen que en vacas con más partos la profundidad de la ubre es mayor y por lo tanto, los pezones se aproximan al piso. Así, se dificultan las tareas de limpieza y desinfección de los mismos para el ordeño y, de esta manera, aumenta el riesgo de IIM.

La ausencia de asociación entre el índice de suciedad y la prevalencia de infecciones contrasta con lo observado por Schreiner y Ruegg (2003) y Reneau y col. (2005), quienes describieron una asociación entre ubres sucias con elevados RCS y elevadas prevalencias de mastitis. Los resultados obtenidos en el presente estudio no sugerirían una utilidad potencial del índice de suciedad bajo las condiciones de producción imperantes en nuestro país. Sin embargo, es importante aclarar que para evaluar índices de esta naturaleza sería más aconsejable realizar estudio del tipo longitudinal, contemplando las estaciones del año.

Todas las relaciones establecidas entre los atributos de la vaca y el estado de salud mamaria fueron del tipo bivariado, por lo que no pueden considerarse concluyentes, dado que posibles efectos confundidores pueden estar modificando estas asociaciones.

El análisis de los indicadores de salud de la ubre a nivel de rodeo mostró una gran variabilidad. Si bien, se observaron tambos con prevalencia elevada de MSC, estas situaciones estuvieron representadas en general por bajos RCS en leche compuesta. Las diferencias observadas entre predios podrían estar influenciadas por medidas de manejo y factores de riesgo diferentes entre los establecimientos.

Conclusión

La similitud de la distribución de tamaño de rodeo entre la población de estudio y la población diana refleja el buen desempeño del proceso de muestreo. Este aspecto resalta la confiabilidad del mismo en la estimación de los distintos aspectos de la salud mamaria sobre los pequeños y medianos productores lecheros de la cuenca de Villa María (Córdoba).

Existe predominio *S. aureus* como agente asociado a mastitis en las muestras de leche analizadas. La frecuencia de MC y MSC mostró amplia variación entre rodeos y categorías de animales, aún así, en general 20 de cada 100 presentaron MSC.

Estos hallazgos contribuyen a tener una visión actualizada de la problemática de la enfermedad en los tambos de la cuenca en estudio y resaltan la necesidad de investigar las causas de variación entre rodeos y vacas.

Bibliografía

- Babbie E. 2007. *The Practice of Social Research*. 11.ed. Belmont: Wadsworth. 608 p.
- Barkema HW, Van der Ploeg JD, Schukken YH, Lam TJ, Benedictus G, Brand A. 1999. Management style and its association with bulk milk somatic cell count and incidence rate of clinical mastitis. *J Dairy Sci* 82: 1655 - 1663.
- Bartlett PC, Miller GY, Anderson CR, Kirk JH. 1990. Milk production and somatic - cell count in Michigan dairy herds. *J Dairy Sci* 73: 2794 - 2800.
- Bogni C, Raspanti C, Odierno L, Giraudo J, Calzolari A, Ángel R. 1997. Síntesis de Enterotoxinas y Resistencia a Antibióticos de Estafilococos Aislados de Mastitis Bovina. *Rev Med Vet* 78: 125 - 129.
- Bramley AJ, Cullor JS, Erskine RJ, Fox LK, Harmon RJ, Hogan JS, Nickerson SC, Oliver SP, Smith KL, Sordillo LM. 1996. *Current concepts of bovine mastitis* 4th Edition, The National Mastitis Council, Madison, WI.
- Calvinho LF, Tiranti L. 2005. Prevalencia de microorganismos patógenos de mastitis bovina y evolución del estado de salud de la glándula mamaria en Argentina en los últimos 25 años. *Rev FAVE, Sección Cs Vet* 4: 29 - 40.
- Dillman DA. 2000. *Mail and internet surveys*. 2.ed. New York: John Wiley & Sons. 464 p.
- Draugalis JR, Coons SJ, Plaza CM. 2008. Best practices for survey research reports: a synopsis for authors and reviewers. *Am J Pharm Educ* 72: 1 - 6.
- Dürr W, Cue RI, Monardes HG, Moro - Méndez J, Wade KM. 2008. Milk losses associated with somatic cell counts per breed, parity and stage of lactation in Canadian dairy cattle. *Livest Sci* 117, 225 - 232.
- Eberhart RJ, Harmon RJ, Jasper DE, Natzke RP, Nickerson SC, Reneau JK, Row EH, Smith KL, Spencer SB. 1987. *Current Concepts of Bovine Mastitis*. 3rd ed. Natl. Mastitis Council, Inc., Arlington, VA.
- Elbers ARW, Miltemburg JD, De Lange D, Crawels APP, Barkema HW, Schukken YH. 1998. Risk Factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the Southern part of the Netherlands. *J Dairy Sci* 81: 420 - 442.
- Ferguson J, Azzaro G, Gambina M, Licitra G. 2007. Prevalence of mastitis pathogens in Ragusa, Sicily, from 2000 to 2006. *J Dairy Sci* 90: 5798 - 5813.
- Fink A. 1995. *The Survey Handbook*, Sage Publication, Thousand Oaks. 129 p.

Giannechini R, Concha C, River R, Delucci I, Moreno Lopez J. 2002. Occurrence of clinical and subclínica mastitis in dairy herds in the west littoral Uruguay. *Acta Vet Scand* 43: 221 - 230.

Gil Turnes C. 1977. Mastitis subclínicas. Estudio de una cuenca productora de leche del sur de Córdoba. *Rev Med Vet* 58: 165 - 169.

Godkin A. 1997. Developing strategies to reduce mastitis caused by environmental streptococci. In: Proc. Symp. Udder Health Management for environmental streptococci. June 2nd. Ontario Veterinary College, Canada. Pg. 87 - 94.

Groves RM. 2006. Nonresponse rates and nonresponse bias in household surveys. *Public Opinion Quarterly* 70: 646 - 675.

Groves RM, Fowler FJ, Couper MP, Lepkowski JM, Singer E, Tourangeau R. 2004. *Survey Methodology*. New Jersey: John Wiley & Sons, 424 p.

Haltia L, Honkanen - Buzalski T, Spiridonova I, Olkonen A, Myllys V. 2006. A study of bovine mastitis, milking procedures and management practices on 25 Estonian dairy herds. *Acta Vet Scand* 48: 22 - 28.

Harmon RJ. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci* 77: 2103 - 2112.

Heeschen WH. 2005. Somatic cells as indicator of milk hygiene, scientific basis and the EU approach. Proc. 44th NMC Annual Meeting. Orlando, FL, pp. 52 - 72.

Hortet P, Seegers H. 1998. Calculated milk production losses associated with elevated somatic cell counts in dairy cows: review and critical discussion. *Vet Res* 29: 497 - 510.

Huijps K, Lam TJ, Hogeveen H. 2008. Costs of mastitis: facts and perception. *J Dairy Res* 75: 113 - 120.

Iraola Estevez J, Martinez - Gonzalez M, Segui - Gomez M. 2004. *Epidemiología aplicada*. Ariel Ciencias Médicas, 465 pag.

Kuczaj M. 2003. Analysis of changes in udder size of high yielding cows in subsequent lactations with regard to mastitis. *EJPAU Volume 6 Issue 1*

Laevens H, Deluyker H, Schukken YH, Meulemeester L, Vandermeersch R, Mulenaere E, Kruijff A. 1997. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *J Dairy Sci* 80: 3219 - 3226.

Ma Y, Ryan C, Barbano DM, Galton DM, Rudan MA, Boor KJ. 2000. Effects of somatic cell count on quality and shelf - life of pasteurized fluid milk. *J Dairy Sci* 83: 264 - 274.

Monardes HG, Cue RI, Haves JF. 1990 Correlations Between Udder Conformation Traits and Somatic Cell Count in Canadian Holstein Cows. *J Dairy Sci* 73: 1337 - 1342.

Myllys V, Asplund K, Brofeldt E, Hirvela - Koski V, Honkanen - Buzalski T, Junttila J, Kulkas L, Myllykangas O, Niskanen M, Saloniemi H, Sandholm M, Saranpaa T. 1998. Bovine mastitis in Finland in 1988 and 1995 - Changes in prevalence and antimicrobial resistance. *Acta Vet Scand* 39: 119 - 126.

NMC, National Mastitis Council. 1999. National Mastitis Council. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. Rev. ed. Madison, WI: National Mastitis Council.

NMC, National Mastitis Council. 2003. Current Concepts of Bovine Mastitis, 4th ed., Madison, WI.

NMC, National Mastitis Council. 2004. Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality. 4th ed., Madison, WI.

Nam HM, Kim JM, Lim SK, Jang KC, Jung SC. 2010. Infectious aetiologies of mastitis on Korean dairy farms during 2008. *Res Vet Sci* 88: 372 - 374.

Organización Panamericana de la Salud, 2003. EPIDAT 3.0 <http://www.paho.org/spanish/sha/epidat.htm>

Pitkälä A, Haveri M, Pyörälä S, Myllys V, Honkanen - Buzalski T. 2004. Bovine mastitis in Finland 2001 — prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J Dairy Sci* 87: 2433 - 2441.

Politis I, Ng - Kwai - Hang KF. 1988. Association between somatic cell count of milk and cheese yielding capacity. *J Dairy Sci* 71: 1720 - 1727.

Pyörälä S, Taponen S. 2009. Coagulase - negative staphylococci - emerging mastitis pathogens. *Vet Microbiol* 134: 3 - 8.

Rampone H, Bogni C, Giraud JA, Calzolari A. 1993. Identification of staphylococci from bovine milk in Argentina. *Zentralbl Bakteriol* 279: 537 - 543.

Raubertas RF, Shook GE. 1982. Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield. *J Dairy Sci* 65: 419 - 425.

Reneau JK, Seykora AJ, Heins BJ, Endres MI, FarnsworthRJ, Bey RF. 2005. Association between hygiene scores and somatic cell scores in dairy cattle. *J Am Vet Med Assoc* 227: 1297 - 1301.

Rivero V, Vena M, Corbellini C. 1984. Resultados bacteriológicos en casos de mastitis clínicas en rodeos lecheros de la cuenca de abasto del Gran Buenos Aires. I Congreso Nacional de Mastitis Bovina, Firmat, Santa Fe.

Rothman KJ, Greenland S, Lash TL. 2008. Modern epidemiology. 3.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 758 p.

Ruegg P. 2001. Mastitis Control. Dairy Updates Milking and Milk Quality No. 405 1 - 10.

Sampimon OC, Barkema HW, Berends IM, Sol J, Lam TJ. 2009. Prevalence and herd - level risk factors for intramammary infection with coagulase - negative staphylococci in Dutch dairy herds. *Vet Microbiol* 134: 37 - 44.

Schreiner DA, Ruegg PL. 2003. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclínica mastitis. *J Dairy Sci* 86: 3460 - 3465.

Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison - Tikofsky L, Gonzalez RN. 2003. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet Res* 34: 579 - 596.

Schwarz D, Diesterbeck US, Failing K, König S, Brügemann K, Zschöck M, Wolter W, Czerny CP. 2010. Somatic cell counts and bacteriological status in quarter foremilk samples of cows in Hesse, Germany - A longitudinal study. *J Dairy Sci* 93: 5716 - 5728.

Seegers H, Fourichon Ch, Beaudeau F. 2003. Production effects to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Vet Res* 34: 475 - 491.

Sheldrake RF, Ha RJT, McGregor GD. 1983. Lactation stage, parity, and infection affecting somatic cells, electrical conductivity, and serum albumin in milk. *J Dairy Sci* 66: 542 - 547.

Singleton RA, Straits B. 2005. Approaches to Social Research. 4.ed. New York: Oxford University Press. 618 p.

Smith KL, Hogan JS. 1998. Risk Factors Associated with Environmental Mastitis National Mastitis Council 37th Annual Meeting, St. Louis, Missouri. Meeting Proceedings, pg. 93

Smith KL, Hogan JS. 2001. The world of mastitis. Pages 1 - 12 in Proceedings of 2nd International symposium on mastitis and milk quality, September 13 - 15, Vancouver, BC, Canada.

Szklo M, Nieto J. 2000. Epidemiology Beyond the basics. An Aspen Publication 495 p

Tenhagen BA, Köster G, Wallmann J, Heuwieser W. 2006. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *J Dairy Sci* 89: 2542 - 2551.

Tessi MA, Alvarez de Esponda R, Sabbatini de Comini I, Gaivedoni de Taher MD, Paura A, Moguilevsky A, Casado N, Romano L, Weidmann P. 1979. Etiología microbiana de mastitis bovina subclínica en la cuenca lechera santafesina. *Rev Argent Microbiol* 11: 49 - 55.

Thrusfield M. 1996. *Veterinary Epidemiology*. 2ed Oxford, Blackwell Science. p 958.

Wilson DJ, Gonzalez RN, Das H. 1997. Bovine mastitis pathogens in New York and Pennsylvania: Prevalence and effects on somatic cell count and milk production. *J Dairy Sci* 80: 2592 - 2598.

Zadoks RN, Allore HG, Barkema HW, Sampimon OC, Wellemberg GJ, Grohn YT, Schukken YH. 2001. Cow and quarter - level risk factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Sci* 84: 2649 - 2663.

Tabla 1.1. Perfil de tamaño (vacas totales/rodeo) de la población diana, de la población de estudio y del grupo no participante en tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)

	Tamaño de los establecimientos (vacas totales)		
	Q1	Mediana	Q3
Población diana (n = 338)	137,5	173,5	212
Población de estudio (n = 51)	135	160	200
Tambos no participantes (n = 7)	151	170	180,5

Q1: percentil 25%; Q3: percentil 75%

Tabla 1.2. Frecuencia absoluta y relativa de los principales microorganismos aislados en vacas de tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)

Aislamiento microbiológico	Frecuencia	Porcentaje (IC 95%)
Negativo	359	15,6 (14,1 - 17,1)
Patógenos mayores		
<i>S. aureus</i>	434	18,9 (17,3 - 20,5)
<i>Streptococcus</i> spp.	145	6,3 (5,3 - 7,3)
Enterobacterias	115	5,0 (4,1 - 5,9)
<i>S. aureus</i> - <i>Streptococcus</i> spp.	26	1,1 (0,7 - 1,5)
<i>S. aureus</i> - Enterobacterias	8	0,3 (0,1 - 0,5)
<i>Streptococcus</i> spp. - Enterobacterias	5	0,2 (0 - 0,4)
Patógenos menores		
<i>Corynebacterium</i> spp.	99	4,3 (3,5 - 5,1)
<i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo	962	41,9 (39,9 - 43,9)
Contaminado	143	6,2 (5,2 - 7,2)
Total	2296	100

IC: intervalo de confianza

Tabla 1.3. Concordancia entre los microorganismos estudiados y test estadístico Kappa

		<i>S. aureus</i>		Kappa (IC 95%)
		+	-	
<i>Streptococcus</i> spp.	+	26	150	-0,043 (-0,075 - 0,011)
	-	442	1535	
<i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo	+	99	1047	-0,269 (-0,303 - 0,235)
	-	369	638	

IC: intervalo de confianza

Tabla 1.4. Distribución del recuento celular somático para el total de vacas estudiadas (n = 2274) en 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)

Percentiles (%)	RCS (cél/ml)
10	25
25	93
50	237
75	622,25
90	1612,5

RCS: recuento de células somáticas

Tabla 1.5. Distribución del recuento celular somático y prevalencia de mastitis de acuerdo a distintas características de la vaca en 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)

	RCS (cél/ml x 1000)			Mastitis	
	Q1	Mediana	Q3	Clínica (%)	Subclínica (%)
Estadio lactancia					
<90 días	40	144	465	2,8 (2,1 - 3,4)	15,1 (13,7 - 16,5)
90 - 180 días	93	213	584	2,7 (2,0 - 3,4)	19,1 (17,4 - 20,8)
>180 días	145	368	844	2,7 (2,1 - 3,2)	25,1 (23,5 - 26,6)
Edad					
Vaquillona	43	135	341	2,1 (1,5 - 2,8)	10,8 (9,4 - 12,2)
Vaca	108	284	753	2,8 (2,4 - 3,3)	22,1 (21,0 - 23,2)
Índice de suciedad					
1	98	250	631	2,3 (1,8 - 2,8)	21,5 (20,2 - 22,8)
2	84	210	641	3,1 (2,3 - 3,8)	18,0 (16,4 - 19,6)
3	72	203	603	5,2 (3,0 - 7,4)	16,9 (14,8 - 18,9)
4	91	216	635	0,6 (0,0 - 1,4)	18,5 (16,4 - 20,7)
Distancia pezón - piso					
≤51 cm	124,5	310	802	2,1 (1,7 - 2,6)	11,4 (10,5 - 12,3)
>51 cm	69	170	486	0,8 (0,6 - 1,1)	8,0 (7,2 - 8,8)

RCS: recuento de células somáticas; Q1: percentil 25%; Q3: percentil 75%

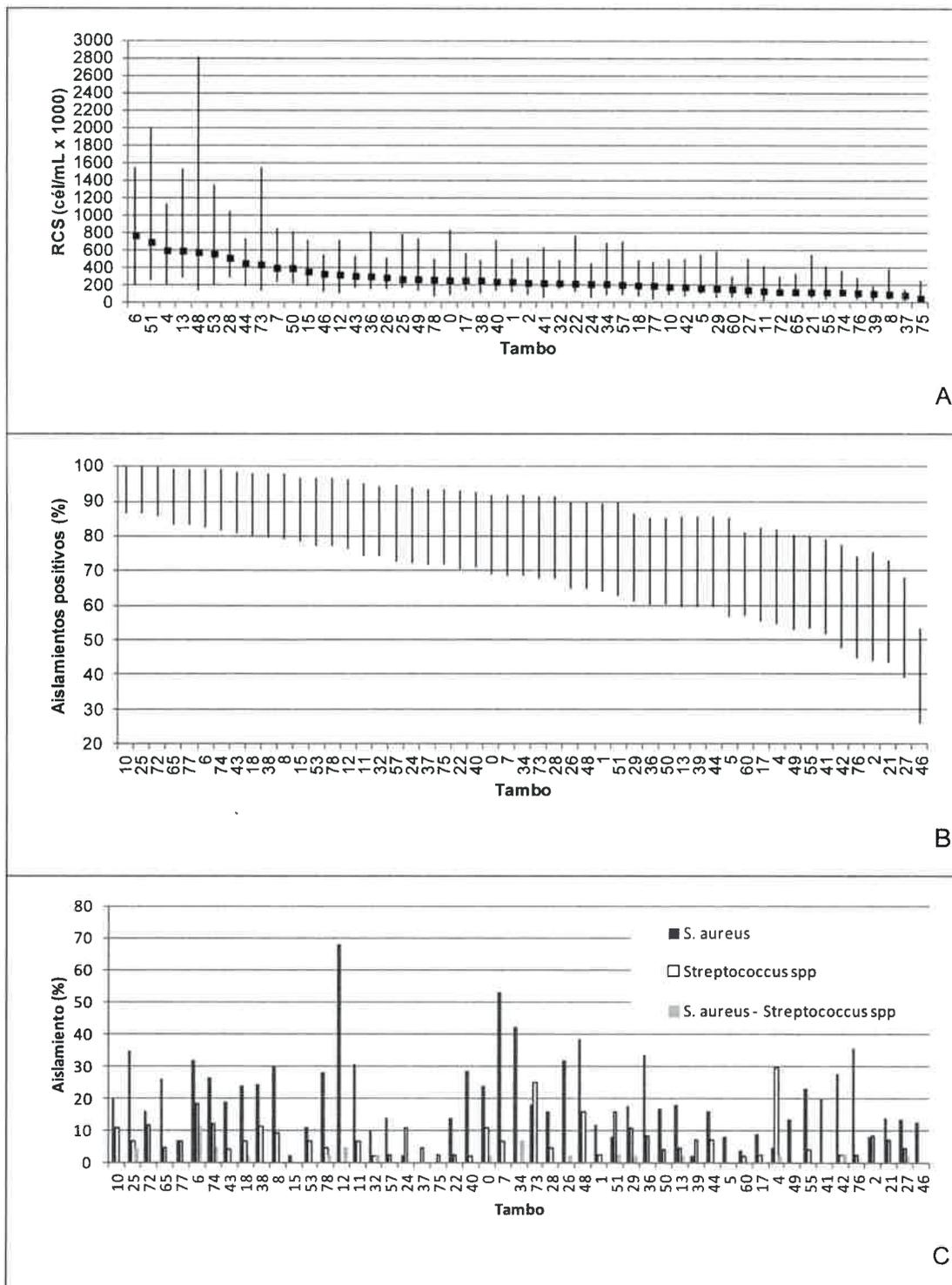


Figura 1.1. Distribución de RCS (A), prevalencia de infección (B) y distribución de los principales patógenos mayores asociados a mastitis (C) en 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba). RCS: Recuento de células somáticas

