

2013

# ESTUDIO DE CAMPO ETIOLÓGICO Y LESIONAL DE LAS MAMITIS EN GANADO OVINO DE RAZA LATXA DE GUIPÚZCOA

Ane Miren Garciandia Gabilondo

Trabajo fin de máster: Máster de Iniciación a  
la investigación en Ciencias veterinarias





**Universidad**  
Zaragoza

# ESTUDIO DE CAMPO ETIOLÓGICO Y LESIONAL DE LAS MAMITIS DE GANADO OVINO DE RAZA LATXA EN GUIPÚZCOA

Autor/a:

Ane Miren Garciandia Gabilondo

Director/a:

Delia Lacasta Lozano

Facultad de veterinaria de Zaragoza

25 de Noviembre de 2.013

## **Agradecimientos:**

A todos aquellos que han hecho posible la realización de este trabajo en cualquiera de sus fases...

*A Delia Lacasta, por TODO*

*A Chema Gonzalez, por ayudarme con la estadística*

*A Luis Miguel Ferrer y Juan José Ramos, por su ayuda, por su sabiduría...*

*A Marta Ruiz de Arcaute, por ayuda y generosidad*

*A Miren Ortega y Luis Figueras de G.T.V*

*A Lourdes Mintegi y Feli Arrese de "Ardiekin- Confelac".*

*A Saioa Elizalde de "Artzai Gazta".*

*A Ana García de Neiker- Tecnalia.*

*A Iñaki Elgarresta, Esti Martinez y Ekain Murua de E.L.E.*

*A Gemma Arandia, por albergarme cuando venía a Zaragoza.*

*A los pastores, por su colaboración.*

*A toda mi familia, en especial a mis padres (Inasio y Begoña).*

# ÍNDICE

---

<b>RESUMEN</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
<b>1. EL GANADO OVINO EN LA COMUNIDAD AUTONOMA VASCA</b>	<b>11</b>
• PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LA RAZA LATXA	12
• CARACTERISTICAS SOCIO CULTURALES Y ECOLOGICAS	13
• SITUACION DEL GANADO OVINO EN GIPUZKOA	14
• ANTECEDENTES HISTÓRICOS	15
• SITUACIÓN ACTUAL	16
• LA GANADERIA en las explotaciones “profesionales” en GIPUZKOA	18
<b>2. PRODUCCIÓN LÁCTEA EN EL OVINO LATXO</b>	<b>22</b>
• RECUERDO ANATÓMICO Y FUNCIONAL	25
a. DESARROLLO DE LA GLÁNDULA MAMARIA	26
b. BAJADA DE LA LECHE	27
• COMPOSICIÓN DE LA LECHE	29
• LA MAMITIS EN EL GANADO OVINO	29
a. MAMITIS CLÍNICA	30
b. MAMITIS SUBCLÍNICA	31
c. MAMITIS CRÓNICA	32
d. FUENTES DE INFECCIÓN	33
• PROGRAMA PARA LA MEJORA DE LA CALIDAD DE LECHE EN GIPUZKOA	33
a. PROTOCOLO DE ACTUACION ANTE RECIENTOS CELULARES ELEVADOS, RECIENTOS <i>S. aureus</i> ELEVADOS O BROTES DE MAMITIS CLINICAS	42
b. PROTOCOLO DE ACTUACION ANTE UN PROBLEMA DE BACTERIOLOGIA ELEVADA	43
c. EXPLOTACIONES SIN PROBLEMAS APARENTES PERO QUE DEMANDAN EL PROGRAMA	43
<b>JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS</b>	<b>44</b>

<b>MATERIAL Y MÉTODOS</b>	<b>47</b>
1. CARACTERÍSTICAS DE LAS EXPLOTACIONES ANALIZADAS	48
2. REALIZACIÓN DE CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT)	53
3. TOMA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	55
4. EXPLORACIÓN CLÍNICA DE LA GLÁNDULA MAMARIA	56
5. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LAS MUESTRAS	59
6. ESTUDIO ESTADÍSTICO	62
<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>64</b>
1. MICROBIOLOGÍA	65
2. LESIONES GLÁNDULA MAMARIA	68
a. TIPO DE LESIÓN	68
b. RELACIÓN DE OVEJAS CMT POSITIVO CON LA PRESENCIA DE LESIÓN MAMARIA	71
c. RELACIÓN ENTRE PRESENCIA DE LESIÓN MAMARIA Y CULTIVO MICROBIOLÓGICO	72
d. RELACIÓN DE LOS AISLAMIENTOS MICROBIOLÓGICOS CON EL TIPO DE LESIÓN MAMARIA	78
3. LINFONODOS	82
a. RELACIÓN ENTRE AFECCIÓN DE LINFONODOS Y CMT	82
b. RELACIÓN ENTRE AFECCIÓN DE NÓDULOS LINFÁTICOS Y AISLAMIENTO MICROBIOLÓGICO	83
c. RELACIÓN ENTRE AFECCIÓN DE NÓDULOS LINFÁTICOS Y MICROORGANISMOS	85
4. LACTACIONES	87
5. RECUENTO CÉLULAS SOMÁTICAS EN TANQUE.	90
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>93</b>
<b>REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>95</b>

# RESUMEN

---

Las mamitis han sido y siguen siendo uno de los principales motivos de preocupación de los ganaderos y técnicos que trabajan con el ovino de leche, dadas sus graves consecuencias a nivel económico (disminución en la producción láctea, desvieje, coste de los tratamientos...), higiénico (problemas sanitarios que además pueden afectar a la salud pública a través de la comercialización de productos lácteos con una calidad higiénico-sanitaria deficiente) y legal. Con el fin de arrojar algo de luz sobre los aspectos más desconocidos de esta patología, nos planteamos realizar el presente trabajo.

El estudio ha sido llevado a cabo en doce explotaciones profesionales de ganado ovino de leche situadas en 10 municipios de Guipúzcoa, que trabajan únicamente con la raza autóctona Latxa y que son elaboradores del queso D.O. Idiazábal. Las actuaciones realizadas y los datos recogidos en estas explotaciones para el presente estudio se llevaron a cabo en el marco del Programa de Mejora de la Calidad de la Leche de la Diputación foral de Guipúzcoa, durante las campañas que van del año 2004 al 2013. Tras la realización del California Mastitis Test (CMT) a todos los animales en ordeño presentes en ese momento en la explotación, se les realizaba una toma de muestra de leche individual a todas aquellas ovejas CMT positivo. Posteriormente al ordeño, se realizaba la exploración física de las ubres y de los nódulos linfáticos supramamarios de estos animales. Los datos obtenidos eran recogidos en una ficha individual y posteriormente, vertidos todos los datos en una tabla excell para analizarlos estadísticamente mediante el programa SPSS.

El número total de muestras individuales analizadas fue de 271. Los resultados microbiológicos obtenidos muestran que el primer grupo de microorganismos aislados son los *Staphylococcus* coagulasa negativo (SCN) con un 34,2% de aislamientos, seguidos a cierta distancia de *S. aureus* (11,4%), *Mannheimia haemolytica* (5,2%), *Streptococcus* spp. (4,7%), *Enterococcus* (3,6%) y, en menor porcentaje, por otros microorganismos de menor incidencia en las mamitis subclínicas y crónicas sobre las que se centra el estudio. El porcentaje de muestras que no presentan ningún tipo de crecimiento es del 38,2%.



En el estudio de la relación de animales con lesión mamaria y cultivo microbiológico, los resultados arrojan que los animales que presentaban cultivo positivo pero que no tenían lesión en glándula mamaria, supusieron el 20,7% de las 271 ovejas analizadas. Estos animales son los que presentan mamitis subclínicas, sin sintomatología apreciable pero con reducción de la producción láctea. Por otro lado, los animales con cultivo positivo y lesión en glándula mamaria, que son aquellas ovejas que presentan mamitis crónicas, supusieron un 41 % de las muestras analizadas. Los falsos positivos al CMT, o animales con cultivo negativo y sin lesión en glándula mamaria, resultaron ser el 17,3% y los animales con lesión en glándula mamaria pero cultivo negativo, que son animales con fluctuaciones en la dinámica de eliminación del microorganismo causante de las lesiones, fue de 21%. Este último grupo es el que nos interesa especialmente ya que estos animales, al tener cultivo negativo no serán eliminados por el ganadero, sin embargo, son probablemente eliminadores del microorganismo de manera intermitente y por lo tanto, fuente de infección.

Las exploraciones de las glándulas mamarias realizadas a los animales CMT positivos revelaron que un 61,36% de los animales presentaban algún tipo de lesión detectable, frente a un 38,64% que no presentaba lesión aparente. Las dos principales lesiones detectadas en mama fueron: atrofia del parénquima mamario con un 71,8% de los casos y lesiones nodulares con un 20,5 %. Seguido a bastante distancia de induración (5,3%), leche enquistada (0,6%), edema (0,6%) y lesiones cutáneas (0,6%).

Con respecto a la relación entre lesiones mamarias y microorganismos aislados de la leche, se obtuvieron diferencias significativas al comparar la capacidad de producir lesión mamaria de los dos microorganismos más frecuentemente aislados, SCN y *S. aureus*, siendo éste último aislado más frecuentemente de mamas con lesiones mamarias palpables. Las lesiones que tiende a producir *S. aureus*, con frecuencias similares, son: atrofias (35,5%), lesiones nodulares (32,3%) y tumefacción (19,4%). Sin embargo, los SCN son los principales causantes de mamitis subclínicas sin lesión detectable, pero cuando producen lesión, ésta es mayoritariamente de tipo atrófico (57,6%).

