

RELACIÓN ENTRE LOS RECuentOS DE CÉLULAS SOMÁTICAS,
PRÁCTICAS DE MANEJO Y PATÓGENOS CAUSANTES DE MASTITIS
EN HATOS LECHEROS DE PUERTO RICO

por

Jaime E. Curbelo Rodríguez

Tesis sometida en cumplimiento parcial
de los requisitos para obtener el grado de

MAESTRO EN CIENCIAS

en

INDUSTRIA PECUARIA

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO
RECINTO DE MAYAGÜEZ

2007

Aprobada por:

Ángel A. Custodio González, Ph.D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

Ernesto O Riquelme Villagrán, Ph.D.
Miembro del Comité Graduado

Fecha

José Pantoja López, Ph.D.
Presidente del Comité Graduado

Fecha

Sonia Borges Delgado, Ph.D.
Representante de Estudios Graduados

Fecha

José R. Latorre Acevedo, Ph.D.
Director del Departamento

Fecha

ABSTRACT

To estimate the potential effect on the dairy industry of the implementation of the National Mastitis Council's (NMC) proposal to reduce the present regulatory limit for somatic cell count (SCC) of 750,000 cells/ml of crude milk to 400,000 cell/ml, 302,995 herd test day records from Dairy Herd Improvement program of Puerto Rico (PRDHIA) during years 2004 and 2005 were analyzed. The association among management practices, SCC, bacterial counts (BC) and presence of the most common mastitis pathogens were determined using data from bulk milk samples and information gathered with a questionnaire in 71 herds selected on previous SCC.

Mean of herd test day milk yield per cow and of somatic cell scores (SCS) were 17.2 kg. and 3.9, respectively. Management practices significantly associated with SCC were, the use of post dip disinfectant after therapeutic intramammary infusion, disinfection of teats before an intramammary infusion, feeding of cows after instead of during milking, drying teats before placing on the milking unit and inclusion of the diameter of long milk pipeline of adequate diameter in the milking machine. Assuming applicability of information from PRDHIA herds to non PRDHIA herds, the proportion of individual cow test days for which exceeded the limit set by NMC proposal was 20%.

RESUMEN

Para estimar el efecto potencial que sobre la industria lechera tendría la aplicación de la propuesta del Concilio Nacional de Mastitis (CNM) de reducir el límite regulatorio actual de 750,000 células/ml de la leche cruda en los recuentos de células somáticas (RCS), se analizaron datos de 302,995 pesajes individuales de vacas de hatos acogidos al Programa de Mejoramiento de Hatos Lecheros de Puerto Rico (PRDHIA) durante los años 2004 y 2005. La asociación de algunas prácticas de manejo con los RCS, los recuentos bacterianos (RB) y la presencia de patógenos mastíticos más comunes fue determinada utilizando un registro de muestras de leche de tanque e información recopilada mediante un cuestionario en 71 hatos seleccionados previamente según los RCS.

Los promedios de producción diaria de leche por vaca y de los recuentos lineales de células somáticas (RLCS) fueron 17.2 kg. y 3.9, respectivamente. Las prácticas de manejo que tuvieron asociación significativa con los RCS fueron la aplicación de un sellador de pezones luego de una infusión intramamaria, desinfección de los pezones antes de una infusión intramamaria, alimentación del ganado después en vez de durante el ordeño, secado de los pezones antes de colocar la unidad de ordeño y tener tubería de leche de diámetro adecuado en el equipo de ordeño. Presumiendo que los registros de los hatos acogidos al PRDHIA son representativos de los hatos no acogidos a éste, se estimó en un 20% la proporción de pesajes de vacas individuales que estarían fuera de norma al aplicar la propuesta del CNM.

DEDICATORIA

Este trabajo va dirigido a mis padres Jaime E. Curbelo Ruiz y Gloria E. Rodríguez Borges, por su gran ejemplo, amor, dedicación y consejo espiritual, los cuales han llenado mi vida de gran significado, a ustedes dedico este logro.

A mis queridos hermanos María Enid, José Rafael y María Nereida y a mis sobrinitos Antonio Enrique y Jaime Luis, por brindarme su ayuda moral y el afecto de una familia unida. A mis familiares y amigos allegados que estuvieron conmigo durante el desarrollo de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco sobre todas las cosas a Dios por llenarme de bendiciones y por poner en mi camino a tantas personas especiales que me han brindado su apoyo incondicional día tras día. Dr. José Pantoja, gracias por creer en mí, permitiéndome ser su estudiante graduado. Gracias por su ejemplo, sus consejos y su paciencia hacia mí, los cuales me han ayudado grandemente a formarme como persona y profesional. Al personal del Servicio de Extensión Agrícola por su apoyo y cooperación para con este estudio, por ser mis amigos, consejeros y hermanos. Gracias a las personas que dedicaron de su tiempo en este trabajo: Dr. Raúl Macchiavelli, Dr. Ernesto Riquelme, Dra. Sonia Borges, Dr. Ángel Custodio, Sr. Miguel Rivera y Sra. Sandra Peraza.

Gracias a todos ustedes.

TABLA DE CONTENIDO

Abstract	ii
Resumen	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimientos	v
Tabla de contenido	vi
Lista de cuadros	viii
Lista de apéndices	ix
Abreviaturas	ix
Introducción	1
Objetivos	4
Revisión de Literatura	5
Definición de mastitis	5
Detección de mastitis	8
Patógenos más comunes	10
Variación del contenido de células somáticas en la leche	14
Efectos del estrés calórico sobre la producción de leche	16
Efectos negativos de altos RCS	17
Evaluación del impacto de la propuesta del CNM sobre los productores de leche fresca en Puerto Rico	20
Variaciones en los RCS de muestras de leche de hatos acogidos o no acogidos al programa DHIA	21
Asociación de los RCS con varias prácticas de manejo y patógenos más comunes	23
Efecto del equipo de ordeño sobre los RCS	29
Asociación entre patógenos causantes de mastitis y los RB ...	32
Materiales y Métodos	35
Origen de los datos y variables utilizadas	35
Producción de leche y RCS	36
Correlaciones simples entre los RCS, producción de leche y otras variables analizadas.....	37
Variación estacional de los RCS y producción de leche	38
Variación estacional de producción de leche según los meses del año y escenarios de la propuesta del CNM	38
Evaluación del impacto de la propuesta del CNM sobre los productores de leche fresca en Puerto Rico	38
Variaciones en los RCS de muestras de leche de hatos acogidos o no acogidos al programa PRDHIA	39
Efecto de los RCS sobre el porcentaje de proteína y grasa.....	39

Prácticas de manejo asociadas con los RCS, RB y patógenos más comunes	39
Asociación de hatos con RCS bajos, medios y altos, patógenos causantes de mastitis y prácticas de manejo en los hatos estudiados	41
Asociación entre patógenos causantes de mastitis y RB bajos, medios y altos	41
Correlaciones simples entre RCS, RB, tamaño del hato y número de obreros	41
Resultados y Discusión	42
Producción de leche y RCS	42
Correlaciones simples entre los RCS, producción de leche y otras variables estudiadas	44
Efecto de los RCS sobre el porcentaje de proteína y grasa en la leche	46
Variación estacional de los RCS y producción de leche	47
Variación estacional de producción de leche y escenarios según la propuesta del CNM	48
Evaluación del impacto de la propuesta del CNM sobre los productores de leche fresca en Puerto Rico	50
Variación en los RCS de muestras de leche de hatos acogidos o no acogidos al programa PRDHIA	52
Asociación de los RCS con prácticas de manejo y presencia de patógenos más comunes	53
Asociación de los RCS y patógenos más comunes ..	55
Asociación de los RCS con las prácticas de manejo	57
Asociación entre patógenos causantes de mastitis y los RB ...	59
Correlaciones entre los RCS, RB y tamaño del hato y número de obreros por hato	61
Conclusiones	63
Bibliografía	66
Apéndice	78

LISTA DE CUADROS

Cuadro No.	Título	Página
1	Características de producción de leche, estado reproductivo y RCS	43
2	Coeficientes de correlación simple entre las variables incluidas en el estudio	45
3	Variación estacional de los RCS y producción de leche.....	48
4	Variación estacional de producción de leche según los meses del año y escenarios de la propuesta del CNM	49
5	Producción de leche por pesajes según los escenarios propuestos por el CNM	52
6	Variación en los RCS de muestras de leche de hatos acogidos al PRDHIA vs. hatos no acogidos al PRDHIA	53
7	Resumen de los RCS, RB y número de vacas por hato	53
8	Resumen de variables relevantes	54
9	Relación entre RCS, patógenos causantes de mastitis y prácticas de manejo	56
10	Asociación entre patógenos causantes de mastitis y los RB bajos, medios y altos	60
11	Correlaciones simples entre los RCS, RB, tamaño del hato y número de obreros por hato	62

APÉNDICE

Apéndice No.	Título	Página
1	Cuestionario aplicado	78

ABREVIATURAS UTILIZADAS

Abreviatura	Significado
CMT	California Mastitis Test
CNM	Concilio Nacional de Mastitis
PRDHIA	Programa de Mejoramiento de Hatos Lecheros de PR
PCOLORIL	Programa de Calidad de Leche de la Oficina para la Reglamentación de la Industria Lechera
RB	Recuentos Bacterianos
RCS	Recuento de Células Somáticas
RLCS	Recuento Lineal de Células Somáticas
SCN	Staphylococcus coagulasa negativa

INTRODUCCIÓN

La industria lechera es la principal empresa agrícola de Puerto Rico aportando 184.8 millones de dólares por año, el cual corresponde a un 23.0 % del Ingreso Bruto Agrícola (Oficina de la Reglamentación de la Industria Lechera, 2006). A pesar de ello, la industria lechera es afectada por varios factores. Entre éstos se destacan la baja eficiencia en producción de leche a nivel finca, la tendencia decreciente en las ventas de leche fresca y la presencia de enfermedades en los hatos lecheros. Entre las enfermedades principales que afectan al ganado lechero en Puerto Rico se encuentra la mastitis. Las pérdidas económicas asociadas a la mastitis se han estimado desde \$35 hasta \$295 anuales por vaca (De Graves et al., 1993). Esta cifra incluye costos asociados con disminución en la producción de leche, con tratamientos de animales afectados, con labor adicional para el manejo de vacas mastíticas y con el aumento en el requisito de vacas de reemplazo (Bartlett et al., 1990; Shim et al., 2004).

La mastitis se define como una inflamación de la glándula mamaria en respuesta a traumas o más comúnmente a la invasión de la ubre por microorganismos infecciosos (Ma et al., 2000). La inflamación es un mecanismo de protección de la glándula para ayudar a eliminar los microorganismos y sus toxinas y reparar los tejidos afectados. Los síntomas principales incluyen fiebre sistémica, hinchazón de la ubre, enrojecimiento de la ubre, dolor e interrupción de las funciones normales de la glándula mamaria y aumento en los niveles de células somáticas en la leche (Gallin et al., 1992; Kehrlí y Shuster, 1994). La estimación de

los RCS es la medida más común para la determinación indirecta del nivel de mastitis infecciosa en vacas lecheras (Raubertas y Shook, 1982). Los RCS pueden ser medidos en muestras de leche de los cuartos de vacas individuales o del tanque de almacenamiento de la finca. Éstos se consideran un buen estimador de la calidad de la leche (Lukas et al., 2005). Es por esto que los RCS en muestras de tanque de almacenamiento de las fincas se incluyen como una de las pruebas rutinarias regulatorias para el mercadeo de la leche grado A. El reglamento sanitario local ha adoptado la reglamentación de calidad de los Estados Unidos para la clasificación de leche grado A, cuyo límite máximo es de 750,000 células/ml en los RCS de muestras de tanque (US Dep. of Health and Human Services, 1997). Los ganaderos o el abasto de leche que no cumplan con esta especificación podrían ser excluidos de la clasificación de leche grado A y por ende de la oportunidad para el mercadeo interestatal de leche.

El CNM ha propuesto una reducción progresiva del límite máximo de células somáticas en la leche del tanque de almacenamiento de 750,000 a 600,000, de 600,000 a 500,000 y de 500,000 a 400,000 en un periodo de 4 años (Norman et al., 2000). Para entrar en vigor, esta propuesta tendría que ser aprobada por la Conferencia Interestatal de Mercaderes de Leche y por la Administración Federal de Drogas y Alimentos, lo cual no ha ocurrido hasta el presente. Los Estados Unidos de América es el país que mantiene el nivel máximo más leniente para los RCS, por lo cual se espera que en un futuro cercano adopte medidas regulatorias más estrictas para mantener la competitividad comercial de productos lácteos.

Los trabajos de investigación realizados localmente en torno a la mastitis han enfocado en la identificación de los microorganismos patógenos causantes de la misma, pruebas de sensibilidad de estos patógenos a diferentes antibióticos, evaluación de prácticas de manejo y la tasa de incidencia de mastitis en regiones específicas de Puerto Rico, comparación de diversos desinfectantes para el control de la mastitis (Trinidad, 1983; Pagan, 1985; Rodríguez, 1987; González, 1988) así como la determinación de la relación cuantitativa entre los RCS y la producción de leche (Pantoja et al., 1996). No se ha determinado bajo las condiciones de Puerto Rico, el impacto que tendría la aplicación de la propuesta del CNM referente a los RCS en términos del número de pesajes y cantidad de leche que pudieran quedar excluidos durante las diferentes épocas del año.

El presente trabajo pretende examinar el posible efecto que pudiera tener sobre los productores de leche fresca la aplicación de la propuesta del CNM, utilizando para ellos la información sobre los RCS recopilados por el Programa de Mejoramiento de Hatos Lecheros (PRDHIA por sus siglas en inglés) y el Programa de Calidad de Leche de la Oficina para la Reglamentación de la Industria Lechera (PCLORIL). Los RCS basados en los periodos de prueba del PRDHIA podrían ser diferentes de aquellos obtenidos por PCLORIL, en muestras de tanque, toda vez que la leche de vacas en tratamiento contra mastitis o con altos RCS sea excluida del tanque de almacenamiento, pero no del procedimiento usado en el programa DHIA.

OBJETIVOS

La presente investigación se realizó con los siguientes objetivos específicos:

Determinar los valores promedios y la variabilidad de los recuentos de células somáticas en hatos lecheros en Puerto Rico, basándose en los resultados de las pruebas mensuales de los hatos acogidos al PRDHIA y compararlos con aquellos del PCLORIL.

Determinar la frecuencia de pesajes de leche de hatos cuyos promedios mensuales de células somáticas excedan las 750,000 células/ml y los límites propuestos por el Concilio Nacional de Mastitis basados en los promedios calculados de los periodos de prueba del PRDHIA.

Investigar si existe alguna relación entre el tipo de patógenos mastíticos presentes en los hatos y los recuentos de células somáticas en la leche.

Evaluar las variaciones estacionales en los recuentos de células somáticas.

Examinar la relación entre el contenido de células somáticas en la leche de los hatos con algunas prácticas de manejo en las fincas.

REVISIÓN DE LITERATURA

Definición de Mastitis

La mastitis se define como una inflamación de la glándula mamaria en respuesta a traumas o a una invasión de la ubre por microorganismos (Ma et al., 2000) que, generalmente, ganan acceso a la glándula mamaria a través del esfínter del pezón. Como resultado, se observa una inflamación de la glándula mamaria, acompañada de cambios físicos, químicos y microbiológicos, que ocasionan un incremento en la concentración de células somáticas y cambios patológicos en el tejido mamario (CNM, 1996).

La mastitis se caracteriza por hinchazón, fiebre, enrojecimiento, dolor e interrupción de las funciones normales de la ubre (Harmon, 1994; Kehrli y Shuster, 1994). Como efecto de la inflamación ocurre inhibición de las fases tempranas de la vasodilatación, edema, migración celular, proliferación de fibroblastos y deposición de colágeno (Kehrli y Shuster, 1994). El primer cambio patológico que se observa en las vacas con mastitis es el aumento en la permeabilidad capilar de los tejidos de la glándula mamaria, lo cual puede afectar la barrera sangre-leche y permitir el paso de proteínas del suero de la sangre a la leche (Kehrli y Shuster, 1994). El cloruro de sodio y otros compuestos aumentan en la leche debido al paso de la sangre hacia ésta, causando que el pH normal de 6.6 aumente hasta 6.9 (Harmon, 1994). Como mecanismo de compensación osmótica se reduce la síntesis de lactosa a medida que aumenta la concentración de cloruro de sodio en la leche (Auldist y Hubble, 1998).

Los neutrófilos se mueven rápidamente desde el torrente sanguíneo hacia los cuartos afectados, en respuesta a la presencia de cuerpos extraños en los tejidos de la ubre y a la irritación que acompaña la invasión patogénica, causando así aumentos en la concentración de células somáticas en la leche (Kehrli y Shuster, 1994). El proceso de proliferación de los microorganismos contribuye a la destrucción del tejido secretor, reduciéndose así la concentración en la leche de los componentes sintetizados en la glándula mamaria tales como la caseína y la lactosa (Harmon, 1994). El tejido afectado es reemplazado por tejido conectivo, lo cual resulta en una pérdida permanente de la habilidad productiva del animal (Shuster y Harmon, 1992; Shuster et al., 1993).

El número de células somáticas que entran a la glándula depende del tipo y cantidad de patógenos que ganan acceso a la ubre (Peters, 2002). Se utiliza el término RCS preferentemente al recuento de células blancas, debido a que en el RCS se incluyen tanto las células epiteliales, producto de la descamación normal de los tejidos internos de la ubre en adición a las células blancas, cuya función principal es controlar es combatir infecciones (Peters, 2002). Típicamente, entre 15% y 17% de las células presentes en los RCS de cuartos no infectados son epiteliales, 30% son macrófagos, 30% son neutrófilos y 25% son linfocitos. En cuartos infectados, se observa un cambio en la distribución de los tipos de células, ocasionando que los neutrófilos pueden alcanzar una proporción de hasta un 90% (Sordillo et al., 1989). Debido a que la población de leucocitos en la ubre aumenta a medida que se agudiza la infección, los RSC constituyen un buen indicador del

grado de mastitis tanto en cuartos individuales de la ubre como en muestras compuestas de leche de cuartos de vacas individuales y en muestras del tanque de almacenamiento (Suriyasathaporn et al., 2000).