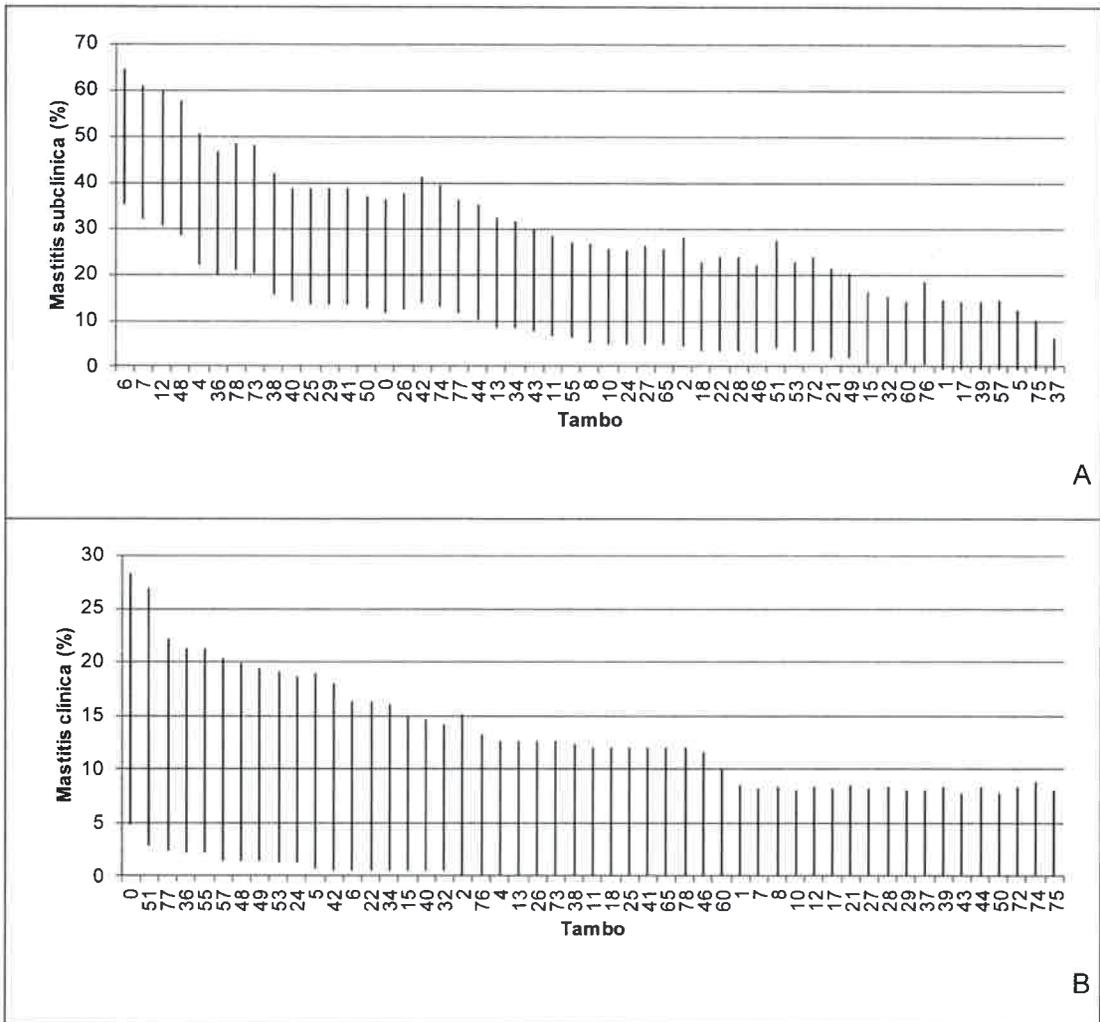


Figura 1.2. Proporción de vacas con mastitis subclínica (A) y clínica (B) estimada para 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba)

Capítulo 2

**Prevalencia de cuartos con mastitis subclínica estimada a partir de muestras
compuestas de leche en bovinos de tambos de la Cuenca de Villa María
(Córdoba)**

Introducción

El incremento del recuento celular somático (RCS) en muestras de leche es consecuencia del proceso inflamatorio que ocurre en la glándula mamaria, cuya causa principal son las infecciones intramamarias (IIM) (Schukken y col., 2003; Pyörälä, 2003).

El cuarto mamario es considerado como la unidad anatómica y funcional de la glándula y, por lo tanto, se prefiere la muestra de leche de cuarto para examinar la relación entre IIM y el aumento de RCS (Dohoo y Leslie, 1991; Schepers y col., 1997; Leavens y col., 1997; Djabri, y col., 2002a; Djabri, y col., 2002b; de Haas y col., 2004). Sin embargo, en determinadas circunstancias, una alternativa costo - efectiva es la utilización de muestra de leche compuesta de los cuatro cuartos para estimar el estatus de mastitis de las vacas y los rodeos.

El cultivo bacteriológico es considerado hasta la actualidad como la prueba de referencia o de oro para la determinación de IIM (Viguié, 2009), sin embargo la utilización de esta técnica implica la obtención de una muestra en condiciones de esterilidad, demanda de 48 a 72 hs para la obtención de los resultados y es costosa si se realiza en todos los animales del rodeo. Una alternativa más práctica, rápida y económica es la determinación del RCS (Sargeant y col., 2001; Schukken y col., 2003).

El RCS en la muestra compuesta de leche permitiría determinar el estatus de infección de la ubre y podría proveer información para la toma de diferentes decisiones de manejo, como realizar cultivo bacteriológico o tratamiento antibiótico al secado, y también sería de utilidad para cuantificar la tasa de nuevas infecciones o la estimar las pérdidas productivas (Raubertas y Shook, 1982; Reneau y col., 1983; NMC, 2003; Schukken y col., 2003; Durr y col., 2008). Sin embargo, la dilución de la muestra compuesta de leche proveniente de cuartos con elevado y bajo RCS es una importante consideración al momento de interpretar los resultados obtenidos (Dohoo y Meek, 1982).

La sensibilidad (Se) y la especificidad (Sp) del RCS para detectar IIM ha sido investigada tanto a nivel de cuarto (Timms y Schultz, 1987; Schepers y col., 1997; Schukken y col., 2003) como a nivel de vaca (Dohoo y col., 1981; McDermott y col., 1982; Reneau, 1986). En este marco, en la literatura

científica se plantea el debate de cual es la prueba de oro más apropiada para determinar el estatus de mastitis subclínica (MSC). Si bien la mayoría de los autores considera el análisis bacteriológico como prueba de referencia, otros autores sostienen que se debe considerar además el RCS (International Dairy Federation, 1971; Dohoo y Leslie, 1991; Hillerton, 1999; Pyörälä, 2003).

Por otro lado, el número de células somáticas en leche no sólo depende de la presencia o ausencia de IIM sino que también está influenciado por la edad de la vaca y los días de lactancia (Leavens y col., 1997; Schepers y col., 1997) Por lo tanto, los valores de Se y Sp deberían ser ajustados estadísticamente por estos factores (Greiner y Gardner, 2000).

Hipótesis de la investigación

Para estimar la prevalencia de cuartos afectados en los rodeos en estudio es necesario evaluar distintos puntos de corte de RCS en la muestra compuesta de leche. Se postula que la predictibilidad del RCS en muestras compuestas de leche bovina para detectar vacas con al menos un cuarto afectado con IIM y MSC varía de acuerdo al punto de corte seleccionado. Se postula que el desempeño de la técnica está influenciado por atributos de la vaca, tales como edad y estadio de lactación.

Objetivo

Estimar la predictibilidad del RCS en muestras compuestas de leche bovina para detectar vacas con al menos un cuarto afectado con IIM y MSC en tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba). Además, evaluar la influencia de atributos de la vaca sobre la Se y Sp del RCS en muestras compuestas de leche.

Material y métodos

La descripción del muestreo de rodeos y vacas fue detallada en el capítulo 1. Brevemente, 51 tambos fueron seleccionados al azar del estrato de productores que tenían entre 100 y 250 vacas en ordeño; y en cada establecimiento se realizó un muestreo aleatorio sistemático para coleccionar datos de 2296 vacas.

Ensayo de validación

Se recolectaron muestras de leche de cuarto de 219 vacas pertenecientes a tres establecimientos de los 51 incluidos en la muestra. A partir de una alícuota de cada cuarto se constituyó en el laboratorio la muestra compuesta de leche.

La prueba a validar fue el RCS en la muestra compuesta de leche y se consideraron tres umbrales, ≥ 150.000 cél/ml, ≥ 200.000 cél/ml y ≥ 250.000 cél/ml.

La prueba de referencia fue el resultado de la muestra de cuarto interpretado en paralelo, es decir, una vaca fue positiva cuando al menos un cuarto era positivo (Martin y col., 1987). Dos pruebas de referencias fueron contrastadas, 1) IIM: cuando en al menos un cuarto se aisló algún patógeno mayor y 2) MSC: cuando en al menos un cuarto se aisló algún patógeno mayor y además el RCS era superior a 250.000 cél/ml.

Evaluación de los cambios en la Se y Sp

Las estimaciones de Se y Sp de acuerdo a distintos umbrales (puntos de corte) de RCS en muestra compuesta de leche para detectar IIM y MSC se realizaron utilizando curva ROC (Receiver - Operating Characteristic) (Detilleux y col., 1999).

Evaluación de la influencia de las características de la vaca

Se evaluó la influencia de los atributos de la vaca en el desenvolvimiento de la prueba diagnóstica. Las características evaluadas fueron estadio de lactación y número de partos. Para ambas variables se consideraron dos categorías, lactancia temprana (menos de 100 días) versus lactancia tardía (100 o más días), y vaquillona (1 parto) versus vaca (2 o más partos). El rodeo fue incorporado al modelo como efecto fijo. Como consecuencia se planteó el siguiente modelo de regresión logística múltiple:

$$\text{Log} (p(x) / (1 - p(x))) = \beta_0 + \beta_1 W_1 + \beta_2 W_2 + \beta_3 W_3 + \beta_4 W_4$$

$p(x)$: probabilidad de $RCS \geq$ al punto de corte en muestra compuesta de leche
 W_1 : resultado de la muestra de leche de cuarto interpretada en paralelo
 W_2 : categoría según *número ordinal de parto*. Comparación base: vaquillona
 W_3 : categoría según días de lactancia. Comparación base: después de los 100 días

W_4 : rodeo

Valores de $p \leq 0,1$ fueron considerados como significativos.

A partir de los resultados del modelo de regresión logística utilizando los coeficientes beta de las variables asociadas, se estimaron la Se y la Sp ajustada, considerando los factores de la vaca de la siguiente manera (Dohoo y col., 2003):

$$Se = e^{\mu} / (1 + e^{\mu})$$

$$Sp = 1 - e^{\mu} / (1 + e^{\mu})$$

$$\text{Donde, } \mu = \beta_0 + \beta_1 W_1 + \beta_2 W_2 + \beta_3 W_3$$

Predictibilidad del RCS en leche compuesta para detectar IIM y MSC en al menos un cuarto

El valor predictivo de los negativos (VPN) y el valor predictivo de los positivos (VPP), entendido como las siguientes probabilidades, fueron estimados para cada rodeo:

$VPN = P$ (total de vacas con todos los cuartos mamarios negativos a IIM o MSC / total de vacas con $RCS < 200.000$ cél/ml en muestra compuesta de leche).

$VPP = P$ (total de vacas con todos los cuartos mamarios positivos a IIM o MSC / total de vacas con $RCS \geq 200.000$ cél/ml en muestra compuesta de leche).

A tal fin, fue implementado en el software WinBUGS un modelo bayesiano propuesto por Branscum y col. (2004).

```
Model{
  for(i in 1:1){
    y[i] ~ dbin(ap[i],n[i])
    ap[i] <- se*pi+(1 - sp)*(1 - pi)
  }
  se ~ dbeta(a, b)
```

```

sp ~ dbeta(a, b)
pi ~ dbeta(a, b)
pvn <- sp*(1 - pi)/((1 - se)*pi+sp*(1 - pi))
pvp <- se*pi/(se*pi+(1 - sp)*(1 - pi))
OneMinusPVN <- 1 - pvn
}

```

La información de Se y Sp utilizada en el modelo fue la obtenida del ensayo de validación. Dichas estimaciones fueron asumidas con una distribución beta dado que son proporciones. Los parámetros α y β de la distribución se obtuvieron a partir de las tablas 2 x 2 (Gardner, 2004) de la siguiente manera:

$$\alpha = \text{numero de positivos del total de infectados} + 1$$

$$\beta = \text{número de negativos del total de infectados} + 1$$

De la misma forma, los parámetros α y β para la Sp surgen del total de no infectados.

Los datos de prevalencias previas fueron obtenidos a partir de la opinión subjetiva de los expertos de la región (Spiegelhalter y col., 2004). La prevalencia previa de MSC fue de 0,25 (percentil 2,5% 0,13, percentil 97,5% 0,41) y la de IIM fue de 0,4 (percentil 2,5% 0,2, percentil 97,5% 0,62).

La distribución de las variables mencionadas, Se, Sp y prevalencias previas fue descripta utilizando el software Betabuster.

Resultados

Descripción de la población del ensayo

De las 219 vacas involucradas en el ensayo se procesaron en total las muestras de 858 cuartos mamarios. La frecuencia de aislamiento de patógenos mamarios fue de 69,9%, siendo levemente superior la frecuencia de patógenos menores (Tabla 2.1).

La prevalencia de IIM y MSC, utilizando la información de cuarto y realizando una interpretación en paralelo, en la población involucrada en el

ensayo de validación fue de 73,1% (IC 95% 67,2 - 78,9) y 46,6% (IC 95% 40,0 - 53,2), respectivamente. El mayor porcentaje de vacas con IIM tuvieron uno o dos cuartos afectados (Figura 2.1 A), mientras que para MSC la mayoría tenía solo un cuarto afectado (Figura 2.1 B).

En la población involucrada en el ensayo de validación predominaban las vacas de más de un parto, representando el 82,6%. Por otro lado, la proporción de vacas con más de 90 días de lactancia representaban el 77,1%.

Análisis del umbral de RCS mediante curva ROC

Los valores de Se y Sp para ambos contrastes de referencia muestran que un umbral de RCS de aproximadamente 200.000 cél/ml optimizó los índices de validez. Puntualmente, los valores de RCS fueron 177.000 cél/ml (Figura 2.2 A) y 213.000 cél/ml (Figura 2.2 B) para IIM y MSC, respectivamente.

Los valores de Se y Sp considerando distintos umbrales de RCS son presentados en la Tabla 2.2. Las áreas bajo la curva ROC fueron de 0,65 (IC 95% 0,56 - 0,73) y 0,80 (IC 95% 0,74 - 0,86) para IIM (Figura 2.3 A) y MSC (Figura 2.3 B), respectivamente.

Evaluación de la influencia de las características de la vaca

El efecto del estadio de lactación y el número ordinal de parto resultó marginal en comparación con el estatus de IIM y MSC (Tabla 2.3) para los puntos de corte más bajos. Cuando se evaluó para un punto de corte ≥ 300.000 cél/ml, ninguna de las dos variables resultó significativa. Los valores de p al evaluar el efecto tambo en todas las ecuaciones estuvo por encima de 0,1.

La Se y la Sp ajustada del RCS en muestra compuestas de leche con un umbral ≥ 200.000 cél/ml para vaquillonas de más de 100 días de lactancia para detectar al menos un cuarto con IIM fue de 47,5% y 75,6%, respectivamente. Considerando el mismo umbral de RCS en leche compuesta y para la categoría de vacas con más de 100 días de lactancia para detectar al menos un cuarto con MSC, la Se y la Sp ajustadas fueron de 82,9% y 65,7%, respectivamente.

Predictibilidad del RCS en leche compuesta para detectar IIM y MSC en al menos un cuarto

El promedio de la proporción de vacas con resultado falso positivo por tambo fue similar para ambas pruebas de referencia, IIM y MSC. Por el contrario, el promedio de la proporción de vacas con resultado falso negativo fue superior cuando la prueba de referencia fue MSC (Figura 2.4). A medida que el punto de corte de RCS aumenta la proporción de falsos positivos (FP) disminuye, por el contrario la de falsos negativos (FN) aumenta.

El modelo implementado permitió estimar la prevalencia posterior de MSC para un punto de corte de RCS ≥ 200.000 cél/ml. Los resultados para cada tambo se muestran en la Figura 2.5.

Discusión

El RCS en muestra de leche compuesta puede ser utilizado con cierto grado de validez para estimar la frecuencia de mastitis en los rodeos (McDermott y col., 1982; Timms y Schultz, 1987; Dohoo y Leslie, 1991). La Se y Sp de esta técnica fueron estimadas dentro del marco del presente estudio, usando una submuestra de tres rodeos para evitar la extrapolación de datos obtenidos de otras poblaciones. La Se (0,56) del RCS en leche compuesta obtenido en este estudio con un punto de corte de 200.000 cél/ml fue inferior a los resultados reportados en previos estudios cuando la infección a nivel de cuarto fue la prueba de referencia. McDermott y col. (1982) estimaron una Se de 0,89 con vacas de 12 rodeos, mientras que Dohoo y Leslie (1991) reportaron una Se de 0,83 con vacas de un rodeo.

Diferentes factores tales como el volumen del inóculo utilizado en el análisis bacteriológico y los patógenos bacterianos presentes en la leche pueden explicar el menor valor de Se estimada en este estudio. Dohoo y Leslie (1991) utilizaron un inóculo mayor (0,025 ml) con relación al utilizado en este estudio, mientras que McDermott y col. (1982) no informaron el volumen de inóculo sembrado.

Por otro lado, el patógeno involucrado puede explicar ciertas diferencias. *Staphylococcus aureus* fue el agente más prevalente en este estudio y puede eventualmente arrojar resultados FN porque es excretado de cuartos afectados siguiendo un patrón cíclico o a niveles persistentemente bajos (Buelow y col., 1996).

Con relación al valor de Sp (0,65) estimado en este estudio, resultó inferior al valor de 0,75 reportado por McDermott y col. (1982) y superior al valor de 0,589 estimado por Dohoo y Leslie (1991).

La literatura científica no provee información en relación a los índices de validez del RCS en leche compuesta utilizando MSC como prueba de referencia. Sin embargo, la validez general, considerando el área bajo la curva (ABC) ROC con un valor de 0,80, resultó moderada acorde a una guía arbitraria sugerida por Swets (1988). Esta guía distingue entre no informativa (ABC 0,5), poco válida (ABC >0,5 y ≤0,7), validez moderada (ABC >0,7 y ≤0,9), validez alta (ABC >0,9 y <1) y prueba perfecta (ABC 1). Asimismo, los valores de Sp del RCS cuando se compararon las dos pruebas de referencia, IIM y MSC, fueron superiores para MSC. Este resultado puede ser explicado por la presencia de cuartos infectados pero sin respuesta inflamatoria (RCS <250.000 cél/ml), los mismo no fueron considerados positivos.

A partir de los resultados del modelo de regresión logística y en acuerdo con diferentes reportes el estatus de infección fue el factor más importante que explica los elevados RCS (Dohoo y Meek, 1982; Harmon, 1994; de Haas y col., 2002; Reksen y col., 2008). Las características de la vaca parecen tener un efecto marginal (Dohoo y col., 1981; Schepers y col., 1997; Djabri y col., 2002b), y es especialmente remarcable en bajos puntos de cortes de RCS en leche compuesta.

Los valores de Se y Sp ajustados mejoran la predictibilidad de los resultados (Greiner y Gardner, 2000). Coughlin y col. (1992) propusieron realizar las inferencias a partir de los estimadores obtenidos del modelo de regresión logística. Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que el número de partos tuvo mayor efecto con relación a *días de lactancia* para ambas pruebas de referencia a un punto de corte de 150.000 cél/ml en leche compuesta. Esta situación se invierte cuando el punto de corte aumenta a 200.000 cél/ml. En un umbral de 150.000 cél/ml, una alta proporción de vacas (≥ 2partos) son clasificadas como positivas. De esta manera el efecto días en leche podría estar relativizado porque se reduce significativamente el error de clasificación de la categoría de animal más numerosa (vacas). A un punto de corte de 200.000 cél/ml, el estadio de lactación se torna más relevante porque la proporción de vacas y vaquillonas clasificadas como positivas se equipara y de esta manera, realizar el ajuste por días en leche adquiere importancia. La bibliografía muestra disparidad en relación a cual de las dos características es más relevante. Dohoo y col. (1981) encontraron mayor efecto del número de partos sobre el RCS en leche compuesta,

mientras que Schepers y col. (1997) informaron un mayor efecto de de la variable días en leche sobre el RCS a nivel de cuarto.

En base a los resultados de este estudio, se observa que el rodeo no afectó significativamente al resultado de RCS en leche compuesta. De esta manera, es consistente con lo hallado por Schepers y col. (1997), quienes estimaron un coeficiente de correlación intraclase del 23%. Estos autores demostraron que el efecto rodeo fue marcadamente menor que el efecto vaca, y por ende, las estimaciones podrían ser extrapoladas entre tambos. Esto significa que sería más importante, a los efectos de estimar con mayor precisión la Se y la Sp, observar la frecuencia de vacas después de los 100 días de lactación.

El modelo bayesiano utilizado en este estudio permitió estimar la proporción de vacas con resultados FPy FN en cada rodeo considerando no sólo los datos de prevalencia aparente y valores puntuales de Se y Sp, sino también información previa con respecto a la prevalencia real y variación aleatoria de los índices de validez dentro de ciertos parámetros distributivos.