Los linfonodos supramamarios se analizaron de forma aislada para detectar relación directa de la afección de nódulos con microorganismos aislados. Los resultados muestran que las ovejas que presentan los nódulos linfáticos supramamarios aumentados de tamaño tienen 1,78 veces más riesgo de estar padeciendo una infección bacteriana en la glándula mamaria que las que no los tienen, o lo que vendría a ser lo mismo, tenemos una mayor posibilidad de obtener cultivo positivo de una oveja con los linfonodos aumentados que de una oveja cuyos linfonodos estén normales.

Al comparar la reacción que producen en los linfonodos los diferentes microorganismos productores de mamitis observamos que existen diferencias significativas. *S. aureus* produce significativamente una mayor alteración en los linfonodos que los SCN. El 42% de los animales con cultivo positivo a *S. aureus* tenían los nódulos linfáticos aumentados de tamaño, siendo en los animales positivos a SCN únicamente en un 20%.

Los resultados obtenidos apuntan que en estudios posteriores, y con un mayor número de muestras analizadas, se puede llegar a crear un perfil de lesión para cada microorganismo, siendo esto de gran utilidad para el diagnóstico clínico de las mamitis ovinas. Además, nuevos estudios sobre la influencia del manejo y las instalaciones deberán ser realizados para determinar su efecto sobre la aparición de mamitis.

# INTRODUCCIÓN

---

## **1. EL GANADO OVINO EN LA COMUNIDAD AUTÓNOMA VASCA**

La importancia del sector primario en el País Vasco es muy escasa, representando únicamente un 0,7% del producto interior bruto (PIB), aunque hay que recalcar que este dato no tiene en cuenta aspectos medioambientales y sociales de gran relevancia en la actualidad. Dentro del sector agrario, la ganadería contribuye al 35% del producto final agrario (EUSTAT: Instituto Vasco de Estadística).

Las principales razas presentes en nuestra comunidad autónoma, con un 86,5% del total, son las razas autóctonas Latxa y Carranzana. Además, hay un 1,5 % de razas foráneas de aptitud lechera y únicamente un 6,6% de las ovejas presentes en el País Vasco son de aptitud cárnica, las cuales se encuentran, casi en su totalidad, en Álava.

El censo ovino en la comunidad autónoma Vasca en diciembre de 2012 (EUSTAT) era de:

Cabezas totales: 263.778, de las cuales 213.763 son de raza Latxa

Nº de explotaciones: 11.397, de las que 7.080 son explotaciones de Latxa.

El censo ovino en Guipúzcoa en la misma fecha era de:

Nº cabezas: 137.759; 126.882 de Raza Latxa

Nº explotaciones: 4.151; 3.273 de las cuales son de raza Latxa.

### **PRINCIPALES CARACTERÍSTICAS DE LA RAZA LATXA**

Tal y como indica su nombre en Euskera, la raza Latxa es una oveja de lana basta (latxa), que en Francia es conocida como Manech. Históricamente ha sido una oveja de aptitud mixta, pero que en las últimas décadas, ha ido desarrollando y potenciando más su aptitud lechera debido al “éxito” del queso Idiazábal. Se trata de una raza de gran rusticidad, muy adaptada a los terrenos abruptos propios de nuestra orografía y a las altas pluviosidades.

La historia de la raza Latxa ha estado muy ligada a las zonas de pastos y montes en Navarra, Guipúzcoa, Álava y Vizcaya, así como en la zona de los pirineos atlánticos del

sur de Francia, donde, tradicionalmente, ha representado el medio de vida de un elevado número de familias, que encuentran en la explotación de esta oveja una ayuda importante a la economía familiar.

Hay dos variedades: la Latxa cara rubia y la Latxa cara negra, que únicamente se diferencian en el color de la cara y extremidades. Además, tienen una diferente distribución geográfica y, normalmente, forman dos poblaciones separadas genéticamente.

La base de la alimentación se fundamenta, por un lado, en la obtención de heno y forraje en los terrenos del valle y por otro, en el consumo a diente de los pastos naturales localizados en montes bajos y sierras. Según datos del EUSTAT, aproximadamente la tercera parte del ganado ovino, equino y caprino pasta en tierras comunales.

### **CARACTERISTICAS SOCIO CULTURALES Y ECOLOGICAS**

La explotación semiextensiva del ganado latxo ligada al aprovechamiento de pastos es, a día de hoy, una actividad que se mantiene a flote a pesar de la perpetua crisis del sector primario en Guipúzcoa.

Este hecho quizás sea debido a que ha aunado las dos funciones básicas de todo sistema de explotación para su supervivencia:

1. Las funciones ECOLOGICAS
2. Las funciones SOCIALES Y CULTURALES

#### *1. FUNCIONES ECOLOGICAS*

Mediante el mantenimiento del paisaje, cuidado de las praderas, colaboración en el sostenimiento del monte “limpio”, diversidad genética animal y vegetal, etc.

#### *2. FUNCIONES SOCIALES Y CULTURALES*

Existen toda una serie de actividades socio-culturales asociadas al sistema de producción del ovino latxo y a su principal producto diferenciado: el queso de Idiazábal (D.O.), como son:

- Fiesta de apertura de los pastos comunales.
- Ferias ganaderas ovinas (las dos principales en primavera y otoño) con exposición de ejemplares de ovino, concursos de esquileo, campeonatos de quesos...
- Concursos de quesos intra e interprovinciales, así como internacionales.
- Campeonatos de perros pastores.
- Escuela de pastores de Aránzazu.
- Feria anual del queso.
- Mancomunidades gestoras de los pastos y parques naturales.
- Asociaciones de mejora de la raza latxa.
- Asociaciones de elaboradores artesanos de queso.
- Mantenimiento de la población rural, con infraestructuras adecuadas.
- Pluriactividad rural: Sobre todo agroturismos, que a su vez favorecen la venta de quesos...

Todas estas actividades son de relevancia e interés social y cultural, tanto a nivel local, como a nivel de la comunidad autónoma vasca, y hacen posible que se siga manteniendo y conociendo este subsector, incluso entre la población más ligada al medio urbano.

### **SITUACION DEL GANADO OVINO EN GIPUZKOA**

La provincia de Guipúzcoa se caracteriza por sus terrenos abruptos y pobres en lo concerniente al aprovechamiento agrícola, sin embargo, debido a la elevada pluviometría, son tierras en las que la producción herbácea es muy abundante. De ahí se deriva la importancia de la explotación del ganado, más concretamente del ganado ovino, para el aprovechamiento de estos pastos y montes, en los que, debido a la complicada orografía, queda vedado el uso de maquinaria agrícola, pudiéndose utilizar únicamente para su consumo a diente.

Guipúzcoa cuenta con un territorio de, aproximadamente, 200.000 hectáreas, de las que, actualmente, 33.033 ha (16,5%) son **Montes de Utilidad Pública**, es decir, montes tutelados por la Administración Foral. La mayoría de esa superficie (22.050 ha) está cubierta por arbolado, y el resto (10.983 ha) conforma lo que se conoce como **pastos**

**de montaña.** Una característica común a todos ellos es su elevada altitud, de manera que, dentro del ciclo pastoril anual, juegan todavía un importante papel como **pastos de verano**, tal y como viene haciéndose desde tiempos inmemoriales.

Los pastos de montaña más importantes se ubican en los límites con los territorios vecinos de Navarra y Álava, de manera que entre la Mancomunidad de **Enirio-Aralar**, la Parzonería General de Guipúzcoa y Álava y sus municipios colindantes, acumulan el 56,37% de la superficie de pastos (EUSTAT).

### **ANTECEDENTES HISTÓRICOS**

Históricamente, en Guipúzcoa, el sistema de explotación del ovino latxo se ha caracterizado por ser de tipo extensivo puro, basado en el aprovechamiento de los pastos del valle y de la sierra, con transterminancia, ordeño manual y partos coincidentes con la época de mayor crecimiento de pastos. No obstante, en los años 80 comenzó un proceso de transformación en el sector, que lo hizo evolucionar hasta la actual situación del ovino en Guipúzcoa. Las principales modificaciones propulsoras de este cambio fueron:

- Inicio de **campañas de saneamiento**: Con todo lo que ello conlleva a nivel de salud pública y animal, identificación individual, registros...
- **Impulso económico** desde las instituciones públicas, favoreciendo la mejora de las infraestructuras ganaderas (equipos de ordeño mecánico, nuevas instalaciones, etc.). Hasta ese momento, las ovejas eran estabuladas, únicamente en situaciones climatológicas muy adversas, en el mismo caserío; en cuadras anexas a las casas o bien en “txabolas” cercanas a los caseríos. Las subvenciones dirigidas a la mejora de las instalaciones propulsaron la creación de naves independientes preparadas para la producción ovina propiamente dicha, eso sí, siempre dentro de los terrenos del propio caserío. Además, se comenzaron a instalar las primeras máquinas de ordeño mecánico, uso que se ha ido extendiendo paulatinamente. A día de hoy, prácticamente la totalidad de las explotaciones que denominamos “profesionales” (por vivir exclusivamente de la explotación del ovino) ordeñan de modo mecánico en Guipúzcoa.

- Creación de las **asociaciones profesionales**: Desde los años 89 comenzaron a crearse asociaciones de ganaderos para el control lechero y la mejora genética de la oveja Latxa (E.L.E. Asociación de criadores de ganado Latxo de Guipúzcoa), así como asociaciones profesionales de elaboradores de queso artesanales (Artzai gazta).
- Y como colofón al incentivo para la producción de queso se creó la **denominación de origen del queso Idiazábal**.

Con todo ello, se produce una “profesionalización” del ganadero de ovino, con un ligero aumento del número de ovejas por rebaño y del número total de cabezas en Guipúzcoa, pero con un descenso en el número de explotaciones.