El uso de los RCS para evaluar la salud de la ubre ha mostrado ser una herramienta útil para la detección y control de la mastitis y para la identificación de los principales patógenos causantes de ésta (Kehrli y Shuster, 1994). Dependiendo de la severidad de la infección, la mastitis puede clasificarse como clínica, subclínica o crónica (Peters, 2002). La mastitis clínica se caracteriza por síntomas observables, tanto en la leche como en la ubre. La mastitis clínica puede diagnosticarse al observar secreciones lácteas con apariencia anormal, por ejemplo con coágulos o sanguinolentos. El animal afectado por este tipo de mastitis exhibe fiebre, muestra la ubre hinchada y sensible y, si la condición persiste, podría transformarse en mastitis crónica.

La mastitis subclínica no es detectable a simple vista. La leche y la ubre aparentan estar en condiciones normales, aunque la composición de la leche es anormal. La mastitis subclínica es de larga duración, difícil de detectar y predomina más en el hato que la forma clínica a la cual generalmente antecede (Philpot y Nickerson, 1991). Uno de los cambios principales que ocurren durante la mastitis subclínica, y que sirve para su detección, es el aumento en la concentración de leucocitos en la leche (Peters, 2002). La mastitis crónica es una infección persistente que está la mayor parte del tiempo en forma subclínica pero ocasionalmente se convierte en la forma clínica activa (Kehrli y Shuster, 1994).

Detección de mastitis

Los cambios patológicos y fisiológicos que ocurren en la glándula mamaria durante las infecciones intramamarias, junto con la identificación de organismos patógenos involucrados, constituyen los criterios básicos para el diagnóstico de mastitis. Existe una relación directa entre la concentración de leucocitos en la leche y los RCS (Paape et al., 1979). Se estima que un 90% de los RCS son leucocitos y 10% son células epiteliales (Paape et al, 1979). Es por esto que los RCS se utilizan como indicadores de la calidad de la leche y de la presencia de mastitis subclínica (CNM, 1996).

La observación y recuento directo bajo el microscopio ha sido el método tradicional para estimar los RCS (Houghtby et al., 1992). Este método permite realizar el RCS y, a la misma vez, una evaluación morfológica de las células y de las especies de bacterias presentes, permitiendo que el analista pueda ofrecer información más precisa sobre la calidad del producto (Houghtby et al., 1992). Esta prueba constituye también el estándar por el cual el resto de las pruebas diagnósticas son calibradas. Aunque el método directo al microscopio es considerado el procedimiento estándar, el mismo resulta tedioso y lento, lo cual limita el número de muestras que se pueden realizar por unidad de tiempo. La precisión de este método depende del tamaño de la muestra, espesor de la película de leche sobre el portaobjetos utilizado y el número de campos sometidos a conteo (Schneider y Jasper, 1966).

Existen varias pruebas indirectas para estimar los RCS. En la prueba de mastitis de California (CMT, por sus siglas en ingles) se utiliza el reactivo púrpura de bromocresol para estimar los RCS. La magnitud de la reacción entre el detergente y el ADN del núcleo de las células es un estimador del número de células somáticas presentes en la muestra de leche (Houghtby et al., 1992). A concentraciones de 150,000 a 200,000 células/ml, un precipitado comienza a formarse (Houghtby et al., 1992). Un gel más viscoso se presenta en muestras con concentraciones mayores de células somáticas. La cantidad de gel formado se evalúa visualmente sobre el fondo blanco de una paleta o recipiente que viene al efecto (Thompson y Postle, 1964) y se clasifica en una escala que abarca trazas y resultados positivos del 1 al 3. La calificación es subjetiva, ya que depende del criterio de quien la realiza. Sin embargo, ofrece la ventaja de que la vaca está presente, lo que permite realizar la toma de su temperatura rectal, palpación de la ubre y observación del estado general de la vaca. Siendo una prueba de campo, permite, además, la evaluación adicional del estado físico de la leche y el muestreo de la misma para su análisis bacteriológico, con el objetivo de identificar lo más rápido posible el agente etiológico de la infección (Aguado, 2001).

La prueba de Wisconsin utiliza el mismo principio y reactivo químico que la CMT, pero diluido al 50 % con agua destilada. En esta prueba, la viscosidad del gel formado se mide y expresa en términos del volumen del gel que se forma y que permanece en un tubo de ensayo luego de 15 segundos de escurrido a través de

un orificio de 1.15 mm. de diámetro. Esta prueba semicuantitativa se considera más objetiva que la de CMT (Houghtby et al., 1992).

La concentración de células somáticas en la leche también se puede estimar mediante el uso de instrumentos, tales como “Coulter Counter” y “Fossomatic” (Pearson et al., 1970). En el caso del “Coulter Counter” un volumen de leche conocido se hace pasar por un orificio pequeño (100 micras) y cada célula que pasa genera un impulso eléctrico, que es contabilizado y anotado automáticamente por el instrumento (Kitchen, 1981). La correlación entre este método y el conteo directo al microscopio fluctúa entre .88 y .99 (Pearson et al., 1970). El “Fossomatic” es un instrumento que cuenta las células somáticas por el método fluoro-óptico-electrónico, utilizando como compuesto fluoro-óptico al bromuro de etilo (Mochrine y Monroe, 1978). Con este instrumento completamente automático, se pueden procesar hasta 180 muestras de leche por hora y la correlación simple con el método directo al microscopio es de .99 (Mochrine y Monroe, 1978). El mayor inconveniente de estos métodos electrónicos es el alto costo de adquisición de los equipos.

Patógenos más comunes

Se han aislado más de 135 especies de microorganismos de infecciones intramamarias en el ganado lechero (Smith y Hogan, 1998). Aunque existen numerosas especies de bacterias, hongos, levaduras, micoplasmas y virus, los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus* continúan siendo responsables de más

del 90 % de las infecciones intramamarias (Bradley, 2002). Se estima que entre el 80 y 90 % de los casos de mastitis son ocasionados por la invasión de microorganismos patógenos específicos en los pezones y tejidos de la ubre, causando infecciones intramamarias. El resto de los casos resultan de traumas, con o sin invasión secundaria de microorganismos (Bramley y Dodd, 1984).

Los organismos causantes de la mastitis se clasifican como “contagiosos” o “ambientales” basado en el lugar más frecuente de exposición (Ruegg, 2004). Los patógenos contagiosos más comunes son *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* y *Mycoplasma bovis*, aunque cepas de *Staphylococcus uberis* también pueden ser transmitidas por la leche (Zadoks, 2003). La fuente principal de infecciones causadas por patógenos contagiosos son los cuartos infectados de otras vacas y la transmisión ocurre generalmente en el ordeño (Peeler et al., 2000). Las gotas de leche remanentes en las unidades de ordeño, toallas o servilletas compartidas o las manos de los ordeñadores, son las fuentes más comunes de exposición a los patógenos contagiosos (Ruegg, 2004). La mayoría de las cepas de *S. aureus* y *S. agalactiae* son altamente adaptadas al huésped, producen mastitis subclínica y ocasionalmente causan episodios agudos de mastitis clínica (Hallberg et al., 1994; Barkema et al., 1998).

Barkema et al. (1999) encontraron que *S. aureus* fue el patógeno más frecuentemente aislado en casos de mastitis clínica. Jayarao et al. (2004) reportaron una asociación significativa entre la frecuencia de casos positivos de *S. aureus* y *S. agalactiae* y altos RCS en muestras de leche de tanque. La presencia

de *S. aureus* en muestras de tanque podría ser el resultado de las mismas prácticas inadecuadas responsables por las infecciones con *S. agalactiae* (CNM, 1999). La detección de estos patógenos, frecuentemente, indica cuartos infectados en el hato (CNM, 1999).

La mastitis causada por *S. aureus* produce daños al tejido mamario y disminución de la producción de leche, con pérdidas de hasta 15 % por vaca infectada. Esta leche y las ubres afectadas constituyen la principal fuente de este patógeno. Mastitis causada por *S. aureus* afecta los tejidos que recubren las cisternas del pezón, luego migran al sistema de conductos y forman cicatrices en los tejidos secretores, que resultan en sacos de infección encerrados en la ubre, que son difíciles de alcanzar por los antibióticos intramamarios (CNM, 2000).

Los casos de mastitis causada por *S. agalactiae* se caracterizan por una infección inicial de las cisternas y el sistema de conductos de la glándula mamaria, produciendo irritación e inflamación subclínica de la misma. La acumulación de desechos bacterianos causa una respuesta inflamatoria mayor, produciendo daños al tejido secretor. Las extensas cicatrices producidas pueden afectar la producción de leche en las lactancias subsecuentes (CNM, 1997).

Entre los patógenos ambientales causantes de la mastitis están las bacterias coliformes como *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp. y *Streptococcus* ambientales como *S. uberis* y *S. dysgalactiae* (Peeler et al., 2000). Los patógenos ambientales se adquieren principalmente mediante el contacto con el estiércol, agua, suelo y camada contaminados (Smith y Hogan, 1993; Zadoks, 2003). Este tipo de mastitis

es normalmente de corta duración y menos del 15 % de los animales afectados desarrollan infecciones crónicas o subclínicas (Ruegg, 2004). Sin embargo, las infecciones causadas por *Streptococcus* ambientales pueden resultar en infecciones subclínicas con episodios clínicos periódicos.

La incidencia de mastitis ambiental tiende a aumentar cuando la incidencia de mastitis contagiosa disminuye debido a las prácticas realizadas para el control de ésta última (Guterbock et al., 1993). Según Guterbock et al. (1993), hatos con valores de RCS menores de 150,000 células/ml tuvieron mayor incidencia de mastitis clínica que hatos con altos RCS. En estos últimos, la mayoría de los casos de mastitis clínica fueron causados por patógenos ambientales, principalmente coliformes, *Streptococcus* ambientales y otros patógenos menores. Estas infecciones frecuentemente son de corta duración (menos de 8 días) y muy pocas llegan a convertirse en crónicas (Hogan y Smith, 1997).

Las especies de *Staphylococcus* coagulasa negativa (SCN) históricamente se han conocido como patógenos de la ubre menores o secundarios (Smith y Hogan, 1995). Estos microorganismos generalmente causan inflamaciones ligeras con moderados incrementos en los RCS, pero si la vaca alcanza a tener mastitis clínica, los RCS pueden aumentar hasta millones (Sears y McCarthy, 2003). Varios investigadores (Devriese y De Keyser, 1980; Jayarao et al., 2004) han encontrado que SCN es el tipo de organismo más frecuentemente aislado en muestras de leche. Las infecciones causadas por SCN son más frecuentes en hatos que implementan prácticas de manejo para el control de los patógenos mayores como

S. aureus y *Str. agalactiae* (Smith y Hogan, 2001). La alta frecuencia de estas bacterias en muestras de leche podría deberse al hecho de que son patógenos oportunistas y forman parte de la flora bacteriana que reside en la piel del pezón. Cuando se les provee un ambiente favorable para que colonicen la parte inferior del pezón o el canal del pezón, estos microorganismos se multiplican, entran a la glándula y producen mastitis (Sears y McCarthy, 2003), al igual que pueden influenciar los RB en muestras de leche (Zehner et al., 1986).

Variación del contenido de células somáticas en la leche

Generalmente los RCS aumentan con la edad del animal y la etapa de la lactancia (Harmon, 1994; Valde et al., 2004). Sheldrake et al. (1983), confirmaron que la leche de cuartos no infectados exhibe aumentos en los RCS según aumenta el número de lactancias. Estos investigadores también demostraron que los RCS de leche de cuartos no infectados aumentaron de 83,000 a los 35 días post parto a 160,000 a los 285 días. En cambio, los RCS de leche en cuartos infectados con *S. aureus* aumentaron de 234,000 a 1,000,000 células/ml en el mismo período. Todos los cuartos, sin importar el estado de infección, presentaron RCS elevados inmediatamente después del parto, pero los cuartos sin infecciones o con infecciones causadas por patógenos menores mostraron una disminución rápida en los RCS en o antes de 35 días después del parto. Los RCS en vacas no infectadas deberían ser menores de 300,000 células/ml a los 5 días luego del parto (Reneau, 1986). La privación de alimento y agua a las vacas ocasiona disminuciones

dramáticas en la producción de leche y aumentos proporcionales en los RCS (Reneau, 1986). Algunos investigadores (Reneau, 1986; Emanuelson y Funke, 1991) han sugerido que el modesto aumento en RCS de cuartos no infectados al final de la lactancia es un efecto de la menor dilución.

Varios investigadores (Dohoo y Meek, 1982; Allore et al., 1997; Whitaker et al., 2004; Olde et al., 2007) han encontrado variaciones del contenido de células somáticas asociadas con los meses y estaciones del año. En climas templados, los RCS son generalmente menores en el invierno y mayores durante el verano (Dohoo y Meek, 1982), lo cual coincide con el aumento en la incidencia de mastitis clínica durante los meses de verano (Hogan et al., 1989; Olde et al., 2007). La infección con patógenos ambientales fue mayor durante el verano y coincidió con la mayor presencia de coliformes en la camada (Hogan et al., 1989). Hogan y Smith (1997) sugieren que el estrés causado por alta temperatura y humedad ambiental podría aumentar la susceptibilidad a infecciones así como el número de patógenos a los cuales se expone la vaca. Estas conclusiones sostienen el concepto que el estrés causado por las altas temperaturas no es la causa del aumento en los RCS, sino que es el resultado de una mayor exposición de la ubre a patógenos, resultando en aumentos en la tasa de nuevas infecciones y casos clínicos durante los meses de verano.

Otros factores, tales como el tipo de organismo presente (Ruegg, 2004) influencias genéticas (Shook y Schutz, 1994; Koivula et al., 2005), estrés de la vaca, traumas y tiempo transcurrido desde la toma hasta el análisis de la muestra

(Dohoo y Meek, 1982) también pueden afectar los RCS en la leche. Sin embargo, Harmon (1994) indica que la influencia de estos factores no es tan importante como para afectar seriamente la interpretación de los resultados de pruebas para la detección de mastitis, que utilizan como criterio los RCS.

Efectos del estrés calórico sobre la producción de leche

El ganado de la raza Holstein, que predomina en los hatos lecheros de PR, se originó en países de clima templado con temperaturas que no exceden 20° C la mayor parte del año. Las altas temperaturas, radiación solar y humedad relativa características del área tropical, con frecuencia sobrepasan la capacidad de los mecanismos homeostáticos del ganado lechero para la disipación del calor corporal, causando una condición de estrés hipertérmico el cual afecta los procesos fisiológicos y altera la homeostasis de los animales. Esto se refleja en disminuciones en consumo voluntario de alimento, en la producción de leche y en la eficiencia reproductiva (West et al., 2003). El mayor problema para las vacas altas productoras en climas cálidos es disipar el calor recibido por la alta radiación solar y el calor generado internamente por los procesos metabólicos, el cual aumenta con la producción de leche (West, 2003). Al aumentar las temperaturas ambientales el ganado lechero utiliza mecanismos evaporativos de enfriamiento, como el jadeo y la transpiración, para reducir el calor corporal. La isla de Puerto Rico, al estar ubicada en zona tropical, exhibe una alta humedad relativa (60 a 90 %) que dificulta la disipación del calor a través de los mecanismos de enfriamiento

evaporativo (jadeo y transpiración) aumentando aún más el estrés térmico (West, 2003).

Varios estudios (Berman et al., 1985; West et al., 2003) han evaluado el efecto del estrés térmico sobre la producción de leche en el ganado lechero. Berman et al. (1985) al utilizar vacas altas productoras en un clima subtropical, encontraron que la temperatura crítica para el ganado lechero era de 25 a 26° C. Cummins (1992) reportó que la producción de leche y el consumo de materia seca disminuyeron linealmente al aumentar la temperatura ambiental de 10 a 28 °C. West et al. (2003) reportaron una disminución en el consumo de materia seca y la producción de leche en vacas Holstein con temperatura rectal superior a 39 °C. Bianca (1965) determinó que a una temperatura ambiental de 29° C y una humedad relativa de 40%, la producción de leche de vacas Holstein era de 97 % de lo normal, pero cuando la humedad relativa aumentó a 90 %, la producción de leche disminuyó a 69% del nivel normal.

Efectos negativos de altos RCS

La asociación negativa que existe entre la producción de leche y los RCS en el ganado lechero se utiliza como justificación para estimar las pérdidas en producción debido a la mastitis, y para tomar decisiones de manejo relacionadas a la prevención y control de mastitis en los hatos (Bartlett et al, 1990; De Vliegher et al., 2005). Jones (1986) estimó reducciones en la producción de leche de 8 a 12% en hatos con RCS de 600,000 a 1 millón de células/ml, comparados con aquellos

cuyos recuentos promedio fueron de 200,000 células/ml o menos. Raubertas y Shook (1982) informaron reducciones en la producción de leche asociadas con un aumento de una unidad logarítmica natural de los RCS de 135 y 270 kg. anuales de leche para la primera y segunda lactancia, respectivamente. La pérdida en producción de leche por unidad logarítmica natural de los RCS fue mayor a recuentos bajos que a recuentos altos de células somáticas (Raubertas y Shook, 1982).

Varios estudios (Klei et al., 1998; Cerón et al., 2002; Barbano et al., 2006) han evaluado la relación entre los RCS y los componentes de la leche. Dichos componentes pueden ser afectados por el nivel de producción, estado de la lactancia, estación del año, presencia de mastitis y edad de la vaca (Strokes et al., 2001). Cerón et al., (2002) y Barbano et al., (2006) encontraron correlaciones negativas entre el promedio de los RCS durante la lactancia y la producción total de leche. Welper y Freeman (1992) obtuvieron correlaciones fenotípicas entre los RLCS y producción de leche, grasa, proteína y lactosa, que variaron desde -0.04 a -0.08.

La mastitis o los RCS elevados están asociados a una disminución en los contenidos de lactosa, α -lactoalbúmina y grasa, la cual podría ser atribuida a la reducción de la capacidad de síntesis del tejido mamario (Harmon, 1994). Estos componentes pueden filtrarse fuera de los alvéolos y se han medido en la orina o la sangre de vacas con mastitis (Harmon, 1994). Aunque el contenido total de proteína no sufre cambios significativos, la proporción de las diferentes fracciones

que componen las proteínas de la leche pueden afectarse dramáticamente (Harmon, 1994).