En el presente estudio, la estimación de la prevalencia de vacas con al menos un cuarto con IIM hubiera incurrido en significativos errores dada la baja Se y Sp del RCS en leche compuesta para esta prueba de referencia, donde una proporción importante de vacas fueron mal clasificadas (FP y FN). Cuando la prueba de referencia fue MSC se obtuvo mayor validez y la ventaja con respecto a su capacidad diagnóstica se vería a su vez potenciada por el hecho de que la técnica identifica vacas infectadas con patógenos mayores y elevados RCS en leche, constituyéndose en un método útil para estimar el impacto productivo de la enfermedad en los rodeos. Diferentes estudios han demostrado el impacto que tiene el valor de RCS sobre la producción de leche (Raubertas y Shook, 1982; Seeger y col., 2003; Hagnestam - Nielsen y col., 2009).

La trascendencia de la elección de un punto de corte radicaría en el impacto que tiene un resultado FN o FP. Reneau (1986) propuso distintos umbrales en RCS según el objetivo con el que se utiliza esta prueba. En programas orientados a tratamientos selectivos, puntos de cortes de 150.000 cél/ml serían los adecuados para minimizar la proporción de FN. Si el objetivo es obtener información para un programa de control, el punto de corte debería ser mayor para equilibrar la proporción de FN y FP. Considerando la

importancia de poder estimar el impacto productivo que tiene la mastitis en los tambos de la región, un punto de corte en el RCS de 200.000 cél/ml sería el más apropiado para disminuir la proporción de FP sin aumentar de manera considerable la de FN, y de esta manera estimar con margen de error la prevalencia real de MSC. En base a los resultados obtenidos en el ensayo de validación se puede especular que las vacas responsables de esta sobreestimación, fueron aquellas con elevados RCS en leche compuesta pero que no presentaban MSC en ninguno de los cuartos, lo que generalmente se atribuyó a la ausencia de infección. *S. aureus* fue el patógeno predominante en los tambos de nuestra región, como fue mencionado en el capítulo anterior. En relación a esto, dos aspectos se deberían considerar, por un lado la menor sensibilidad del cultivo bacteriológico para detectar este tipo de infecciones como fue discutido antes y por otro lado, posterior a un episodio de mastitis clínica atribuido a este patógeno, la estabilización del RCS a valores bajos demora más tiempo, especialmente en vacas (de Haas y col., 2002; de Haas, y col., 2004).

Por último, el modelo podría ser aún mejorado en términos de predictibilidad si se suplementara el mismo con información acerca del error de clasificación del cultivo bacteriológico. La Se y Sp del cultivo ha sido estimada utilizando Californian Mastitis test como prueba a validar, pero resta aún su determinación mediante el RCS en base a sistemas automatizados.

Conclusión

Bajo las condiciones de estudio, un umbral de RCS en leche compuesta de 200.000 cél/ml maximizaría la Se y Sp para detectar MSC en al menos un cuarto. Considerando este umbral, la Se y Sp ajustadas por los atributos individuales de la vaca no experimentaron cambios muy marcados. De esta manera, y considerando los errores de la técnica, fue posible estimar la magnitud y distribución de la prevalencia real de MSC para los rodeos de la cuenca de Villa María (Córdoba).

Bibliografía

Branscum AJ, Gardner IA, Johnson WO. 2004. Bayesian modeling of animal - and herd - level prevalence. *Prev Vet Med* 66: 101 – 112.

Buelow KL, Goodger WJ, Collins MT, Clayton MK, Nordlund KV, Thomas CB. 1996. A model to determine sampling strategies and milk inoculum volume for detection of intramammary *Staphylococcus aureus* infections in dairy cattle by bacteriological culture. *Prev Vet Med* 25: 343 - 355.

Coughlin SS, Trock B, Criqui MH, Pickle LW, Browner D, Tefft MC. 1992. The logistic modeling of sensitivity, specificity, and predictive value of a diagnostic test. *J Clin Epidemiol* 45: 1 - 7.

de Haas Y, Veerkamp RF, Barkema HW, Gröhn YT, Schukken YH. 2004. Associations between pathogen - specific cases of clinical mastitis and somatic cell count patterns. *J Dairy Sci* 87: 95 - 105.

Detilleux J, Arendt J, Lomba F, Leroy P. 1999. Methods for estimating areas under receiver - operating characteristic curves: illustration with somatic - cell scores in subclínica intramammary infections. *Prev Vet Med* 41: 75 - 88.

Djabri B, Bareille N, Beaudeau F, Seegers H. 2002a. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta - analysis. *Vet Res* 33: 335 - 357.

Djabri B, Bareille N, Poutrel B, Beaudeau F, Ducelliez M, Seegers H. 2002b. Accuracy of the detection of intramammary infection using quarter somatic cell count when taking parity and stage of lactation of the dairy cow into account. *Anim Res* 51: 135 - 148.

Dohoo IR, Leslie KE. 1991. Evaluation of changes in somatic cell counts as indicators of new intramammary infections. *Prev Vet Med* 10: 225 - 237.

Dohoo IR, Martin W, Stryhn H. 2003. *Veterinary Epidemiologic Research*. Prince Eduard Island Ed, 706 pag.

Dohoo IR, Meek AH. 1982. Somatic cell counts in bovine milk. *Can Vet J* 23: 119 - 125.

Dohoo IR, Meek AH, Martin SW, Barnum DA. 1981. Use of total and differential somatic cell counts from composite milk samples to detect mastitis in individual cows. *Can J Comp Med* 45: 8 - 14.

Gardner IA. 2004. An Epidemiologic critique of current microbial risk assessment practices: the importance of prevalence and test accuracy data. *J Food Food Prot* 67: 2000 - 2007.

Greiner M, Gardner IA. 2000. Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. *Prev Vet Med* 45: 3 - 22.

Hagnestam - Nielsen C, Emanuelson U, Berglund B, Strandberg E. 2009. Relationship between somatic cell count and milk yield in different stages of lactation. *J Dairy Sci* 92: 3124 - 3133.

Harmon RJ. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci* 77: 2103 - 2112.

Hillerton JE. 1999. Redefining mastitis based on somatic cell count. *IDF Bulletin* 345: 4 - 6.

International Dairy Federation. 1971. A monograph on bovine mastitis. *Intl. Dairy Fed. Bull. No. 60*, Intl. Dairy Fed., Brussels, Belgium.

Leavens H, Deluyker H, Schukken YH, de Meulemeester L, Vandermeersch R, de Kruif A. 1997. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *J Dairy Sci* 80: 3219 - 3226.

Martin SW, Meek AH, Willeberg P. 1987. *Veterinary Epidemiology: Principles and Methods*. Iowa State University Press, Ames.

McDermott MP, Erb HN, Natzke RP. 1982. Predictability by somatic cell counts related to prevalence of intramammary infection within herds. *J Dairy Sci* 65: 1535 - 1539.

NMC, National Mastitis Council. 2004. *Current Concepts of Bovine Mastitis*, 4th ed., Madison, WI.

Pyörälä S. 2003. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Vet Res* 34: 565 - 578.

Pyörälä S, Pyörälä E. 1997. Accuracy of methods using somatic cell count and N - Acetyl - b - D - Glucosaminidase activity in milk to assess the bacteriological cure of bovine clinical mastitis. *J Dairy Sci* 80: 2820 - 2825.

Raubertas RF, Shook GE. 1982. Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield. *J Dairy Sci* 65: 419 - 425.

Reksen O, Sølverød L, Østerås O. 2008. Relationships between milk culture results and composite milk somatic cell counts in Norwegian dairy cattle. *J Dairy Sci* 91: 3102 - 3113.

Reneau JK, Appleman RD, Steuernagel GR, Mudge JW. 1983. Somatic cell count: an effective tool in controlling mastitis. Agric. Ext. Serv. Bull. AG - FO - 9447, Univ. Minnesota, St. Paul.

Reneau JK. 1986. Effective use of Dairy Herd Improvement Somatic Cell Counts in mastitis control. J Dairy Sci 69: 1708 - 1720.

Sargeant JM, Leslie KE, Shirley JE, Pulkrabek JL, Lim GH. 2001. Sensitivity and specificity of somatic cell count and California Mastitis Test for identifying intramammary infection in early lactation. J Dairy Sci 84: 2018 - 2024.

Schepers AJ, Lam TJGM, Schukken YH, Wilmink JBM, Hanekamp WJA. 1997. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. J Dairy Sci 80: 1833 - 1840.

Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison - Tikofsky L, Gonzalez RN. 2003. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. Vet Res 34: 579 - 596.

Seegers H, Fourichon C, Beaudeau F. 2003. Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. Vet Res 34: 475 - 491.

Spiegelhalter DJ, Abrams KR, Myles JP. 2004. Bayesian approaches to clinical trials and health - care evaluation. John Wiley & Sons, Ltd.

Swets JA. 1988. Measuring the accuracy of diagnostic systems. Science 240: 1285 - 1293.

Timms LL, Schultz LH. 1987. Dynamics and significance of coagulase - negative staphylococcal intramammary infections. J Dairy Sci 70: 2648 - 2657.

Viguier C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K, O'Kennedy R. 2009. Mastitis detection: current trends and future perspectives. Trends Biotechnol 27: 486 - 493.

Tabla 2.1. Patógenos bacterianos aislados a nivel de cuarto (n = 219 vacas)

Aislamiento microbiológico	N	%
Negativo	248	28,9
Patógenos mayores		
<i>S. aureus</i>	172	20,0
<i>Streptococcus</i> spp.	40	4,7
Enterobacterias	49	5,7
<i>S. aureus</i> - <i>Streptococcus</i> spp.	10	1,2
<i>S. aureus</i> - Enterobacterias	3	0,3
<i>Pseudomonas</i> spp.	2	0,2
Patógenos menores		
<i>Corynebacterium</i> spp.	37	4,3
<i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo	285	33,2
<i>Corynebacterium</i> spp. - <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativo	2	0,2
Contaminado	10	1,2
Total	858	100

Tabla 2.2. Sensibilidad y especificidad estimada para cuatro puntos de corte de recuento celular somático en muestras compuesta de leche para detectar la presencia de infección intramamaria y mastitis subclínica

RCS (cél/ml)	Infección intramamaria		Mastitis subclínica	
	Se	Sp	Se	Sp
Positivo si es $\geq a$				
150.000	0,681	0,542	0,863	0,590
200.000	0,562	0,661	0,775	0,726
250.000	0,475	0,695	0,676	0,786

RCS: Recuento de células somáticas; Se: Sensibilidad; Sp: Especificidad

Tabla 2.3. Resultados obtenidos del modelo de regresión logística para infección intramamaria y mastitis subclínica considerando tres umbrales de recuento celular somático en muestras del leche compuesta

	Infección intramamaria		Mastitis subclínica	
	β (EE)	Valor p	β (EE)	Valor p
RCS \geq150.000 cél/ml				
Constante	-0,31 (0,42)	0,46	-0,65 (0,43)	0,13
Estadio de lactancia	0,74 (0,4)	0,06	0,82 (0,46)	0,07
Partos	-1,03 (0,47)	0,03	-1,01 (0,53)	0,06
Infección intramamaria	0,8 (0,32)	0,01	-	-
Mastitis subclínica	-	-	2,37 (0,42)	<0,01
RCS \geq200.000 cél/ml				
Constante	-1,13 (0,44)	0,01	-1,49 (0,43)	<0,01
Estadio de lactancia	0,85 (0,41)	0,04	0,84 (0,44)	0,06
Partos	-0,85 (0,49)	0,08	-	-
Infección intramamaria	1,03 (0,31)	<0,01	-	-
Mastitis subclínica	-	-	2,23 (0,34)	<0,01
RCS \geq250.000 cél/ml				
Constante	-0,78 (0,26)	< 0,01	-1,23 (0,21)	< 0,01
Estadio de lactancia	-	-	-	-
Partos	-0,82 (0,48)	0,09	-	-
Infección intramamaria	1,05 (0,31)	< 0,01	-	-
Mastitis subclínica	-	-	2,3 (0,32)	<0,01

RCS: Recuento de células somáticas; EE: Error estandar

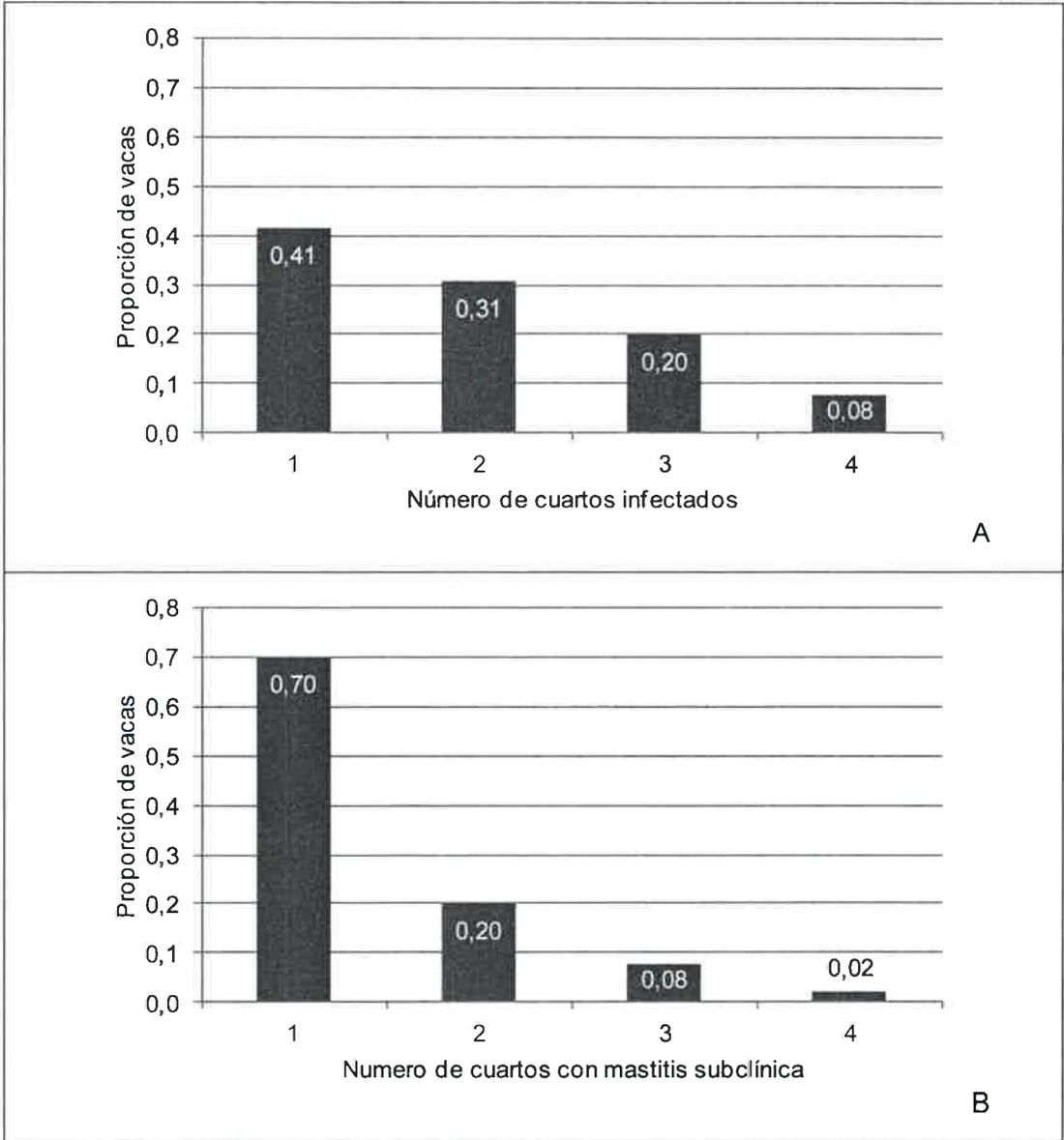


Figura 2.1. Distribución de cuartos afectados por vaca en el diagnóstico de infección intramamaria (A) y mastitis subclínica (B)

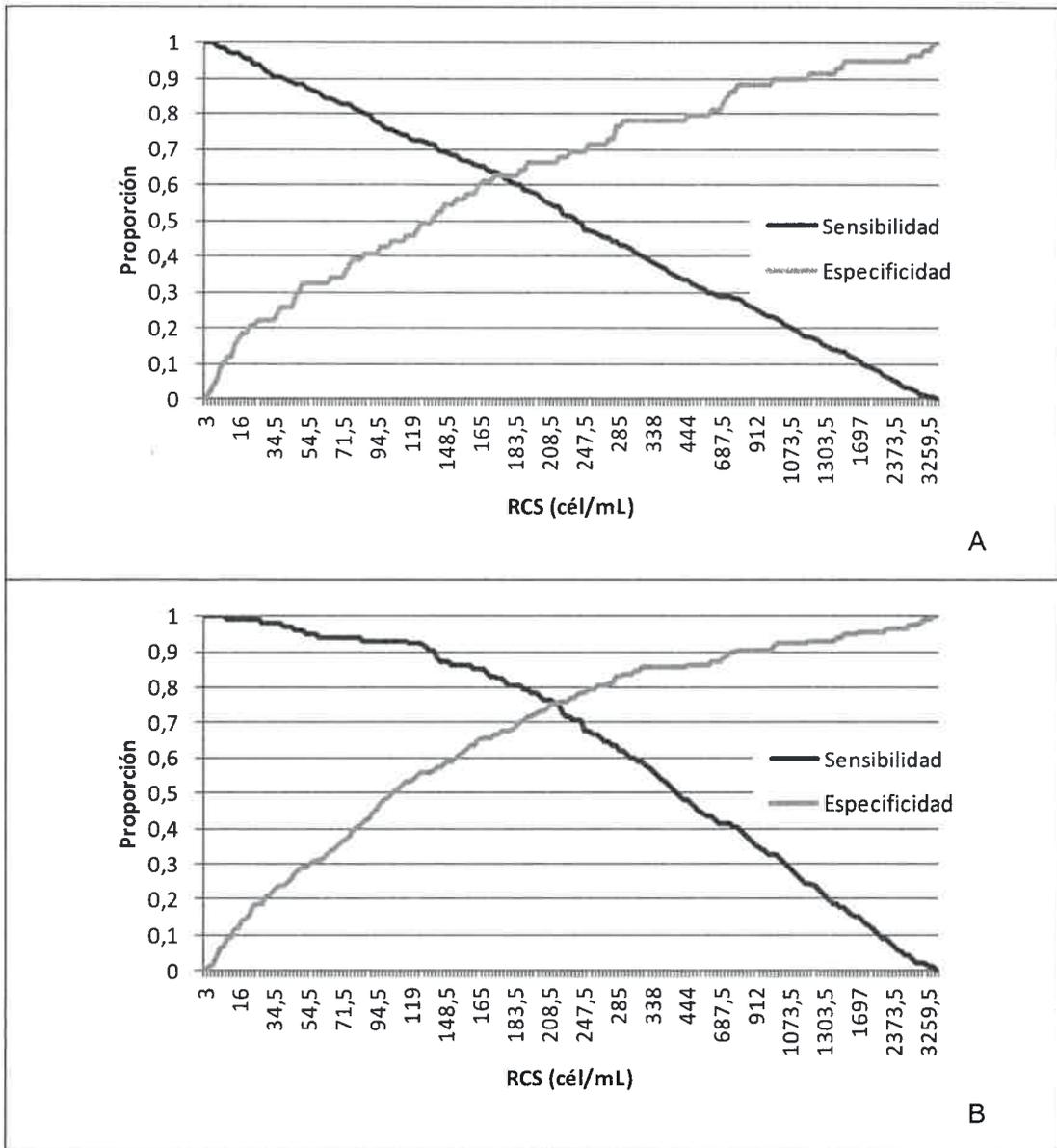


Figura 2.2. Sensibilidad y especificidad del recuento celular somático en muestras compuesta de leche para predecir infección intramamaria (A) y mastitis subclínica (B) a nivel de cuarto. RCS: Recuento de células somáticas

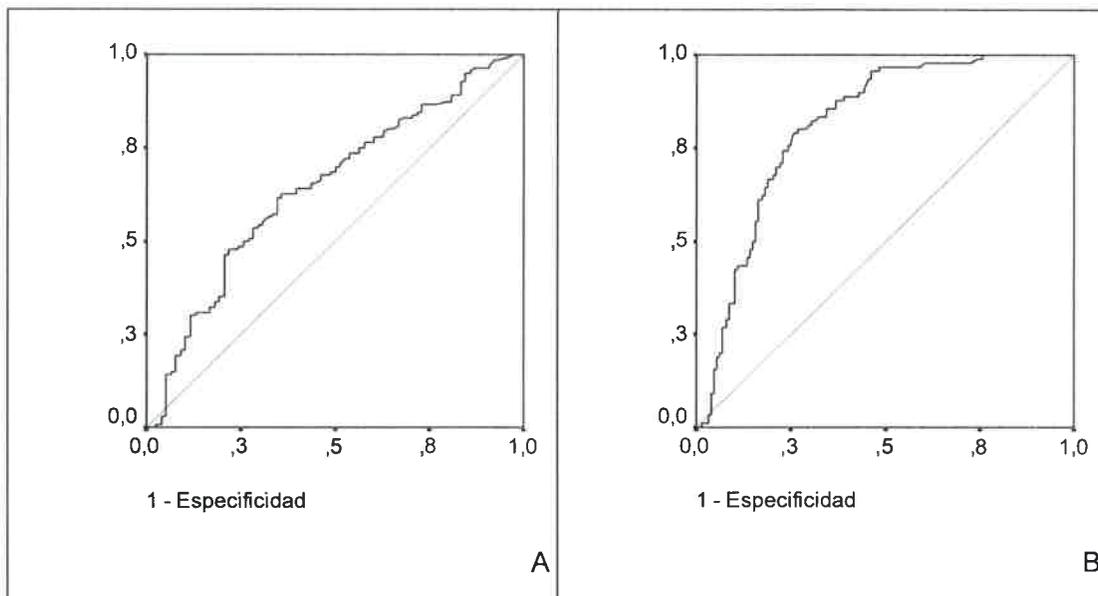


Figura 2.3. Análisis ROC de la sensibilidad y especificidad del recuento celular somático en leche compuesta para infección intramamaria (A) y mastitis subclínica (B) como pruebas de referencia