### **SITUACIÓN ACTUAL**

En la actualidad, la actividad ganadera ovina en Guipúzcoa nos muestra dos situaciones bien diferenciadas:

- a) Explotaciones “profesionales”: Dedicadas exclusivamente a la producción ovina y cuyas características generales son:
  - Tamaño medio de la explotación: 434 ovejas.
  - Inversiones importantes en instalaciones (cintas de alimentación, ordeño mecánico, queserías con su pertinente registro sanitario...).
  - Integrados en asociaciones profesionales:
    - De control lechero y mejora genética.
    - De elaboradores artesanos de queso.
    - D.O. Idiazábal

Cabe destacar que, dentro de este grupo de explotaciones profesionales, existen ciertas diferencias entre aquellos pastores que hacen queso en su explotación, con lo cual concluyen todo el proceso productivo a nivel de granja, y aquellos que entregan la leche directamente a la industria quesera. Estos últimos, por lo general, no han realizado tantas inversiones en instalaciones, tienen una menor producción láctea, pero aprovechan más los pastos comunales.



El número de explotaciones de ovino en Guipúzcoa con más de 200 ovejas era de 92 en diciembre de 2012, según el EUSTAT.

b) Explotaciones “no profesionales”: son aquellas en las que la producción ovina no es la única actividad laboral que desarrolla el pastor. Las explotaciones de este tipo a su vez las podríamos dividir en:

- Explotaciones mixtas: donde las ovejas se entremezclan con vacuno de carne y/o con yeguas y en las que, generalmente, algún miembro de la familia, además, se encuentra trabajando en otro sector. Estas explotaciones cuentan con unas 150 cabezas por rebaño y el ovino supone una fuente de ingresos para ese caserío, pero no la única. En consecuencia, las ovejas se explotan menos intensamente. Según el EUSTAT el número de explotaciones de este tipo en 2012 era de 114.
- Pequeñas explotaciones familiares: que son caseríos que prácticamente han abandonado la actividad ganadera y que se dedican a otros trabajos o profesiones, pero que continúan viviendo en el caserío (cabe destacar la cercanía física del mundo rural, del industrial y del urbano en Guipúzcoa debido al reducido tamaño de la provincia). Estos caseríos mantienen pequeños rebaños, menores de 50 ovejas, para limpiar los terrenos, sin apenas fines lucrativos, vendiendo únicamente los corderos que producen, pero sin explotar la producción láctea. En la gestión de estos caseríos influye una cuestión cultural ya que, tradicionalmente, siempre ha habido ganado ovino en los caseríos guipuzcoanos, el cual se encargaba de mantener los montes “limpios”. Los actuales caseros mantienen un pequeño núcleo de ovejas destinadas fundamentalmente a este fin, que se mantienen por motivos sociales y ecológicos. Estas pequeñas explotaciones (2.269 en el año 2012, EUSTAT), tienen una gran importancia en el mantenimiento del ecosistema, la biodiversidad y el paisaje propio de Guipúzcoa.

El presente trabajo ha sido realizado en explotaciones de las que hemos denominado como “profesionales”, ya que son éstas las que están más preocupadas y ocupadas en la obtención de una leche de elevada calidad higiénica y sanitaria.

### **LA GANADERIA en las explotaciones “profesionales” en GUIPUZCOA**

En la actualidad, las ganaderías profesionales de ganado ovino de Guipúzcoa se explotan en un sistema semiextensivo, el cual ha sufrido cierto grado de intensificación durante los últimos 30 años. Las causas que ha promovido esta mayor intensificación han sido:

- Mejora genética de la oveja Latxa y el consecuente aumento en producción láctea.
- Mejora de las instalaciones y del manejo.
- Reconocimiento y aumento del consumo del queso de Idiazábal.
- Cambio paulatino del modo de vida de la sociedad, que ha afectado en igual medida al modo de vida de los ganaderos.

A pesar de que hoy en día el sistema de producción no es tan extensivo como lo era hace 30 años, los pastos y su aprovechamiento siguen siendo la base de la rentabilidad del ganado de ovino latxo en Guipúzcoa.

Las ovejas tienen un único parto al año, el cordero está con la madre de 20 días a un mes, y se sacrifica como lechal, con un peso vivo de 10-13 kg. A continuación las ovejas pasan a ordeño, se ordeñan entre 4 y 6 meses, para finalmente, llegado el verano, secar la totalidad del rebaño hasta el siguiente parto. Tras el secado, todos los ganados son llevados al monte para aprovechamiento de pastos. Allí nos encontramos ante dos grupos principales de sistemas de pastoreo:

- Aquellos que, a partir de los meses de mayo y hasta octubre aproximadamente, suben a las sierras comunales más altas: sierra de Aralar, sierra de Urbia, etc.
- Aquellos que no tienen derecho a pastos comunales y han de aprovechar los pastos bajos, incluso en periodo estival.

Los partos suelen estar agrupados para una mejor gestión por parte del ganadero. La agrupación se realiza, tanto mediante sincronización hormonal con esponjas con progestágenos e inyección de PMSG previa a la inseminación, como, simplemente, mediante el uso del efecto macho, ya que durante la época de lactación los machos no suelen estar en las naves junto con las ovejas.

Las ovejas se bajan de los montes a las explotaciones (caseríos) hacia mediados de **octubre**, donde pasan a suplementarse en pesebre, mientras aprovechan los pastos de alrededor de la explotación para asegurar un buen parto.

Los primeros partos comienzan en **noviembre**. Tal y como hemos comentado anteriormente, en todas las granjas realizan agrupación de partos, o bien para la inseminación o por el efecto macho. Las granjas que inseminan, además echan los machos después de la I.A. para asegurar la cubrición de todos los animales. No obstante, en la mayor parte de las explotaciones suele haber un primer golpe de partos en noviembre-diciembre y otro más suave hacia febrero-marzo (partos de corderas y primas).

Antiguamente los partos solían venir para San José, época que coincidía con los pastos nuevos, y por lo tanto se producía cordero y leche sin apenas suplementación, únicamente aprovechando los pastos primaverales. Algunas de las nuevas explotaciones ecológicas están comenzando a volver a los partos en estas fechas para aprovechar más y mejor los pastos.

Pero volviendo al manejo que se realiza en la mayor parte de las granjas, en **diciembre** los corderos son llevados al matadero, con pesos vivos que varían desde 9 a 13 kilos, aproximadamente, tras un mes de lactación (únicamente se alimentan de leche materna).

La carne de cordero suele alcanzar el máximo precio en Navidad, éste es el motivo principal por el que las fechas de partos se fueron modificando a través de los años para poder vender los corderos en esta época. Sin embargo, la realidad es que hoy en día, el cordero supone una fuente de ingreso ínfima en las explotaciones de ovino de Gipuzkoa, en comparación con los ingresos que aporta la leche.

Tras la retirada de los corderos, las ovejas son llevadas a ordeño dos veces al día. La recría se suele mantener con las madres unos 15 días más, pero, aún así, estas ovejas se llevan a ordeño junto con las demás. Un ordeño se realiza por la mañana y otro por la tarde-noche, con un intervalo entre ellos aproximado de doce horas. La hora del ordeño varía de invierno a primavera, para poder aprovechar mejor los pastos.

Algunas explotaciones pastorean el ganado durante todo el año, pero la mayoría mantienen a las ovejas estabuladas, sin sacarlas a pasto, los meses de noviembre, diciembre y enero y durante este tiempo, los animales son alimentados mediante cintas de alimentación, dos veces al día. En estos meses los pastos son aprovechados, sobre todo, por las yeguas y por el ganado vacío y/o con partos más tardíos.

Hacia **finales de febrero**, las ovejas comienzan a salir a los pastos de alrededor del caserío, ya que siguen ordeñándose, pero ya empieza a haber suficiente hierba para ser aprovechada a diente. Además, después del ordeño, se les suministra maíz, cebada, avena, alfalfa, pulpa de remolacha o soja, dependiendo del precio y disponibilidad de la materia prima. A continuación se saca el ganado al campo, el cual volverá a la nave para el ordeño de la tarde y quedará estabulado durante la noche.

**A partir de Mayo-Junio**, por lo general, el ganado vuelve a sacarse tras el ordeño de la tarde y duerme fuera, ya que el día alarga mucho y pueden seguir aprovechando los pastos tras el ordeño de la tarde.