Otros estudios (Kitchen, 1981; Ng Kwai Hang y Hayes, 1982; Suriyasathaporn et al., 2000; Ceron et al., 2002) han reportado correlaciones positivas entre los RCS y varios componentes de la leche. Cerón et al. (2002) encontraron aumentos en los porcentajes de grasa, proteína y sólidos totales según aumentaron los RLSC de la leche de pesajes individuales. Suriyasathaporn et al. (2000) informaron una correlación negativa ($P < 0.05$) entre los RCS y la producción de leche y una correlación positiva entre los RCS y los porcentajes de grasa y proteína. Este aumento en los porcentajes de proteína y grasa según aumentan los RCS de vacas individuales, puede deberse al efecto de menor dilución en un volumen reducido de leche. Según aumenta la producción de leche los porcentajes de grasa y proteína en la composición total tienden a disminuir (Strokes et al., 2001).

Varios estudios (Klei et al., 1998; Barbano et al., 2006) han señalado efectos negativos de los altos RCS en la leche de manufactura sobre la producción y calidad de productos lácteos y reducción en la calidad sensorial y largo de vida útil de los mismos (Ma et al., 2000). Entre los efectos adversos al usar leche con altos RCS para la fabricación de quesos se incluyen, reducción de firmeza de la cuajada (Politis y Ng Kwai Hang, 1988), disminución en el rendimiento del queso (Klei et al., 1998), aumento en la pérdida de grasa y caseína en el suero y una menor calidad sensorial (Barbano et al., 2006). La leche cruda con altos RCS resultó en mayor

proteólisis y lipólisis que leche con bajos RCS (Barbano et al., 2006). Este efecto se refleja también en reducciones en la vida útil de la leche ya pasteurizada (Santos et al., 2003). Durante el almacenaje refrigerado post-pasteurización, los ácidos grasos libres aumentaron su concentración y la hidrólisis de caseína fue significativamente mayor en la leche con RCS altos que con RCS bajos (Ma et al., 2000). La calidad organoléptica de la leche pasteurizada con RCS bajos permaneció alta, aún luego de 21 días de almacenamiento refrigerado. La leche con altos RCS mostró más defectos sensoriales (sabor amargo y rancidez) que la leche con RCS más bajos (Ma et al., 2000).

Evaluación del impacto de la propuesta del CNM sobre los productores de leche fresca en Puerto Rico

El reglamento sanitario local ha establecido la misma reglamentación de calidad de los Estados Unidos para la clasificación de leche grado A en la isla. El límite actual permitido para los productores de leche fresca grado A en muestras de tanque es de 750,000 células/ml y 100,000 cfu/ml, respectivamente. Los ganaderos o los abastos de leche que no cumplan con estos límites podrían ser excluidos de la clasificación de leche grado A y, por ende, de la oportunidad para participar en el mercadeo interestatal de leche (US Dep. Health and Human Services, 1997). Mundialmente, Estados Unidos es el país que mantiene los estándares regulatorios más lenientes, lo cual lo coloca en desventaja en el mercado internacional de productos lácteos (Norman et al., 2000). Entre los principales exportadores de

productos lácteos se hallan Canadá y la Comunidad Europea, que han impuesto límites regulatorios de RCS de 500,000 y 400,000 células/ml, respectivamente.

El CNM (Norman et al., 2000) propuso reducir escalonadamente los límites permisibles de los RCS, durante un periodo de 4 años, desde 750,000 a 600,000, 500,000 y finalmente 400,000 células/ml. Para entrar en vigencia, este cambio tendría que ser aceptado por la Conferencia Interestatal de Mercaderes de Leche y por la Administración Federal de Drogas y Alimentos, lo cual ya esta siendo evaluado en Puerto Rico, junto con una reducción inicial en los RB de 100,000 a 75,000 cfu/ml.

Varios investigadores han evaluado el posible impacto de la propuesta del CNM sobre los productores de leche en el abasto de leche de los Estados Unidos (Norman et al., 2000; Adkinson et al., 2001). Norman et al. (2000) analizaron datos de pesajes individuales del programa PRDHIA (n=934) y encontraron que el 12.3, 24.3, 38.9 y 55.5 % de los pesajes realizados en Puerto Rico excedieron los RCS de 750,000, 600,00, 500,000 y 400,000 células/ml, respectivamente. Si los porcentajes basados en los datos analizados procedentes del PRDHIA son representativos de los RCS determinados en muestras de tanque, la propuesta del CNM podría afectar un gran número de productores de leche, especialmente aquellos cuyos promedios de RCS fueron mayores (Norman et al., 2000).

Variaciones en los RCS de muestras de leche de hatos acogidos o no acogidos al programa DHIA

Durante décadas se ha usado el análisis de los RCS de muestras de leche

para evaluar la salud de la ubre así como la calidad de la leche (Godden et al., 2002). Esta herramienta ha sido utilizada extensamente por veterinarios, productores de productos lácteos, plantas procesadoras de leche y agencias fiscalizadoras. Los RCS de muestras de tanque proveen una estimación del grado de infección presente en el hato (Godden et al., 2002). La mayoría de los informes de RCS de muestras de tanque que actualmente reciben los productores de leche son determinados por las plantas elaboradoras y agencias regulatorias, según los requerimientos de la ordenanza de leche pasteurizada. Mientras que los RCS de muestras de tanque sirven para indicar la salud general del hato, estos resultados no pueden ser utilizados para identificar las vacas causantes de los altos RCS.

En Puerto Rico existen laboratorios privados cuyos servicios incluyen estimaciones de los RCS en muestras de leche así como la identificación de patógenos y pruebas para detectar residuos de antibióticos, entre otros. Los ganaderos utilizan estos servicios frecuentemente para tratar los animales diagnosticados previamente con mastitis, ya sea por los registros de RCS del programa DHIA, la CMT o por examinación visual, en casos de mastitis clínica.

El programa más utilizado en Puerto Rico para estimar los RCS de leche de vacas individuales es el PRDHIA. Este programa analiza los RCS en muestras de leche de vacas individuales a intervalos mensuales. Este programa ofrece a los ganaderos participantes una herramienta útil para evaluar la efectividad de su programa de control de mastitis. Es de esperarse que los RCS de hatos acogidos al programa DHIA sean menores que los RCS de los hatos no acogidos, debido a que

el programa facilita un manejo promedio superior. La participación de los hatos en el programa DHIA se asoció con mayor eficiencia en producción y rentabilidad en un estudio por Spain y Witherspoon (1994). Por lo tanto, se infiere que en promedio los RCS de hatos acogidas al programa DHIA igualmente deberían ser menores que los RCS de hatos no acogidos.

Asociación de los RCS con varias prácticas de manejo y patógenos más comunes

La mastitis se conoce como una enfermedad multifactorial que puede ser afectada por diferentes prácticas de manejo (Rodrigues et al., 2005). La predisposición a ésta involucra la interacción del agente causativo (bacteria), el huésped (vaca) y el ambiente. Varios estudios (Hutton et al., 1991; Wilson et al., 1997; Barkema et al., 1998; Barkema et al., 1999; Peeler et al., 2000; Barnouin et al., 2005) han demostrado la asociación de varias prácticas de manejo con la incidencia de mastitis y su relación con la exposición a patógenos. Barkema et al. (1998) estudiaron las prácticas de manejo asociadas con los RCS en muestras de tanque en 274 hatos lecheros agrupados en tres categorías según sus niveles de células somáticas y encontraron que las prácticas de manejo evaluadas explicaron la variación en las diferencias de los RCS de tanque entre las categorías. Barkema et al., (1998) observaron que las prácticas de manejo que más afectaron la variación en los RCS entre hatos de diferentes niveles de células somáticas, incluyeron la desinfección de los pezones luego del ordeño con un sellador, la duración del tratamiento de casos clínicos de mastitis y el secado de los pezones

antes de colocar la unidad de ordeño. En otro estudio relacionado, Khaita et al. (1998) notaron que los hatos que no aplicaban tratamientos con antibióticos a vacas con mastitis y no realizaban terapias selectivas de vacas horras, tenían una mayor incidencia de mastitis.

Estudios previos han establecido una relación entre la eficiencia de manejo y el tamaño del hato (Barkema et al., 1998; Oleggini et al., 2001). Los hatos con un número mayor de vacas tienden a tener niveles mayores de producción total, lo que resulta en una reducción en el costo por unidad de leche producida, principalmente como resultado de la distribución de los costos fijos en un mayor volumen de producción (Bailey et al., 1997). Los niveles de producción en los hatos se asocian con algunos factores de manejo (Van Horn y Wilcox, 1992). Cuando el tamaño del hato y la especialización aumentan, se torna vital mejorar la eficiencia para la permanencia de una empresa agrícola (Pelissier, 1968). Oleggini et al. (2001) analizaron datos del programa DHIA y encontraron que los hatos en la región sur de Estados Unidos, en la categoría de 20 a 49 vacas, tuvieron un RCS promedio significativamente mayor que los hatos que en la categoría de ≥ 450 vacas (543,690 vs. 285,520 células/ml). Esto podría deberse a la eficiencia en los sistemas de manejo de alta tecnología característicos de hatos de alta producción total (Oleggini et al., 2001).

En varios estudios se ha evaluado los efectos del número de personas que trabajan en el hato con los RCS de la leche producida (Barkema et al., 1998; Barnouin et al., 2005). Estos últimos determinaron que entre las prácticas

características de hatos con baja incidencia de casos clínicos de mastitis, se hallaba la de tener a más de 2 personas por año asignadas a las tareas de manejo del hato. Una reducción en el número de empleados puede afectar la precisión y el desempeño de las prácticas de manejo para el control de mastitis durante el ordeño (Barkema et al., 1998). Entre los medios para maximizar la eficiencia en producción de los hatos, se destaca el de ordeñar más vacas por empleado. En la operación del ordeño podría traer como consecuencia, una reducción en el número de tareas realizadas por obrero, en el tiempo dedicado por tarea o, en algunos, ambas cosas. Entre las prácticas que pueden afectarse debido al número de obreros asignados al ordeño y que, a su vez, pudieran influenciar los RCS en la leche están, la preparación adecuada de la ubre antes del ordeño, la vigilancia para evitar el deslizamiento de pezoneras o el sobre ordeño y la aplicación adecuada del sellador de pezones (Barkema et al., 1998).

El uso del sellador de pezones es la práctica individual más efectiva para reducir la mastitis, especialmente la de tipo contagioso (Jones, 1998). El sellador de pezones crea una barrera física de un compuesto de polímeros en la que la actividad germicida protege los pezones durante el ordeño y entre ordeños (Foret et al., 2006). Esta barrera está diseñada para reducir la exposición a bacterias ambientales, así como la diseminación de infecciones causadas por bacterias contagiosas (Foret et al., 2006). La aplicación efectiva del sellador de pezones debería eliminar los microorganismos presentes en el pezón, previniendo que los mismos colonicen la punta del pezón o lesiones en éste, conducentes al

establecimiento de una infección (Jones, 1998). En adición, el sellador protege el pezón luego del ordeño, ya que provee una continua acción germicida de amplio espectro mientras permanece húmedo en la superficie del pezón (Oliver et al., 1989). La aplicación por rociado del sellador de pezones es preferida por algunos operadores debido a su conveniencia en el uso y para evitar que el sellador se contamine con la leche. Aunque teóricamente es posible cubrir completamente el pezón con el sellador utilizando un rociador, en la rutina normal de ordeño esta práctica no es eficiente (Ruegg et al., 2000), por lo que se recomienda la aplicación por inmersión. Barkema et al. (1998) encontraron que esta práctica fue realizada más frecuentemente en hatos pertenecientes a las categorías de RCS bajos que en hatos en las categorías de RCS medianos y altos.

Aunque la infusión intramamaria curativa es recomendada para controlar la mastitis, esta práctica podría introducir organismos en la ubre si no se preparan los pezones adecuadamente (Leslie, 1999). Pueden darse casos en que las infecciones con microorganismos oportunistas así introducidos causen daños más extensos que la del patógeno original objeto de la infusión curativa (Leslie, 1999). Se ha investigado el efecto de esta práctica sobre los RCS (Hutton et al., 1990; Barnouin et al., 2004). Barnouin et al. (2004) evaluaron las prácticas de manejo características de hatos con RCS bajos ($n=326$, promedio 125,000 células/ml) vs. hatos con RCS medios ($n=208$, promedio de RCS de 270,000 células/ml) y encontraron un mayor porcentaje de hatos en la categoría de RCS bajos que realizaban la práctica en cuestión (21.2 vs. 13.9). Leslie et al. (1992) reportaron

que la desinfección del pezón con alcohol antes de aplicar la terapia antimicrobial de la vaca horra, resultó protectorio contra las infecciones causadas por *Nocardia*, cuando los pezones fueron contaminados experimentalmente con esta bacteria.

Promover el mayor consumo de alimento por el ganado lechero en producción es crítico en términos de mejorar la producción de leche y la salud y condición corporal de los animales (Grant y Albright, 1995). Varios estudios han evaluado el efecto relativo de proveer alimento al ganado lechero en diferentes momentos luego del ordeño en relación a los RCS (Tyler et al., 1997; DeVries y von Keyserlingk, 2005). DeVries y von Keyserlingk, (2005) observaron que ofrecer alimento fresco cuando el ganado regresa del ordeño estimula a las vacas a permanecer paradas, aumentando así el intervalo de tiempo desde que salen de la sala de ordeño hasta que se acuestan en el suelo. Por su parte, Tyler et al. (1997) encontraron que vacas que tuvieron acceso a alimento luego del ordeño permanecieron paradas 48 minutos comparados con 21 minutos en el caso contrario. Al retrasar el momento en que las vacas se acuestan después del ordeño, reduce el riesgo potencial de contraer mastitis ya que provee más tiempo al esfínter del pezón para cerrarse antes de tener posible contacto con los microorganismos patogénicos en el suelo (Tyler et al., 1997).

La eficaz higiene pre ordeño depende de una serie de factores, tales como la limpieza y secado de los pezones, el material utilizado para secar los pezones y el tipo y concentración del “pre dip” (Galton et al., 1986). La calidad de la leche y la salud de la ubre, pueden ser afectadas por estas prácticas pre ordeño (Galton et

al., 1988). La limpieza, secado y desinfección adecuada de los pezones inmediatamente antes del ordeño reduce los RB, así como la presencia de bacterias coliformes y especies de *Staphylococcus* y también los sedimentos en la leche (Pankey et al., 1987). El proceso de desinfección de los pezones incluye el lavado de los mismos con agua y desinfectante, luego el secado usando servilleta o toalla individual y la aplicación de un “pre dip” por inmersión o rociado. Se requieren 30 segundos de contacto para reducir la población de microorganismos en la piel del pezón antes de remover el “pre dip”.

La aplicación por rociado es preferida por muchos ordeñadores, debido a que es más conveniente y evita que el “pre dip” se contamine con bacterias en la leche o materia orgánica proveniente de ubres sucias. Sin embargo, Jayarao et al. (2004) observaron que los hatos que aplicaban el “pre dip” por inmersión en vez de rociado tuvieron RCS significativamente menores (306,940 vs. 396,600, $P < .05$). La aplicación efectiva del “pre dip” se logra cuando toda el área que tiene contacto con la máquina de ordeño se cubre con éste. La aplicación del “pre dip” por rociado tiene menos probabilidad de alcanzar la cobertura máxima de la piel de la punta del pezón, comparado con la aplicación por inmersión (CNM, 1996). La cobertura incompleta de la piel del pezón podría resultar en áreas donde las bacterias podrían sobrevivir y crecer entre los ordeños, resultando en infecciones intramamarias (CNM, 1996; Edmondson, 2002). La contaminación de los pezones entre ordeños ocurre mediante el contacto con las camas, suelo, agua y estiércol (Pankey et al., 1987). El uso del “pre dip” es más efectivo en el control de

patógenos ambientales tales como *E. coli* y *Streptococcus* ambientales pero ha demostrado tener efectividad limitada contra SCN (Ruegg y Dohoo. 1997; Pankey et al., 1987).

La práctica más importante de la rutina de higienización de la ubre antes del ordeño es el secado adecuado de los pezones (Ingawa et al., 1991; Ruegg, 2004). Los pezones mojados facilitan el acceso de las bacterias presentes en la piel hacia el interior de la ubre, a la misma vez que reduce la fricción entre el pezón y la pezonera, causando una mayor frecuencia de deslizamiento de las pezoneras (Ruegg, 2004). McKinnon et al. (1988) evaluaron muestras de leche de vacas libres de mastitis y encontraron en vacas a las cuales no se lavaban los pezones antes del ordeño un RB promedio de 7,000 cfu/ml comparado con 1,500 cfu/ml en vacas a las cuales se aplicó desinfectante y se secaron los pezones.

Otras prácticas de manejo que se han identificado como características de los hatos con RCS bajos incluyen la terapia aplicada a vacas secas, ordeño las vacas mastíticas últimas, la suplementación de la dieta con vitamina E y selenio, el uso de guantes de goma, el despunte de los pezones antes del ordeño, la higiene de los ranchos de cubículos y el descarte de vacas con mastitis clínica (Peeler et al., 2000).

Efecto del equipo de ordeño sobre los RCS

El diseño y funcionamiento del equipo de ordeño es crítico para lograr un ordeño rápido y eficiente sin causar daño a los pezones y disminuir el riesgo de transmitir microorganismos patogénicos causantes de mastitis. Entre las

características de la máquina de ordeño que podrían afectar el desarrollo de nuevas infecciones están el nivel de vacío (CNM, 1996), ciclo de pulsación, condición de las pezoneras (Bray et al., 1998) y altura, declive y diámetro de la tubería de leche (Hogeveen et al., 1995; Bray et al., 1998), entre otros.

La tasa de pulsación se refiere al número de ciclos completados por un pulsador en 1 minuto, estableciéndose de forma general, un rango de 45 a 60 ciclos por minuto (CNM, 1995). Un ciclo de pulsación de 60:40 indica que en cada ciclo de pulsación, la pezonera está ordeñando el 60% del tiempo y en descanso el 40 % del tiempo (Philpot y Nickerson, 1991). La función de los pulsadores es mantener las fases de ordeño y descanso en intervalos regulares al alternar la presión atmosférica y presión de vacío entre la cámara de pulsación y la pezonera de goma, de modo tal, que no interfiera con el flujo de sangre en el pezón. Un desajuste de la fase de pulsación pudiera ocasionar un ordeño inadecuado y daños a la punta del pezón (Bray et al., 1998). Una de las formas más comunes de daño al pezón es la hiperqueratosis de la punta del pezón. La queratina impide físicamente el movimiento de las bacterias, atrapándolas en las múltiples fisuras dentro del canal del pezón. Los componentes proteicos y lípidos presentes actúan como defensa bactericida. La capa de queratina del pezón está en un estado dinámico de generación y degradación (Capuco et al., 1994). Una porción de la capa de la queratina se pierde con cada ordeño y es regenerada entre ordeños. Este proceso normal de pérdida de queratina pudiera acentuarse más por el abrir y

cerrar incoordinando del canal del pezón durante el ciclo inadecuado de pulsación en el ordeño (Capuco et al., 1994).