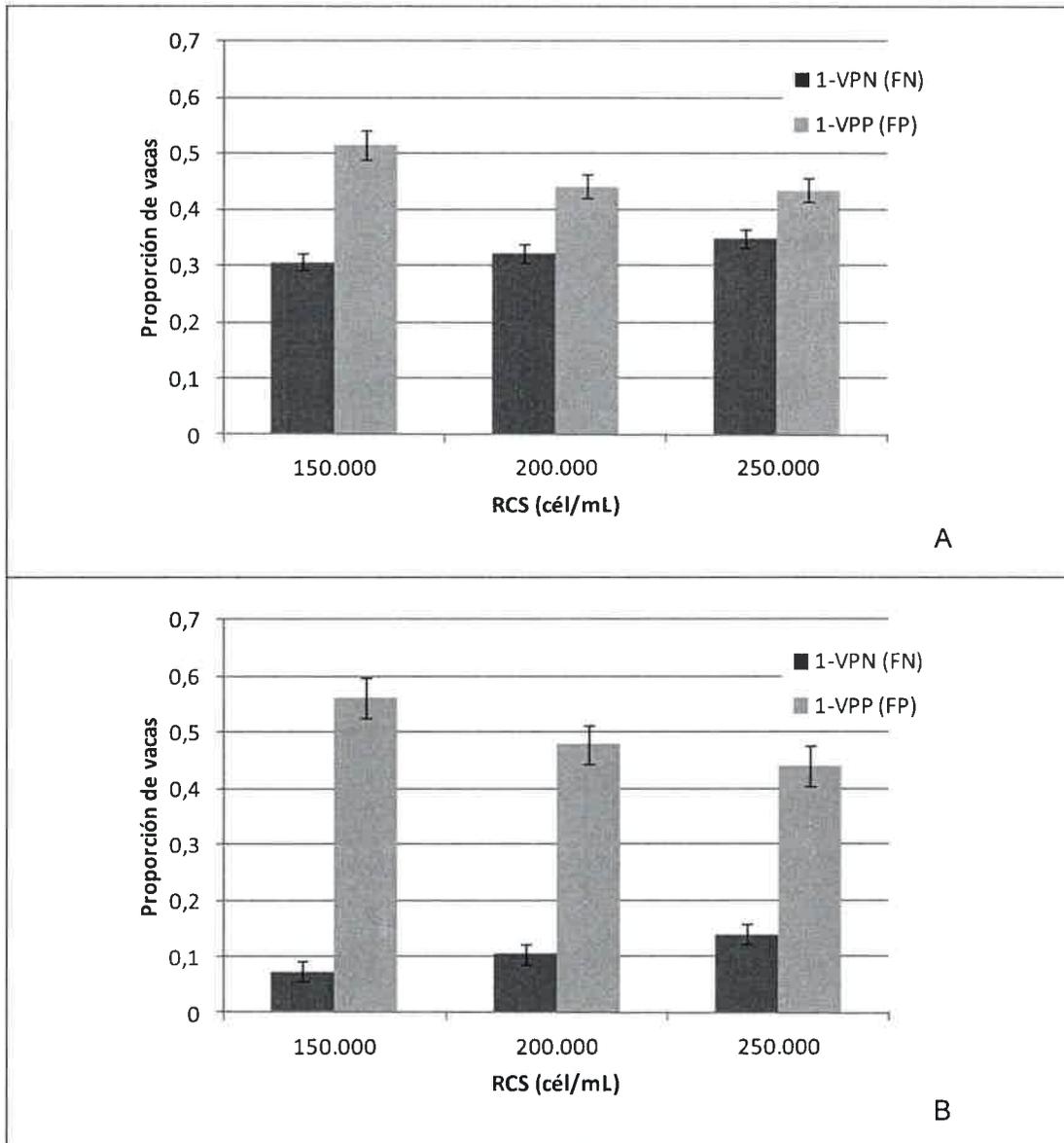


Figura 2.4. Probabilidad posterior promedio e intervalos de credibilidad de falsos negativos y falsos positivos en la predicción de infección intramamaria (A) y mastitis subclínica (B) para tres umbrales de recuento celular somático en leche compuesta en 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba). VPN: Valor predictivo negativo; VPP: Valor predictivo positivo; FN: Falsos negativos; FP: Falsos positivos; RCS: Recuento de células somáticas

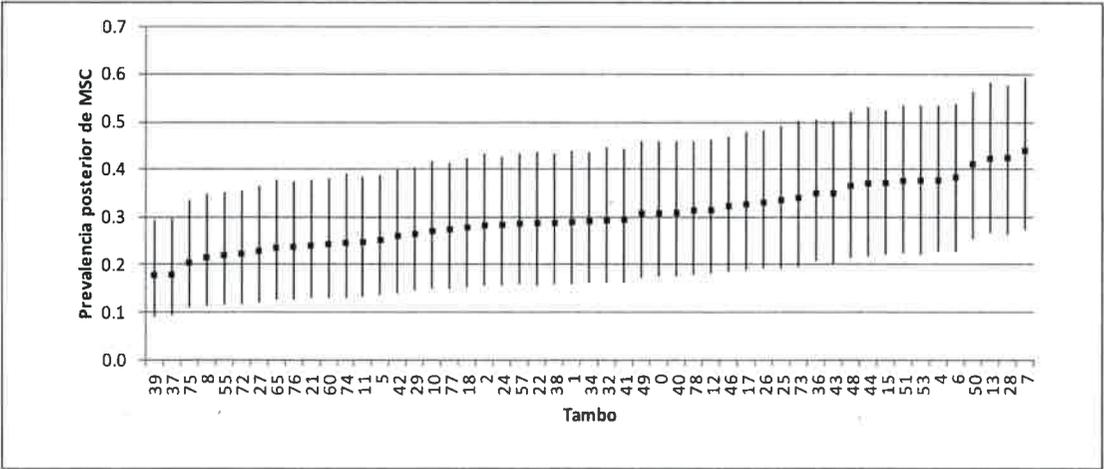


Figura 2.5. Distribución de la prevalencia posterior de mastitis subclínica en 51 tambos de la cuenca de Villa María (Córdoba). MSC: Mastitis subclínica

Capítulo 3

Perfiles de rodeos lecheros en relación al control de mastitis y a la calidad de leche en tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba)

Introducción

En la Argentina el sector lechero ha experimentado profundos cambios en los últimos 20 años, observándose una marcada disminución del número de rodeos, especialmente aquellos de menor tamaño, pero sin disminución del número total de vacas en ordeño según los datos del Censo Nacional Agropecuario (CNA) 1988 y 2002 (MAGyP de la Nación). En la producción primaria de leche, la dominancia esta dada por los pequeños y medianos productores de leche, así un 84% de los tambos de Argentina se encuentran localizados en los estratos de hasta 3000 litros de producción diaria de leche y un 86% poseen hasta 500 vacas (Castellanos, 2009). En este marco de situación, es relevante tener una visión actualizada de las características estructurales y de manejo de los tambos de baja y mediana escala productiva.

A los efectos de realizar un relevamiento adecuado de las características de los rodeos existe un gran cuerpo de literatura abocado al estudio de los factores asociados a la mastitis clínica (MC) y mastitis subclínica (MSC). Los reportes abarcan desde aspectos relacionados al hospedador, tales como el orificio y forma de pezón (Elbers y col., 1998; Barkema y col., 1999; Zadoks y col., 2001), la pérdida de leche pre - ordeño (Elbers y col., 1998; Waage, 2001) y edad de la vaca (Barkema y col., 1999; Zadoks y col., 2001), como así también aspectos del rodeo.

La rutina de ordeño conlleva una serie de eventos que influyen de manera decisiva en la magnitud de la mastitis en la población (Bartlett y col., 1992; Ruegg, 2001), en particular, la higiene y desinfección de la glándula y el pezón (Barkema y col., 1999; Schreiner y Ruegg, 2003), la detección temprana de la mastitis y el tratamiento precoz de cuartos afectados, como así también aspectos relacionados con la terapia al secado (Erksine y col., 1994; Barkema y col., 1999; Ruegg, 2001).

Además, el total de vacas en ordeño y el tiempo destinado a la actividad de ordeño han sido reportados como aspectos relacionados con la magnitud de la frecuencia de mastitis (Bartlett, 1992), así como la preservación del adecuado funcionamiento de la máquina de ordeñar (NMC, 2003).

Sin embargo, las bases para el control de la mastitis consisten de algunas medidas terapéuticas y preventivas de conocida eficacia. Estas han sido enumeradas en el denominado "Plan de los cinco puntos" (Kingwill y col., 1970; Neave y col., 1966; Neave y col., 1969) que ha contribuido a la reducción de patógenos contagiosos en muchos países (Bradley, 2002). Los elementos del plan de los cinco puntos son desinfección post - ordeño de pezones, terapia masiva de vacas al secado, terapia de

casos de MC durante la lactancia, adecuado mantenimiento de la máquina de ordeño y secado anticipado de vacas con problemas crónico de MC.

La aplicación en mayor o menor grado de medidas profilácticas o terapéuticas por los productores lecheros debería ser de utilidad para examinar la variabilidad entre establecimientos y tipificar los rodeos. De este modo, la tipificación de sistemas y estilos de manejo pueden servir de sustrato para diseñar estrategias de intervención apropiadas para los tipos de productores identificados.

Asimismo, la eficacia de la implementación del plan de los cinco puntos para reducir la frecuencia de mastitis puede variar de una población a otra y por lo tanto debería ser investigada por área o grupo de productores. En este marco, este estudio epidemiológico está orientado a describir conglomerados de productores en base a un conjunto de factores de exposición que según la evidencia científica disponible está asociado al incremento o disminución del riesgo de mastitis.

Hipótesis de la investigación

Se estima *a priori* que existen diferencias entre rodeos lecheros de la cuenca de Villa María (Córdoba), respecto de las prácticas de manejo relacionadas al diagnóstico, terapéutica y profilaxis de la mastitis, lo que permitiría clasificarlos en base a estos criterios.

Objetivo

Caracterizar el manejo de la salud mamaria respecto de las acciones relacionadas al diagnóstico, terapéutica y profilaxis, implementadas por el productor y con énfasis en la tipificación de los sistemas de producción y esquema de control.

Material y métodos

El proceso de muestreo de los establecimientos fue descrito en el capítulo 1. Brevemente, 51 tambos fueron seleccionados al azar del estrato de productores que tenían entre 100 y 250 vacas en ordeño.

Recolección de datos

Los datos recolectados surgieron de observaciones directas de las instalaciones y de la rutina de ordeño, de una encuesta realizada a los tamberos de los tambos visitados, de la referencia geográfica de los tambos y del análisis de muestras de leche del tanque y de agua utilizada en la sala de ordeño.

Elaboración e implementación de la encuesta

La encuesta fue elaborada considerando aspectos relacionados a tratamientos, vacunas, higiene, instalaciones, diagnóstico de mastitis, características del ordeñador. Los ítems contemplaban los descriptores básicos de un programa de control de la mastitis reportados por el Mastitis Research Council.

Una vez elaborado el primer borrador de la encuesta, la misma fue remitida a tres informantes calificados (especialistas reconocidos en el área de mastitis y calidad de leche) para que realizaran una evaluación temática, de pertinencia de los tópicos y claridad de las preguntas.

A partir de la encuesta definitiva se codificaron las variables y se confeccionó la base de datos en el programa Excel de Microsoft. En cada visita, la encuesta de tipo semiestructurada fue administrada por la misma persona en todos los establecimientos y dirigida al tambero después de finalizado el ordeño de los animales.

Adicionalmente se registraron las coordenadas geográficas utilizando un GPS eTrexLegend™ (Garmin Ltd).

Obtención y procesamiento de las muestras biológicas

Muestras de leche de tanque

En todos los establecimientos visitados se recolectó una muestra de 50 ml de leche del tanque concentrador de leche al final del ordeño y previo a la agitación. La misma fue conservada a 4°C hasta el arribo al laboratorio, para su posterior procesamiento bacteriológico y análisis de recuento celular somático (RCS).

Para el RCS se empleó el método de Fluorocitometría Laser recomendado por la Federación Internacional de Lechería (FIL - IDF 148A:1995). Las muestras

conservadas con azidol fueron procesadas dentro de las 24 horas posteriores a su recolección en el Laboratorio de Diagnóstico Veterinario Villa María (LabVIMA) con un equipo Somacount 300 (Bentley). El valor obtenido de RCS fue dividido por 1000 y transformado utilizando logaritmo natural.

Las muestras se identificaron como positivas cuando algún patógeno mayor fue aislado. Los patógenos mayores identificados fueron clasificados en dos categorías, (1) patógenos contagiosos (*Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* y *Mycoplasma* spp) y (2) patógenos ambientales (*Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, y otros *Streptococcus* spp. no identificados como *Streptococcus agalactiae*).

A los fines de tipificar los rodeos de acuerdo a los esquemas de control y considerando que la mayoría de las prácticas están dirigidas al control de patógenos mayores contagiosos, los tambos fueron agrupados en 1) tambos con aislamiento de patógenos contagiosos en leche de tanque y 2) tambos con aislamiento de patógenos ambientales en leche de tanque o negativo.

Muestras de agua

Se recolectaron muestras de agua utilizada en la sala de ordeño para higiene de las ubres y las instalaciones según los criterios establecidos por los métodos estandarizados para el examen de aguas y efluentes de la Sociedad Americana de Salud Pública.

La calidad bacteriológica del agua se definió de acuerdo a los criterios establecidos por el Código Alimentario Argentino (CAA) para el agua potable de consumo humano dado que las industrias lácteas consideran estos parámetros para la certificación de calidad de agua. El agua no fue considerada apta si se encuentran presentes *E. coli* o *P. aeruginosa*, o se detectan recuentos de aerobios mesófilos superiores a 500 UFC/ml, o de coliformes totales que excedan 3 NMP/100 ml.

Análisis de los datos

Las variables de la encuesta fueron organizadas en siete grupos temáticos, (1) estructura del rodeo, (2) nivel de tecnificación, (3) rutina de

ordeño y control de mastitis, (4) características generales del tambo, (5) infraestructura, (6) calidad microbiológica del agua y (7) calidad bacteriológica de la leche de tanque. Las variables de cada grupo fueron resumidas en términos de frecuencias relativas y absolutas cuando la naturaleza de las variables era del tipo categórica y para las variables del tipo continuo se realizó una descripción de medidas de tendencia central y de dispersión.

El análisis de datos fue dividido en dos etapas:

1. Selección de variables: entre las variables de cada grupo temático se evaluó la correlación mediante un análisis de correlación bivariado, donde se evaluaron los coeficientes Rho de Spearman y posteriormente un análisis de correlación multivariado de Correspondencias múltiples (ACM) (Greenacre, 1984). La selección de variables dentro de cada grupo temático se realizó considerando el mayor peso relativo en el eje 1 de cada gráfico del ACM. Considerando que este método se aplica para variables categóricas, las variables continuas disponibles para el análisis fueron clasificadas utilizando los cuartiles.

2. Clasificación de los tambos: con las variables seleccionadas en la primera etapa se realizó un Análisis de Conglomerado (Hair y col., 1999) y un Análisis de Coordenadas principales (ACoorP) (Moser, 1994). La medida de distancia utilizada fue Gower ($\sqrt{1 - S}$). El Análisis de Conglomerado fue del tipo jerárquico con algoritmo de encadenamiento completo con el propósito de tipificar los rodeos. El ACoorP permitió evaluar las similitudes entre los establecimientos de cada conglomerado y la variabilidad explicada.

Las variables con algún registro incompleto (dato perdido) no fueron utilizadas en el análisis multivariado ($n = 5$). Estas fueron: (1) número de vacas con MC durante el último mes (2) número de vacas con cuartos perdidos por mastitis (3) número de vacas eliminadas por MC (4) frecuencia de cambio de pezoneras (5) modelo de la máquina de ordeño.

Las variables con frecuencia de clases mayor a 0,95 y menor a 0,05 no fueron tenidas en cuenta por presentar pequeña variabilidad en la respuesta ($n = 5$). Estas fueron: (1) lavado pre - ordeño de pezones, (2) secado pre - ordeño de pezones, (3) pre - sellado de pezones, (4) diagnóstico de rutina de MSC y (5) tratamiento de MC.

Se realizaron mapas temáticos para describir la distribución espacial de los conglomerados identificados.

Resultados

Las variables disponibles para el análisis perteneciente a los grupos temáticos nivel de tecnificación, características generales del tambero e infraestructura se describen en la Tabla 3.1. Las variables pertenecientes a los grupos temáticos rutina de ordeño y control de mastitis y estructura del rodeo se detallan en las Tabla 3.2 y 3.3, respectivamente.

Selección de variables

Grupos temáticos estructura del rodeo, nivel de tecnificación, infraestructura y características del ordeñador

Las variables del grupo estructura del rodeo estuvieron correlacionadas (coeficiente de correlación de Spearman $p < 0,01$). Se eligió la variable producción leche en litros/día/vaca por ser un indicador de productividad del establecimiento. En referencia al grupo infraestructura, la variable número de bajadas estaba correlacionada con estructura del rodeo y el tipo de instalación era homogéneo entre los establecimientos. Por este motivo se eligió control de máquina de ordeño.

Las variables frecuencia de visitas veterinarias y edad del tambero fueron las de mayor peso en el eje 1 en el ACM para los grupos temáticos nivel de tecnificación y características del ordeñador, respectivamente (Figura 3.1 y Figura 3.2).

Grupos temáticos calidad microbiológica del agua y calidad bacteriológica de la leche de tanque

Los resultados obtenidos del análisis de las muestras biológicas recolectadas fueron incluidos en la segunda etapa del análisis. En general, la calidad bacteriológica del agua utilizada en la sala de ordeño fue pobre, sólo el 11,8% de los establecimientos utilizaba agua con buenos estándares de calidad.

En relación a la leche de tanque el promedio de lnRCS fue de 5,87 (Desvío estándar = 0,61) y el porcentaje de muestras con patógenos mayores fue de 15,7%.

Grupo temático rutina de ordeño y control de mastitis

La mayoría de los establecimientos (85%) que realizaban sellado hacía más de un año que implementaban esta práctica, por este motivo se consideró la variable sellado como binaria.

La estandarización de la rutina de ordeño, es decir, si todos los operarios en la sala de ordeño realizaban de forma metódica y sistemáticas los mismos procedimientos, fue observada en 50 de los 51 tambos visitados. El tratamiento de vacas con MC y descarte de leche de vacas con tratamiento antibiótico eran prácticas realizadas en más del 95% de los tambos. En todos los establecimientos visitados el tratamiento al secado se realizaba mediante infusión intramamaria (pomo) con antibiótico y el tambero era quien llevaba a cabo esta tarea.

Las variables seleccionadas en este grupo temático fueron sellado post - ordeño y tratamiento al secado por ser las de mayor peso en el eje 1 (Figura 3.3).

Clasificación de los tambos

A partir del análisis de conglomerados se logró diferenciar dos grupos de establecimientos (Figura 3.4) con un índice de correlación cofenética de 0,66.

Los tambos del conglomerado 1 mostraron bajo nivel tecnológico. Las prácticas de sellado post ordeño y tratamiento al secado eran de baja aplicación en estos rodeos. Por el contrario, la mayoría de los establecimientos del conglomerado 2 tenían visitas veterinarias frecuentes y aplicaban un programa de salud mamaria. No se observaron diferencias significativas en referencia a RCS y aislamiento de patógenos en leche de tanque y calidad bacteriológica del agua utilizada en la sala de ordeño (Tabla 3.2).

A partir del ACoorP se estimó que el total de variabilidad explicado con las variables seleccionadas fue del 41% con dos ejes, mientras que el porcentaje de variabilidad explicada aumenta al 54% considerando un tercer eje (Figura 3.5). El Árbol de Recorrido Mínimo de este ACoorP arrojó una distancia de 0,69.

Distribución espacial de los conglomerados

La distribución geográfica de los establecimientos visitados no parece indicar algún nivel de agregación en el espacio en relación a los conglomerados identificados (Figura 3.6).