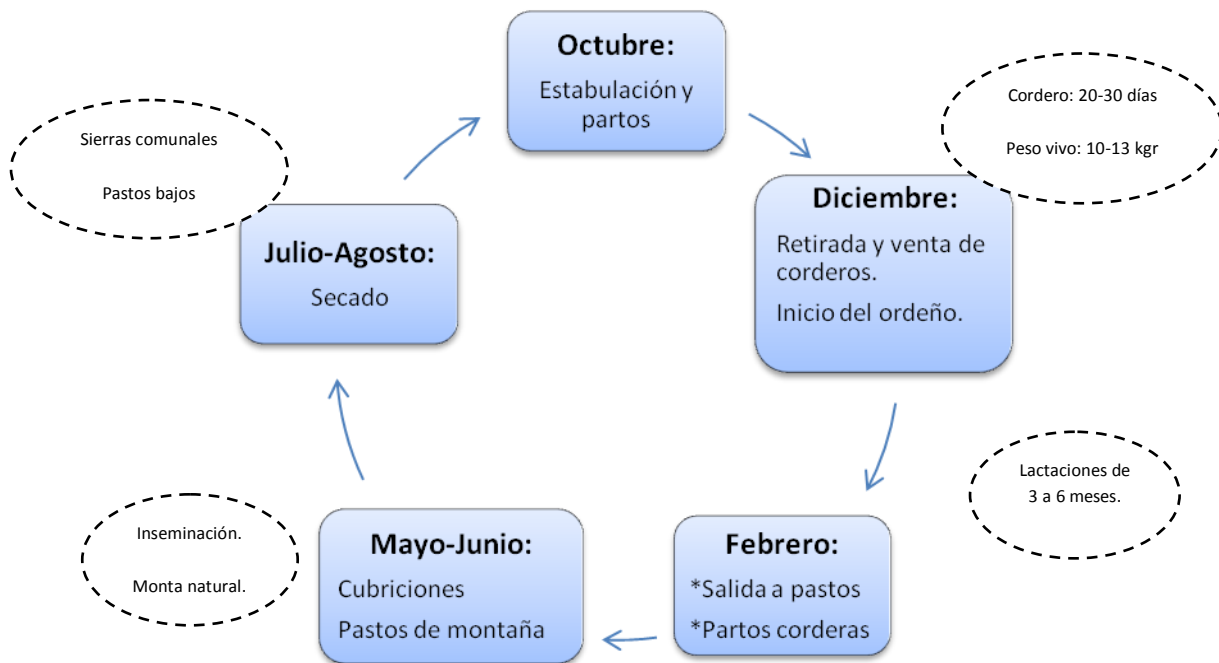
La mayoría de los pastos bajos o del valle están cercados, divididos en parcelas, lo que evita en gran medida que el pastor tenga que estar físicamente presente mientras el ganado come; básicamente basta con que se limite a vigilar y cambiar de campos cuando haya que hacerlo. Esto supone un importante ahorro en mano de obra.

El secado definitivo de los animales se realiza en la mayoría de los rebaños de Guipúzcoa, como muy tarde, a **finales de Julio**. Por lo general, se seca más tarde en aquellas explotaciones que no tienen acceso a los pastos comunales altos.

Si el año va bien y no hay grandes sequías, el aprovechamiento de los pastos sin suplementación añadida, se realiza desde **junio hasta septiembre**, a excepción de las corderas, a las que cada día más, se tiende a suplementar.

Además, en primavera, si el pasto es abundante, se realizan un par de cortes que se henifican o ensilan para su posterior uso en invierno. Por otro lado, en Guipúzcoa, aún hay un elevado número de cabezas de ovino que sube a los montes altos o sierras comunales los meses de Mayo a Octubre. Algunas de estas explotaciones realizan las inseminaciones en la sierra, otras prefieren realizar las cubriciones abajo y subir un poco más tarde.

A continuación mostramos en un esquema el resumen del manejo del ovino en las explotaciones “profesionales” de Guipúzcoa.



## 2.PRODUCCIÓN LÁCTEA EN EL OVINO LATXO

La explotación del ovino Latxo en Guipúzcoa está destinada a la producción láctea con el fin de elaborar el queso denominación de origen Idiazábal. Con lo cual, en los últimos años se han llevado a cabo programas de mejora destinados a aumentar la producción láctea en esta raza.

Entendemos por programa de mejora al conjunto de actuaciones diseñadas y desarrolladas por una asociación de criadores de una raza oficialmente reconocida o por un servicio oficial, orientadas a la conservación, mejora y/o fomento de la raza correspondiente.

Tal y como hemos comentado anteriormente, la mejora productiva fue propulsada desde las instituciones públicas a través de subvenciones destinadas a promover las medidas necesarias para mejorar las producciones: controles lecheros, inseminaciones artificiales, ayudas para mejora de instalaciones, etc.

En el año 1981 se inició un plan de conservación y mejora de esta raza autóctona y se crearon las Asociaciones de Criadores territoriales en la Comunidad Autónoma del País Vasco (AGORALA en Álava, ACOL en Vizcaya y ELE en Guipúzcoa). Con la creación de las asociaciones, en el año 1982 se puso en marcha el programa de Control Lechero. Tres años más tarde (1985) comenzó a realizarse el Control Lechero también en Navarra y en 1988 se creó la asociación en dicho territorio (ASLANA). Pero no fue hasta el año 1989 cuando se agruparon las cuatro asociaciones en la Confederación de Asociaciones de Criadores de Ovino de razas Latxa y Carranzana (CONFELAC).

La evolución censal en CONFELAC ha sido:

AÑO		1983	1985	1990	1995	2000	2005	2010
<b>CAV</b>	Explotaciones	262	263	239	208	194	175	165
	Ovejas	54.457	61.392	63.786	64.031	63.791	65.178	60.594
<b>NAVARRA</b>	Explotaciones	—	—	44	48	66	67	59
	Ovejas	—	—	14.663	21.343	18.022	30.684	30.784
<b>TOTAL</b>	Explotaciones	262	263	283	256	260	242	224
	Ovejas	54.457	61.392	78.449	85.374	81.813	95.862	91.378

Tabla 1: Datos de Confelac emitidos por el Ministerio de Medio ambiente, y medio rural y marino (<http://aplicaciones.magrama.es/arca-webapp>).

Tal y como se puede observar en la tabla 1, con la creación de la Asociación Navarra en 1988 se produjo un importante incremento del número de rebaños, aunque en los últimos años se ha observado un ligero descenso, debido, fundamentalmente, al cese de la actividad por parte de algunos ganaderos. No obstante, el censo de ovejas presentes en la asociación ha ido aumentando progresivamente y en los últimos 5 años se mantiene más o menos estable, con una ligera tendencia al descenso. Estos datos evidencian un aumento considerable del tamaño de los rebaños a lo largo de estos años. Si comparamos los datos de la tabla de CONFELAC con el resto de la población de Latxa y Carranzana, observamos que, aproximadamente una cuarta parte del total del censo en la CAV (60.594 ovejas de un total de 213.763) es el que se encuentra en Control Lechero y el tamaño medio de los rebaños que son socios de CONFELAC es mucho mayor que el del resto de la población: En Guipúzcoa, 57 de las 92 explotaciones con más de 200 ovejas existentes están integradas en Confelac, y no podemos olvidar que existen además 2.383 explotaciones con menos de 200 ovejas. En la actualidad (2012) CONFELAC cuenta con 84.347 ovejas registradas, distribuidas en 228 rebaños, de los cuales, 53.625 animales de 159 explotaciones proceden de la CAV (el resto son los censos correspondientes a Navarra). El estudio llevado a cabo en este trabajo ha sido desarrollado en algunas de las explotaciones de la confederación.

Como observamos en la Tabla 2 y en la Figura 1, la evolución productiva de los rebaños integrados en Control lechero en la CAV expresada en base a la Lactación Tipo (la estimación de la leche producida desde el parto hasta el día 120 de la lactación, expresada en litros), se ha incrementado de manera exponencial desde el año 1983 hasta la actualidad.

	1983	1985	1990	1995	2000	2005	2010
LCR	74	96	104	127	131	136	163
LCN	96	110	113	123	128	143	160

Tabla 2: Evolución de la producción de la LCR: Latxa cara rubia y la LCN: Latxa cara negra en las últimas 3 décadas expresada en datos productivos de Lactación Tipo.

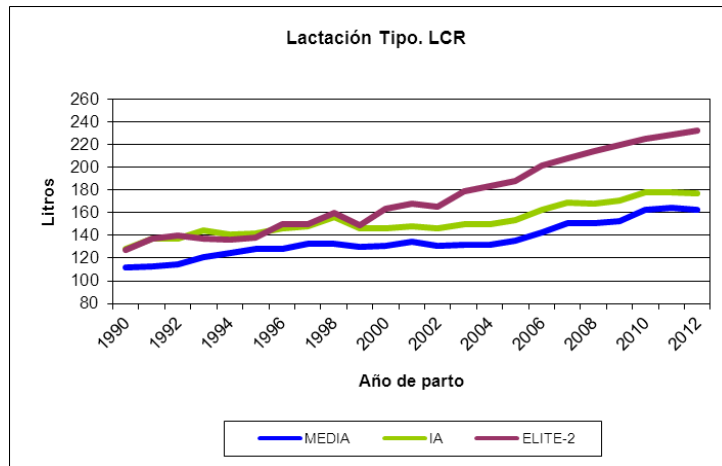


Figura 1. Muestra la evolución de la lactación tipo en rebaños LCR (Confelac).

A continuación pasaremos a describir los datos productivos actuales (campaña 2011-2012) de la oveja Latxa en la Comunidad Autónoma Vasca (CAV) y en Guipúzcoa:

#### Medias de lactación en la CAV:

- Lactación tipo (a 120 días): 168 litros
- Lactación real: 207 litros
- Leche ordeñada: 164 litros (teniendo en cuenta la leche ingerida por los corderos durante el amamantamiento).
- Días de ordeño: 164 (si excluimos el mes de amamantamiento).

#### Medias de lactación en Guipúzcoa:

- Lactación tipo: 170 litros.
- Lactación real: 215 litros.
- Leche ordeñada: 181 litros.
- Días ordeñados: 153 días.

Sin embargo, hay que resaltar que los rebaños de “élite”, aquellos que llevan varios años realizando un trabajo más intenso a nivel genético, así como de manejo, sanidad, etc., presentan un desarrollo productivo superior, y hablamos de medias de lactación tipo de 233 litros para la LCR (Latxa cara rubia) en CAV y 212 litros para la LCN (Latxa cara negra) en CAV (Datos obtenidos de Confelac).