La máquina de ordeño generalmente aplica entre 4.92 a 5.91 centímetros de Hg de vacío a la parte exterior del pezón. Este vacío es necesario para abrir el músculo del esfínter y poder remover la leche de la ubre. Reducciones abruptas en la presión de vacío de la línea de leche pueden causar aumentos en la tasa de infección de mastitis (Jones, 1998). Fluctuaciones de vacío en el colector de leche pueden ocasionar el movimiento de gotas de leche entre las distintas cámaras de pulsación (Jones, 1998). Al ordeñar una vaca que tiene uno o más cuartos infectados, el proceso descrito puede ocasionar que las bacterias provenientes de la leche de estos cuartos, contaminen los pezones sanos de los demás cuartos.

El deslizamiento de la unidad de ordeño es un evento importante en la generación de fluctuaciones de vacío. Ocurre frecuentemente al ordeñar pezones mojados y cuando no hay un nivel de vacío suficiente o hay obstrucciones en la línea de vacío. También, la superficie de la pezonera de goma contaminada con la leche proveniente de cuartos infectados, puede impartir bacterias patogénicas a la próxima vaca que se ordeña con la misma pezonera, si ésta no se desinfecta adecuadamente.

El diámetro de la tubería de leche puede afectar la capacidad de flujo de leche (Hogeveen et al., 1995). Dicha capacidad, depende de la remoción de la leche en el colector y del espacio entre la pezonera de goma y el casco exterior. Cuando el diámetro de la tubería de leche es limitado, se produce inundación de la

línea, lo cual ocasiona fluctuaciones de vacío a nivel del pezón, causando que éstos se laven con la leche. Esto, a su vez, aumenta la incidencia de deslizamiento de las pezoneras lo cual interfiere con la presión vacío (Hogeveen et al., 1995). El deslizamiento de las pezoneras es uno de los factores relacionados con el equipo de ordeño que más contribuye a aumentar la tasa de infecciones intramamarias (Philpot y Nickerson, 1991).

Otros aspectos importantes que influyen en el correcto funcionamiento del equipo de ordeño y su relación con la incidencia de mastitis, son el tipo y estado de las pezoneras (Bray et al., 1998). Éstas son las estructuras que más directamente se encuentran en contacto con el pezón en el momento del ordeño. Por lo tanto, deben cambiarse cuando sufren desgaste, ensanchamiento o se tornan agrietadas y porosas, ya que pueden constituir una fuente importante de agentes patogénicos. La incidencia de problemas de edemas y congestión de los pezones se puede reducir utilizando el tipo de pezonera adecuado, a saber: pezoneras de diámetro reducido con boquillas blandas (Philpot y Nickerson, 1991).

Asociación entre patógenos causantes de mastitis y los RB

La contaminación bacteriana puede originarse de múltiples fuentes, tales como vacas con mastitis, suciedad exterior y equipo contaminado que tenga contacto con la leche (Hogan et al., 1989). Igualmente, las bacterias crecen y se multiplican en el tanque de almacenamiento, especialmente si la temperatura de la leche es mayor a la recomendada y el tiempo de almacenamiento es prolongado.

Estos factores pueden influenciar los RB y los tipos de bacterias presentes en la leche del tanque de enfriamiento. Bacterias del género *Campylobacter*, cepas enterohemorrágicas de *E. coli*, *Salmonella*, y *Yersinia* influyen directamente los RB y han estado implicados con brotes de enfermedades en los consumidores humanos (Steele et al., 1997). Frecuentemente se evalúan los RB de muestras de leche del tanque de almacenamiento para determinar el estatus de salud general del hato, sanidad de las facilidades y la temperatura de almacenamiento (Berry et al., 2006).

En varios estudios se ha relacionado la mastitis clínica y subclínica con los RB (Schukken et al., 1992; Jayarao y Wolfgang, 2003; Zadoks et al., 2004; Rodrigues et al., 2005; Berry et al., 2006). Las ubres sanas contribuyen muy poco a los RB, mientras que las ubres mastíticas tienen el potencial de aportar grandes cantidades de microorganismos al tanque de enfriamiento. Aumentos en los RCS en muestras de leche frecuentemente sirven como evidencia de apoyo de que las bacterias causantes de mastitis afectan los RB. La relación existente entre los RCS sobre los RB en la leche del tanque de enfriamiento depende de la cepa del microorganismo infeccioso, el estado de infección de la vaca y el porcentaje de vacas infectadas en el hato (Murphy y Boor, 2000). Organismos ambientales mastíticos, incluyendo bacterias coliformes, especies de *Streptococcus* y ciertas especies de SCN, tuvieron correlaciones bajas con los RCS (Murphy y Boor, 2000). Estos organismos, por naturaleza, se asocian con el ambiente de la vaca y pueden influenciar los RCS de otras maneras indirectas (Zehner et al., 1986). Los

organismos causantes de mastitis que más influyen los RB de tanque son especies de *Streptococcus*, más notablemente *S. agalactiae* y *S. uberis* (González et al., 1986). Otros patógenos causantes de mastitis también pueden influenciar los RB, pero *S. aureus* no se considera uno de los principales causantes (González et al., 1986). Las vacas infectadas con *S. aureus* normalmente no liberan grandes cantidades de bacterias hacia la leche, como ocurre con *S. agalactiae*, por lo que es poco probable que *S. aureus* afecte significativamente los RB. Muestras de tanque de hatos infectados con *S. agalactiae* frecuentemente presentan RB de 20,000 a 100,000 cfu/ml (Hogan y Smith, 1992).

MATERIALES Y MÉTODOS

Origen de los datos y variables utilizadas

Los datos utilizados para este estudio fueron obtenidos del PRDHIA. La producción mensual de leche por vaca se estimó mediante el uso de pesadoras de leche “true test” fabricadas por la compañía “Surge”, las cuales permiten también la toma de muestras de leche. La toma de muestras de leche de vacas individuales se llevan a cabo mensualmente en uno de los dos ordeños diarios, alternado en mañanas y tardes. Las muestras se analizaron para determinar su contenido de células somáticas por un “Coulter Counter”, marca Coulter Electronics y el contenido de grasa y proteína mediante un equipo conocido como “Multispec M”, fabricado por Analytic Equipment. Las variables incluidas en el estudio fueron:

1. Hato	Cada uno de los hatos acogidos al PRDHIA
2. Células somáticas	Recuento lineal de células somáticas por vaca en cada pesaje
3. Producción diaria de leche	Producción diaria de leche por vaca en cada pesaje, expresada en kg
4. Producción total de leche	Producción total de leche por vaca por lactancia completa, expresada en kg
5. Leche en 305 días	Producción total de leche ajustada a una lactancia de 305 días o menos, expresada en kg
6. Pico de producción	Producción máxima diaria alcanzada por vaca durante la lactancia, expresada en kg

7. Porcentaje de proteína	Porcentaje de proteína en la leche producida el día de cada pesaje
8. Porcentaje de grasa	Porcentaje de grasa en la leche producida el día de cada pesaje
9. Días horro actual	Días transcurridos entre el final de la lactancia anterior y el comienzo de la lactancia durante el estudio
10. Días horro previo	Días transcurridos entre el final de la penúltima lactancia y el comienzo de la lactancia anterior durante el estudio
11. Días abiertos	Días transcurridos desde el momento del parto hasta que la vaca concibió nuevamente
12. Días en producción	Número de días en que la vaca estuvo en producción; equivale al largo de la lactancia
13. Número de lactancias	Número de lactancias que ha tenido la vaca durante su vida productiva

Producción de leche y RCS

Se analizaron los registros de producción de leche, estado reproductivo y RCS de los hatos acogidos al programa PRDHIA durante el período de mayo de 2004 a abril de 2005. La información de los RCS por día de prueba de cada hato es la misma que aparece en la Forma DHI-200 o 210 que reciben los ganaderos acogidos al PRDHIA. Estos datos se obtuvieron del Centro de Cómputos de la Universidad de Carolina del Norte donde se procesan los registros productivos de Puerto Rico. El contenido de células somáticas en la leche se expresó en la escala

lineal. Típicamente los RCS muestran una distribución sesgada debido al efecto que tienen los recuentos extremadamente altos sobre el promedio, la cual pueden ajustarse mediante su expresión en forma logarítmica (Raubertas y Shook, 1982; Shook y Bringe, 1987). La transformación logarítmica permite evaluar en forma más precisa la relación entre células somáticas y producción de leche.

Los datos originales contenían un total de 1,262,629 pesajes diarios de 136,497 lactancias pertenecientes a 54,724 vacas diferentes. Éstos se editaron eliminando aquellas variables que no estuvieran relacionadas con los índices reproductivos y producción de leche bajo estudio y también datos cuya fecha de pesaje fuera antes o después del periodo de interés o cuya producción diaria de leche excediera los 58.0 kg. o fuera menor de 2.3 kg. También se eliminaron los registros de vacas con más de 15 lactancias de la misma vaca, más de 300 días abiertos, más de 300 días en horro, con porcentajes de grasa mayores a 6.0 % o menores a 1.6 % y con porcentajes de proteína mayores a 7.0 % y menores a 1.7 %. El conjunto de datos así redefinido incluyó un total de 302,995 pesajes diarios de 60,106 lactancias correspondientes a 45,414 vacas diferentes. Durante el periodo evaluado el 45% de los hatos lecheros en Puerto Rico estaban acogidos al programa PRDHIA.

Correlaciones simples entre los RCS, producción de leche y otras variables analizadas

Para evaluar la correlación simple entre los RCS, producción de leche y

Otras variables incluidas, se usó el análisis de correlación PROC CORR (SAS, 2004).

Variación estacional de los RCS y producción de leche

Para evaluar la variación estacional de los RCS y la producción de leche por mes, se calcularon los promedios de producción de leche de pesajes individuales para cada mes y sus respectivos RLCS. Estos se agruparon por mes para evaluar sus patrones de variación a lo largo del año.

Variación estacional de producción de leche según los meses del año y escenarios de la propuesta del CNM

Se evaluó la variación estacional de producción de leche según los meses del año y los escenarios de la propuesta del CNM. Los RLCS se categorizaron en 5 escenarios dentro de cada mes y se calculó el total de pesajes de leche dentro de cada escenario. Los RCS en la forma logarítmica (RLCS) de los registros del PRDHIA se convirtieron a RCS utilizando la formula ($RCS = 2^{(RLCS-3)} (100,000)$). Los escenarios se categorizaron en mayores a 750,000, entre 600,000 y 750,000, entre 500,00 y 600,000, entre 400,000 y 500,000 y menores de 400,000, según propuesto por el CNM.

Evaluación del impacto de la propuesta del CNM sobre los productores de leche fresca en Puerto Rico

Para determinar el posible impacto de la propuesta del CNM sobre los

productores de leche fresca en Puerto Rico, se calcularon los promedios de producción de leche de pesajes individuales por vaca, agrupándolos según sus RCS por los escenarios propuestos por el CNM. Se calculó el total de leche producida correspondiente a cada escenario para determinar los porcentajes de leche total que representan.

Variaciones en los RCS de muestras de leche de hatos acogidos o no acogidos al PRDHIA

Se analizaron y compararon los registros de RCS en muestras de leche de tanque de hatos acogidos al programa PRDHIA versus hatos no acogidos al PRDHIA. Los resultados de las muestras durante el periodo de mayo de 2004 a abril de 2005 fueron recopilados por el personal de la industria lechera. En total, se obtuvieron los resultados de 8,833 muestras de leche de tanque con información de RCS para categorización. Estas fueron categorizadas en hatos acogidos o no al PRDHIA y se obtuvieron los estadísticos descriptivos de los RCS, según categoría (SAS, 2004).

Efecto de los RCS sobre el porcentaje de proteína y grasa

Para evaluar la posible relación entre los RCS y los porcentajes de proteína y grasa en las muestras de leche, se usó el análisis de correlación PROC CORR, entre estas variables (SAS, 2004).

Prácticas de manejo asociadas con los RCS, RB y patógenos más comunes

Se realizó un sorteo de los registros del PRDHIA para seleccionar 30 hatos

por categorías con RCS bajos, medianos y altos (bajos: <250,000 células/ml; medianos: 250,000 a 400,000 células/ml; altos: >400,000 células/ml) (Rodriguez et al., 2005). De los 90 hatos seleccionados, se analizaron 88 muestras de leche de tanque, para identificar la presencia de microorganismos causantes de mastitis y determinar los RB y RCS. Para identificar los microorganismos causantes de mastitis, se realizaron cultivos de leche en platos Petri con agar de sangre y .05 % esculina. La estimación de los RB se realizó mediante el método “standar plate count”. Estos procedimientos se realizaron según las especificaciones del *Standard Methods for the Examination of Dairy Products*, 16th ed. Los análisis, fueron realizados en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Industria Pecuaria de la Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, durante febrero y marzo de 2006. Se identificaron los patógenos coliformes, *S. aureus*, *S. agalactiae*, *Staphylococcus* coagulasa negativa, otros *Streptococcus* y hongos y levaduras en las muestras de leche.

Para evaluar las prácticas de manejo asociadas con los RCS, los RB y la presencia de patógenos más comunes, se preparó un cuestionario para evaluar estas prácticas en los hatos previamente seleccionados. El cuestionario (Apéndice 1) consistió de 49 preguntas, las cuales fueron evaluadas directamente con el ganadero por el personal del Servicio de Extensión Agrícola. De los 88 hatos seleccionados, se completaron 71 cuestionarios. Esta discrepancia se debió a hatos que cerraron y a la indisponibilidad de algunos ganaderos. Los resultados de

las contestaciones obtenidas con los cuestionarios se combinaron con los respectivos resultados de RB y RCS y la presencia de patógenos más comunes.

Asociación de hatos con RCS bajos, medios y altos, patógenos causantes de mastitis y prácticas de manejo en los hatos estudiados

Los RCS de muestras de tanque fueron categorizados según descritos anteriormente. Los hatos de diferentes tamaños fueron distribuidos en 4 categorías (<50, 50 a 99, 100 a 199 y 200 o más vacas). Se evaluó la relación entre las variables categóricas y las prácticas de manejo mediante el uso de la prueba de CHI-CUADRADA (SAS, 2004) y para evaluar la relación entre las variables continuas y las mismas prácticas se usó el análisis de correlación (SAS, 2004).

Asociación entre patógenos causantes de mastitis y RB bajos, medios y altos

Se establecieron categorías de RB para hatos bajos (<5,000cfu/ml), medios (5,000 a 10,000 cfu/m) y altos (>10,000 cfu/ml) (Wolfgang et al., 2001; Jayarao et al., 2004). Además, se determinó la asociación entre los patógenos en cuestión y los RB mediante el uso de la prueba de CHI- CUADRADA (SAS, 2004).

Correlaciones simples entre RCS, RB, tamaño del hato y número de obreros

Para relacionar los RCS y RB con el tamaño del hato y el número de obreros por hato se realizó un análisis de correlación (SAS, 2004). Para este análisis no se categorizaron los RCS ni el número de vacas por hato. La significancia estadística fue declarada a $P \leq 0.05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Producción de leche y RCS

El promedio de producción diaria de leche en lactancias de 305 días fue de 5,367.2 kg. (Cuadro 1). Este valor fue mayor a los reportados por Pantoja et al. (1996) y Camoens et al. (1976) en estudios anteriores con datos del programa DHIA (4,689 y 3,749 a 4,063 kg., respectivamente). Este leve aumento con el tiempo es un hecho reconocido y es indicativo de que los datos utilizados en este estudio son representativos de la población de vacas lecheras acogidas al DHIA en Puerto Rico. El promedio de producción diaria de leche por vaca fue de 17.2 kg., con una fluctuación entre límites de 2.3 a 58.1 kg. (Cuadro 1). Al comparar estos resultados con un estudio más reciente (Norman et al., 2000) realizado con datos del DHIA de Puerto Rico correspondientes a los años 1996 al 1997 se observa una diferencia más marcada en la producción promedio de leche (17.2 vs. 19.1 kg./día). Norman et al. (2000) utilizaron sólo los registros de producción provistos por el Centro de Cómputos que contenían la información requerida para evaluaciones genéticas, lo cual limita el número de observaciones que en su caso fue de sólo 935. Es conveniente hacer notar que, en Puerto Rico, la identificación del padre de los animales en registros del PRDHIA es deficiente. No se descarta que puedan haber ocurrido mejoras sustanciales en el manejo y producción de leche en la totalidad de los hatos en Puerto Rico durante los últimos 10 años. No obstante, los resúmenes que produce anualmente el PRDHIA no apoyan esta posibilidad.

El promedio del RLCS en pesajes individuales obtenidos en este estudio fue de 3.9 con una variación de 0.1 a 9.5. Estos valores fueron menores a los informados por Pantoja et al. (1996), cuyo promedio fue de 5.1 en los RLCS. Esta diferencia en el promedio de los RLCS pudiera adjudicarse al uso de mejores prácticas de manejo, control y prevención de mastitis, como resultado de la implantación de medidas más estrictas de fiscalización de la producción en el intervalo desde el mencionado estudio hasta el presente. Norman et al. (2000) reportaron un RLCS promedio de 5.3 utilizando datos del programa DHIA de hatos locales con las limitaciones ya señaladas. El limitado número de observaciones incluidas hace menos representativo este valor.

Cuadro 1. Características de producción de leche, estado reproductivo y RCS.

Variable	n¹	Promedio	±	Min.	Max
RLCS /día muestra	230092	3.9	2.0	0.1	9.5
Producción de leche/vaca/día (kg)	302995	17.2	7.0	2.3	58.1
Producción lactancia completa (kg) ²	296312	6156.8	1740.6	692.6	14653.6
Producción de leche 305 días (kg)	239750	5367.2	1745.3	25.0	12488.5
Pico producción (kg)	216541	25.4	7.3	2.7	58.1
Porcentaje de proteína	243904	3.1	0.4	1.7	4.0
Porcentaje de grasa	234225	3.1	0.9	1.6	6.0
Número de días horro actual	144194	101.8	66.9	16	300.0
Número de días horro anterior	160915	99.4	63.7	1.0	300.0
Número de días abiertos	169444	92.4	51.0	31.0	300.0
Número de días en ordeño	293032	331.2	112.0	5.0	600.0
Número de lactancias	60106	2.7	1.8	1.0	15.0

¹ n. Total de pesajes de leche.