Discusión

El estrato de productores lecheros de menor escala productiva adquiere importancia en nuestro país, y en la cuenca lechera de Villa María (Córdoba) en particular, por representar la mayor parte de los establecimientos lecheros existentes. En Argentina no se han realizado en forma reciente estudios dirigidos al relevamiento en forma detallada del nivel de adquisición de tecnología, como así tampoco del grado de aplicación de prácticas relacionadas al control de la mastitis.

La información que surge del CNA del año 2002 son los últimos datos disponibles con respecto a estos aspectos. En este sentido, en las principales provincias argentinas productoras de leche (Buenos Aires, Santa Fe, Córdoba, Entre Ríos y La Pampa) prácticas tales como control lechero e inseminación artificial no superan el 50% de adopción, mientras que el 80% y 70% de los establecimientos disponen de equipos de ordeño en línea y equipos de frío, respectivamente (Castellanos, 2009). Esta información no ha sido detallada considerando distintos estratos de tamaño de los establecimientos, motivo por el cual estos resultados no serían comparables con los obtenidos en el presente estudio. Sin embargo, entre los productores analizados en este estudio el nivel de aplicación de prácticas tales como inseminación artificial y control lechero es similar al descrito por el CNA 2002, mientras que el uso de equipo de ordeño en línea y equipo de frío fue superior.

En general, los productores de los establecimientos visitados en este estudio no tienen un conocimiento profundo de la enfermedad ni de las prácticas de control. Esto se vio reflejado en el desconocimiento de la frecuencia de MSC en los rodeos y de los agentes patógenos involucrados en los casos de MC. Además, se caracterizaban por la falta de uniformidad en la aplicación de medidas de manejo de reconocida eficacia, como son la desinfección de los pezones y el tratamiento antibiótico al secado. De esta manera, se puede inferir que un productor de estas características responde a

un tipo específico, del cual se asume que en general tiene malos estándares de manejo de salud mamaria.

La mediana de RCS en leche de tanque registrada al momento de la visita para el conjunto de tambos estudiados fue de 329.000 cél/ml. Este valor se encontró por debajo de lo reportado en las últimas investigaciones realizadas en el país por diferentes autores. Acuña y col. (2001a) comunicaron que el 51,7% de los tambos tenían un RCS en leche de tanque inferior a 350.000 cél/ml. En un estudio realizado por Taverna y col. (2001) se informó un promedio de 407.000 cél/ml, mientras que en el llevado a cabo por Revelli y col. (2004) se reportó un promedio bianual de 375.000 cél/ml en rodeos de tamaño similar a los seleccionados en el presente estudio.

Si bien, el grupo de productores incluidos en esta investigación se asume homogéneo, la hipótesis de esta investigación se basa en que aún así es factible encontrar heterogeneidad y patrones de manejo diferenciales.

En el conglomerado II, el porcentaje de tambos que aplicaba tratamiento al secado y sellado post - ordeño a todas las vacas de manera regular era superior con respecto al conglomerado I. De esta manera, las diferencias encontradas entre los conglomerados muestra la existencia de productores con una actitud diferente frente al control de la mastitis.

Sin embargo, los conglomerados identificados no mostraron diferencias significativas con relación al RCS en leche de tanque y al porcentaje de aislamiento de patógenos contagiosos. Así, los resultados obtenidos muestran que si bien el manejo puede ser utilizado para discriminar conglomerados, éstos no necesariamente pueden diferir estadísticamente en la calidad de leche. Esto refleja la limitación de utilizar una muestra única de leche de tanque, y plantea la necesidad de abordar en estudios futuros el empleo de varias muestras en el tiempo para lograr una descripción más completa de los estándares de calidad del tambo.

Por tal motivo, Schukken y col. (1990) y Schukken y col. (2003) sugieren utilizar datos longitudinales en el tiempo para evaluar la relación entre prácticas de manejo que han sido llevadas adelante durante un período de tiempo determinado y calidad de leche a nivel de tanque.

Por otro lado, en nuestro país el principal patógeno contagioso continúa siendo *S. aureus*, según los resultados informados en este estudio y en otras investigaciones (Tirante y col., 1998; Chaves y col., 2001; Acuña y col., 2001b; Dieser y col., 2008).

En consecuencia, la capacidad de identificar establecimientos con prácticas de manejo más adecuadas y relacionadas al plan de los cinco puntos dentro de un

conglomerado específico es una herramienta muy útil considerando que medidas como el sellado post-ordeño y el tratamiento al secado son estrategias que pueden tener alto impacto en la reducción de la mastitis contagiosa en los rodeos de la cuenca de Villa María (Córdoba)

Conclusión

Los dos conglomerados de establecimientos identificados mostraron diferencias en relación a medidas de manejo que pueden ser modificables mediante intervención a los fines de mejorar las condiciones, con un posible impacto positivo en el volumen de producción y en el estándar de calidad de leche de la cuenca de Villa María (Córdoba).

Bibliografía

Acuña CN, Chertcoff RE, Margariños Pinat APM. 2001a. Somatic cell count and bacteriological status of bulk tank milk samples from Argentine dairy farms. Proc 40th Ann. Meet. Natl. Mastitis Council. Reno, Nevada, USA, 11 - 14 Feb, 2001, pp 175-176.

Acuña CN, Chertcoff RE, Martínez MB, Nimo JM. 2001b. Udder pathogens prevalence in dairy cows from Argentina. Proc 40th Ann. Meet. Natl. Mastitis Council. Reno, Nevada, USA, 11 - 14 Feb, 2001, pp 177 - 178.

Barkema HW, Schukken YH, Lam TJGM, Beiboer ML, Benedictus G, Brand A. 1999. Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. J Dairy Sci 82:1643 - 1654.

Bartlett PC, Miller GY, Lance SE, Heider LE. 1992. Environmental and managerial determinants of somatic cell counts and clinical mastitis incidence in Ohio dairy herds. Prev Vet Med 14: 195 - 207.

Bradley A. 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. Vet J 164: 116 - 128.

Castellanos A, Issaly LC, Iturrioz GM, Mateos M, Teran JC. 2009. Análisis de la cadena de la leche en Argentina. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) ISSN 1852 - 4605 N°4, Argentina, pp 14 - 29.

Chaves CJ, Tirante L, Pol M, Bas D, Vandoni R, Olivieri R. 2001. Prevalence of intramammary infections in 74 dairy herds located in Argentina. 40th . Ann. Meet. Natl. Mastitis Council. Reno, Nevada. pp 205 - 206.

Dieser S, Vissio C, Calvino L, Reinoso E, Bogno C, Larriestra A, Odierno L. 2008. Prevalencia de patógenos bacterianos en vacas con mastitis en rodeos lecheros de al cuenca de Villa María (Córdoba). XXV Jornadas científicas de la Asociación de Biología de Tucumán.

Elbers ARW, Miltenburg JD, De Lange D, Crawels APP, Barkema HW, Schukken YH. 1998. Risk factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the Southern part of the Netherlands. J Dairy Sci 81: 420 - 426.

Erskine RJ, Bartlett PC, Crawshaw PC, Gombas DM. 1994. Efficacy of intramuscular oxytetracycline as a dry cow treatment for *Staphylococcus aureus* mastitis. J Dairy Sci 77: 3347 - 3353.

Greenacre MJ. 1984. Theory and Applications of Correspondence Analysis Academic Press, London.

Hair JH, Anderson RE, Tatham RL, Black WC. 1999. Multivariate Data Analysis, Prentice Hall International.

Kingwill RG, Neave FK, Dodd FH, Griffin TK, Westgarth DR, Wilson CD. 1970. The effect of a mastitis control system on levels of subclínica and clinical mastitis in two years. *Vet Rec* 87: 94 - 100.

MAGyP de la Nación, Ministerio de agricultura, ganadería y pesca, Presidencia de la Nación. Disponible en: http://64.76.123.202/site/subsecretaria_de_lecheria/lecheria/07_Estad%C3%A9sticas/index.php Última consulta, 18 octubre 2012.

Moser EB. 1994. Graphical Analysis of Multidimensional Ecological Community Data. Proceedings of the 19th Annual SAS Users Group International Conference, Dallas, TX.

NMC, National Mastitis Council. 2003. Current Concepts of Bovine Mastitis. Fourth Edit NMC, 64 p.

Neave FK, Dodd FH, Kingwill RG, Westgarth DR. 1969. Control of mastitis in the dairy herd by hygiene and management. *J Dairy Sci* 52: 696 - 707.

Neave FK, Dodd FW, Kingwell RG. 1966. A method of controlling udder disease. *Vet Rec* 78: 521 - 523.

Revelli GR, Sbodio OA, Tercero EJ. 2004. Recuento de células somáticas en leche cruda de tambos que caracterizan el noroeste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero. *Vet Arg* 21: 651 - 659.

Ruegg PL. 2001. Mastitis Control. *Dairy Updates Milking and Milk Quality* No. 405: 1 - 10.

Schreiner DA, Ruegg PL. 2003. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclínica mastitis. *J Dairy Sci* 86: 3460 - 3465.

Schukken YH, Wilson DJ, Welcome F, Garrison - Tikofsky L, Gonzalez RN. 2003. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Vet Res* 34: 579 - 596.

Schukken YH, Buunnan J, Brand A, van de Geer D, Grommers FJ. 1990. Population dynamics of bulk milk somatic cell counts. *J Dairy Sci* 73: 1343 - 1350.

Taverna MA, Calvino LF, Canavesio VR, Negri LM, Páez RB, Charlón V, Cuatrin A. 2001. Caracterización de la calidad higiénico - sanitaria de la leche producida en la Cuenca lechera central de la Argentina. *Rev Arg Prod Anim* 21: 270 - 271.

Tirante L, Bas D, Pol M, Olivieri R, Vandoni R, Chaves J. 1998. Prevalencia y etiología de infecciones intramamarias en vacas de 38 hatos lecheros en Argentina. Cong. Panam. Cont. Mast. y Cal. de Leche. Mérida, México.

Waage S, Odegaard SA, Lund A, Brattgjerd S, Rothe T. 2001. Case - Control of risk factors for clinical mastitis in postpartum dairy heifers. J Dairy Sci 84: 392 - 399.

Zadoks RN, Allore HG, Barkema HW, Sampimon OC, Wellemberg GJ, Grohn YT, Schukken YH. 2001. Cow and quarter - level risk factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis. J Dairy Sci 84: 2649 - 2663.

Tabla 3.1. Descripción de las variables pertenecientes a los grupos temáticos nivel de tecnificación, infraestructura y características generales del tamero en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)

Grupo temático	Variables	Clases	FA (tambos)	FR (%)
Nivel tecnificación	Control lechero		20	39,2
	Inseminación artificial		21	41,2
	Registro informático de datos		28	54,9
	Frecuencia de visitas veterinarias	Frecuente (0 - 45 días)	38	74,5
		Infrecuente	13	25,5
Infraestructura	Tipo instalación	Con fosa	41	80,4
		Sin fosa	10	19,6
	Número de bajadas	4	3	5,9
		6	16	31,4
		7	1	2,0
		8	23	45,1
		10	7	13,7
		14	1	2,0
	Control máquina de ordeño	Frecuente (al menos cada 6 meses)	24	47,1
		Infrecuente	27	52,9
	Tanque de frío		44	86,3
Características del ordeñador	Nivel de instrucción	Ninguno	13	25,5
		Primario completo	31	60,8
		Secundario completo	7	13,7
	Formación especializada		7	13,7
	Tiempo en establecimiento	Menos de 12 meses	11	21,6
		Entre 13 y 36 meses	21	41,2
		Más de 37 meses	19	37,3

FA: frecuencia absoluta; FR: frecuencia relativa

Tabla 3.2. Descripción de las variables pertenecientes al grupo temático rutina de ordeño y control de mastitis en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)

Variables	Clases	FA (tambos)	FR (%)
Tratamiento de MC		49	96,1
Tipo tratamiento de MC	Pomo	42	82,3
	Inyectable	7	13,7
Diagnóstico de MSC		1	2,0
Tipo de secado	Brusco con manejo de alimentación	21	41,2
	Salteo ordeño con manejo de alimentación	20	39,2
	Salteo ordeño sin manejo alimentación	10	19,6
Tratamiento al secado	No realiza	13	25,5
	Hace menos de 1 año	8	15,7
	Hace más de 1 año	30	58,8
Rutina de ordeño	Lavado	48	94,1
	Secado	0	0,0
	Presellado	1	2,0
	Despunte	35	68,6
	Sellado post - ordeño	20	39,2
Número de vacas con MC el último mes	0	7	13,7
	1	9	17,6
	2	10	19,6
	más de 2	24	47,1
Número de vacas con cuartos perdidos por mastitis	0	11	21,6
	1	5	9,8
	2	6	11,8
	más de 2	28	54,9

Continúa en la página siguiente

Variables	Clases	FA (tambos)	FR (%)
Números de vacas con pérdida de leche espontanea	0	7	13,7
	1	8	15,7
	2	6	11,8
	más de 2	28	54,9
Número de vacas eliminadas por MC	0	31	60,8
	1	4	7,8
	2	8	15,7
	más de 2	7	13,7

FA: frecuencia absoluta; FR: frecuencia relativa; MSC: mastitis subclínica; MC: mastitis clínica

Tabla 3.3. Descripción de las variables pertenecientes al grupo temático estructura del rodeo y edad del tambero en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)

Grupo temático	VARIABLES	Media	DE	Q1	M	Q3
Tamaño del rodeo	Litros leche /vaca/día	17	3,8	14,2	17,4	19,8
	Hectáreas ganaderas	155,8	43,6	128	150	182
	Litros leche/día	2231,4	863	1600	2100	2900
	Vacas en ordeño	128,9	35,5	105	125	160
Edad del tambero		40,9	11,2	33	39	50

DE: desvío estándar; Q1: percentil 25%; M: mediana; Q3: percentil 75%

Tabla 3.4. Descripción estadísticas de los atributos de los conglomerados identificados en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)

Variables categóricas		Conglomerado I (n = 23)	Conglomerado II (n = 28)
Microbiología de leche de tanque	Presencia de patógenos contagiosos	17,4	14,3
Agua de lavado	Apta	13,0	10,7
Frecuencia de visitas veterinarias	Frecuente (al menos una vez cada dos meses)	52,2	92,9
Control de maquina de ordeño	Frecuente (al menos una vez al año)	17,4	64,3
Sellado		13,0	60,7
Tratamiento al secado	Más de un año	30,4	82,1
	Menos de un año	21,7	10,7
Variables continuas			
lnRCS en leche de tanque, Media (DE)		5,95 (0,65)	5,81 (0,59)
Edad del tambero, Media (DE)		42,0 (10,10)	40,0 (12,11)
Litros leche / día / vaca, Media (DE)		14,9 (3,82)	18,7 (2,78)

lnRCS: logaritmo natural recuento celular somático; DE: desvío estándar

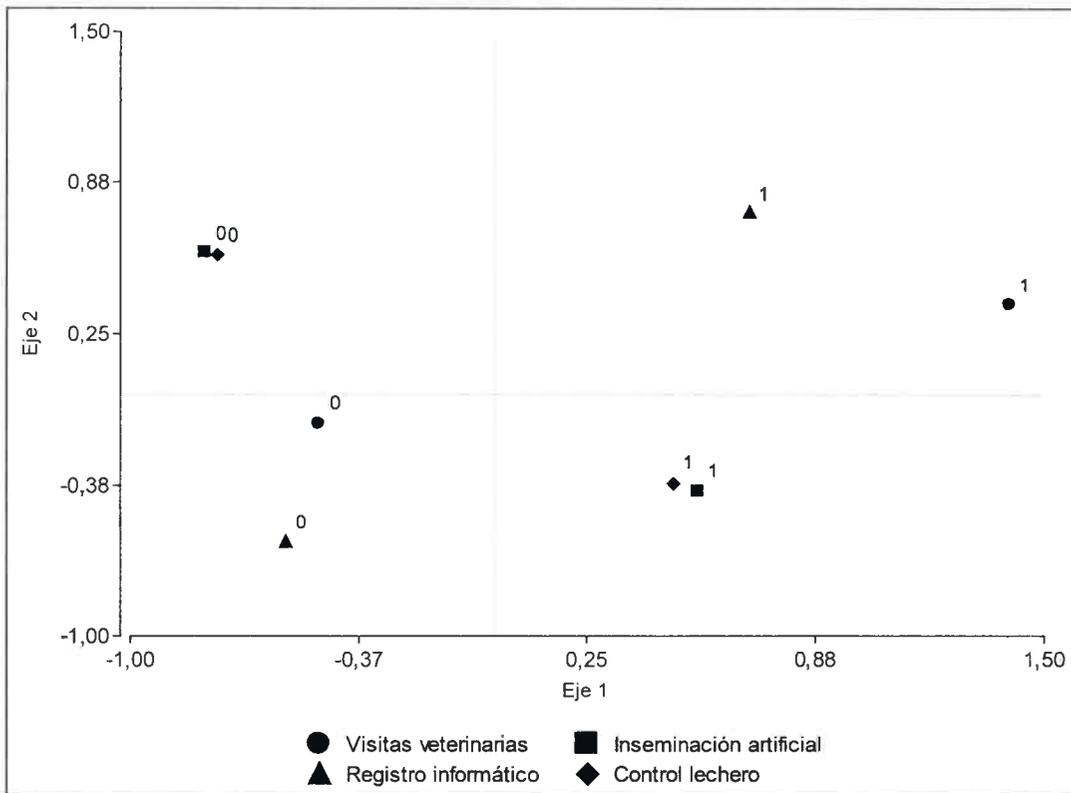


Figura 3.1. Análisis de correspondencias múltiples para las variables del grupo nivel de tecnificación. Las categorías 0 y 1 indican si realiza o no la actividad señalada, respectivamente.

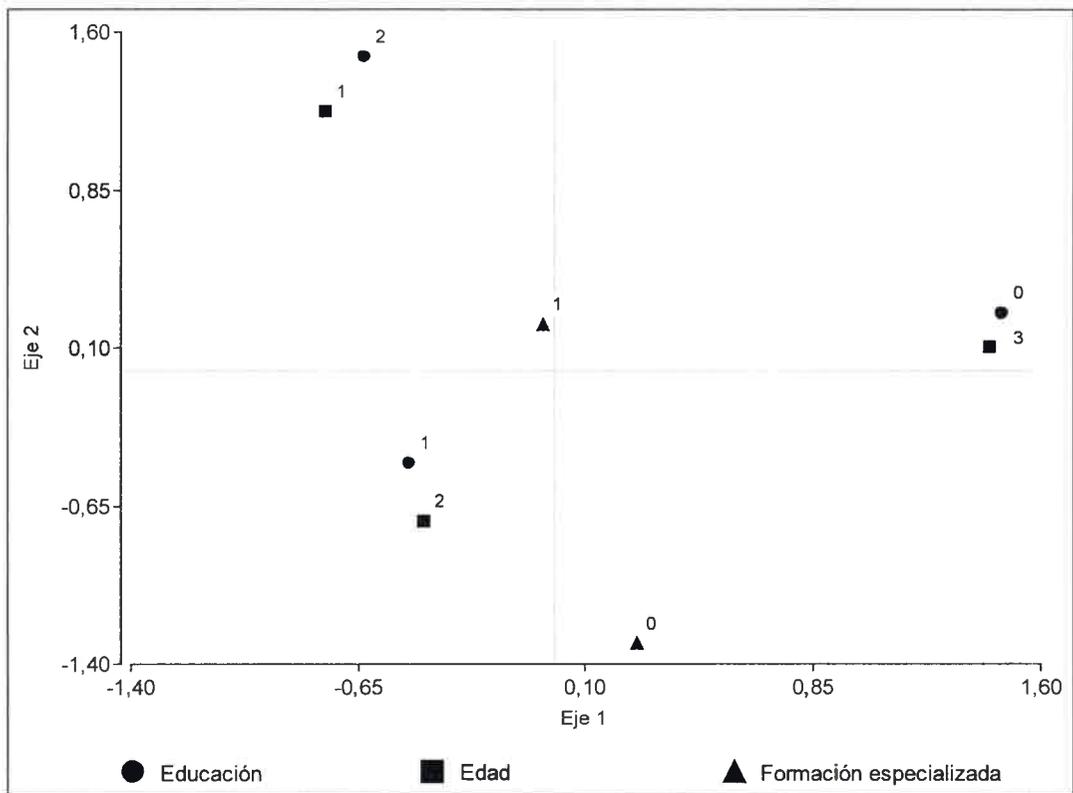


Figura 3.2. Análisis de correspondencias múltiples para las variables del grupo Características del ordeñador. Los números 0 y 1 de la variable Formación especializada indican si era o no un atributo del tambero. Los números 1,2 y 3 de la variable edad indica las categorías según los cuartiles y de la variable educación indica el nivel, primario, secundario y terciario.