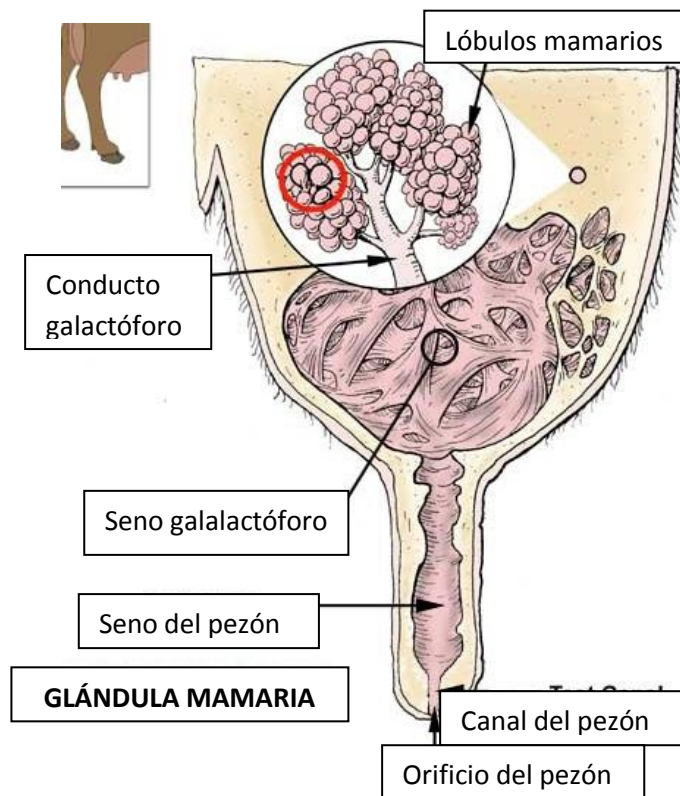
## **RECUERDO ANATÓMICO Y FISIOLÓGICO**

A continuación vamos a realizar un breve recordatorio de la anatomía y fisiología de la glándula mamaria, que nos va a servir de base de conocimiento para el entendimiento de las mamitis, foco de estudio del presente trabajo.

En la oveja, a diferencia de los bóvidos, la ubre está constituida por dos glándulas mamarias ubicadas en la región inguinal, a izquierda y derecha de la línea ventral media. Las glándulas están separadas internamente por el ligamento suspensor medio y exteriormente por el surco intermamario.

La unidad funcional de la glándula mamaria es el alvéolo, que tiene forma esférica o piriforme y está compuesto por un estrato simple de células epiteliales que rodean la cavidad alveolar. Estas células epiteliales secretan leche hacia la luz alveolar desde donde es derivada por un pequeño conducto. Cada alvéolo está rodeado por algunas células mioepiteliales y por una red delicada de capilares sanguíneos. Las células mioepiteliales son contráctiles y juntas comprimen el alvéolo durante la expulsión de la leche.

Los alvéolos se agrupan en pequeños racimos o lobulillos que son drenados por pequeños conductos. Los lobulillos a su vez se agrupan en grandes racimos o lóbulos y estos son drenados por conductos de gran tamaño. La unión de estos grandes conductos que drenan los lóbulos forma conductos todavía más grandes que derivan finalmente en la cisterna de la glándula o seno lactóforo. Ésta se vacía en la cisterna del pezón, que es una cavidad en el interior de la ubre y se localiza justo por debajo de la cisterna de la glándula. La leche eventualmente sale del pezón a través de la parte más angosta del mismo o canal, en la punta del pezón.



Las células epiteliales de los alvéolos cumplen la función de síntesis de proteínas, carbohidratos y lípidos de la leche. Estas células pueden sintetizar  $8 \times 10^6$  moléculas de lactosa y de ácidos grasos por segundo. Esto hace que los requerimientos de nutrientes por parte de estas células sean muy elevados y sea necesaria la provisión continua de los mismos para producir leche. Esta elevada demanda de nutrientes por parte de la glándula mamaria solo puede ser satisfecha a través de una importante irrigación sanguínea; se calcula que por cada volumen de leche producida se necesitan 500 volúmenes de sangre pasando por la glándula mamaria.

#### A. DESARROLLO DE LA GLÁNDULA MAMARIA

En el momento del nacimiento ya están diferenciados los pezones, las cisternas de las glándulas y las de los pezones y cierto número de conductos excretores. Antes de alcanzar la madurez sexual la glándula mamaria se desarrolla a la misma velocidad que el resto del cuerpo. Después de la pubertad el crecimiento de la glándula se produce con cada ciclo estral. El incremento en peso de la ubre se origina principalmente con el crecimiento de conductos excretores preexistentes y en la diferenciación y crecimiento de nuevos conductos. Este crecimiento se produce bajo la influencia de las hormonas

ováricas: estrógenos y progesterona, junto con algunas hormonas de la hipófisis anterior: la prolactina (LTH) y la hormona de crecimiento o somatotropina (STH).

Pero es durante la gestación cuando se produce un aumento marcado del tamaño de la glándula mamaria. La diferenciación de los alvéolos y de los tabiques fibrosos que los agrupan en lobulillos y a estos en lóbulos, sólo se inicia durante la gestación y dicha diferenciación se acelera poco después de verificada la fecundación. Poco antes del parto cesa el crecimiento y desarrollo de la ubre y las células epiteliales de los alvéolos incrementan notablemente la absorción selectiva y la síntesis de los componentes lácteos, procesos que en realidad se han iniciado poco después de promediar el período de gestación.

La lactancia se inhibe durante la preñez. Esto se produce porque las hormonas esteroides ováricas, particularmente la progesterona, inhiben parcialmente la liberación de las hormonas lactogénicas (la más importante de estas hormonas es la prolactina) de la hipófisis anterior y también los tejidos mamaros pueden responder en menor grado a las hormonas lactogénicas. Después del parto, los niveles de las hormonas ováricas disminuyen y la producción de las hormonas lactogénicas de la hipófisis anterior (adenohipófisis) aumenta. La producción y/o liberación de prolactina desde la adenohipófisis está bajo control hipotalámico directo. El hipotálamo produce el factor de inhibición de la prolactina (FIP) que inhibe la producción de prolactina y/o liberación desde la adenohipófisis.

En la mayoría de las especies animales el mantenimiento de la secreción láctea depende, además de varias hormonas, de los estímulos del ordeño, de la succión y de la extracción de la leche de las glándulas mamaras. Si los animales no son ordeñados o si se los ordeña incompletamente, el período de lactancia se reduce mucho.

## B. BAJADA DE LA LECHE

El proceso completo de la bajada de la leche comprende su salida desde la luz del alvéolo hasta el interior de los conductos, siguiendo un reflejo neurohumoral y la retirada de la leche desde las cisternas y de los conductos de la glándula mamaria. Todos los componentes de la leche son, en última instancia, recibidos por la cavidad

alveolar. Al aproximarse el momento del parto e incrementarse la absorción selectiva y la actividad anabólica, estos componentes se mezclan con secreciones preexistentes en los alvéolos, dando origen al calostro, el cual tiene características nutricionales distintas a las de la leche.

En primera instancia, el pasaje del contenido alveolar hacia los grandes conductos del sistema excretor y hacia las cisternas se verifica sin la intervención de mecanismos hormonales y/o nerviosos, razón por la cual se lo denomina pasaje pasivo. La efectividad de este proceso es sólo parcial, ya que del total de la producción láctea encontrada en la ubre antes del mamado u ordeño sólo un bajo porcentaje se localiza en los grandes conductos y en las cisternas. El resto de la producción es retenido por los alvéolos y por los pequeños conductos y sólo pasará a ocupar los grandes conductos y las cisternas a través del denominado pasaje activo.

La salida de la leche se produce por la contracción de las células mioepiteliales bajo la influencia de la oxitocina. La expulsión siempre acompaña al retiro activo, como en la succión o el ordeño.

El reflejo neurohumoral de la expulsión de leche, generalmente proviene de la estimulación nerviosa del pezón como resultado de la palpación o contacto directo con las manos del ordeñador, con las pezoneras o con las crías y, por supuesto, la succión, así como también los ruidos y las visiones asociadas a la práctica del ordeño o mamado. Todos los estímulos llegan al sistema nervioso y a través del hipotálamo producen en la neurohipófisis la liberación de oxitocina hacia el torrente sanguíneo. Luego la oxitocina llega a la glándula mamaria y produce la contracción de las células mioepiteliales, con lo cual se impulsa en forma violenta la leche desde los alvéolos hacia los pequeños conductos interlobulares y las cisternas. Su contracción acelera el flujo lácteo.

La bajada de la leche puede inhibirse por temor o por disturbios emocionales cuando se libera adrenalina. La adrenalina, también conocida como la hormona del miedo o del dolor, no sólo previene la liberación de oxitocina sino que también provoca la vasoconstricción de los vasos sanguíneos que se dirigen hacia la glándula mamaria, previniendo así que la oxitocina penetre en las células mioepiteliales.

## **COMPOSICIÓN DE LA LECHE**

La leche es una disolución acuosa de sales y azúcares que contiene en suspensión micelas de proteína y glóbulos de grasa.

La composición de la leche va a variar en función de multitud de factores, fundamentalmente, el estado de salud de los animales, del manejo y de la alimentación y, además, experimenta cambios durante el curso de la lactación, los cuales deben ser considerados en el momento de la elaboración del queso, para así poder alcanzar un producto final de calidad.

La reacción inflamatoria de la ubre produce la afluencia a la leche de células y diferentes sustancias de la sangre, entre las que destacan las proteínas séricas. Asimismo, la reacción inflamatoria produce la liberación de proteínas de las propias células secretoras, que podrían servir para indicar el grado de lesión. Este es el caso de la NAGasa, un enzima lisosómico de las células epiteliales secretoras, cuyo incremento en leche es indicativo de una reacción inflamatoria a nivel local (test de la NAGasa).