² Producción lactancia completa (kg). Producción de leche en la lactancia completa.

Correlaciones simples entre los RCS, producción de leche y otras variables estudiadas

La mayoría de los coeficientes de correlación simple obtenidas entre las variables reproductivas y los índices de producción de leche fueron bajos, la correlación entre el número de días en horro actual y número de días en horro previo fue alto (0.71, $P < 0.01$, Cuadro 2). Esta correlación refleja la tendencia de animales con periodos horros anteriores largos o cortos a repetir el mismo comportamiento. Posiblemente éstos se sometieron al periodo seco involuntariamente por problemas reproductivos, baja producción o por mastitis. En lo que respecta a la mastitis, animales que tienen altos RCS al principio de la lactancia tienden a mostrar RCS elevados persistentes y un mayor riesgo de mastitis subclínica o clínica en la lactancia subsiguiente (Rupp et al., 2000). Los recuentos altos de células somáticas han estado asociados con una mayor riesgo de mastitis clínica en la segunda lactancia (Rupp et al., 2000). Los largos periodos secos en dos lactancias sucesivas pueden resultar del efecto de los altos RCS sobre la glándula mamaria (Harmon, 1994).

La producción diaria de leche y el RCS de pesajes individuales mostraron una correlación simple negativa (-0.23, $P < 0.01$; Cuadro 2). Esto concuerda con los resultados reportados de zonas templadas (Suriyasathaporn et al., 2000; De Vliegher et al., 2005). No obstante, este valor es marcadamente mayor que la correlación baja, pero significativa, de -0.04 entre el promedio del logaritmo natural de células somáticas y el promedio de producción de leche diaria obtenida por Pantoja et al., (1996). Esta mayor asociación obtenida en el presente estudio se

puede deber en parte a la mayor producción de leche y menor RCS. El efecto de los RCS es mayor a recuentos bajos que altos (Raubertas y Shook, 1982).

Cuadro 2. Coeficientes de correlación simple entre las variables incluidas en el estudio.

Var.	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1	-0.23**	-0.10**	-0.03**	-0.02**	0.14**	0.11**	0.05**	0.01**	0.03**	0.05**	0.18**
2		0.51**	0.44**	0.57**	-0.42**	-0.36**	-0.07**	0.00	-0.10**	-0.18**	0.07**
3			0.88**	0.79**	-0.03**	-0.14**	-0.05**	-0.01**	-0.02**	0.35**	-0.17**
4				0.81**	0.02**	-0.09**	-0.05**	-0.01**	-0.01 *	0.54**	0.06**
5					-0.10**	-0.14**	0.00	0.02**	-0.06**	0.14**	0.14**
6						0.39**	0.01 *	-0.04**	0.04**	0.29**	-0.11**
7							0.02**	0.00	0.02**	0.13**	0.02**
8								0.71**	0.04**	-0.04**	0.03**
9									0.04**	0.00	0.04**
10										0.17**	-0.03**
11											-0.13**

Identificación de las variables: 1. Recuento lineal de células somáticas/día de prueba, 2. Producción de leche diaria por vaca, 3. Producción de leche total por vaca durante la lactancia, 4. Producción de leche 305 días, 5. Pico de producción, 6. Porcentaje de proteína/pesaje, 7. Porcentaje de grasa/pesaje, 8. Días en horro actual, 9. Días en horro anterior, 10. Días abiertos, 11. Días en ordeño, 12. Número de lactancias. * $P < .05$; ** $P < .01$

La correlación entre el número de lactancias y el RLCS por pesajes fue positiva (0.18, $P < 0.01$, Cuadro 2). Esta tendencia concuerda con el hallazgo de investigaciones previas (Reneau 1986; Harmon, 1994) en las cuales reportaron que los RCS de vacas primíparas son menores que los de vacas de más de 5 partos. Hortet et al. (1999) y Reneau (1986) hallaron que las vacas más maduras tienden a sufrir infecciones más frecuentes y prolongadas, causando daños más extensos al tejido glandular mamario. Los aumentos en los RCS según avanza la edad de la vaca, podrían deberse a efectos residuales de infecciones en lactancias previas que causaron daños al tejido mamario y una mayor proliferación de leucocitos. El

número de leucocitos no necesariamente aumenta con la edad en las vacas que no han experimentado episodios de mastitis, sugiriendo que el aumento en los RCS no se debe a la edad, sino al efecto acumulativo a exposiciones previas a patógenos (CNM, 1996).

Efecto de los RCS sobre el porcentaje de proteína y grasa en la leche

Las correlaciones entre los RCS y el porcentaje de grasa y proteína en la leche fueron positivas ($P < .0001$, Cuadro 2), lo cual concuerda con los resultados de estudios de Kitchen (1981), Ng-Kwai-Hang y Hayes (1982), Suriyasathaporn et al. (2000) y Cerón et al. (2002). Estos últimos autores encontraron un aumento en los porcentajes de grasa, proteína y sólidos totales según aumentaron los RLCS de pesajes individuales. Suriyasathaporn et al. (2000) obtuvieron una correlación negativa significativa ($P < 0.05$) entre los RCS y la producción de leche y correlaciones positivas entre los RCS y el porcentaje de grasa y el de proteína. Este aumento en las concentraciones al aumentar los RLCS por pesajes, puede deberse al efecto de un menor volumen de leche. Las correlaciones entre la producción diaria de leche y los porcentajes de proteína y de grasa por pesaje obtenidas en el presente estudio fueron -0.42 y -0.36, respectivamente (Cuadro 2). Como tendencia general, según aumenta la producción de leche, los porcentajes de grasa y proteína en la composición total disminuyen (Strokes et al., 2001).

Variación estacional de los RCS y producción de leche

Los meses con el mayor promedio de producción por pesajes de leche fueron febrero, marzo y mayo con 18.4, 18.2 y 18.2 kg., respectivamente (Cuadro 3). Los meses de menor producción promedio de leche fueron agosto, septiembre y octubre con 16.3, 15.6 y 15.8 kg., respectivamente. Estos datos concuerdan con los informes de la industria lechera (ORIL, 2006). La disminución en producción de leche durante los meses de agosto a octubre pudo deberse en parte al efecto negativo de una mayor prevalencia de mastitis reflejada en mayores RCS. Los meses de menor producción de leche coincidieron con los meses con el mayor promedio de RCS de pesajes individuales (Cuadro 3). El estrés causado en los animales por las altas temperaturas y humedad ambiental, podría además de afectar la producción de leche directamente, aumentar la susceptibilidad a infecciones así como el número de patógenos a los cuales se expone la vaca (Hogan y Smith, 1997) aumentando la frecuencia de nuevas infecciones intramamarias.

La disminución en producción durante los meses de agosto a octubre, también pudo estar asociada con efectos directos ambientales sobre el consumo de alimentos. Las altas temperaturas, radiación solar y humedad relativa, características del área tropical, disminuyen el consumo voluntario de alimento así como la producción de leche (Berman et al., 1985; Cummis, 1992; West et al., 2003).

Cuadro 3. Variación estacional de los RCS y producción de leche.

mes	n¹	producción²	RLCS³
enero	24618	17.8	3.9
febrero	24923	18.4	3.5
marzo	25339	18.2	3.8
abril	25989	17.9	3.5
mayo	28705	18.2	3.8
junio	26328	17.3	3.8
julio	26480	17.1	4.0
agosto	25496	16.3	4.2
septiembre	21830	15.6	4.2
octubre	25363	15.8	4.3
noviembre	23078	16.6	4.0
diciembre	24846	17.1	3.8

¹ n. Total de pesajes de leche para el mes correspondiente.

² producción. Promedio producción diario por vaca.

³ RLCS. Promedio de los RLCS de todos los pesajes por mes.

Variación estacional de producción de leche y escenarios según la propuesta del CNM

Los meses de julio, agosto y octubre tuvieron el mayor número de pesajes individuales con RCS sobre los 600,000 células/ml (Cuadro 4). Éstos coincidieron con los meses del año con menor producción de leche en los pesajes individuales (Cuadro 3). El aumento en los RCS durante estos meses coincide con el alto estrés calórico causado por las altas temperaturas y humedad típicas de nuestro ambiente tropical. El estrés podría aumentar la susceptibilidad a infecciones así como el número de patógenos a los cuales se expone la vaca (Hogan y Smith, 1997). Podría resultar difícil para los ganaderos mantener los RCS en los niveles límites establecidos durante estos meses. Una opción razonable, sería el establecer

límites regulatorios más indulgentes para los RCS durante estos meses problemáticos. De esta manera los ganaderos podrían seguir produciendo leche de clasificación grado A y participar en el mercado interestatal de leche.

Cuadro 4. Variación estacional de producción de leche según los meses del año y escenarios de la propuesta del CNM.

Mes	Escenarios	n Pesajes ¹	producción/pesaj e ² (kg)	± (kg)	Max	Min
enero	≤400	18664	18.3	7.8	58.1	2.3
	>400 ≤500	580	16.3	7.5	51.7	3.2
	>500 ≤600	565	16.0	7.3	44.0	2.3
	>600 ≤750	524	16.5	7.8	47.2	2.3
	>751	4285	16.2	7.4	49.0	2.3
febrero	≤400	19634	18.8	7.9	57.6	2.3
	>400 ≤500	578	17.0	7.4	46.3	2.3
	>500 ≤600	553	16.7	7.7	49.0	3.6
	>600 ≤750	475	16.6	7.0	41.3	3.2
	>751	3683	16.8	7.4	48.1	2.7
marzo	≤400	19597	18.6	7.5	51.7	2.3
	>400 ≤500	630	17.0	7.1	41.3	4.1
	>500 ≤600	628	16.8	7.0	38.1	2.3
	>600 ≤750	518	16.6	6.7	38.6	3.6
	>751	3966	17.0	7.2	49.4	2.3
abril	≤400	20803	18.2	7.0	54.4	2.3
	>400 ≤500	598	16.7	6.7	42.2	2.7
	>500 ≤600	546	15.8	6.7	35.4	2.3
	>600 ≤750	444	16.1	6.6	37.2	3.2
	>751	3598	16.6	6.9	45.4	2.3
mayo	≤400	21990	18.6	7.0	49.9	2.3
	>400 ≤500	788	16.9	6.8	43.5	3.2
	>500 ≤600	716	16.7	6.8	43.5	3.2
	>600 ≤750	674	17.5	7.0	48.5	2.3
	>751	4537	16.8	6.9	53.1	2.3
junio	≤400	20433	17.7	6.6	55.8	2.3
	>400 ≤500	675	16.6	6.4	42.6	2.3
	>500 ≤600	606	15.9	6.3	44.9	2.3
	>600 ≤750	552	15.8	6.2	37.6	2.7
	>751	4062	16.2	6.5	47.2	2.3

Mes	Escenarios	n Pesajes ¹	producción/p esaje ² (kg)	± (kg)	Max	Min
julio	≤400	19922	17.5	6.4	50.8	2.3
	>400 ≤500	680	16.0	6.1	44.0	3.6
	>500 ≤600	695	16.1	6.2	40.8	3.6
	>600 ≤750	581	15.7	6.0	35.8	3.6
	>751	4602	15.9	6.2	44.5	2.3
agosto	≤400	18470	16.7	6.2	45.8	2.3
	>400 ≤500	754	15.4	5.9	45.4	2.7
	>500 ≤600	697	15.4	5.8	39.5	3.2
	>600 ≤750	673	15.2	5.7	38.6	2.3
	>751	4902	15.3	6.2	45.4	2.3
septiembre	≤400	16356	16.0	6.2	50.8	2.3
	>400 ≤500	616	15.0	6.3	43.1	2.7
	>500 ≤600	575	14.6	6.2	39.0	3.6
	>600 ≤750	511	14.7	6.2	34.5	2.7
	>751	3772	14.4	6.1	44.0	2.3
octubre	≤400	18465	16.3	6.6	56.2	2.3
	>400 ≤500	719	14.9	6.2	46.7	3.2
	>500 ≤600	681	15.0	6.1	45.4	2.7
	>600 ≤750	602	14.7	5.9	40.8	2.3
	>751	4896	14.5	6.1	45.8	2.3
noviembre	≤400	17247	17.1	7.2	56.2	2.3
	>400 ≤500	582	15.3	6.6	37.6	3.2
	>500 ≤600	575	15.3	6.6	40.8	2.3
	>600 ≤750	464	14.9	6.8	39.0	2.3
	>751	4210	15.2	6.7	47.2	2.3
diciembre	≤400	19256	17.6	7.5	56.7	2.3
	>400 ≤500	579	15.5	6.7	47.6	2.7
	>500 ≤600	527	15.3	6.6	39.9	2.7
	>600 ≤750	522	15.3	6.8	49.9	2.7
	>751	3962	15.5	7.1	45.8	2.3

¹ n Pesajes. Número total de pesajes de leche de vacas individuales para el escenario y mes correspondiente.

² producción/pesaje (kg). Promedio de producción de leche por vaca por día para el número total de pesajes correspondiente.

Evaluación del impacto de la propuesta del CNM sobre los productores de leche fresca en Puerto Rico

Los promedios de producción de leche diario por vaca con RCS ≤ 400,000 ó ≥750,000 fueron de 17.7 y 15.8 kg., respectivamente (Cuadro 5), equivalentes a una reducción de 10.3 % en producción diaria al comparar los promedios de RCS

más altos con los más bajos. Estos resultados concuerdan con los de varios investigadores (Raubertas y Shook, 1982; Rajala et al., 1999; Miller et al., 2004). Jones (1986) reportó reducciones en la producción de leche de 8-12 % al comparar hatos con RCS promedio de 600,000 a 1 millón, con aquéllos cuyo promedio fue de 200,000 o menos. El porcentaje de pesajes individuales de leche con RCS sobre los 750,000 fue de 15.3. De ser aplicable a todos los hatos acogidos al PRDHIA durante el periodo estudiado, esto equivale a un total de 799,820.2 kg. de producción total de leche producida que actualmente estaría fuera de reglamentación. Norman et al. (2000) obtuvieron un 12.3% de los pesajes diarios de leche con RCS sobre 750,000 células/ml utilizando datos del DHIA de Puerto Rico durante los años 1996 y 1997.

El porcentaje de pesajes diarios de leche sobre los 600,000 RCS en los hatos acogidos al PRDHIA durante el período del presente estudio fue de 17.3, el cual se traduce en un total de 903,290.4 kg. de leche producida por los hatos acogidos al PRDHIA que quedarían fuera de norma si se adoptara la primera fase de la propuesta del CNM. Este porcentaje resultó menor al estimado por Norman et al. (2000) de 24.3 %. Esta evidente reducción en años recientes en la proporción de pesajes con RCS mayores a los 600,000 refleja la tendencia de los ganaderos de Puerto Rico a mejorar la calidad de su producción.

Suponiendo que los registros de los hatos acogidos al PRDHIA sean representativos de los hatos no acogidos a este programa, se estima que el

número de pesajes de vacas individuales que estarían excediendo la propuesta del CNM en su fase final sería de 22 %.

Cuadro 5. Producción de leche por pesajes según los escenarios propuestos por el CNM.

Escenarios RCS	n ¹	Leche/pesaje ² (kg)	± (kg)	Max (kg)	Min (kg)	Total leche ³ (kg)	%
≤400	230837	17.7	7.1	58.1	2.3	4075397.3	78.1%
>400 ≤500	7779	16.0	6.7	51.7	2.3	124780.8	2.4%
>500 ≤600	7364	15.8	6.6	49.0	2.3	116447.7	2.2%
>600 ≤750	6540	15.8	6.6	49.9	2.3	103470.2	2.0%
>750	50475	15.8	6.8	53.1	2.3	799820.2	15.3%

¹ n. Número de pesajes de leche de vacas individuales.

² Leche/pesaje (kg). Promedio de producción de todos los pesajes de leche individuales, según cada escenario.

³ Total leche (kg). Sumatoria de todos los pesajes de leche de vacas individuales, según cada escenario.

Variación en los RCS de muestras de leche de hatos acogidos o no acogidos al programa PRDHIA

Del total de 8,833 muestras de leche de tanque analizadas para RB y RCS durante el período de estudio, 22.8 % correspondieron a hatos acogidos al DHI y 77.2 % a hatos no acogidos al programa (Cuadro 6). El promedio de los RCS de muestras de tanque resultaron similares en ambos casos (Cuadro 6). Esto podría significar que los hatos acogidos al PRDHIA no utilizan debidamente los registros de los RCS que les provee el programa, ya que se esperaría que éstos tuvieran RCS menores que los hatos desprovistos de dicha herramienta. La utilización adecuada del programa podría ayudar a proveer un mejor manejo del hato. Spain y Witherspoon (1994) señalaron que los hatos acogidos al programa DHIA se caracterizaron por una mejor eficiencia en producción y rentabilidad.

Cuadro 6. Variación en los RCS de muestras de leche de hatos acogidos al PRDHIA vs. hatos no acogidos al PRDHIA.

Concepto	Hatos acogidos PRDHIA	Hatos no acogidos PRDHIA
Número pesajes de tanque	2,016	6,817
Promedio de los RCS	461,656	473,096
Promedio de los RLCS	4.53	4.55

Asociación de los RCS con prácticas de manejo y presencia de patógenos más comunes

No se identificó la presencia de hongos y levaduras en ninguna de las muestras de tanque evaluadas en el estudio. Hubo un total de 12,367 vacas en los 71 hatos evaluados con RCS promedio de 296,045 células/ml ($n=67$) y fluctuaciones de <100,000 a 870,000 (Cuadro 7). El 56.3 % de los hatos perteneció a la categoría de RCS bajos y el 19.7 % a la de RCS altos (Cuadro 8). Estos resultados fueron diferentes a los obtenidos por Rodrigues et al. (2005), en estudio realizado en clima templado para evaluar las prácticas de manejo en 180 hatos. El estudio reportó un 20.0 y 23.2 % de los hatos en las categorías baja y alta de RCS, respectivamente. Esta discrepancia pudiera ser influenciada por el número de hatos evaluados.

Cuadro 7. Resumen de los RCS, RB y número de vacas por hato.

Variable	n ¹	Promedio	Desv. Std.	Total ³	Mínimo	Máximo
RCS	67	296,045.8	167,995.2	19,835,000.0	100,000.0	870,000.0
RB	69	31,654.4	63,952.0	2,184,150.0	2,500.0	410,000.0
n vacas ²	71	174.2	122.2	12,367.0	37.0	750.0

¹ n. Número de hatos con registros para cada variable.