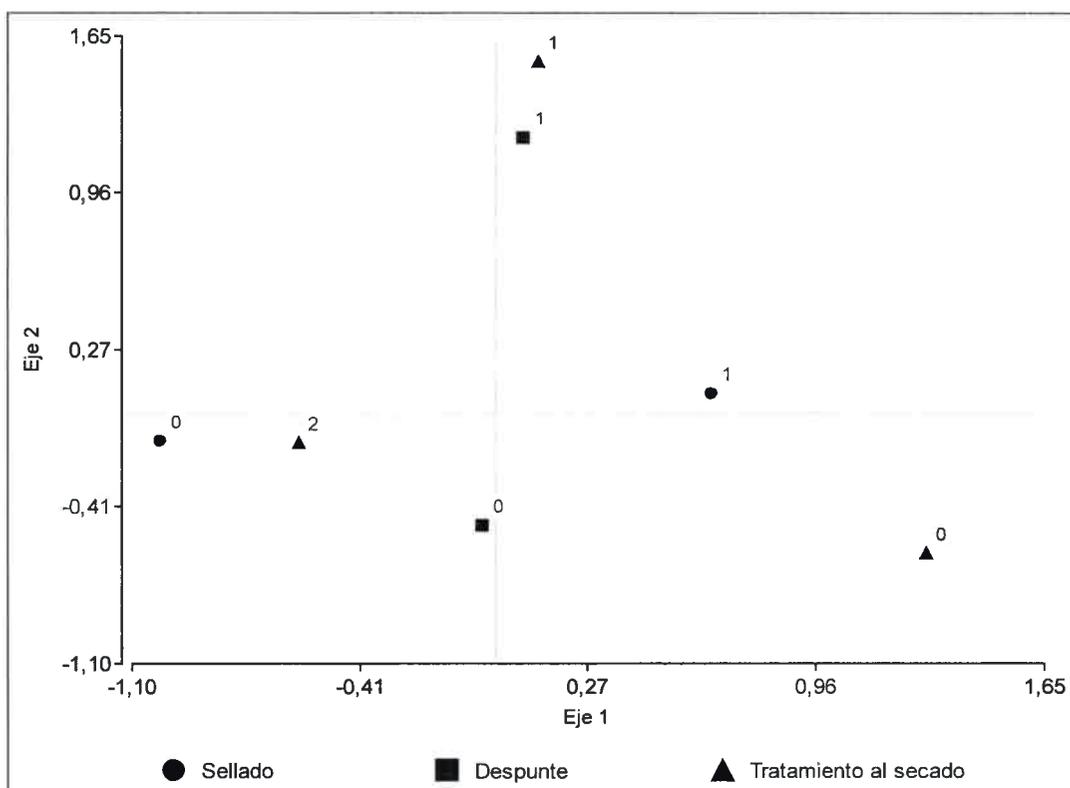


Figura 3.3. Análisis de correspondencias múltiples para las variables del grupo rutina de ordeño y control de mastitis. Los número 0 y 1 de las variables despunte y sellado indican si realizan o no dicha práctica, respectivamente, la variable tratamiento al secado presenta la categoría 0, 1 y 2 e indica que la practica no era realizada, era realizada hace menos de un año o hace más de una año, respectivamente.



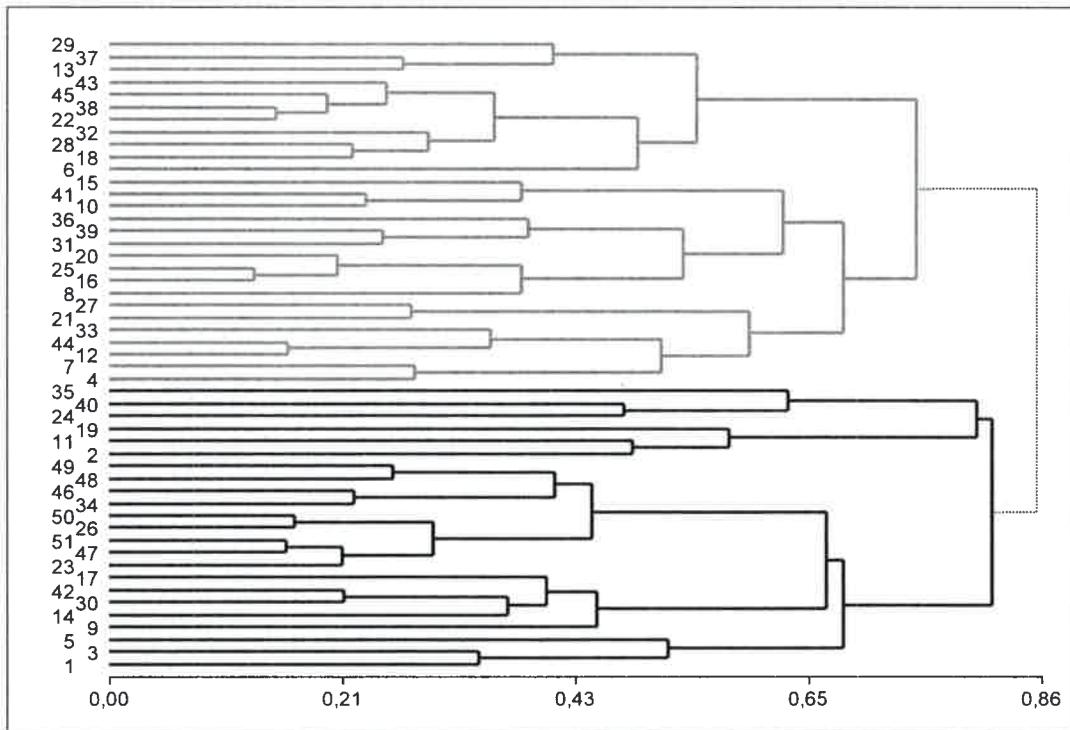


Figura 3.4. Dendrograma obtenido del Análisis de conglomerados (Conglomerado I: negro, Conglomerado II: gris)



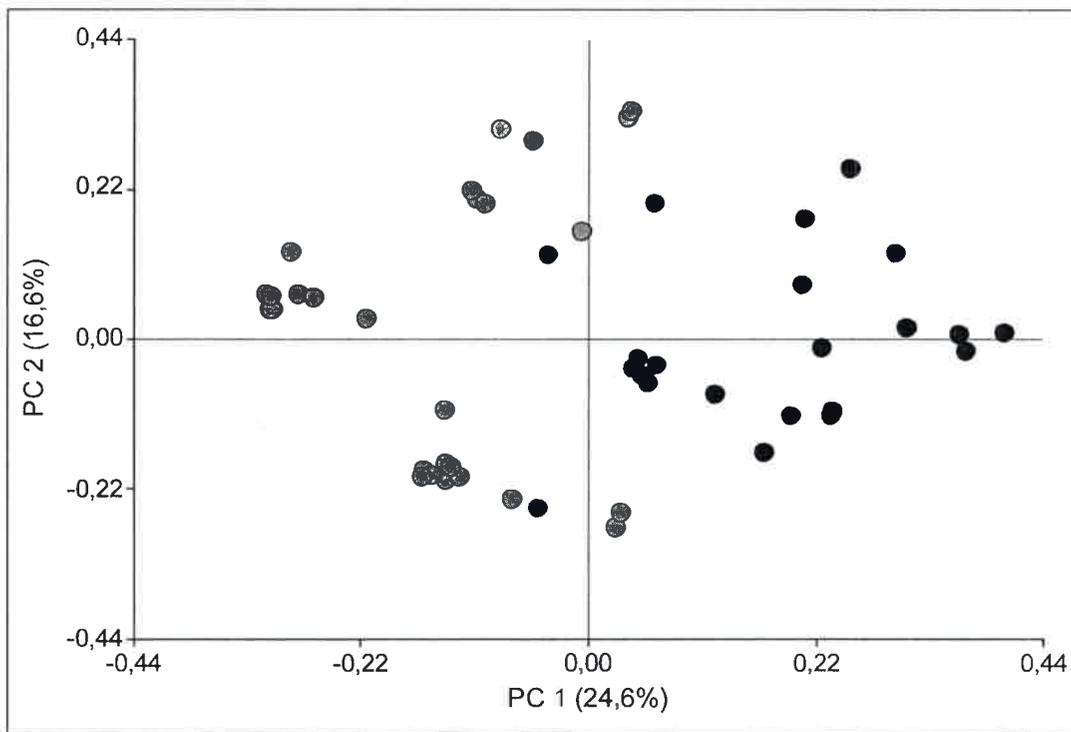


Figura 3.5. Analisis de Coordinadas Principales (Tambos del Conglomerado I: negro, tambos del Conglomerado II: gris)



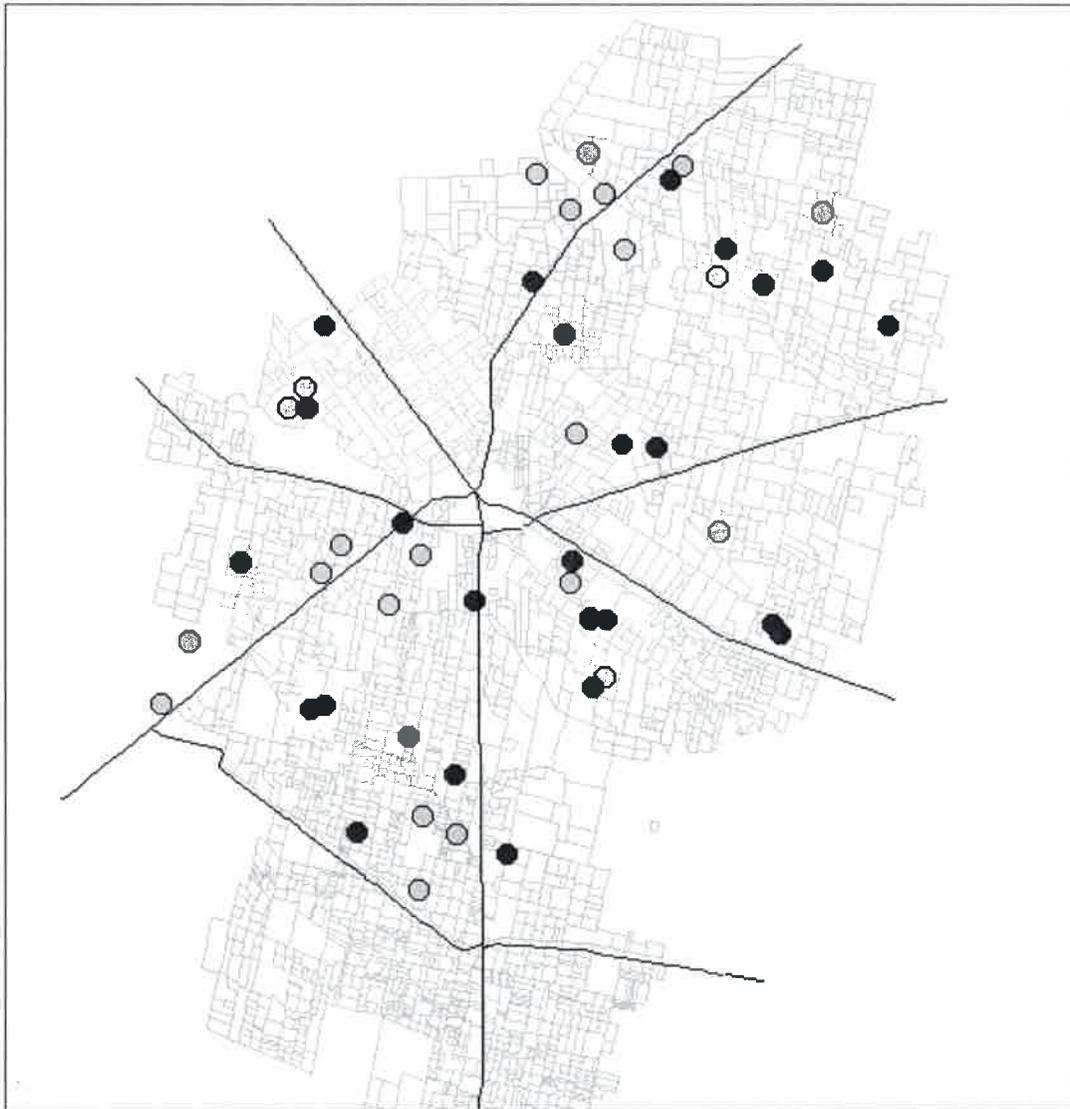


Figura 3.6. Mapa temático: Distribución espacial de la muestra de establecimientos estudiados. Gris: establecimientos del conglomerado I. Negro: establecimientos del conglomerado II.



Capítulo 4

Relación entre el estado de salud mamario e indicadores de riesgo a nivel individual y de rodeo

Introducción

La mastitis es una enfermedad infecciosa de naturaleza multifactorial, y por ello, el entendimiento de la dinámica de su preservación en la población estaría influenciada por la “tríada” ecológica. Adicionalmente, existe una mirada del problema que observa la enfermedad y su control como influenciada por decisiones y circunstancias que operan a distintos niveles de organización de un sistema productivo (Dohoo, 2008). En particular, en la mastitis bovina los niveles serían el individuo y el rodeo, éste último como unidad de agregación. En otras enfermedades o síndromes se consideran, además de los niveles mencionados previamente, otros escenarios jerárquicos de control como es el de la región u otros superiores (Gachohi y col., 2010).

En base a estos antecedentes, en el control de la mastitis bovina se pueden visualizar intervenciones tanto a nivel de vaca como de tambo. En este sentido, los problemas de salud mamaria han sido ampliamente estudiados considerando factores de rodeo y de vaca en forma separada. Los factores de rodeo han sido evaluados principalmente con muestras de leche de tanque (Goodger y col., 1993; Fenlon y col., 1995; Barkema y col., 1998; Barkema y col., 1999; Tadich y col., 2003; Rodrigues y col., 2005; van Schaik y col., 2005; Wenz y col., 2007; Kelly y col., 2009) y con muestras individuales de vaca (Hutton y col., 1990; Barnouin y col., 2004; Koster y col., 2006; Lievaart y col., 2007). Para el caso de los factores relacionados a la vaca, se han utilizado tanto muestras compuestas de leche (Leavens y col., 1997; de Vliegher y col., 2004), como así también muestras de cuarto (Elbers y col., 1998; Barkema y col., 1999; Waage y col., 2001; Zadoks y col., 2001; Biffa y col., 2005; Breen y col., 2009).

Esta dualidad que existe entre los factores de rodeo y los factores individuales ha sido motivo de controversia y estudio desde el punto de vista del modelado de los datos epidemiológicos (McDermott y col., 1994). En este aspecto, la respuesta individual de las vacas en relación a salud o producción estaría condicionada por el contexto del rodeo, siendo éste un efecto sistemático de las normas de manejo establecidas por el productor. Actualmente, se dispone de métodos que proveen un contexto analítico para el estudio de factores que actúan a diferentes niveles. Estos métodos reconocen su origen y desarrollo en el estudio de problemas relacionados al rendimiento escolar, y en el marco de una sistema donde el desempeño de los alumnos se ve influenciado por el docente, la escuela y el sector social de donde provienen (Aitkin y Longford, 1986; Goldstein, 1995; Singer, 1998; Boex, 2000). En el

caso particular de la medicina veterinaria, fue durante los años noventa donde se difundió la aplicación de los modelos multinivel (McDermott y col.; 1994, Dohoo y col., 2001), para posteriormente ser utilizados para el estudio de múltiples problemas de salud y producción en animales domésticos (Chriel y col., 1999; Sukumarannair y col., 2005; Larriestra y col., 2006). Un aspecto interesante del enfoque multinivel, es que permitió ver de forma más integrada acciones a nivel de rodeo y animales (Dohoo, 2008). Sin embargo, constituyen herramientas estadísticas complejas que deben ser aplicadas en diseños apropiados y necesitan de una evaluación crítica de sus supuestos para su implementación (Greenland, 2000).

Los modelos jerárquicos o multinivel son de gran utilidad por dos razones fundamentales. En primer lugar, permiten evaluar el efecto de los factores identificados a distintos niveles sobre el evento de salud en estudio y por otro lado, es posible estimar la contribución particular de uno o más niveles de organización en la varianza total del índice de salud o producción analizado (Kreft y de Leeuw, 1998; Dohoo y col., 2001; Matthews y col., 2001; Snowden y Van Vleck, 2002; Larriestra y col., 2006; Mörk y col., 2009). La ventaja de este abordaje radica en conocer dónde intervenir y cuál es la magnitud de la variación en el rendimiento en salud o producción estimada por el modelo, la cual podría ser modificada mediante el control de factores de riesgo a un determinado nivel, sea éste una región, establecimientos o animales individuales (Dohoo y col., 2001; Matthews y col., 2001; Larriestra y col., 2006; Werneck y col., 2007; Gachohi y col., 2010)

No existen precedentes de estudios con diseños probabilísticos que aborden la problemática de la mastitis en los pequeños y medianos productores lecheros de Argentina. Además, el enfoque multinivel de la mastitis permitiría estimar la importancia de los factores de rodeo sobre la variación de la enfermedad e inferir el impacto potencial de los programas de calidad de leche en estudios basados en perfiles de rodeos.

Hipótesis de la investigación

Considerando las variaciones observadas en la prevalencia de mastitis entre los rodeos y la identificación de diferentes estilos de manejo de la salud mamaria en productores lecheros descrita en los capítulos previos, se postula

que el tambo ejerce un efecto contextual sustancial en la variabilidad de la mastitis de vaca a vaca.

Objetivos

Evaluar la relación entre la variación de estado de salud mamaria de la vaca y los indicadores de riesgo a nivel de individuo y de rodeo. Estimar la proporción de la varianza total en la prevalencia de mastitis clínica (MC) y mastitis subclínica (MSC) en vacas que es atribuida al efecto contextual del tambo.

Material y métodos

El proceso de muestreo de los establecimientos y la selección de las vacas fue descrito en el capítulo 1. Brevemente, 51 tambos fueron seleccionados al azar del estrato de productores que tenían entre 100 y 250 vacas en ordeño; y en cada establecimiento se realizó un muestreo aleatorio sistemático para coleccionar datos de aproximadamente 45 vacas por rodeo.

La recolección de información con respecto a las características de los tambos fue descrita en el capítulo 2. Brevemente, en cada establecimiento visitado se realizó una observación directa de las instalaciones y de la rutina de ordeño y se administró una encuesta semiestructurada al tambero.

Análisis estadístico

Las variables respuestas consideradas para realizar el análisis fueron: 1) Recuento celular somático (RCS) y 2) Presencia de MC

Los potenciales factores predictores de estas variables respuestas a nivel de vaca fueron días de lactancia, número ordinal de parto, distancia entre la punta del pezón y el piso y el índice de suciedad. A nivel de rodeo, fueron todas aquellas características recolectadas a través de la encuesta y mediante la inspección visual de la rutina de ordeño detalladas en el capítulo 2.

Las variables independientes fueron evaluadas respecto de su asociación con cada una de las variables respuestas detalladas previamente. El proceso de filtrado de variables se realizó mediante correlación o comparación de medias acorde al tipo de

factor o variable respuesta analizada. Solo los factores asociados con valores de $p < 0,20$ (Iraola y col., 2004; Dohoo y col., 2003) fueron elegidos para ajustar el modelo multivariado. Además, todas las variables del grupo temático rutina de ordeño y control de la mastitis fueron forzadas en el modelo independientemente del resultado obtenido del proceso de filtrado.

Dada la naturaleza binaria de la variable respuesta MC se ajustó un modelo de regresión logística mixto. Para ello, se utilizó el macro GLIMMIX disponible en SAS V8.1 (Littell y col., 1996; Larriestra y col., 2006). En el caso del RCS, previa transformación logarítmica (logaritmo natural) del RCS dividido 1000, se consideró el ajuste de un modelo mixto asumiendo una distribución normal, (Snijder y col., 1997; Dohoo y col., 2003).

En todos los modelos evaluados, el tambo fue considerado como efecto aleatorio y se incluyó el tamaño de rodeo para evitar su potencial efecto de confusión (Dohoo y col., 2003). El modelo de mejor ajuste fue seleccionado mediante la prueba de máxima verosimilitud y usando el índice de Akaike y BIC (Littell y col., 1996).

El modelo mixto utilizado para la variable respuesta RCS fue el siguiente,

$$Y_{ij} = \beta * Z_{ij} + b_i * W_{ij} + \varepsilon_{ij}$$

donde, la variable respuesta Y_{ij} fue el logaritmo natural de RCS para j muestras de leche compuesta ($n = 1928$) e i tambos ($n = 48$). Los términos Z y W son los vectores de covariable de los factores fijos y aleatorios, respectivamente y los términos β y b_i son los coeficientes para los efectos fijos y aleatorios, respectivamente. El error aleatorio es consignado como ε .

La variable respuesta MC por su naturaleza binaria fue modelada utilizando un modelo mixto unido a una función logit,

$$\text{Logit}(Y_{ij}) = \beta * Z_{ij} + b_i * W_{ij}$$

donde, la variable respuesta Y_{ij} fue la presencia o ausencia de MC para j muestras de leche compuesta ($n = 1928$) e i tambos ($n = 48$). Los términos Z y W son los vectores de covariable de los factores fijos y aleatorios,

respectivamente y los términos β y b_i son los coeficientes para los efectos fijos y aleatorios, respectivamente.

A partir de los modelos mixtos ajustados fueron estimados los componentes de varianza residual (diferencia de vaca a vaca) y atribuibles al tambo. La proporción de la variación en la MC o RCS atribuible al efecto contextual (tambo) fue cuantificada utilizando el coeficiente de correlación de intraclass (ρ , Intraclass correlation coefficient, ICC), en la forma descrita por Snijder y col. (1997).