## **LA MAMITIS EN EL GANADO OVINO**

Se denomina mamitis o mastitis a la inflamación de la glándula mamaria, cuyo principal origen suele ser una infección bacteriana.

La mamitis en ovino resulta un proceso de gran importancia por sus consecuencias a nivel económico (es el principal motivo de desvieje en el ganado ovino de leche, coste en tratamientos, disminución en el crecimiento de los corderos...), higiénico (problemas sanitarios que además afectan a la salud pública como consecuencia de la comercialización y elaboración de productos lácteos con leche de calidad higiénico sanitaria deficiente) y legal.

Las mamitis se pueden clasificar en:

- Clínicas
- Subclínicas
- Crónicas

## A. MAMITIS CLÍNICAS

**Las mamitis clínicas** presentan síntomas evidentes de alteración y afección de la ubre, con alteraciones cuantitativas, con disminución de la cantidad de leche o desaparición total de la misma, y cualitativas, que producen cambios de la apariencia macroscópica de la leche así como cambios en su composición.



Imagen 1. Mamitis clínica. Foto: Ferrer L.M

Existen diferentes clasificaciones dentro de las mamitis clínicas, que denominan mamitis **hiperaguda**, cuando se acompaña de una reacción sistémica; **aguda**, cuando existen evidencias de una inflamación severa en la mama, pero sin reacción sistémica y **subaguda**, cuando los síntomas clínicos de inflamación de la mama son menos evidentes que en las agudas.

En las explotaciones de ganado ovino de leche del País Vasco, por lo general, la **prevalencia de las mamitis clínicas** no supera el 5% por campaña (Marco J C., 1994). Del mismo modo, en el estudio de *Arsenault et al. (2008)* realizado en Quebec sobre una población de ovino de carne de 2.792 ovejas, se obtuvieron prevalencias para las mamitis clínicas que iban del 0% al 6,6%.

La bacteria más frecuentemente aislada de los casos de las mamitis clínicas es *Staphylococcus aureus*, seguida por los SCN (*Staphylococcus coagulasa negativos*) y a

más distancia: *Streptococos, Enterobacterias, Pasteurellas, Pseudomonas...*(Bergonier D. y Berthelot X., 2003). Sin embargo, Arsenault et al. (2008) destacan como principales microorganismos aislados en las muestras procedentes de casos de mamitis clínicas a *Manhemmia haemolytica* (26%) y *Staphylococcus aureus* (23%), seguidos por SCN (17%).

La persistencia de las mamitis clínicas durante la lactación va a depender de varios factores: el nivel técnico del ganadero; el tamaño del rebaño; de la forma de pago de la leche (en caso de venta a industrias, las cuales realizan penalizaciones a partir de determinados recuentos) y de si transforman los ganaderos esa leche ellos mismos en queso o en otro producto.

Exceptuando los casos de mamitis hiperagudas, no siempre se eliminan rápidamente del rebaño los animales con mamitis, por lo que muchos de estos casos acabarán desembocando en mamitis crónicas con el paso del tiempo (Bergonier et al., 2003).

## B. MAMITIS SUBCLÍNICAS

**Las mamitis subclínicas** se caracterizan por la presencia de inflamación intramamaria pero sin evidencia de síntomas clínicos. Estas mamitis subclínicas a menudo se acompañan de un aumento significativo del recuento de células somáticas y con una disminución en la producción lechera (Watson y Buswell, 1984; Romeo et al., 1983; Fthenakis y Jones, 1990) y por ende en el crecimiento de los corderos.

Estas consecuencias no fueron claramente establecidas hasta la aplicación en la especie ovina de pruebas indirectas de diagnóstico de campo, y el California Mastitis Test (CMT), inicialmente utilizado en bovino, se comenzó a utilizar ampliamente en el diagnóstico de las mamitis subclínicas en ovino (Ziv et al., 1968; Schlam et al., 1971; Arranz y Beltrán de Heredia, 1989).

**La prevalencia de las mamitis subclínicas** puede oscilar entre el 9% y el 50%, dependiendo de la explotación (Watson and Buswell, 1984; Marco Melero, 1994; Kirk and Glenn, 1996). Los principales agentes causantes de mamitis subclínicas en ovino son los SCN y, por lo general, se acompañan de un aumento en el recuento de células somáticas. De modo que, el recuento de muestras consecutivas de células somáticas

en tanque resulta una útil herramienta para determinar el estatus de infección intramamaria en el rebaño.

Las bacteriologías del género *Staphylococcus* representan el grupo de agentes más frecuentemente aislados de mamitis subclínicas, siendo responsables del 75-80% de los casos (*Bergonier et al., 1999; Jones y Watkins, 1998; Menzies y Ramanoon, 2011*).

En rebaños de España cuyos recuentos celulares oscilaban entre 250.000 cels/ml y 1 millón de cels/ml se estimaron prevalencias de mamitis subclínicas de entre el 16% y 35%, respectivamente (*Romeo M., Ziluga I. y Marco J., 1998*).

**La persistencia de las mamitis subclínicas** durante la lactación depende en gran medida del patógeno que las produce, pero, por lo general, es una persistencia alta, puesto que *SCN*, los gérmenes más comunes, presentan una elevada prevalencia en las explotaciones ovinas de Guipúzcoa y, además, la detección y eliminación de los animales afectados no suele ser todo lo precoz y eficaz que debiera. La presencia de las mamitis subclínicas durante el periodo seco es un factor importante a considerar de cara a establecer estrategias de control.

Hay estudios que demuestran que en el ganado ovino se produce un rango de autocuración que oscila entre el 35% y el 67%. Esta variación está condicionada por el tipo de manejo productivo, sobre todo periodos secos más o menos cortos (*Esnal et al. 1994; Bergonier et al. 1996; Hueston et al., 1989; Ahmad et al., 1992*).

### C. MAMITIS CRÓNICAS

**Las mamitis crónicas** se definen como inflamaciones de la glándula mamaria que se prolongan en el tiempo, pudiendo llegar a desarrollar lesiones irreparables en la ubre, por lo que a su vez las mamitis crónicas pueden ser: subclínicas, cuando aún no existen lesiones apreciables en la glándula mamaria, o clínicas, con lesiones en la ubre irreparables.

El estudio realizado por *Marco (1994)*, sobre explotaciones de ovino de leche de raza Latxa en la Comunidad autónoma Vasca, describe prevalencias de lesiones mamarias de 16,8% de las ovejas.





Imagen 2. Mamitis crónica con presencia de lesión nodular. Foto: Ferrer L.M

#### D. FUENTES DE INFECCIÓN

Las principales **fuentes de infección** a tener en cuenta son los animales portadores y las infecciones mamarias subclínicas. Concretamente, los principales reservorios de *Staphylococcus* son los animales con mamitis subclínicas y/o crónicas y también aquellos animales que presentan lesiones cutáneas en los pezones, aunque *SCN* y *S. aureus* también se pueden aislar en cultivos procedentes de pieles de pezón sanas, así como de piel de orificios externos (Burriel A.R., 1997; Scott P.R et al., 1997).

Otra vía importante de contagio sería a través de los corderos, al transmitir microorganismos existentes en sus tonsilas en el periodo de amamantamiento, como por ejemplo *Mannhemia haemolytica*, que tiende a producir mamitis clínicas de tipo agudo (Omaleki L., Barber S.R., Allen J.L. y Browning G., 2010).

Sin embargo, otras bacterias productoras de mamitis se encuentran en el medio ambiente, tales como *Enterococcus* (en las camas en mal estado) y *Pseudomonas* (en agua o ambientes húmedos) (Scott M.J y Jones J.E., 1998).

Además, no podemos olvidar la potencial fuente de infección que puede resultar una máquina de ordeño con pezoneras sobreutilizadas y/o con una incorrecta limpieza y desinfección del circuito, así como las manos del ordeñador en caso de ordeño manual, sobre todo en el caso de *Staphylococcus* (Ziluga et al., 1998; Burriel, 1998).

## PROGRAMA PARA LA MEJORA DE CALIDAD DE LA LECHE EN GIPUZKOA

Dada la importancia que tiene a distintos niveles y ámbitos el problema de las mamitis en el ovino de leche y la calidad de la leche y puesto que en Guipúzcoa la explotación ovina pasa por ser una explotación cuyo principal producto es el queso de Idiazábal, queso realizado a partir de leche cruda, desde la diputación de Guipúzcoa, se promovió la instauración de un programa de calidad de leche, dirigido a todos los pastores de la provincia, cuyo objetivo era el control y la mejora de la calidad de la leche en las explotaciones ovinas de Guipúzcoa.

El programa se puso en funcionamiento durante la campaña 1999-2000 y, tras 13 años de realización ininterrumpida, todavía hoy se sigue implementando.

El programa se coordina desde la Asociación de criadores de la oveja Latxa en Guipúzcoa (E.L.E.) y es llevado a cabo por 2-3 veterinarios, contratados para tal fin. El funcionamiento del programa ha sufrido diferentes variaciones desde sus inicios hasta la actualidad, variaciones sobre las que nos parece importante hacer hincapié, ya que ayudan a conocer mejor la realidad actual de las explotaciones ovinas en Guipúzcoa.

En un principio, el programa fue dirigido a las explotaciones que contaban con un censo superior a 100 animales; por lo tanto, se vieron incluidas, tanto aquellas explotaciones con dedicación exclusiva al ovino, como aquellas explotaciones mixtas o con dedicación parcial que, como hemos visto, son tan numerosas e importantes en Guipúzcoa.