² n vacas. Número de vacas por hato.

³ Total. Sumatoria de todos los valores.

Entre las razones para el descarte de vacas, según reportadas en el cuestionario, las cojera, problemas reproductivos y mastitis fueron más frecuentes en los hatos evaluados con 35.8, 14.9 y 14.9 %, respectivamente (Cuadro 8).

Cuadro 8. Resumen de variables relevantes.

Variables	n ¹	Porcentaje
Recuento Células Somáticas²		
Bajos	40	56.3
Medios	17	23.9
Altos	14	19.7
Recuento Bacteriano³		
Bajos	32	45.1
Medios	10	14.1
Altos	29	40.9
Patógenos		
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	23.2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	10	14.5
Coliformes	21	30.4
Otros <i>Streptococcus</i>	29	42.0
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	40	58.0
Razones para descarte de vacas		
Reproducción	10	14.9
Mastitis	10	14.9
Cojeras	24	35.8
Paratuberculosis	1	1.5
Baja producción	9	13.4
Edad	7	10.5
Anaplasmosis	5	7.5
Gastroenteritis	1	1.5

¹ n. Número de hatos.

² Recuentos de Células Somáticas. Bajos = $\leq 250,000$ células/ml;
Medios = 250,000 a 400,000 células/ml;
Altos = $> 400,000$ células/ml.

³ Recuentos Bacterianos. Bajos = $\leq 5,000$ cfu/ml;
Medios = 5,000 a 10,000 cfu/ml; Altos = $> 10,000$ cfu/ml.

Staphylococcus coagulasa negativa (SCN) fue el patógeno más frecuentemente aislado en las muestras de leche de tanque (Cuadro 8). Este resultado concuerda con varios estudios previos (Harmon et al., 1995; Pitkala et al.,

2004; Tenhagen et al., 2006). Esta mayor frecuencia de aislamiento podría deberse a que las prácticas tradicionales para el control de mastitis se dirigen hacia el control de los patógenos mayores como *S. aureus* y *S. agalactiae*. Los SCN están entre los organismos más frecuentemente aislados en muestras de tanque de los hatos que han controlado los patógenos mayores (Harmon et al, 1995). Esta teoría es cónsona con los hallazgos del presente estudio, en donde *S. aureus* y *S. agalactiae* fueron los patógenos con menor incidencia en las muestras de leche de los hatos evaluados (Cuadro 8). Otros *Streptococcus* y coliformes fueron aislados en 42.0 y 30.4 % de las muestras de los hatos evaluados, respectivamente (Cuadro 8).

Asociación de los RCS y patógenos más comunes

De las 53 variables evaluadas, sólo 8 tuvieron una asociación significativa ($P < .05$, Cuadro 9) con los RCS de muestras de tanque. La frecuencia de casos positivos con *S. agalactiae*, *S. aureus* y SCN se asoció significativamente ($P < .01$) con los RCS (Cuadro 9). Estas observaciones coinciden con varias investigaciones previas (Barkema et al., 1998; Tenhagen et al., 2006). Barkema et al. (1999) identificaron a *S. aureus* como el patógeno más frecuentemente aislado en casos de mastitis clínica. Jayarao et al. (2004) notaron una asociación significativa entre la frecuencia de casos positivos de *S. aureus* y *S. agalactiae* en muestras de leche del tanque con+ los RCS de tanque. Las mismas prácticas de manejo inadecuadas tienden a ser responsables por la presencia *S. agalactiae* y *S. aureus* en muestras

de tanque (CNM, 1999). Estos patógenos casi siempre indican cuartos infectados en el hato (CNM, 1999).

Cuadro 9. Asociación entre patógenos causantes de mastitis y prácticas de manejo en los hatos con RCS bajos, medios y altos.

Variable		%	Bajos	Medios	Altos	P
<i>Staphylococcus aureus</i>	no	76.8	33	14	6	0.0032
	si	23.2	5	3	8	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	no	85.5	37	15	7	<0.0001
	si	14.5	1	2	7	
Coliformes	no	69.6	25	12	11	0.8401
	si	30.4	13	5	3	
Otros <i>Streptococcus</i>	no	58.0	21	10	9	0.1485
	si	42.0	17	7	5	
<i>Staphylococcus coagulasa</i> negativa	no	42.0	17	4	8	0.0089
	si	58.0	21	13	6	
Aplicación de sellador de pezones luego de infusión intramamaria	no	15.5	1	4	6	0.0009
	si	84.5	39	13	8	
Se desinfectan los pezones antes de una infusión intramamaria	no	16.9	1	3	4	0.0187
	si	83.1	39	14	10	
Alimentación del ganado después del ordeño	no	46.5	13	11	9	0.0274
	si	53.5	27	6	5	
Procedimiento del secado de pezones	no usa	4.2	0	1	2	0.0417
	servilleta	87.3	34	16	12	
	toalla	8.5	6	0	0	
Diámetro de la tubería de leche (cm)	3.8	2.8	0	1	1	0.0112
	5.1	38.0	9	8	10	
	6.4	1.4	0	1	0	
	7.6	56.3	30	7	3	
	9.6	1.4	1	0	0	

RCS: Bajos = <250,000 células /ml; Medios = 250,000 a 400,000 células /ml;
Altos = >400,000 células /ml.

La asociación de los RCS con SCN pudiera deberse a que estos patógenos fueron los más frecuentemente aislados en las muestras de leche evaluadas en

este estudio. Se trata de patógenos oportunistas, que aprovechan un ambiente favorable para colonizar el pezón o el canal del pezón, luego se multiplican, entran a la glándula y producen mastitis (Sears y McCarthy, 2003).

Asociación de los RCS con las prácticas de manejo

Se observó una asociación significativa entre varias prácticas de manejo y los RCS (Cuadro 9). El uso de un sellador de pezones luego de una infusión intramamaria, tuvo asociación significativa con los de RCS ($P < .001$). Esto concuerda con los resultados encontrados en otros estudios (Barnouin et al., 2004; Barnouin et al., 2005) y confirman la efectividad de la práctica en cuestión. Barnouin et al. (2004) observaron que esta práctica se realizó más frecuentemente en hatos en la categoría de RCS bajos. Esta asociación se podría deber a que la tasa de nuevas infecciones está relacionada al número de patógenos causantes de mastitis que se encuentran en la punta del pezón (CNM, 1999). Al desinfectar los pezones con un sellador de pezones, se elimina la mayoría de los patógenos que se quedan en el pezón, especialmente *S. aureus* y *S. agalactiae* que se transmiten entre vacas (CNM, 1999). Esta práctica debería proteger las vacas contra nuevas infecciones intramamarias (Barnouin et al., 2004). En el presente estudio se encontró una asociación significativa entre los RCS y la presencia de los patógenos *S. aureus* y *S. agalactiae*, lo cual podría explicar la asociación entre los RCS y los hatos que utilizaban el sellador de pezones.

Las vaquerías en que se desinfectaban los pezones antes de una infusión intramamaria tuvieron una asociación significativa con los RCS ($P<.05$, Cuadro 9). Este hallazgo concuerda con los estudios de Hutton et al. (1990) y Barnouin et al. (2004). Barnouin et al. (2004) compararon el manejo característico de hatos con RCS bajos ($n= 326$, promedio de 125,000 células/ml) versus hatos con RCS medios ($n=208$, promedio de 270,000 células/ml) y encontraron una mayor proporción de hatos en la categoría de RCS bajos que realizaban esta práctica (21.2 vs. 13.9 %). Esta asociación se debe presumiblemente al hecho de que al desinfectar el pezón antes de aplicar una infusión intramamaria curativa, se elimina la gran mayoría de los patógenos que colonizan la punta del pezón, que de otra manera hubiesen sido impulsados hacia el interior de éste al inyectar la cánula.

Hubo una asociación significativa ($P<.05$, Cuadro 9) entre el número de vaquerías que proveían alimento luego del ordeño y los RCS. Varios estudios han evaluado este aspecto (Tyler et al., 1997; DeVries y von Keyserlingk, 2005). Al retrasar el lapso en que las vacas se acuestan post ordeño, se reduce el riesgo potencial de contraer mastitis, ya que se provee más tiempo al canal del pezón a cerrarse antes de tener contacto con los microorganismos potencialmente patogénicos en el suelo o en los excrementos (Tyler et al., 1997).

En el presente estudio se encontró una asociación significativa entre la práctica de secar los pezones antes de colocar la máquina de ordeño y los RCS ($P<.05$, Cuadro 9). El factor más importante de la higienización de la ubre antes del ordeño es secar adecuadamente los pezones (Ingawa et al., 1992; Ruegg, 2004).

Los pezones mojados facilitan el acceso de las bacterias presentes en la piel del pezón hacia dentro de la ubre, a la misma vez que se reduce la fricción entre el pezón y la pezonera de la maquina de ordeño, causando una mayor frecuencia de deslizamiento (Ruegg, 2004), el cual es uno de los factores relacionados con el equipo que más contribuyen a aumentar la tasa de infección intramamaria (Philpot y Nickerson, 1991).

El diámetro de la tubería de leche se relacionó significativamente ($P<.05$) con los RCS en los hatos evaluados. Se observó una proporción mayor de hatos en la categoría de RCS altos con diámetro menor de 5.1 cm. en la tubería de leche que hatos con diámetro igual o mayor a 6.4 cm. (Cuadro 9). Se reconoce que en las tuberías de leche con diámetro menor a 6.4 cm., resulta en una mayor incidencia de inundación en la tubería, provocando fluctuaciones de la presión de vacío que a su vez aumentan la incidencia de deslizamiento de las pezoneras (Hogeveen et al., 1995).

Asociación entre patógenos causantes de mastitis y los RB

El 45.1 % de los hatos tuvieron RB bajos, 14.1 % medios y 40.9 % altos (Cuadro 8). El promedio de los RB de muestras de leche de tanque fue de 31,654 cfu/ml ($n=69$) con fluctuaciones de <2,500 a 410,000 (Cuadro 7). Estas cifras resultaron marcadamente mayores a las encontrados por Jayarao et al. (2004)(4,320 cfu/ml) en su estudio realizado en clima templado. En el presente estudio se observó una asociación significativa ($P<.05$) entre los hatos RB y la presencia de los patógenos *S. agalactiae* y SCN (Cuadro 10). Resultados similares

fueron reportados por Jayarao et al. (2004) y González et al. (1986). Presumiblemente, estos hatos no realizaban buenas prácticas de higiene en el ordeño, ya que la única fuente de *S. agalactiae* la contribuye otras ubres infectadas y estas bacterias influyen tanto los RCS como los RB (Jones y Sumner, 1999). La asociación de los RB con los SCN podría deberse a que estos patógenos fueron los de mayor frecuencia de aislamiento en el estudio. Organismos ambientales mastíticos, incluyendo ciertas especies de SCN, pueden influenciar los RB en muestras de leche (Zehner et al., 1986).

Cuadro 10. Asociación entre patógenos causantes de mastitis y los RB bajos, medios y altos.

<i>Variable</i>		%	Bajos	Medios	Altos	P
<i>Staphylococcus aureus</i>	no	76.8	27	7	19	0.0718
	si	23.2	3	3	10	
<i>Streptococcus agalactiae</i>	no	85.5	30	8	21	<0.0094
	si	14.5	0	2	8	
Coliformes	no	69.6	22	8	18	0.4759
	si	30.4	8	2	11	
Otros <i>Streptococcus</i>	no	58.0	19	5	16	0.7019
	si	42.0	11	5	13	
<i>Staphylococcus coagulasa negativa</i>	no	42.0	5	5	17	0.0198
	si	58.0	23	5	12	

Recuentos Bacterianos. Bajos = $\leq 5,000$ cfu/ml; Medios = 5,000 a 10,000 cfu/ml; Altos = $> 10,000$ cfu/ml.

Correlaciones entre los RCS, RB y tamaño del hato y número de obreros por hato

La correlación entre los RCS y los RB de muestras de tanque fue positiva y de mediana magnitud ($P < .05$, Cuadro 11). Estos resultados concuerdan con varios estudios (Schukken et al., 1992; Rodrigues et al., 2005; Berry et al., 2006). Schukken et al. (1992), obtuvieron una correlación positiva similar a la encontrada en el presente estudio (.21, $P < .01$). Berry et al. (2006) estudiaron hatos irlandeses para evaluar las tendencias entre los RCS de tanque y los RB totales durante los años 1994 al 2004, y encontraron una correlación positiva entre estos dos parámetros (.16, $P < .001$). En el presente estudio la presencia de patógenos *S. agalactiae* y SCN tuvo una asociación significativa tanto con los RCS como con los RB. Lógicamente las prácticas de manejo asociadas con la reducción de los RCS también afectarían otros aspectos de la calidad de la leche, tales como los RB (Schukken et al., 1992). Los organismos causantes de mastitis que más influyen los RB de tanque son los *Streptococcus* spp., más notablemente *S. agalactiae* y *S. uberis* (González et al., 1986), así como los SCN (Zehner et al., 1986).

El número de vacas por hato (tamaño del hato) tuvo una correlación significativa ($P < .01$, Cuadro 11) con los RCS. Diversos estudios previos han señalado que la eficiencia en el manejo está relacionada con el tamaño del hato (Smith et al., 1995; Oleggini et al., 2001). Oleggini et al. (2001) encontraron en datos del programa DHIA, que los hatos en la región sur de los Estados Unidos en la categoría de 20 a 49 vacas tuvieron RCS promedio significativamente mayores a

los hatos en la categoría de ≥ 450 vacas (543,690 vs. 285.520 células/ml). Esto podría deberse a la eficiencia en los sistemas de manejo de alta tecnología característicos de hatos de alta producción total (Oleggini et al., 2001).

El promedio del número de vacas por obrero fue de 74.2. La correlación entre el número de obreros por hato, el número de vacas por obrero y los RCS también fue baja y negativa ($P < .01$, Cuadro 11). Barnouin et al. (2005) reportaron que entre las prácticas características de hatos con baja incidencia de casos clínicos de mastitis, estaba la de tener más de 2 personas por año asignadas a las tareas de manejo. Una reducción en el número de empleados, puede afectar la precisión y el desempeño de las prácticas de manejo para el control de mastitis durante el ordeño (Barkema et al., 1998). Entre las prácticas que pueden ser afectadas por tal razón y que a su vez, pudieran influenciar los RCS del hato están, la preparación adecuada de la ubre antes del ordeño, la atención para prevenir el deslizamiento de las teteras, prevención del sobre ordeño y la aplicación correcta del sellador de pezones (Barkema et al., 1998).

Cuadro 11. Correlaciones simples entre los RCS, RB, tamaño del hato y número de obreros por hato.

Variables	RCS	¹ n vacas/hato	n obreros/hato	vacas/obrero
RB	0.28*	-0.14	-0.19	-0.06
RCS		-0.43**	-0.41**	-0.31**
n de vacas			0.53**	0.73**
n obreros/hato				-0.07

¹ n vacas/hato. Representa el tamaño del hato.

* $P < .05$

** $P < .01$

CONCLUSIONES

Las correlaciones simples entre las variables de producción de leche y los índices reproductivos fueron bajas, exceptuando la correlación entre el número de días horros en la lactancia anterior y días horros actual (lactancias objeto de análisis) y la correlación entre los RCS y la producción diaria de leche por vaca. Las demás correlaciones fueron bajas pero significativas.

Los promedios de producción diaria de leche y de RLCS fueron 17.2 y 3.9, respectivamente. El promedio de producción diario fue mayor y el RLCS menor que investigaciones previas.

Se observó una disminución en la producción de leche durante los meses de agosto a octubre siguiendo los patrones de investigaciones anteriores e informes de la Industria Lechera. Probablemente, varios factores contribuyen a causar esta tendencia estacional incluyendo el efecto directo del calor sobre el consumo de alimento y las cambiantes condiciones sanitarias al variar la temperatura y humedad ambiental.

De implantarse la primera fase de la propuesta del Concilio Nacional de Mastitis, el 17.3% de los pesajes diarios de leche de los hatos acogidos el PRDHIA durante el periodo en estudio, hubiesen quedado fuera de norma, esto equivale a 903,290 kg. de leche.

El promedio de los RCS de muestras de tanque de los hatos acogidos o no al PRDHIA resultaron similares, lo que tiende a explicar que los hatos acogidos a

éste no utilizan debidamente los registros de RCS de dicho programa, los cuales podrían ayudar a favorecer la salud de las ubres.

Se determinaron correlaciones positivas entre los RCS y los porcentajes de proteína y de grasa en pesajes individuales, lo que podría significar que, al aumentar los RCS en la leche, el volumen de ésta disminuye, pero la síntesis y secreción de proteína y grasa disminuyen en una menor proporción.

SCN fue el patógeno más frecuentemente aislado en las muestras de leche de tanque, pudiendo esto deberse a que las prácticas tradicionales para el control de mastitis suelen dirigirse hacia el control de los patógenos mayores como *S. aureus* y *S. agalactiae*. En consonancia con este razonamiento, *S. aureus* y *S. agalactiae* fueron los patógenos con menor prevalencia en las muestras de leche en los hatos evaluados.

Los hatos que utilizaron un sellador de pezones luego de una infusión intramamaria, presentaron RCS menores comparados con aquellas que no realizaban esta práctica, indicando probablemente que el uso del sellador es efectivo contra los patógenos *S. aureus* y *S. agalactiae*, los cuales tuvieron una asociación significativa con los RCS.

Se observó una asociación significativa entre los hatos con RCS y el diámetro de tubería de leche enfatizando la importancia de este aspecto del equipo de ordeño.

La asociación observada entre las bacterias *S. aureus* y *S. agalactiae* y los RCS en muestras de tanque sugiere que los hatos con altos RCS no llevaban a

cabo concienzudamente las prácticas recomendadas para el control de los principales patógenos causantes de mastitis.

La alta incidencia de los SCN en las muestras de tanque analizadas podría deberse a la higiene subóptima y al hecho de que estas bacterias provienen de diversas fuentes en el medio ambiente del ganado lechero.

Hubo una asociación significativa entre los RB y la presencia de *S. agalactia* y los SCN. Presumiblemente, los hatos cuya leche con altos RB no realizan buenas prácticas de higiene en el ordeño, ya que *S. agalactiae* proviene únicamente de otras ubres infectadas y responde a la aplicación de tales prácticas. Organismos mastíticos ambientales, incluyendo ciertas especies de SCN también influyen los RB en muestras de leche.