Se utilizaron fórmulas distintas para estimar el ICC según la variable respuesta fuera MC o RCS. En el caso de MC la fórmula utilizada fue,

$$\rho = \sigma^2_t / (\sigma^2_t + \pi^2/3)$$

donde, σ^2_t es la varianza atribuible al tambo.

Para estimar el ICC cuando la variable respuesta fue RCS fue la siguiente,

$$\rho = \sigma^2_t / (\sigma^2_t + \sigma^2_r)$$

donde, σ^2_t es la varianza atribuible al tambo y σ^2_r es la varianza residual.

El cálculo de la correlación intraclass para la variable MC se realizó de la misma forma.

A los efectos de conocer la proporción de varianza explicada por las variables independientes, un modelo mixto sin variables explicatorias (modelo nulo) fue comparado con el modelo mixto con las variables explicatorias (modelo saturado). La proporción de varianza explicada por el modelo seleccionado fue cuantificada como el porcentaje de cambio de la varianza no explicada del modelo saturado dividido la varianza no explicada del modelo nulo (1 - varianza modelo saturado / varianza modelo nulo)

Todo el procedimiento de modelado fue siguiendo las pautas descriptas por Littell y col. (1996), Dohoo y col. (2001) y Larriestra y col. (2005).

Resultados

Patrones de variación de MC

Del total de variables estudiadas solo 3 resultaron asociadas a MC. La proporción de vacas con MC fue significativamente mayor en el grupo de vacas pertenecientes a tambos donde se realiza control lechero, no se tratan los casos clínicos de mastitis y donde se aplica sellador post - ordeño. En el modelo final ninguna de las variables fue retenida como predictora de la presencia/ausencia de MC.

El coeficiente de correlación intraclase (ρ) fue del 0,15 ($\rho = \sigma_{\tau}^2 / (\sigma_{\tau}^2 + \pi^2/3 \cdot 3,29) = 0,15$), y por ende, indica que un 15% de la variación total en la MC fue atribuida al efecto contextual del tambo.

Patrones de variación del RCS

Las variables que resultaron asociadas a lnRCS pertenecían a todos los grupos temáticos. Aquellas prácticas asociadas a un mayor nivel de tecnificación mostraron un lnRCS inferior (Tabla 4.1), la misma tendencia se observó cuando el control de la máquina de ordeño era frecuente (Tabla 4.1). En relación al control de la mastitis y rutina de ordeño, se observó que mejores prácticas de control de la mastitis y de rutina de ordeño, excepto para la variable sellado post – ordeño (Tabla 4.2) presentaron. Por último, varias características del tambero resultaron asociadas a lnRCS, se observó que vacas ordeñadas por tamberos de más edad (Tabla 4.2), con menor nivel de instrucción general y con más tiempo en el establecimiento tenían mayores valores de lnRCS (Tabla 4.1). A su vez, en rodeos de mayor tamaño los valores de lnRCS eran inferiores (Tabla 4.2).

El modelo final retuvo variables medidas a nivel de rodeo y de vacas como predictores del lnRCS (Tabla 4.3). La ausencia de prácticas tales como tratamiento antibiótico al secado y el despunte mostraron un impacto incremental promedio de aproximadamente 70.000 cél/ml. Con relación a la edad del tambero los valores mayores de RCS fueron observados en el grupo de vacas ordeñadas por tamberos de mayor edad, con un incremento del RCS en 152.000 cél/ml respecto de la categoría inmediata inferior.

En cuanto a las variables individuales, días de lactancia y número ordinal de partos, los incrementos de RCS fueron superiores a las 100.000 cél/ml en la categoría vaca y posterior a los 90 días de lactancia (Tabla 4.3).

El coeficiente de correlación intraclase (ρ) fue del 0,12 ($\rho = \frac{\sigma_t^2}{\sigma_t^2 + \sigma_r^2} = \frac{0,2657}{0,2657 + 1,9461} = 0,12$), y por ende, indica que un 12% de la variación total en el RCS en leche compuesta fue atribuida al efecto contextual del tambo. En cuanto a la proporción de varianza explicada, al comparar el modelo nulo y saturado ($1 - 2,454 / 2,212$) arrojó un valor de 0,099. Así, el resultado implica que el modelo seleccionado explica un 9% de la variación del RCS en leche compuesta.

Discusión

La trascendencia de conocer factores individuales de la vaca asociados a la MSC es una estrategia de prevención secundaria que permitiría distinguir subgrupos de animales a los efectos de realizar tratamiento, segregación o manejo diferencial de los individuos identificados. Los factores de la vaca que han sido motivo de estudio en su implicancia sobre la salud mamaria fueron entre otros, la edad de la vaca y los días de lactancia (Reneau, 1986; Dohoo, 1993; Harmon, 1994; Schepers y col., 1997; Leavens y col., 1997; Djabri y col., 2002; de Haas y col., 2002; Reksen y col., 2008), como así también, la distancia del pezón al piso (Kuczaj, 2003), el índice de suciedad de la ubre (Schreiner y Ruegg, 2003), la pérdida de leche pre - ordeño (Elbers y col., 1998; Waage, 2001) y las características del pezón (Neijenhuis y col., 2000). Dentro de los factores mencionados, los dos primeros han sido los más intensamente estudiados y reportados como asociados a la mastitis. Los autores mencionados acuerdan en que las vacas de mayor edad y en estadios de lactancia avanzados presentan mayores RCS, en coincidencia con los resultados obtenidos en la presente investigación. Un aspecto a destacar es considerar la magnitud de ese cambio. En nuestro estudio fue independiente, de manera que el efecto del número de partos y los días de lactancia se adicionan pero no experimentan interacción. En consecuencia, el efecto incremental para las categorías de alto riesgo sería de aproximadamente 200.000 cél/ml.

En relación a la magnitud del cambio de RCS para las distintas categorías de vaca, existen serias dificultades para comparar los resultados obtenidos en el presente estudio con los informados por otros autores (Djabri y col., 2002; de Haas y col., 2002; Reksen y col., 2008), quienes han modelado las variables de manera diferente. En relación al estadio de lactación, fue considerada como variable continua por Reksen y col. (2008) y con más de 3 categorías por Djabri y col. (2002) y de Haas y col. (2002). Por otro lado, Reksen y col. (2008) consideraron vacas con 1, 2 y 3 o más partos para

el número ordinal de partos. Si bien los resultados obtenidos en el presente estudio no son comparables a los mostrados por otros autores (Djabri y col., 2002; de Haas y col., 2002; Reksen y col., 2008), se puede apreciar que el cambio sustancial en días en leche se da después de los 90 días y con respecto al número ordinal de partos para vacas con 2 o más pariciones. Un aspecto adicional que dificulta las comparaciones con los autores mencionados (Djabri y col., 2002; de Haas y col., 2002; Reksen y col., 2008) es que el efecto de los días en leche y el número de partos en el presente estudio no ha sido ajustado por la presencia de los distintos patógenos mamarios hallados.

El incremento del RCS en vacas de mayor edad podría ser la consecuencia de una exposición durante un tiempo más prolongado a patógenos de mastitis con un gradual incremento del número de cuartos infectados, de la duración de la infección y de la extensión de tejido dañado (Dohoo y Meek, 1982; Reneau, 1986). Por otro lado, a medida que avanzan los días de lactancia, la tasa de infecciones aumenta y en consecuencia se refleja un incremento del RCS. Sin embargo, cierto aumento también se puede observar en vacas no infectadas hacia el final de la lactancia, fenómeno atribuido a un efecto de dilución provocado por una disminución en la producción de leche (Reneau, 1986; Harmon, 1994; Schepers y col., 1997). En estudios epidemiológicos, la relevancia de incluir factores individuales en los modelos multivariados reside en evitar su posible efecto confundidor (Bingenheimer y Raudenbush, 2004), dado que son factores no modificables pero de efecto consistente, siempre presentes en la población.

Análogamente a los factores individuales, se han realizado muchos estudios sobre prácticas aplicadas a nivel de rodeo y su implicancia sobre el RCS (Dufour, 2011). Existe cierta disparidad en relación a la definición del estatus de salud mamaria del tambo, el cual se ha basado en la información de RCS en tanque o en la estimación del promedio del rodeo utilizando el RCS por vaca. En este caso, la información es equivalente a la de tanque e ignora en qué medida la respuesta de cada vaca está influenciada por la población a la que pertenece y el manejo al que está sometida. Es precisamente ese aspecto, el de la no independencia de las respuestas individuales, el más adecuadamente tratado mediante los modelos multinivel (McDermott y Schukken, 1994; McDermott y col., 1994; Snijders y Bosker, 1999).

Las medidas detalladas en el plan de los cinco puntos, tales como tratamiento masivo al secado, despunte y sellado de pezones, si bien son aplicadas a nivel de vaca se consideran intervenciones a nivel de rodeo porque son sistemáticamente prescritas para el conjunto de individuos del tambo constituyendo, de esta manera, una norma de manejo.

En el presente estudio, los factores a nivel de tambo asociados con el RCS en leche compuesta fueron tratamiento al secado, despunte y edad del tambero. El tratamiento antibiótico de todos los cuartos al secado es una práctica con resultado exitoso en la eliminación de infecciones existentes y en la prevención de nuevas infecciones durante el período seco (Browning y col., 1990; Berry y Hillerton, 2000) lo que conlleva a una disminución en el RCS. En el presente estudio las vacas que provenían de los tambos que aplicaban tratamiento antibiótico masivo al secado, presentaron una reducción en el RCS de 83.000 cél/ml. En este sentido, Barkema y col. (1998) encontraron en el grupo de tambos de bajo RCS en tanque un mayor porcentaje de aplicación de esta práctica, mientras que Kelly y col. (2009) informaron que la terapia al secado aplicada a todas las vacas reducía el nivel de RCS en tanque. Por otro lado, Wenz y col. (2007) reportaron una tendencia numérica en la reducción del RCS en leche de tanque cuando la terapia antibiótica al secado era aplicada. Es importante tener en cuenta que el efecto sobre el RCS en tanque puede estar subestimado por el efecto de dilución con leche de vacas sanas.

En contraposición a los estudios realizados por Barkema y col. (1998), Wenz y col. (2007) y Kelly y col. (2009), las investigaciones de Hutton y col. (1990) y Wilson y col. (1997) utilizaron muestras de leche individuales de vaca, al igual que en el presente trabajo, pero no hallaron relación entre los tambos que aplicaban tratamiento al secado y el RCS. Ambos autores atribuyeron esta falta de asociación a que más del 90% de los productores aplicaban esta medida de manejo, situación que también difiere con la del presente estudio, en el cual el 60% de los productores adoptaron la terapia masiva al secado como una práctica habitual desde hace más de un año.

El despunte o prueba del chorro es una práctica bien reconocida que permite detectar alteraciones físicas de la leche durante el ordeño. En los rodeos estudiados se diferenciaron dos grupos, uno que detectaba la alteración de la leche a nivel de vaca y otro que lo hacía al revisar el filtro de leche al final del ordeño. En este último grupo las vacas con MC leves, compatible con grado I (Bradley y Green, 2001) no eran ordeñadas en forma separada o al finalizar el ordeño, con el consecuente incremento de RCS en tanque (Van Schaik y col., 2005). Sin embargo, en este estudio la

respuesta es medida a nivel de vaca y, por lo tanto, el incremento de RCS debería ser atribuido a otro factor. En particular, cuando no se segregan las vacas enfermas, la tasa de transmisión se incrementa y esto se ve reflejado en un mayor número de vacas con RCS elevados. En aquellos tambos donde se realizaba despunte, el promedio de RCS fue inferior en 73.000 cél/ml. Este resultado es consistente con lo reportado por Barnouin y col. (2004) y Lievaart y col. (2007), quienes encontraron un promedio menor de RCS a nivel de vaca en tambos que realizaban despunte.

Por otro lado, Van Schaik y col. (2005) demostraron que los RCS en tanque eran inferiores en aquellos tambos donde se inspeccionaba la ubre antes del ordeño. De manera análoga, Wenz y col. (2007) tan solo encontraron una tendencia numérica al comparar distintas categorías de RCS en leche de tanque.

La implicancia de los atributos del ordeñador sobre la salud mamaria en los rodeos ha sido estudiada previamente (Tarabla y Dodd, 1990; Barkema y col., 1999; Jansen y col., 2009). Diferentes aspectos se perciben como relevantes dado que muchas decisiones que se toman durante la rutina de ordeño dependen exclusivamente de la persona a cargo, y es de esperar que estén influenciadas por el nivel de instrucción, la formación especializada, la motivación y el entorno de trabajo.

El presente estudio se limitó a evaluar cuatro aspectos relacionados al tambero, la edad, el nivel de instrucción, la formación especializada y el tiempo de permanencia en el establecimiento. En el modelo final, solo la edad estuvo asociada al promedio de RCS y se observó una significativa disminución conforme el tambero era más joven. De la misma manera, Barkema y col. (1999) observaron que a medida que los tambos tenían mayor RCS en leche de tanque, el promedio de edad de los tamberos se incrementaba. Además, en este estudio se observó que la edad del tambero no fue independiente del nivel de instrucción. Así, tamberos sin el nivel primario completo tenían un promedio de edad superior en relación con los que completaron sus estudios primarios y/o secundarios. Si bien es difícil comparar estas variables entre estudios por la gran diversidad de formas de medición, los resultados serían consistentes con los descritos por Jansen y col. (2009), quienes mostraron una asociación positiva entre el nivel de educación y el RCS en leche de tanque.

El coeficiente de correlación intraclase provee una estimación de la proporción de la varianza total que es atribuida a cada nivel (Snijder y col. 1997; Bingenheimer y Raudenbush, 2004). En este estudio, la proporción de varianza explicada por el rodeo fue baja, y así sugiere que cambios de manejo implementados a este nivel, como así también factores relacionados al tambo podrían tener un pequeño impacto en la variación de los valores de RCS a nivel de vaca. En consecuencia, gran parte del riesgo de RCS elevados reside en aspectos que varían de vaca a vaca independientemente del rodeo de pertenencia. Las variaciones del riesgo que residen principalmente en factores individuales han sido descritas previamente para otros indicadores de salud, por ejemplo, para las alteraciones reproductivas en vacas lecheras (Dohoo y col., 2001), la pérdida espontánea de leche en vacas en lactación (Klaas y col., 2005), la tasa de mortalidad y descarte en cerdos (Larriestra y col., 2005). Cabe mencionar que el efecto del conglomerado reportado en estos estudios nunca fue superior al 20%.

Un aspecto importante para examinar la magnitud del coeficiente de correlación intraclase podría ser la variable en estudio. Por ejemplo, en aquellas investigaciones donde se evalúa la tasa de descarte es de esperar coeficientes elevados (superiores a 0,2) (Larriestra y col., 2005), dado que el evento está muy influenciado por la racionalidad de la persona que toma las decisiones. En contraposición, no se esperarían coeficientes tan elevados del efecto contextual del tambo cuando la frecuencia del evento está menos influenciada por las decisiones humanas, y por lo tanto, no está supeditada a la subjetividad. Esta situación podría ser el ejemplo del presente estudio.

Para que una práctica de manejo dirigida a controlar eventos de este tipo, a diferencia de la tasa de descarte, tenga un efecto de aglomeración debería existir un vínculo causal entre la medida de manejo y el evento y, a su vez, se debería considerar la influencia de la forma de implementación. Este último aspecto está fuertemente relacionado con la efectividad de las medidas de control (Hogeveen y col., 2011) y de la forma que han sido implementadas en los rodeos (Tarabla y Dodd, 1990; Barkema y col., 1999; Jansen y col., 2009). Además, hay otro aspecto adicional que complejiza el problema y está dado por la naturaleza de la mastitis. Si bien la enfermedad es de origen infeccioso en todos los tambos, la epidemiología de la misma está condicionada de rodeo a rodeo por la importancia relativa de los patógenos asociados a mastitis presentes en cada predio. La mayoría de los rodeos de la cuenca de Villa María (Córdoba) están infectados con *S. aureus*, para el cual las medidas de

control para reducir la frecuencia de infección han sido bien descritas previamente (Hillerton y col., 1995; Barkema y col., 2006). De esta manera, se puede inferir que las asociaciones encontradas en el presente trabajo son válidas, aunque una de las potenciales razones por las cuales el efecto contextual es bajo se debería a la efectividad de las normas de manejo. Esta efectividad puede haber variado mucho de acuerdo a la forma de aplicación, y como consecuencia de esto, el contraste en la frecuencia de mastitis se vio reducido entre aquellos rodeos que aplican o no la técnica de control.

Si bien las características de manejo de los rodeos se consideran de importancia, existe una gran variación entre las vacas bajo las mismas condiciones de manejo. A partir de los resultados obtenidos en esta investigación, se reconoce la necesidad de poner énfasis en el estudio de distintos aspectos de la mastitis en las vacas para contribuir a la toma de decisiones.

Por otro lado, es importante considerar que existen aspectos del rodeo que no fueron capturados y evaluados, los cuales podrían explicar mejor las variaciones de tambo a tambo. En este sentido, Bingenheimer y Raudenbusch (2004) describieron un aspecto importante para evitar interpretaciones exageradas del coeficiente de variación intraclase. Para ello, se debe tener en cuenta que no hay correspondencia directa entre la cantidad de variación que reside a un nivel dado y el grado en que las variables explicativas pueden encontrarse en ese nivel.

El resultado del coeficiente de correlación intraclase tiene aplicaciones prácticas en el diseño de nuevos estudios probabilísticos (Bingenheimer y Raudenbusch, 2004). El bajo valor del coeficiente encontrado en el presente estudio significa que el efecto del diseño es bajo, por lo que en futuras investigaciones se podría muestrear el mismo número de vacas pero de más establecimientos, ya que el efecto de aglomeración no es de elevada magnitud.

Conclusión

La variabilidad en el RCS en leche compuesta reside principalmente en variaciones vaca a vaca, y atribuido a factores individuales tales como número de partos y estadio de lactación. Factores de rodeo como despunte, tratamiento al secado y edad del tambo también estuvieron asociados con el RCS a nivel

de vaca. La identificación de factores de riesgo modificables permitiría realizar intervenciones con la expectativa de una consecuente reducción de la prevalencia de MSC en los rodeos pertenecientes a pequeños y medianos productores de Villa María (Córdoba).

La magnitud del coeficiente de correlación intraclase estimado serviría para realizar ajustes en el diseño muestral para futuros estudios de mastitis y factores asociados.

Bibliografia

Aitkin M, Longford N. 1986. Statistical modelling issues in school effectiveness studies. *J R Stat Soc A* 149: 1-43.

Barkema HW, Schukken YH, Lam TJGM, Beiboer ML, Benedictus G, Brand A. 1998. Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. *J Dairy Sci* 81: 1917 - 1939.

Barkema HW, van der Ploeg JD, Schukken YH, Lam TJGM, Benedictus G, Brand A. 1999. Management style and its association with bulk milk somatic cell count and incidence rate of clinical mastitis. *J Dairy Sci* 82: 1655 - 1663.

Barnouin J, Chassagne M, Bazin S, Boichard D. 2004. Management practices from questionnaire surveys in herds with very low somatic cell score through a national mastitis program in France. *J Dairy Sci* 87: 3989 - 3999.

Barkema HW, Schukken YH, Zadoks RN. 2006. Invited Review: The Role of Cow, Pathogen, and Treatment Regimen in the Therapeutic Success of Bovine *Staphylococcus aureus* Mastitis *J Dairy Sci* 89: 1877 - 1895.

Bingenheimer JB, Raudenbush SW. 2004. Statistical and substantive inferences in public health: Issues in the Application of Multilevel Models. *Annual Review of Public Health* 25: 53 - 77.

Berry EA, Hillerton JE. 2002. The effect of an intramammary teat seal on new intramammary infections. *J Dairy Sci* 85: 2512 - 2520.

Biffa D, Debela E, Beyene F. 2005. Prevalence and Risk Factors of Mastitis in Lactating Dairy Cows in Southern Ethiopia. *Intern J Appl Res Vet Med* 3: 190 - 198.

Boex JLF. 2000. Identifying the attributes of effective economics instructors: An analysis of student evaluations. *J Econ Educ* 31: 211 - 227.

Bradley AJ, Green MJ. 2001. Adaptation of *Escherichia coli* to the bovine mammary gland. *J Clin Microbiol* 39: 1845 - 1849.

Breen JE, Green MJ, Bradley AJ. 2009. Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. *J Dairy Sci* 92: 2551 - 2561.

Browning JW, Mein GA, Barton M, Nicholls TJ, Brightling P. 1990. Effects of antibiotic therapy at drying off on mastitis in the dry period and early lactation. *Aust Vet J* 67: 440 - 442.

Chriel M, Stryhn H, Dauphin G. 1999. Generalized linear mixed models analysis of risk factors for contamination of Danish broiler flocks with *Salmonella typhimurium*. *Prev Vet Med* 40: 1 - 17.

de Haas Y, Barkema HW, Veerkamp RF. 2002. The effect of pathogen - specific clinical mastitis on the lactation curve of somatic cell count. *J Dairy Sci* 85: 1314 - 1323.

De Vliegher S, Laevens H, Barkema HW, Dohoo IR, Stryhn H, Opsomer G, de Kruif A. 2004. Management practices and heifer characteristics associated with early lactation somatic cell count of Belgian dairy heifers. *J Dairy Sci* 87: 937 - 947.