Además, no debemos olvidar que entre los pastores “profesionales” (aquellos con dedicación exclusiva) tenemos dos situaciones bien diferenciadas:

- Por una parte nos encontramos con los **pastores que no hacen quesos**, y que por lo tanto **entregan** toda la leche a alguna de las tres **industrias** que funcionan en Guipúzcoa. Estas explotaciones, generalmente, cuentan todavía con instalaciones obsoletas, sin ordeño mecánico y con naves antiguas, a pesar de tener un número elevado de ovejas (una media de 500). Además, tienen una producción láctea por oveja menor que la de los queseros, porque la mayoría de ellos no están integrados en la asociación de mejora genética

(únicamente el 20% de los ganaderos integrados en E.L.E. no son elaboradores de queso). Por lo tanto, son explotaciones con un mayor número de animales, pero con menores inversiones en instalaciones y alimentación. Aprovechan en mayor medida los pastos, hacen uso de un mayor número de hectáreas y muchos de ellos pasan los periodos estivales en las sierras o montes altos.

Las industrias que les recogen la leche realizan toma de muestra de la leche de tanque, por lo que cada ganadero ha de tener como mínimo 4 muestras analizadas y válidas en las que se indican: los recuentos celulares, la bacteriología y la presencia o no de inhibidores, así como la posible presencia de agua añadida en la leche. Estas muestras de tanque son analizadas en el laboratorio interprofesional de Lekunberri (ILL Lekunberri) y los resultados están a disposición tanto del ganadero, como de la diputación, y, desde que se dio inicio al programa de calidad de leche, también tienen acceso a los mismos en E.L.E., puesto que las actuaciones y avisos se pasarán y coordinarán desde esta asociación.

- Por otra parte, contamos con **los ganaderos elaboradores de queso**, que a su vez son explotaciones, en su mayoría, con un perfil muy concreto. El número de animales por explotación ronda alrededor de las 430 cabezas. Son explotaciones que han realizado muchas más inversiones en instalaciones (máquinas de ordeño mecánico, naves nuevas, queserías con su correspondiente registro sanitario, cámaras de queso, cintas de alimentación, parrillas en naves...) y genética. Muchas de ellas están integradas en la asociación de mejora genética de Guipúzcoa, y, prácticamente todas, en la asociación de elaboradores artesanos de queso (Artzai gazta). Estas explotaciones se ven obligadas a llevar su APPC correspondiente y, como parte del mismo, han de tener resultados de análisis de leche de tanque de, como mínimo, 2 muestras al mes, en las que se analizarán:
  - Recuentos de células somáticas y bacteriología de cada muestra
  - Composición de la leche ( prot., grasa, extracto seco...).
  - Recuentos de *S. aureus* en una de las muestras mensuales.
  - Recuentos de coliformes, *salmonella* y butíricos en una muestra mensual, como mínimo.

Por otra parte, y aunque no sea obligatorio, desde Artzai gazta, instaron a analizar muestras de tanque para detección de *listeria monocytogenes*, de forma voluntaria y en la periodicidad que los pastores determinen.

Hacemos hincapié en la diferenciación entre ganaderos “queseros” y “no queseros” porque los problemas e inquietudes que presentan referentes a la calidad de la leche son, a menudo, muy distintos y, por lo tanto, requieren un trato diferenciado, ya que modifican sustancialmente los resultados obtenidos.

Como hemos comentado, al principio se actuó en todas las explotaciones con censos superiores a 100 ovejas y se aplicaba el programa de control de la calidad de la leche de manera voluntaria en aquellas explotaciones que así lo requerían. Por otra parte, E.L.E. (la responsable de coordinar y centralizar los datos) recibía periódicamente tanto los resultados de las tomas de muestras incluidas en el programa, como las analíticas concernientes a las muestras tomadas por las industrias, así como las correspondientes a las muestras de tanque emitidas por los elaboradores de queso. Una vez analizados todos los resultados, se comenzaba a avisar a aquellos ganaderos que tenían en su haber 2 o más muestras consecutivas con recuentos superiores a 600.000 células somáticas, o recuentos bacteriológicos superiores a 500.000 UFC. Por supuesto, los avisos por recuentos elevados de *S. aureus* en tanque eran (y son) inmediatos y prioritarias las actuaciones por el problema de salud pública que puedan acarrear.

Las dos primeras campañas en las que el programa de calidad de leche se puso en marcha, se actuó en un número elevado de explotaciones (136 y 81), y los principales motivos de aviso y/o actuación eran: los recuentos celulares elevados, la bacteriología elevada, ambos parámetros elevados, actuaciones por recuentos elevados de *S. aureus* en tanque y problemas de mamitis clínicas.

No obstante, y a pesar de que esa era la situación entre las explotaciones de más de 100 ovejas sobre las que se trabajaba, pudimos observar que la mayoría de las explotaciones que tenían problemas de bacterias y/o de células, y por lo tanto serios problemas de mamitis subclínicas, eran aquellas explotaciones que entregaban leche a las centrales, no elaboradoras de queso y con escaso interés por la situación higiénico

sanitarias de la leche que producían. Con los años, hemos podido observar que se trata de un problema de mentalidad del ganadero; no acaban de creerse que el hecho de que tengan unos recuentos celulares elevados sea indicativo de un alto grado de mamitis subclínicas y de que ello incida directamente en un descenso de la producción láctea. Lo único que realmente ven, creen y les preocupa es no tener demasiadas mamitis clínicas, y que las células en tanque no lleguen a 1 millón, ya que es a partir de esas cifras cuando desde las industrias lecheras comienzan a establecer los descuentos.

A pesar de acudir a estas explotaciones, realizar actuaciones e intentar mentalizar de la importancia de eliminar los animales con lesiones y detectar los subclínicos, los ganaderos no acababan de ver la importancia y la situación no mejoraba sustancialmente.

Por lo tanto, a partir de la campaña 2003-2004 se decidió dedicar todo el esfuerzo humano y económico a aquellas explotaciones que realmente querían mejorar la calidad higiénico-sanitaria de la leche que producían a pesar de que el programa seguía abierto a la totalidad de los rebaños con más de 100 ovejas. Ello condujo, por una parte a reducir el número de rebaños sobre los que se actuó, y por otra parte, a modificar la principal causa de actuaciones, ya que el perfil de los ganaderos que demandaban el programa era otro (queseros) y, por lo tanto, sus características e intereses también eran distintos. En la Figura 2 vemos la evolución del número de actuaciones que se realizaron en el marco del programa de calidad de leche en la campaña del 2003-2004 y en la del 2008-2009 (en las gráficas se cita únicamente el año de inicio de la campaña, pero en el sistema de explotación de ovino latxo siempre consideramos periodos bianuales, con el inicio de la campaña el 1 de Septiembre del año pertinente y el fin de ésta campaña suele considerarse el 31 de agosto del año siguiente).

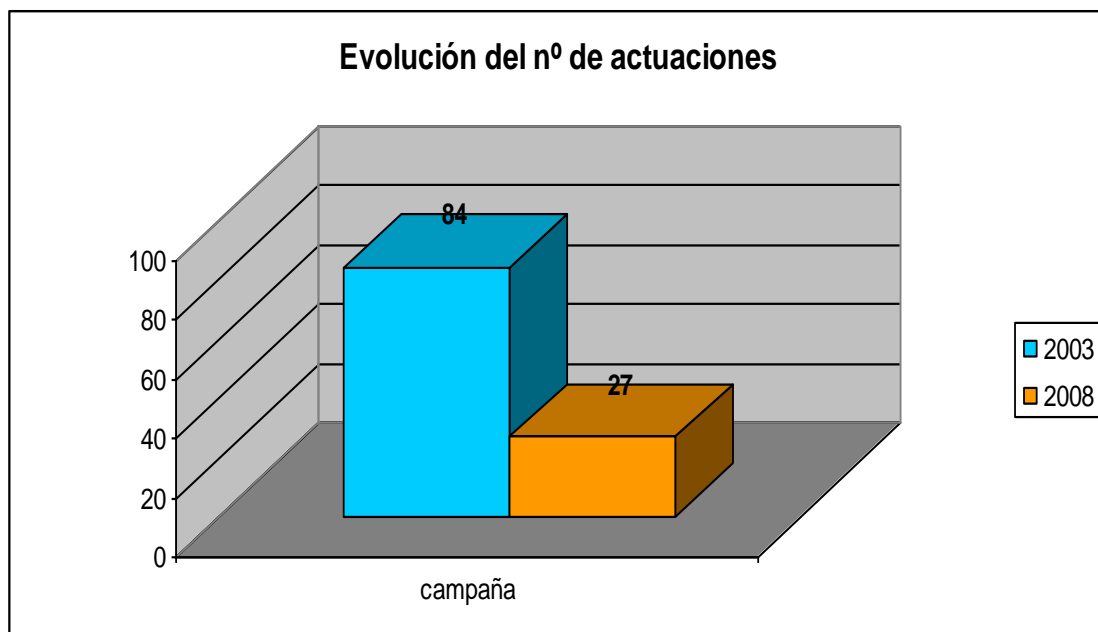


Fig. 2. Evolución actuaciones del programa de la calidad de leche.

Y en las Figuras 3, 4 y 5 podemos observar la comparativa de las diferencias que presentaban las explotaciones sobre las que se actuaba en la campaña del 2003 y en la del 2008.