El tamaño del hato mostró una correlación negativa con los RCS, indicando una ventaja para los hatos de mayor tamaño. Los RCS y los RB tuvieron una lógica correlación positiva indicando que las prácticas de manejo asociadas con la reducción de los RCS también podrían mejorar aspectos de calidad de leche, tales como los RB. La correlación negativa observada entre el número de obreros y los RCS fue estrecha negativa. El reducir el número de empleados, puede afectar la precisión y desempeño de las prácticas de manejo para el control de mastitis durante el ordeño.

BIBLIOGRAFÍA

- Adkinson, R. W., R. H. Gough, R. Graham, and A. Yilmaz. 2001. Implications of proposed changes in bulk tank somatic cell count regulations. *J. Dairy Sci.* 84:370-374.
- Aguado, J. A. 2001. Conteos somáticos en leche. Nueva estrategia bacteriológica en leche. E-campo homepage: <http://www.e-campo.com/sections/newsdisplay.php/uuid>. (Citado en: febrero 22 de 2005).
- Allore, H. G., P. A. Oltenacu, and H. N. Erb. 1997. Effects of season, herd size, and geographic region on the composition and quality of milk in the northeast. *J. Dairy Sci.* 80:3040-3049.
- Auldist, M.J. and I.B. Hubble. 1998. Effects of mastitis on raw milk and dairy products. *Aust. J. Dairy Tech.* 53: 28-36.
- Bailey, K., D. Hardin, J. Spain, J. Garret, J. Hoehne, R. Randle, R. Ricketts, B. Steevens, and J. Zulovich. 1997. An economic simulation study of large scale dairy units in the Midwest. *J. Dairy Sci.* 80:205-214.
- Barbano, D. M., Y. Ma, and M. V. Santos. 2006. Influence of raw milk quality on fluid milk shelf life. *J. Dairy Sci.* 89 (E. Suppl.):E15-E19.
- Barkema, H. W., Y. H. Schukken, T. J. Lam, M. L. Beiboer, G. Benedictus, and A. Brand. 1998. Management practices associated with low, medium, and high somatic cell counts in bulk milk. *J. Dairy Sci.* 81:1917-1927.
- Barkema, H. W., Y. H. Schukken, T. J. G. M. Lam, M. L. Beiboer, G. Benedictus, and A. Brand. 1999. Management practices associated with the incidence rate of clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 82:1643-1654.
- Barnouin, J., S. Bord, S. Bazin, and M. Chassagne. 2005. Dairy management practices associated with incidence rate of clinical mastitis in low somatic cell score herds in France. *J. Dairy Sci.* 88:3700-3709.
- Barnouin, J., M. Chassagne, S. Bazin and D. Boichard. 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.

- Bartlett, P. C., G. Y. Miller, C. R. Anderson, and J. H. Kirk. 1990. Milk production and somatic cell count in Michigan dairy herds. *J. Dairy Sci.* 73:2794-2800.
- Berman, A., Y. Folman, M. Kaim, M. Mamen, Z. Herz, D. Wolfenson, A. Arieli, and Y. Graber. 1985. Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. *J. Dairy Sci.* 68:1488-1495.
- Berry, D. P., B. O'Brien, E. J. O'Callaghan, K. O. Sullivan, and W. J. Meaney. 2006. Temporal trends in bulk tank somatic cell count and total bacterial count in Irish dairy herds during the past decade. *J. Dairy Sci.* 89:4083-4093.
- Bianca, W. 1965. Reviews of the Progress of Dairy Science. Section A. Physiology. Cattle in a hot environment. *J. Dairy Res.* 32:291-345.
- Bradley, A. J. 2002. Bovine mastitis: An evolving disease. *Vet. J.* 164:116-128.
- Bramley, A. J. and F. H. Dodd. 1984. Reviews of the Progress of Dairy Science: Mastitis control - Progress and Prospects. *J. Dairy Res.* 51:481-512.
- Bray, D. R., P. A. Fowler, F. B. Fialho, R. A. Bucklin, S. Yeralan, T. Tran, and R. K. Braun. 1998. An automated system for monitoring milking system parameters. In: *Proc. 37th Annual Meeting National Mastitis Council*, Madison, WI. Pp. 127-136.
- Camoens, J. K., R. E. McDowell, L. D. Van Vleck, and J. D. Rivera Anaya. 1976. Holsteins in Puerto Rico. I. Influence of herd, year, age, and season on performance. *J. Agr. UPR.* 60: 526-539.
- Capuco, V., G. A. Mein, S. C. Nickerson, L. J. W. Jack, D. L. Wood, S. A. Bright, R. A. Aschenbrenner, R. H. Miller, and J. Bitman. 1994. Influence of pulsationless milking on teat canal keratin and mastitis. *Physiology and Management. J. Dairy Sci.* 77:64-74.
- Cerón, M., H. Tonhati, J. Duarte, J. Oliveira, M. Muñoz-Berrocal, and H. Jurado-Gómez. 2002. Factors affecting somatic cell counts and their relations with milk and milk constituent yield in buffaloes. *J. Dairy Sci.* 85:2885-2889.
- Cummins, K. 1992. Effect of dietary acid detergent fiber on responses to high environmental temperature. *J. Dairy Sci.* 75:1465-1471.
- De Graves, F. J., and J. Fetrow. 1993. Economics of mastitis and mastitis control. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 9:421-434.

- De Vliegher, S., H. W. Barkema, H. Stryhn, G. Opsomer, and A. de Kruif. 2005. Impact of early lactation somatic cell count in heifers on milk yield over the first lactation. *J. Dairy Sci.* 88: 938-947.
- De Vries, T. J. and M. A. G. von Keyserlingk. 2005. Time of feed delivery affects the feeding and lying patterns of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 88:625-631.
- Devriese, L. A. and H. De Keyser. 1980. Prevalence of different species of coagulate-negative staphylococci on teats and in milk samples from dairy cows. *J. Dairy Res.* 47: 155-158.
- Dohoo, I. R. and A. H. Meek. 1982. Somatic cell counts in bovine milk. *Can. Vet. J.* 23:119-125.
- Edmondson, P. W. 2002. Teat dipping trouble. In: *Proc. of the British Mastitis Conf., Inst. for Anim. Health/Milk Dev. Council, Brockworth, U.K.* Pp. 15-19.
- Emanuelson, U. F. L. and H. Funke. 1991. Effect of milk yield on relationship between bulk milk somatic cell count and prevalence of mastitis. *J. Dairy Sci.* 74:2479-2483.
- Foret, C., H. Agüero, and P. Janowicz. 2006. Efficacy of two barrier iodine teat dips under natural exposure conditions. *J. Dairy Sci.* 89:2279-2285.
- Gallin, J. I., I. M. Goldstein, and R. Snyderman. 1992. *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates*. 2nd ed. Raven Press. New York, NY.
- Galton, D. M, L. G. Petersson, and W. G. Menil. 1986. Effects of premilking udder preparation practices on bacterial counts in milk and on teats. *J. Dairy Sci.* 69:260-266.
- Galton, D. M, L. G. Petersson, and W. G. Merril. 1988. Evaluation of udder preparations on intramammary infections. *J. Dairy Sci.* 71:1417-1421.
- Godden, S., R. Bey, R. Farnsworth, J. Reneau, and M. LaValle. 2002. Field validation of a milk line sampling device for monitoring milk quality and udder health. *J. Dairy Sci.* 85:1468-1475.
- González, J. O. 1988. Efectividad de dos desinfectantes de pezones para la prevención de la mastitis en vacas lecheras. Tesis de Maestría en Ciencias, Departamento de Industria Pecuaria, Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez. Mayagüez, Puerto Rico.

- González, R. N., D. E. Jasper, R. B. Busnell, and T. B. Farber. 1986. Relationship between mastitis pathogen numbers in bulk tank milk and bovine udder infections. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 189:442-445.
- Grant, R. J. and J. L. Albright. 1995. Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. *J. Anim. Sci.* 73:2791-2803.
- Guterbock, W. M., A. L. Van Eenennaam, R. J. Anderson, I. A. Gardner, J. S. Cullor, and C. A. Holmerg. 1993. Efficacy of intramammary antibiotic therapy for treatment of clinical mastitis caused by environmental pathogens. *J. Dairy Sci.* 76:3437- 3444.
- Hallberg, J. W., C. L. Henke, and C. C. Miller. 1994. Intramammary antibiotic therapy: To treat or not to treat? Effects of antibiotic therapy on clinical mastitis. In: *Proc. 33rd Annual Mtng. National Mastitis Council*, Madison, WI. Pp. 28-39.
- Harmon, R. J. 1994. Symposium: Physiology of mastitis and factors affecting somatic cell counts. Mastitis and genetic evaluation for somatic cell count. *J. Dairy Sci.* 77: 2103-2112.
- Harmon, R. J. and B. E. Langlois. 1995. Mastitis due to coagulase-negative *Staphylococcus* species. In *Proc Natl Mastitis Counc. Vol 34, National Mastitis Council*, Madison WI. Pp. 56-64.
- Hogan, J. S. and K. L. Smith. 1992. Using bulk tank milk cultures in a dairy practice. Mastitis Microbiology Diagnosis Workshop, Nat. Mastitis Council. Arlington, Virginia.
- Hogan, J. S. and K. L. Smith. 1997. Occurrence of clinical and subclinical environmental streptococci mastitis. In: *Proc. Udder Health Management for Environmental Streptococci Symposium*. University of Guelph, Ontario, Canada. Pp. 36-41.
- Hogan, J. S., K. L. Smith, K. H. Hoblet, D. A. Todhunter, P. S. Schoenberger, W. D. Hueston, D. E. Pritchard, G. L. Bowman, L. E. Heider, B. L. Brockett, and H. R. Conrad. 1989. Bacterial counts in bedding materials used in nine commercial dairies. *J. Dairy Sci.* 72:250-258.
- Hogeveen, H., J. H. Van Vliet, E. N. Noordhuizen-Stassen, C. De Koning, D. M. Tepp, and A. Brand. 1995. A knowledge-based system for diagnosis of mastitis problems at the herd level. Machine milking. *J. Dairy Sci.* 78:1441-1455.

- Hortet, P., F. Beaudeau, H. Seegers, and C. Fourichon. 1999. Reduction in milk yield associated with somatic cell counts up to 600,000 cells/ml in French Holstein cows without clinical mastitis. *Livest. Prod. Sci.* 61:33-42.
- Houghtby, G. A., L. J. Maturin, and E. K. Koenig. 1992. Microbiological Count Methods. In: *Pathogens in Milk and Milk Products*. In: R. T. Marshall (ed.), *Standard Method for the Examination of Dairy Products*. 16th ed. Pp. 213-246.
- Hutton, C. T., L. K. Fox, and D. D. Hancock. 1990. Mastitis control practices: Differences between herds with high and low milk somatic cell counts. *J. Dairy Sci.* 73:1135-1143.
- Hutton, C. T., L. K. Fox, and D. D. Hancock. 1991. Risk factors associated with herd group milk somatic cell count and prevalence of coagulase-positive staphylococcal intramammary infections. *Prev. Vet. Med.* 11:25-35.
- Ingawa, K. H., R. W. Adkinson, and R. H. Gough. 1992. Evaluation of a gel teat cleaning and sanitizing compound for premilking hygiene. *J. Dairy Sci.* 75:1224-1232.
- Jayarao, B. M. and D. R. Wolfgang. 2003. Bulktank milk analysis. A useful tool for improving milk quality and flock udder health. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 19:75-92.
- Jayarao, B. M., S. R. Pillai, A. A. Sawant, D. R. Wolfgang, and N. V. Hegde. 2004. Guidelines for monitoring bulk tank milk somatic cell and bacterial counts. *J. Dairy Sci.* 87:3561–3573.
- Jones, G. M. 1986. Symposium: Reducing Somatic Cell Counts: Meeting the 1986 challenge. Impact on producer and processor. *J. Dairy Sci.* 69:1699-1707.
- Jones, G. M. 1998. Milking practices recommended to assure milk quality and prevent mastitis. *Milk Quality & Milking Management*, Virginia Tech. Publication Number 404-227. <http://www.ext.vt.edu/pubs/dairy/404-227/404-227.html>. (Citado en: febrero 25 de 2005).
- Jones, G. M. and S. Sumner. 1999. Testing bulk tank milk samples. Publication Number 404-405. Virginia cooperative Extension. Posted March, 1999.
- Kehrli, M. E. and D. E. Shuster. 1994. Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland. *J. Dairy Sci.* 77:619-627.

- Khaita, M. L., K. H. Hoblet, K. L. Smith, T. Wittum, and P. Morley. 1998. Herd characteristics and management practices related to high milk production and production of high milk quality in two regions of Ohio. In: Proc. Natl. Mastitis Council. Ann. Mtg., Madison, WI. Pp. 244-245.
- Kitchen, B. J. 1981. Review of the Progress of Dairy Science: Bovine mastitis, milk compositional changes and related diagnostic tests. *J. Dairy Res.* 48:167-188.
- Klei, L., J. Yun, A. Sapru, J. Lynch, D. Barbano, P. Sears, and D. Galton. 1998. Effects of milk somatic cell count on cottage cheese yield and quality. *J. Dairy Sci.* 81:1205-1213.
- Koivula, M., E. A. Mäntysaari, E. Negussie, and T. Serenius. 2005. Genetic and phenotypic relationships among milk yield and somatic cell count before and after clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 88:827-833.
- Leslie, K. E. 1999. Mastitis prevention strategies for the dry period. In: Proc. 38th Ann. Meeting. Natl. Mast. Coun., Madison, WI. Pp. 35-47.
- Leslie, K. E., D. A. Barnum, and K. D. Lissemore. 1992. The role of pre-treatment teat-end preparation in the safety and efficacy of dry cow therapy. In: Proc. 31st Nat. Mastitis Council. Pp. 234.
- Lukas, J. M., D. M. Hawkins, M. L. Kinsel, and J. K. Reneau. 2005. Bulk tank somatic cell counts analyzed by statistical process control tools to identify and monitor subclinical mastitis incidence. *J. Dairy Sci.* 88:3944-3952.
- Ma, Y., C. Ryan, D. M. Galton, M. A. Rudan, and K. J. Boor. 2000. Effects of somatic cell count on quality and shelf life of pasteurized fluid milk. *J. Dairy Sci.* 83:264-274.
- McKinnon, C. H., A. J. Bramley, and S. V. Morant. 1988. An in-line sampling technique to measure the bacterial contamination of milk during milking. *J. Dairy Res.* 55:33-40.
- Miller, R. H., H. D. Norman, G. R. Wiggans, and J. R. Wright. 2004. Relationship of test-day somatic cell score with test-day and lactation milk yields. *J. Dairy Sci.* 87:2299-2306.
- Mochrine, R. D. and R. J. Monroe. 1978. Fossomatic method of somatic cell counting in milk: Collaborative study. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 61:779-784.

- Murphy, S. C. and K. J. Boor. 2000. Trouble-shooting sources and causes of high bacterial counts in raw milk. *Dairy Food Environ. Sanit.* 20:606-611.
- National Mastitis Council. 1996. *Current Concepts of Bovine Mastitis*. 4th Ed. Mastitis Control in Dairy Herds. National Mastitis Council. Madison, WI. Pp. 229-277.
- National Mastitis Council. 1997. A practical look at contagious mastitis. <http://www.nmconline.org/contmast.htm>. (Citado en: febrero 5 de 2007).
- National Mastitis Council. 1999. Teat Disinfection Facts. Factsheet, revised 1/99. <http://www.nmconline.org/dipfacts.htm>. (Citado en: febrero 8 de 2007).
- National Mastitis Council. 2000. *Staphylococcus aureus* infections respond poorly to treatment. <http://www.nmconline.org/staph.htm>. (Citado en: febrero 5 de 2007).
- Ng-Kwai-Hang, K. F. and J. F. Hayes. 1982. Effects of potassium dichromate and sample storage time on fat and protein by Milko-Scan and on protein and casein by a modified Pro-Milk Mk II method. *J. Dairy Sci.* 65:1895-1899.
- Nickerson, S. C. and R. L. Boddie. 1994. Effect of naturally occurring coagulase negative staphylococcal infections on experimental challenge with major mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.* 71:2526-2536.
- Norman, H. D., R. H. Miller, J. R. Wright, and G. R. Wiggans. 2000. Herd and state means for somatic cell count from dairy herd improvement. *J. Dairy Sci.* 83:2782-2788.
- Oficina de la Reglamentación de la Industria Lechera, 2006. Informe Anual Año Fiscal 2005-2006.
- Olde, R. G. M., H. W. Barkema, and H. Stryhn. 2007. The effect of season on somatic cell count and the incidence of clinical mastitis. *J. Dairy Sci.* 90:1704-1715.
- Oleggini, G. H., L. O. Ely, and J. W. Smith. 2001. Effect of region and herd size on dairy herd performance parameters. *J. Dairy Sci.* 84:1044-1050.
- Oliver, S. P., S. H. King, P. M. Torre, E. P. Shull, H. H. Dowlen, M. J. Lewis, and L. Sordillo. 1989. Prevention of bovine mastitis by postmilking teat disinfectant containing chlorous acid and chlorine dioxide in a soluble polymer gel. *J. Dairy Sci.* 72:3091-3097.

- Paape, M. J., W. P. Wergin, A. J. Guidry, and R. E. Pearson. 1979. Leucocytes-second line of defense against invading mastitis pathogens. *J. Dairy Sci.* 62:135-153.
- Pagán, W. 1985. A preliminary study for the establishment of a mastitis control program for lactating dairy cows in the Research and Development Center of Lajas, Puerto Rico. Tesis de Maestría en Ciencias. Departamento de Industria Pecuaria, Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez, Mayagüez, Puerto Rico.
- Pankey, J. W., E. E. Wildman, P. A. Dreschler, and J. S. Hogan. 1987. Field trial evaluation of pre-milking teat disinfection. *J. Dairy Sci.* 70:867-872.
- Pantoja, J., A. A. Custodio, P. F. Randel, S. Ciazio y B. Rodríguez. 1996. Relación entre producción de leche y su contenido de células somáticas, en lactancias completas en hatos lecheros de Puerto Rico. *J. Agric. U.P.R.* 80:169-81.
- Pearson, J. K. L., C. L. Wright, and D. O. Greer. 1970. A study of methods for establishing the cell content of bulk milk. *J. Dairy Sci. Res.* 37:467-471.
- Peeler, E. J., M. J. Green, J. L. Fitzpatrick, K. L. Morgan, and L. E. Green. 2000. Risk factors associated with clinical mastitis in low somatic cell count British dairy herds. *J. Dairy Sci.* 83:2464-2472.
- Pelissier, C. L. 1968. Management of large herds in California. *J. Dairy Sci.* 51:132-137.
- Peters, R. R. 2002. Evaluating herd milk quality using DHI somatic cell counts. In: *Proc. Arizona Dairy Production Conference, Tucson, Az.* Pp. 57-73.
- Philpot, W. N. and S. C. Nickerson. 1991. *Mastitis: Counter Attack. A strategy to combat mastitis.* Babson Bros. Co., Naperville, Illinois, USA.
- Pitkala A., M. Haveri, S. Pyorala, V. Myllys, and T. Honkanen-Buzalski. 2004. Bovine mastitis in Finland 2001-Prevalence, distribution of bacteria, and antimicrobial resistance. *J. Dairy Sci.* 87:2433-2441.
- Politis, I. and K. F. Ng-Kwai-Hang. 1988. Effects of somatic cell counts and milk composition on cheese composition and coagulating properties. *J. Dairy Sci.* 71:1711-1719.
- Rajala-Schultz, P. J., Y. T. Gröhn, C. E. Mcculloch, and C. L. Guard. 1999. Effects of clinical mastitis on milk yield in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 82:1213-1220.