Djabri B, Bareille N, Poutrel B, Beaudeau F, Ducelliez M, Seegers H. 2002. Accuracy of the detection of intramammary infection using quarter somatic cell count when taking parity and stage of lactation of the dairy cow into account. *Anim Res* 51: 135 - 148.

Dohoo IR. 1993. An evaluation of the validity of individual cow somatic cell counts from cows in early lactation. *Prev Vet Med* 16: 103 - 110.

Dohoo IR. 2008. Quantitative epidemiology: Progress and challenges. *Prev Vet Med* 86: 260 - 269.

Dohoo IR, Meek AH. 1982. Somatic cell counts in bovine milk. *Can Vet J* 23: 119 - 125.

Dohoo IR, Tillard E, Stryhn H, Faye B. 2001. The use of multilevel models to evaluate sources of variation in reproductive performance in dairy cattle in Reunion Island. *Prev Vet Med* 11: 127 - 144.

Dohoo IR, Martin W, Stryhn H. 2003. *Veterinary Epidemiology Research*. Prince Eduard Island Ed, 706 pag.

Dufour S, Fréchette A, Barkema HW, Mussell A, Scholl DT. 2011. Invited review: Effect of udder health management practices on herd somatic cell count. *J Dairy Sci* 94: 563 - 579.

Elbers AR, Miltenburg JD, De Lange D, Crauwels AP, Barkema HW, Schukken YH. 1998. Risk factors for clinical mastitis in a random sample of dairy herds from the southern part of The Netherlands. *J Dairy Sci* 81: 420 - 426.

Fenlon DR, Logue DN, Gunn J, Wilson J. 1995. A study on mastitis bacteria and herd management practices to identify their relationship to high somatic cell counts in bulk tank milk. *Br Vet J* 151: 17 - 25.

Gachohi JM, Bett B, Murilla GA. 2009. Factors influencing prevalence of trypanosomosis in orma boran (trypanotolerant) and teso zebu (trypanosusceptible)

crosses in Teso district, western Kenya. *Livestock Research for Rural Development* 21: 216. <http://www.lrrd.org/lrrd21/12/gach21216.htm>.

Goldstein H. 1995. *Multilevel Statistical Models*. London: Edward Arnold.

Goodger WJ, Farver T, Pelletier J, Johnson P, de Snayer G. 1993. The association of milking management practices with bulk tank somatic cell counts. *Prev Vet Med* 15: 235 - 251.

Greeland S. 2000. Principles of multilevel modeling. *Int J Epidemiol* 29: 158 - 167.

Harmon RJ. 1994. Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. *J Dairy Sci* 77: 2103 - 2112.

Hogeveen H, Huijps K, Lam TJGM. 2011. Economic aspects of mastitis: New developments. *New Zeal Vet J* 59: 16 - 23.

Klaas IC, Enevoldsen C, Ersbøll AK, Tolle U. 2005. Cow - Related Risk Factors for Milk Leakage. *J Dairy Sci* 88: 128 - 136.

Hutton CT, Fox LK, Hancock DD. 1990. Mastitis control practices: Differences between herds with high and low milk somatic cell counts. *J Dairy Sci* 73: 1135 - 1143.

Iraola Estevez J, Martinez - Gonzalez M, Segui - Gomez M. 2004. *Epidemiología aplicada*. Ariel Ciencias Médicas, 465 pag.

Hillerton JE, Bramley AJ, Staker RT, McKinnon CH. 1995. Patterns of intramammary infection and clinical mastitis over a 5 year period in a closely monitored herd applying mastitis control measures. *J Dairy Res* 62: 39 - 50.

Jansen J, van den Borne BHP, Renes RJ, van Schaik G, Lam TJGM, Leeuwis C. 2009. Explaining mastitis incidence in Dutch dairy farming: The influence of farmers' attitudes and behavior. *Prev Vet Med* 92: 210 - 223.

Kelly PT, O'Sullivan K, Berry DP, More SJ, Meaney WJ, O'Callaghan EJ, O'Brien B. 2009. Farm management factors associated with bulk tank somatic cell count in Irish dairy herds. *Ir Vet J* 62: 45 - 51.

Köster G, Tenhagen BA, Scheibe N, Heuwieser W. 2006. Factors associated with high milk test day somatic cell counts in large dairy herds in Brandenburg. II. Milking practices. *J Vet Med* 53: 209 - 214.

Kreft I, de Leeuw J. 1998. *Introducing Multilevel Modelling*. London: Sage.

Kuczaj M. 2003. Analysis of changes in udder size of high yielding cows in subsequent lactations with regard to mastitis. *Electronic Journal of Polish*

Agricultural Universities. Disponible Online:
<http://www.ejpau.media.pl/volume6/issue1/animal/art - 02.html>.

Larriestra AJ, Maes DG, Deen J, Morrison RB. 2005. Mixed models applied to the study of variation of grower - finisher mortality and culling rates of a large swine production system. *Can Vet J* 69: 26 - 31.

Larriestra AJ, Wattanaphansak S, Neumann EJ, Bradford J, Morrison RB, Deen J. 2006. Pig characteristics associated with mortality and light exit weight for the nursery phase. *Can Vet J* 47: 560 - 566.

Leavens H, Deluyker H, Schukken YH, Meulemeester L, Vandermeersch R, Muêlenaere E, Kruif A. 1997. Influence of parity and stage of lactation on the somatic cell count in bacteriologically negative dairy cows. *J Dairy Sci* 80: 3219 - 3226.

Lievaart JJ, Barkema HW, Kremer WD, van den Broek J, Verheijden JH, Heesterbeek JA. 2007. Effect of herd characteristics, management practices, and season on different categories of the herd somatic cell count. *J Dairy Sci* 90: 4137 - 4144.

Littell RC, Milliken GA, Stroup WW, Wolfinger RD. 1996. *SAS System for Mixed Models*. Cary, North Carolina: SAS Institute.

Matthews CE, Hebert JR, Freedson PS, Stanek EJ. 2001. 3rd, Merriam PA, Ebbeling CB, Ockene IS. Sources of variance in daily physical activity levels in the seasonal variation of blood cholesterol study. *Am J Epidemiol* 15: 987 - 995.

McDermott JJ, Schukken YH. 1994. A review of methods used to adjust for cluster effects in explanatory epidemiological studies of animal populations. *Prev Vet Med* 18: 155 - 173.

McDermott JJ, Schukken YH, Shoukri MM. 1994. Study design and analytic methods for data collected from clusters of animals. *Prev Vet Med* 18: 175 - 191.

Mörk MJ, Emanuelson U, Lindberg A, Vågsholm I, Egenvall A. 2009. Herd and cow characteristics affecting the odds of veterinary treatment for disease - a multilevel analysis. *Acta Vet Scand* 22: 51 - 34.

Neijenhuis F, Barkema HW, Hogeveen H, Noordhuizen JPTM. 2000. Classification of longitudinal examination of callused teat ends in dairy cows. *J Dairy Sci* 83: 2795 - 2804.

Reksen O, Sølverød L, Østerås O. 2008. Relationships between milk culture results and composite milk somatic cell counts in Norwegian dairy cattle. *J Dairy Sci* 91: 3102 - 3113.

Reneau JK. 1986. Effective use of Dairy Herd Improvement Somatic Cell Counts in mastitis control. *J Dairy Sci* 69: 1708 - 1720.

Rodrigues ACO, Caraviello DZ, Ruegg PL. 2005. Management of Wisconsin dairy herds enrolled in milk quality teams. *J Dairy Sci* 88: 2660 - 2671.

Schepers AJ, Lam TJGM, Schukken YH, Wilmink JBM, Hanekamp WJA. 1997. Estimation of variance components for somatic cell counts to determine thresholds for uninfected quarters. *J Dairy Sci* 80: 1833 - 1840.

Schreiner DA, Ruegg PL. 2003. Relationship between udder and leg hygiene scores and subclinical mastitis. *J Dairy Sci* 86: 3460 - 3465.

Singer JD. 1998. Using SAS PROC MIXED to fit multilevel models, hierarchical models, and individual growth models. *Journal of Educational and Behavioral Statistics* 23: 323 - 355.

Snijders TAB, Bosker RJ. 1999. *Multilevel Analysis: An Introduction to Basic and Advanced Multilevel Modelling*. London: Sage.

Snowder SL, Vleck DV. 2002. Effect of duration of performance test on variance component estimates for lamb growth rate. *J Anim Sci* 80: 2078 - 2084.

Sukumarannair SA, Larriestra A, Deen J, Anil L. 2005. A path analysis of the factors associated with seasonal variation of breeding failure in sows. *Can J Anim Sci* 85: 317 - 325.

Tadich N, Kruze J, Locher G, Green LE. 2003. Risk factors associated with BMSCC greater than 200 000 cells/ml in dairy herds in southern Chile. *Prev Vet Med* 58: 15 - 24.

Tarabla HD, Dodd K. 1990. Associations between farmer's personal characteristics, management practices and farm performance. *Br Vet J* 146: 157 - 164.

van Schaik G, Green LE, Guzmán D, Esparza H, Tadich N. 2005. Costs and benefits of improved milking practices in smallholder dairy farms in the 10th region of Chile. Pages 242 - 247 in *Proc. 4th IDF Int. Mastitis Conf.*, H. Hogeveen, ed., Maastricht, NL. Wageningen Academic Publishers, Wageningen, NL.

Waage S, Odegaard SA, Lund A, Brattgjerd S, Rothe T. 2001. Case - control study of risk factors for clinical mastitis in postpartum dairy heifers. *J Dairy Sci* 84: 392 - 399.

Wenz JR, Jensen SM, Lombard JE, Wagner BA, Dinsmore RP. 2007. Herd management practices and their association with bulk milk somatic cell count on United States dairy operations. *J Dairy Sci* 90: 3652 - 3659.

Werneck GL, Costa CHN, Walker AM, David JR, Wand M, Maguire JH. 2007. Multilevel modelling of the incidence of visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. *Epidemiol Infect* 135: 195 - 201.

Zadoks RN, Allore HG, Barkema HW, Sampimon OC, Wellenberg GJ, Gröhn YT, Schukken YH. 2001. Cow - and quarter - level risk factors for *Streptococcus uberis* and *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Sci* 84: 2649 - 2663.

Tabla 4.1. Análisis bivariado entre las variables pertenecientes a los grupos temáticos nivel de tecnificación e infraestructura y la variable respuesta medida a nivel de vaca en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)

Grupo temático	VARIABLES	Clase	Media lnRCS (DE)
Nivel de tecnificación	Control lechero	Si	5,22 (1,58)*
		No	5,53 (1,51)
	Frecuencia de visitas veterinarias	Frecuente	5,4 (1,51)
		Infrecuente	5,43 (1,64)
	Inseminación artificial	Si	5,27 (1,59)*
		No	5,5 (1,51)
Registro informático de datos	Si	5,37 (1,52)	
	No	5,45 (1,57)	
Infraestructura	Tipo de instalación	Con fosa	5,4 (1,56)
		Sin fosa	5,43 (1,46)
	Número de bajadas	4	6,05 (1,32)
		6	5,5 (1,54)
		7	5,51 (1,08)
		8	5,27 (1,55)
		10	5,36 (1,6)
		14	5,43 (1,56)
	Control máquina de ordeño	Frecuente	5,33 (1,54)*
		Infrecuente	5,55 (1,55)
Tanque de frío	Si	5,42 (1,53)	
	No	5,31 (1,64)	

*: Variables independientes asociadas con variable respuesta con un valor $p < 0,2$: utilizando análisis de ANOVA; lnRCS: logaritmo natural recuento celular somático; DE: Desvío estándar

Tabla 4.2. Análisis bivariado entre las variables pertenecientes al grupo temático características generales del tambero y la variable respuesta medida a nivel de vaca en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)

VARIABLES	Clase	Media lnRCS (DE)
Nivel de instrucción	Ninguno	5,76 (1,37)*
	Primario completo	5,25 (1,57)
	Secundario completo	5,44 (1,63)
Formación especializada	Si	5,47 (1,63)
	No	5,4 (1,53)
Tiempo en establecimiento	Menos de 12 meses	5,09 (1,54)*
	Entre 13 y 36 meses	5,42 (1,56)
	Más de 37 meses	5,58 (1,5)

*: Variables independientes asociadas con variable respuesta con un valor $p < 0,2$: utilizando análisis de ANOVA; lnRCS: logaritmo natural recuento celular somático; DE: Desvío estándar

Tabla 4.3. Análisis bivariado entre las variables pertenecientes al grupo temático rutina de ordeño y control de mastitis y la variable respuesta medida a nivel de vaca en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)

VARIABLES	Clase	Media lnRCS (DE)	
Tratamiento de MC	Si	5,4 (1,54)*	
	No	5,69 (1,68)	
Diagnóstico de MSC	Si	5,06 (1,46)*	
	No	5,41 (1,54)	
Tipo de secado	Brusco con manejo nutricional	5,3 (1,52)*	
	Salteo ordeño con manejo nutricional	5,35 (1,62)	
	Salteo ordeño sin manejo alimentación	5,74 (1,38)	
Tratamiento al secado	No realiza	5,64 (1,48)*	
	Hace menos de 1 año	5,22 (1,55)	
	Hace más de 1 año	5,35 (1,56)	
Rutina de ordeño	Lavado	Si	5,43 (1,53)*
		No	4,97 (1,74)
	Presellado	Si	4,84 (1,53)*
		No	5,42 (1,54)
	Despunte	Si	5,34 (1,59)*
		No	5,57 (1,42)
	Sellado post - ordeño	Si	5,47 (1,54)*
		No	5,36 (1,55)

*: Variables independientes asociadas con variable respuesta con un valor $p < 0,2$: utilizando análisis de ANOVA; lnRCS: logaritmo natural recuento celular somático; DE: Desvío estándar

Tabla 4.4. Análisis bivariado entre las variables pertenecientes al grupo temático estructura del rodeo y edad del tambero y la variable respuesta medida a nivel de vaca en los tambos de la Cuenca de Villa María (Córdoba) (n = 51)

VARIABLES CONTINUAS	COEFICIENTE DE CORRELACIÓN
Hectáreas ganaderas	-0,02
Vacas en ordeño	-0,10*
Litros / día	-0,13*
Litros / vaca / día	-0,11*
Edad del tambero	0,08*

*: Variables independientes asociadas con variable respuesta con un valor $p < 0,2$ utilizando análisis de Correlación de Spearman

Tabla 4.5. Resultado del modelo mixto considerando el tambo como efecto aleatorio

Variable independiente	Efecto fijos		Media mínimos cuadrados		RCS (cél/ml x 1000)	
	Est (EE)	Valor p	Est	IC 95%		
Intercepto	4,85 (0,23)	<0,0001				
Días de lactancia	>90	<0,0001	5,6	5,35 - 5,85	271,4	
	≤90		4,92	4,66 - 5,18	136,8	
Número ordinal de parto	≥2	<0,0001	5,63	5,39 - 5,88	279,7	
	1		4,89	4,62 - 5,16	132,8	
Producción de leche (litros/vaca/día)	<15	-0,53 (0,31)	0,1304	5	4,46 - 5,54	148,3
	15 - 17	-0,28 (0,18)	0,0935	5,25	4,94 - 5,57	191,1
	>17			0,1203	5,53	5,22 - 5,84
Tratamiento al secado	No	0,43 (0,21)	0,0484	5,47	5,11 - 5,84	238,6
	Si			5,05	4,77 - 5,33	155,6
Despunte	No	0,38 (0,19)	0,0526	5,45	5,1 - 5,8	232,6
	Si			5,07	4,8 - 5,34	159,7
Edad del ordeñador (años)	<34	-0,72 (0,26)	0,0079	4,97	4,6 - 5,35	144,7
	34 - 50	-0,58 (0,22)	0,0124	5,11	4,85 - 5,38	166,4
	>50			5,69	5,27 - 6,12	297,2

Est: estimación; EE: error estándar; IC: intervalo de confianza; RCS: recuento celular somático

Conclusión general y proyecciones futuras

La prevalencia de mastitis clínica (MC) y mastitis subclínica (MSC) mostró una amplia variación entre rodeos y categorías de animales. En general 20 de cada 100 vacas presentaron MSC y en 3 de cada 100 se detectó MC. Entre el grupo de bacterias identificadas y en el grupo de los patógenos mayores, *S. aureus* mostró un marcado predominio, solo coexistiendo en el 20% de los tambos con especies del género *Streptococcus*. Sin embargo, el grupo bacteriano más prevalente considerando al conjunto de los aislados fue el de los *Staphylococcus coagulasa* negativo. Este resultado revela la necesidad de realizar investigaciones futuras dirigidas a profundizar el conocimiento del rol de este grupo bacteriano como agente de mastitis bovina.

Estos hallazgos contribuyen a tener una visión actualizada de la problemática de la salud mamaria en los tambos de pequeño y mediano tamaño de la cuenca de Villa María (Córdoba). Además, promueven el diseño e implementación en el futuro de estudios epidemiológicos en tambos de mayor tamaño y de otras cuencas del país para contribuir al conocimiento de la frecuencia de mastitis y, de esta manera, estimar el impacto productivo y económico de la enfermedad en los tambos de Argentina.

La predictibilidad del RCS en muestras compuestas de leche bovina fue aceptable al establecer un umbral de 200.000 cél/ml para la detección de MSC con valores de sensibilidad (Se) y especificidad (Sp) de 77,5% y 72,6%, respectivamente. Comparativamente, la capacidad diagnóstica de esta prueba para identificar infecciones intramamarias mostró valores de Se y Sp muy inferiores.

Asimismo, la información de RCS en muestras compuestas de leche permitió estimar, con un bajo margen de error, la prevalencia ajustada de la frecuencia de MSC en cada uno de los rodeos

Además, esta técnica podría ser evaluada dada sus características para prescribir acciones de manejo sobre la vaca, tales como la programación de secados prematuros o la asignación de la terapia selectiva al secado.

A los efectos de valorar mejor la capacidad diagnóstica del RCS en muestras compuestas de leche se deberían realizar evaluaciones mediante la aplicación de métodos de clases latentes ("latent class") en un entorno bayesiano. Así, asumiendo que no existe prueba de oro para la MSC permitiría la incorporación de conocimientos previos sobre los parámetros en estudio.

Las acciones profilácticas y terapéuticas implementadas en los tambos en relación a la salud de la ubre, el nivel de productividad, tecnificación e intensificación, como así también, las características generales de los tamberos permitieron identificar dos grupos de productores lecheros y constituir dos conglomerados. La diferencia fundamental entre ambos estuvo relacionada con la implementación de programas de control y prevención de la mastitis. Si bien no se vio reflejado en diferencias en el RCS en leche de tanque, la productividad medida en litros de leche fue superior para el conglomerado de establecimientos con mejor estándar de manejo.

El estrato de pequeños y medianos productores estudiados manifestó claras diferencias en el estándar de manejo de la salud mamaria. Dado el diseño aleatorio del muestreo se podría inferir que una proporción importante de los productores no aplica buenas prácticas en el control de la salud mamaria. De darse esta condición, el sector lechero de la cuenca de Villa María se beneficiaría con la implementación de un programa de mejoramiento de las buenas prácticas en relación a salud mamaria que podría redundar en una mejor productividad de los rodeos.

Con el propósito de valorar mejor la efectividad de estas prácticas sería pertinente realizar estudios epidemiológicos longitudinales los que serían más apropiados para evaluar estas acciones.

Los factores relacionados a la vaca y al tambo influyen significativamente sobre la variación del RCS en muestras compuestas de leche. El número ordinal de parto y el estadio de lactación fueron los que mostraron mayor impacto sobre el RCS, mientras que variables medidas a nivel de rodeo, tales como despunte, tratamiento al secado y edad del tambero tuvieron menor influencia.

Estos factores permitirían identificar grupos de vacas de alto riesgo, y en el caso de los que son de naturaleza modificables, servirían de base para el diseño de estrategias de intervención tendientes a disminuir los niveles de MSC en los rodeos pertenecientes a pequeños y medianos productores de Villa María (Córdoba).

La variabilidad en los RCS en leche compuesta descansa mayoritariamente en las variaciones vaca a vaca. El tambo explica un 12% de la variación total y permite, así, visualizar alguna posibilidad de mejoramiento de la salud mamaria con intervenciones a nivel de rodeo.

La estimación del coeficiente de correlación intraclase tiene aplicaciones prácticas al momento de incluir el efecto diseño en futuros muestreos. Específicamente, sería conveniente seleccionar más rodeos con menos vacas por rodeo, sin perjudicar la estimación de la prevalencia en la población.

Resulta de interés considerar la realización de futuros estudios epidemiológicos dirigidos a dilucidar los factores individuales que puedan incrementar la explicación de la variabilidad a los fines de diseñar estrategias orientadas a mejorar la eficacia de los programas de control.

En estudios futuros, profundizar en el relevamiento de la forma de aplicación de las prácticas de manejo relacionadas a la salud de la ubre y evaluar la motivación de la/s persona/s encargadas de la toma de decisiones, podría contribuir a una mejor comprensión del efecto tambo al que está sometida cada vaca y cómo esto influye sobre la frecuencia de mastitis.

73217

U.N.R.C.
Biblioteca Central



73217