- Raubertas, R. F. and G. E. Shook. 1982. Relationship between lactation measures of somatic cell concentration and milk yield. *J. Dairy Sci.* 65:419-425.
- Reneau, J. K. 1986. Effective use of Dairy Herd Improvement somatic cell counts in mastitis control. *J. Dairy Sci.* 69:1708-1720.
- Rodrigues, A. C. O., D. Z. Caraviello, and P. L. Ruegg. 2005. Management of Wisconsin dairy herds enrolled in milk quality teams. *J. Dairy Sci.* 88:2660-2671.
- Rodríguez, H. I., 1987. Determinación del nivel de células somáticas en muestras de leche y los microorganismos más importantes causantes de mastitis en hatos lecheros del norte y noroeste de Puerto Rico. Tesis de Maestría en Ciencias. Departamento de Industria Pecuaria, Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez. Mayagüez, Puerto Rico.
- Ruegg, P. L. 2004. Managing Milk Quality. Conferencia internacional sobre ganado lechero. CIGAL., Guadalajara, Mexico, Julio 14-16, 2004. P.p.31-40.
- Ruegg, P. L. and I. R. Dohoo. 1997. A benefit to cost analysis of the effect of pre-milking teat hygiene on somatic cell count and intra-mammary infections in a commercial dairy herd. *Can.Vet. J.* 38:632-636.
- Ruegg, P. L., M. D. Rasmussen, and D. Reinemann. 2000. The Seven Habits of Highly Successful Milking Routines No.401. The Babcock Institute, University of Wisconsin. <http://www.uwex.edu/milkquality/PDF/A3725.pdf>. (Citado en: marzo 11 de 2007).
- Rupp, R., F. Beaudeau, and D. Boichard. 2000. Relationship between milk somatic cell counts in the first lactation and clinical mastitis occurrence in the second lactation of French Holstein cows. *Prev. Vet. Med.* 46:99-111.
- Santos, M. V., Y. Ma, and D. M. Barbano. 2003. Effect of somatic cell count on proteolysis and lipolysis in pasteurized fluid milk during shelf-life storage. *J. Dairy Sci.* 86:2491-2503.
- SAS. Institute Inc. 2004. SAS Procedures Guide, Version 9.1.3, SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Schneider, R. and D. E. Jasper. 1966. The influence of working factor and cell content on the precision of microscopic counts of milk somatic cell. *J. Milk Food Tech.* 18:1450-1454.

- Schukken, Y. H., K. E. Leslie, A. J. Weersink, and S. W. Martin. 1992. Ontario bulk milk somatic cell count reduction program. Impact on somatic cell counts and milk quality. *J. Dairy Sci.* 75:3352-3358.
- Sears, P. M. and K. K. McCarthy. 2003. Management and treatment of staphylococcal mastitis. In: *Update on Bovine Mastitis*, Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract. Vol. 19. Pp. 171-185.
- Sheldrake, R. F., R. J. T. Hoare, and G. D. McGregor. 1983. Lactation stage, parity, and infection affecting somatic cells, electrical conductivity, and serum albumin in milk. *J. Dairy Sci.* 66:542-547.
- Shim, E. H., R. D. Shanks, and D. E. Morin. 2004. Milk loss and treatment costs associated with two treatment protocols for clinical mastitis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 87:2702-2708.
- Shook, G. E. and A. N. Bringe. 1987. The somatic cell count: A tool to reduce milk yield losses. Publ. A3391. Coop. Ext. Serv., Univ. Wisconsin, Madison.
- Shook, G. E. and M. M. Schutz. 1994. Selection on somatic cell score to improve resistance to mastitis in the United States. *J. Dairy Sci.* 77:648-658.
- Shuster, D. E. and R. J. Harmon. 1992. High cortisol concentrations and mediation of the hypogalactia during endotoxin-induced mastitis. *J. Dairy Sci.* 75:739-746.
- Shuster, D. E., M. E. Kehrli, and M. G. Stevens. 1993. Cytokine production during endotoxin-induced mastitis in lactating dairy cows. *Am. J. Vet. Res.* 54:80-85.
- Smith, K. L. and J. S. Hogan. 1993. Environmental mastitis. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 9:489-498.
- Smith, K. L. and J. S. Hogan. 1995. The importance of coagulase-negative staphylococci. *Mastitis Newsletter* 20: Newsletter of the International Dairy Federation, No. 142 . Pp. 26-29.
- Smith, K.L. and J.S. Hogan. 1998. Epidemiology of mastitis and physiopathology. In: *Proc. Panamerican Congress on Mastitis Control and Milk Quality*. Pp. 100-113.
- Smith K. L. and J. S. Hogan. 2001. The World of Mastitis. *Proc. 2nd Interna. Symp. on Mastitis and Milk Quality*. Nat. Mastitis Council. <http://www.nmconline.org/articles/wrldmast.htm>. (Citado en: marzo 2 de 2007).

- Sordillo, L. M., S. C. Nickerson, and R. M. Akers. 1989. Pathology of *Staphylococcus aureus* mastitis during lactogenesis: relationship with bovine mammary structure and function. J. Dairy Sci. 72:228-240.
- Spain, J. N. and M. Witherspoon. 1994. Why Missouri dairy association testing farms discontinue dairy herd improvement programs. J. Dairy Sci. 77:1141-1145.
- Steele, M. L., W. B. McNab, C. Poppe, M. W. Griffiths, S. Chen, S. A. Degrandis, L. C. Fruhner, C. A. Larkin, J. A. Lynch, and J. A. Odermeru. 1997. Survey of Ontario bulk tank milk for foodborne pathogens. J. Food Prot. 60:1341-1346.
- Strokes, S. R, D. N. Waldner, E. R. Jordan, and M. L. Looper. 2001. Managing milk composition: Normal sources of variation. Oklahoma Cooperative Extension Service. Guide D-03.
- Suriyasathaporn, W., Y. H. Schukken, M. Nielsen, and A. Brand. 2000. Low somatic cell count: a risk factor for subsequent clinical mastitis in a dairy herd. J. Dairy Sci. 83:1248-1255.
- Tenhagen, B. A., G. Koster, J. Wallmann, and W. Heuwieser. 2006. Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. J. Dairy Sci. 89:2542-2551.
- Thompson, D. I. and D. Postle. 1964. The Wisconsin Mastitis Test - an indirect estimation of leucocytes in milk. J. Milk Food Techn. 27:271-275.
- Trinidad, P. 1983. Incidencia de mastitis, aislamiento e identificación de especies de *Streptococcus* causantes de mastitis y determinación *in vitro* de sus susceptibilidades a algunos antibióticos en hatos de primera clase en la región oeste de Puerto Rico. Tesis de Maestría en Ciencias. Departamento de Industria Pecuaria, Universidad de Puerto Rico, Recinto de Mayagüez. Mayagüez, Puerto Rico.
- Tyler, J. W., L. K. Fox, S. M. Parish, J. Swain, D. Johnson, H. A. Grasseschi, and R. Gant. 1997. Effect of feed availability on postmilking standing time in dairy cows. J. Dairy Res. 64:617-620.
- U.S. Dep. Health and Human Services, Public Health Service, and Food and Drug Admin. 1997. Grade "A" Pasteurized Milk Ordinance, 1997 Revision. <http://vm.cfsan.fda.gov/~download/pmo97.zip>. (Citado: 13 marzo de 2005).

- Van Horn, H. H. and C. J. Wilcox. 1992. Large Dairy Herd Management. Am. Dairy Sci. Assoc., Champaign, IL.
- Valde, J. P., L. G. Lawson, A. Lindberg, J. F. Agger, H. Saloniemi, and O. Østeras. 2004. Cumulative risk of bovine mastitis treatments in Denmark, Finland, Norway and Sweden. *Acta Vet. Scand.* 45:201-210.
- Welper, R. D. and A. Freeman. 1992. Genetic parameters for yield traits of Holsteins, including lactose and somatic cell score. *J. Dairy Sci.* 75:1342-1348.
- West, J. W. 2003. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 86:2131-2144.
- West, J. W., B. G. Mullinix, and J. K. Bernard. 2003. Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating dairy cows. *J. Dairy Sci.* 86:232-242.
- Whitaker, D. A., A. I. Macrae, and E. Burrough. 2004. Disposal and disease rates in British dairy herds between April 1998 and March 2002. *Vet. Rec.* 155:43-47.
- Wilson, D. J., H. H. Has, R. N. González, and P. M. Sears. 1997. Association between management practices, dairy herd characteristics, and somatic cell count of bulk tank milk. *JAVMA* 210:1499-1502.
- Wolfgang, D. R., B. M. Jayarao, S. R. Pillai, A. A. Sawant, C. M. Burns, and J. Hutchinson. 2001. Farm management practices that influence the number and type of Streptococci and Streptococci-like organisms in dairy herds. Pennsylvania State University, University Park, PA, USA.
- Zadoks, R. 2003. *Streptococcus uberis* - Environmental or contagious pathogen? In: Proc. 42nd Annual Meeting of the National Mastitis Council, Fort Worth, TX. Natl. Mastitis. Council. Madison, WI. Pp. 61-67.
- Zadoks, R. N., R. N. González, K. J. Boor, and Y. H. Schukken. 2004. Mastitis-causing streptococci are important contributors to bacterial count in raw bulk tank milk. *J. Food Prot.* 67:2644–2650.
- Zehner, M. M., R. J. Farnsworth, R. D. Appleman, K. Larntz, and J. A. Springer. 1986. Growth of environmental mastitis pathogens in various bedding materials. *J. Dairy Sci.* 69:1932-1941.

APÉNDICE

Cuestionario de Prácticas de Manejo del Ganado Lechero en Puerto Rico

A. Información general (Incluye los resultados obtenidos).

Pregunta	Sí	No
¿Está el hato acogido a un programa de células somáticas del DHI?	45	25
¿La distancia entre el hato y el hogar del ganadero es menor de 300m?	27	44
¿Participa un veterinario en el programa de control de mastitis del hato?	32	39
¿Se llevan registros de fechas en que se secan las vacas?	60	11
¿Se llevan registros de tratamiento intramamario que se aplica a las vacas?	56	15
¿Se aplica infusión intramamaria a los cuatro cuartos cuando se ingresa la vaca al horro?	70	1
¿Utiliza un pre-dip antes de colocar la máquina de ordeño?	55	14
¿Se desinfecta el pezón antes de aplicar la infusión intramamaria?	63	8
¿Se aplica sellador de pezones luego de la infusión intramamaria?	60	11
¿Se alimenta al ganado con alimento de transición 3 semanas antes del parto?	26	44
¿Tienen alimento disponible después del ordeño?	38	33
Durante el ordeño, ¿se desinfectan las pezoneras entre vacas?	61	10
La máquina de ordeño, ¿tiene mecanismo para cerrar el vacío?	4	67
¿Las vacas con altos recuentos de células somáticas y con mastitis clínica se ordeñan últimas?	56	15
¿Se hace el despunte para verificar presencia de coágulos?	66	5
¿Se utilizan servilletas individuales por cada vaca?	61	10
¿La máquina tiene retiradores automáticos?	29	41
¿Se desinfecta el pezón antes de realizar una infusión intramamaria curativa?	59	12
¿Se utilizan servicios de laboratorios relacionados con el control de mastitis?	64	6
¿Con qué frecuencia se utilizan los servicios del laboratorio? mensual <u>20</u> semanal <u>10</u> no usa <u>6</u> cada 15d <u>3</u> trimestral <u>9</u> otro <u>11</u> cuando hay problemas <u>12</u>		

El pre-dip es a base de: cloro <u>6</u> yodo <u>54</u> agua oxigenada <u>1</u> no usa <u>9</u>	
¿Cuál es el sistema de aplicación de pre-dip? spray en botella <u>14</u> inmersión <u>32</u> spray <u>12</u> por manga <u>4</u>	
Si el rancho es de cubículos, ¿qué tipo de camada se usa? tierra <u>1</u> arena <u>3</u> no tiene <u>62</u> camada sintética <u>1</u> otro <u>3</u> cemento <u>1</u>	
Antes del ordeño, se lava sólo: la ubre <u>7</u> los pezones <u>61</u> no lava <u>2</u>	
¿Cómo se evita el deslizamiento de las pezoneras? sonido de succión <u>23</u> observación <u>44</u> otra <u>2</u>	
¿Cómo se evita el sobre ordeño de la máquina? Observación <u>56</u> otras <u>14</u> (retiradores automáticos)	
La línea de leche es: alta <u>31</u> baja <u>35</u> intermedia <u>5</u>	
¿Cuál es el tiempo promedio que transcurre desde la preparación de la ubre hasta que se colocan las pezoneras?: 1 min. <u>23</u> 3 min. <u>9</u> 5 min. <u>9</u> 2 min. <u>17</u> 4 min. <u>4</u> > 6 min. <u>9</u>	
En promedio, ¿cuánto tiempo dura el ordeño por vaca? 3 min. <u>14</u> 5 min. <u>24</u> 15 min. <u>3</u> 4 min. <u>26</u> 10 min. <u>2</u> > 20 min. <u>1</u>	
¿Cuáles son los criterios que se toman para decidir si se aplica el tratamiento intramamario para la mastitis? coágulos <u>14</u> hinchazón de la ubre <u>16</u> resultados laboratorio <u>12</u> mastitis clínica <u>29</u>	
¿Cuán frecuente se cambian las pezoneras de la máquina? mensualmente <u>40</u> daños visibles <u>8</u> 45 días <u>4</u> bimensual <u>16</u> 2 meses <u>1</u> 15 días <u>2</u>	
¿Cuánto tiempo lleva trabajando como ordeñador? < 2 años <u>8</u> > 5 < 10 años <u>7</u> > 15 < 20 años <u>3</u> < 5 años <u>14</u> > 10 < 15 años <u>14</u> > 20 años <u>25</u>	
¿Cuántos empleados trabajan en el proceso de ordeño? 1 <u>6</u> 3 <u>16</u> 5 <u>2</u> 2 <u>41</u> 4 <u>5</u>	
¿Cuántas máquinas de ordeño hay en la sala? 4 <u>6</u> 8 <u>11</u> 10 <u>12</u> 16 <u>6</u> 20 <u>4</u> 6 <u>8</u> 9 <u>3</u> 12 <u>15</u> 18 <u>2</u> 24 <u>4</u>	
¿Cuál es el diámetro de la tubería de leche? 1.5cm <u>2</u> 2.5cm <u>1</u> 4cm <u>1</u> 2cm <u>27</u> 3cm <u>40</u>	

¿Cuántas entradas de leche tiene el recibidor? 1 <u>4</u> 2 <u>66</u> 3 <u>1</u>	
¿Cuál es el diámetro de la tubería de vacío? .80cm <u>4</u> 1.20cm <u>53</u> 1.60cm <u>13</u>	
¿Cuál es el número de vacas en ordeño actualmente? <50 <u>4</u> >100<199 <u>27</u> >50<100 <u>16</u> >200 <u>24</u>	
¿Cuántos caballos de fuerza tiene la máquina de vacío que está en funcionamiento actualmente? 4 <u>5</u> 6 <u>1</u> 10 <u>28</u> 5 <u>1</u> 7.5 <u>22</u> 15 <u>12</u>	
¿Cuántas bombas de vacío tiene el sistema? 1 <u>20</u> 2 <u>48</u> 3 <u>3</u>	
¿Cuánto tiempo se deja el becerro con la vaca después del parto? <2hr. <u>3</u> 1día <u>15</u> 3 días <u>14</u> >5 días <u>9</u> 12hr. <u>6</u> 2 días <u>20</u> 4 días <u>7</u>	
¿Cuántos días transcurren desde el parto hasta que se destina la leche para el tanque? 1día <u>2</u> 3 días <u>20</u> 5 días <u>11</u> 2 días <u>10</u> 4 días <u>14</u> >5 días <u>12</u>	
¿Cuántas horas transcurren desde el parto hasta que se realiza el primer ordeño? <2 <u>3</u> >6<10 <u>5</u> 24 <u>8</u> 48 <u>9</u> >2<6 <u>1</u> 12 <u>30</u> 36 <u>8</u> >48 <u>6</u>	
¿En dónde paren las vacas? cercado <u>56</u> sala maternidad <u>7</u> chiquero <u>8</u>	
¿Qué utiliza para secar las ubres durante el procedimiento del ordeño? servilleta <u>3</u> tohalla <u>62</u> no usa <u>6</u>	
¿Cuánto tiempo lleva el ganadero en este negocio (dueño)? <2 <u>2</u> >5<10 <u>6</u> >15<20 <u>9</u> >2<5 <u>4</u> >10<15 <u>7</u> >20 <u>42</u>	
¿A dónde van la vacas luego del ordeño? cercado <u>46</u> sala de espera <u>8</u> rancho de sombra <u>17</u>	
¿Qué porcentaje de los animales descartados en los últimos 6 meses han sido en los primeros 90 días de lactancia? 0% <u>32</u> 1% <u>16</u> 2% <u>12</u> 3% <u>5</u> ≥5% <u>5</u>	
¿Cuáles han sido las razones para el descarte de vacas recientemente? (últimos 6 meses) reproduccion <u>10</u> paratuberculosis <u>1</u> anaplasmosis <u>5</u> mastitis <u>10</u> baja producción <u>9</u> gastroenteritis <u>1</u> cojera <u>24</u> edad <u>7</u>	