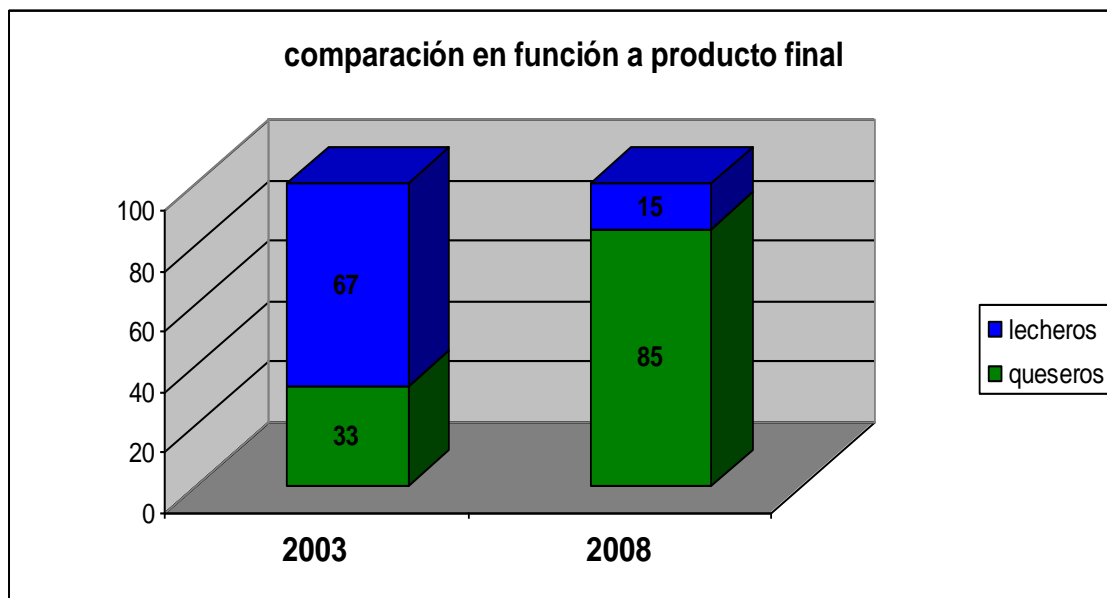


Fig. 3. Diferencias entre las explotaciones sobre las que se actuó en las campañas del 2003 y 2008 en función a su producto final.

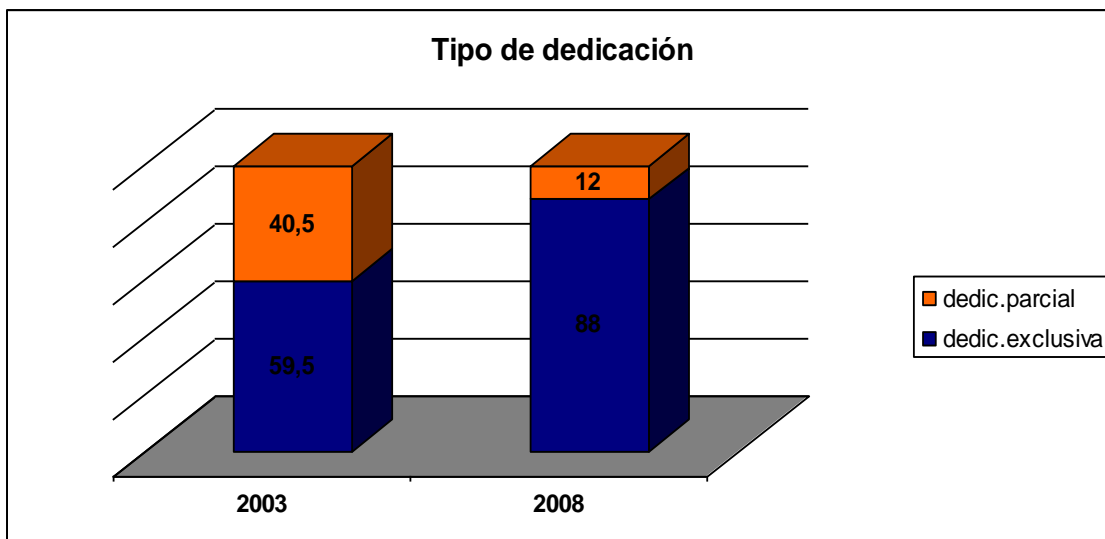


Fig. 4. Diferencias entre el tipo de dedicación (parcial o exclusiva) entre las explotaciones sobre las que se actuó en 2003 y en 2008.

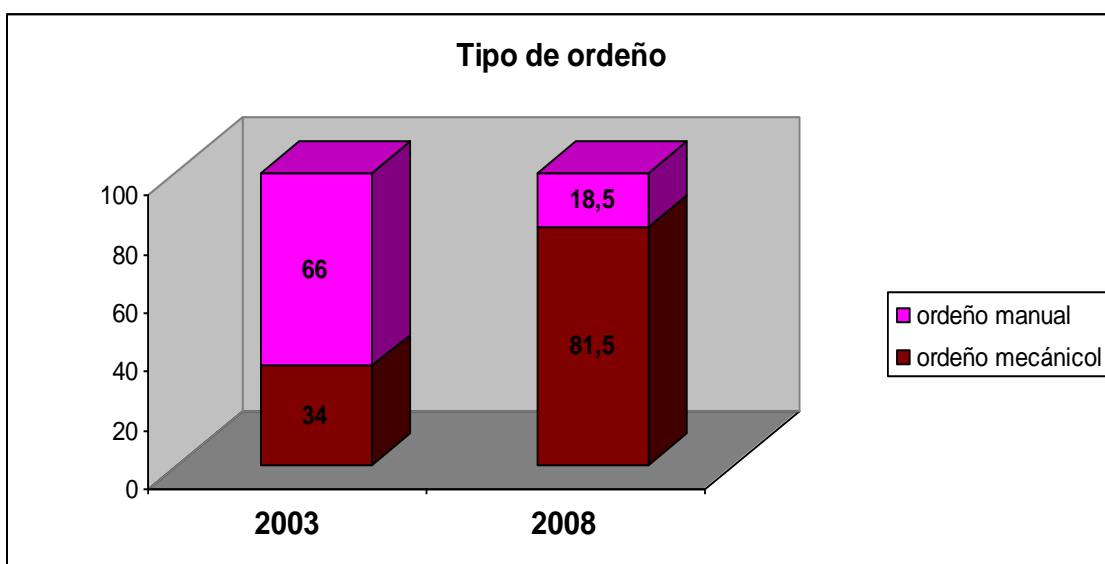


Fig. 5. Diferencias entre el tipo de ordeño que tenían las explotaciones sobre las que se actuó en el programa de calidad de leche en el año 2003 y el 2008.

Los ganaderos “queseros” están mucho más concienciados con la importancia de obtener una buena calidad de leche, ya que ellos mismos ven las consecuencias sobre sus quesos si parten de una leche de calidad insuficiente. Es por ello que, las medias anuales de recuentos celulares en estas explotaciones que realizan quesos son mucho más bajas que en los lecheros.

Estos ganaderos productores de queso están más acostumbrados a eliminar animales con lesiones mamarias, a realizar CMT con cierta periodicidad y acuden al programa de calidad de leche, fundamentalmente, como herramienta de control del estado sanitario de las ubres y, ocasionalmente, ante casos de recuentos elevados de *S. aureus* en tanque o ante problemas de mastitis clínicas. En la Figura 6 observamos las diferencias en los motivos de actuación del programa entre las campañas del 2003, en las que todavía se actuaba en todas las explotaciones de más de 100 cabezas y la del 2008, en la que las actuaciones estaban ya centradas en las explotaciones “queseras”.

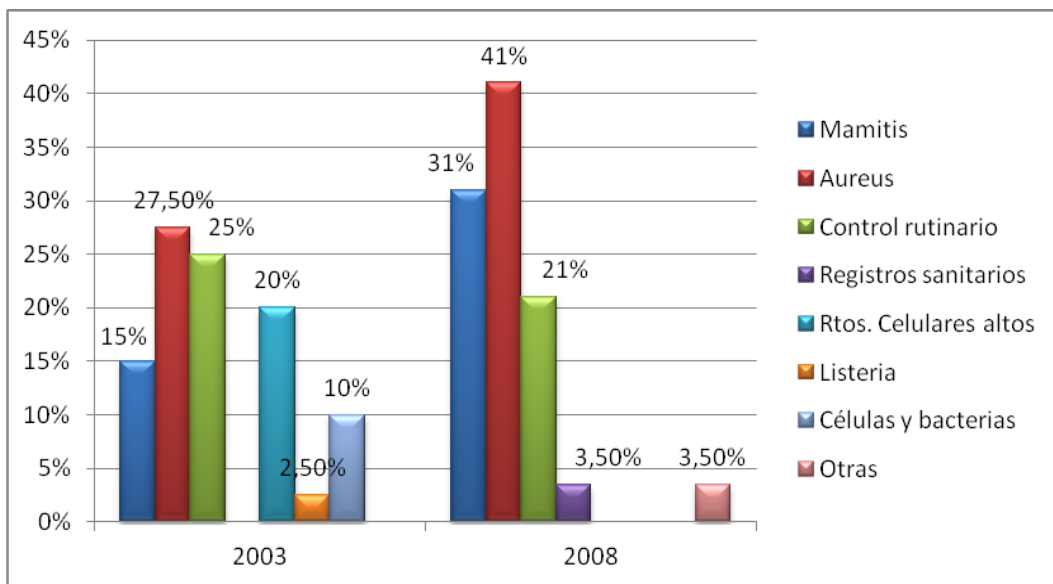


Fig. 6. Diferencias en los motivos de actuación entre las campañas 2003 y 2008.

En la figura 7 mostramos las diferencias entre los motivos de actuación según sean explotaciones cuyo producto final es el queso o aquellas que venden la leche a las centrales. Podemos observar que los recuentos celulares y las bacterias son el principal motivo de llamada en las explotaciones lecheras, no así en las que producen queso, en las que los principales motivos de actuación son: las mastitis clínicas, el control del estado sanitario y la presencia de *S. aureus*.



### motivos de actuación

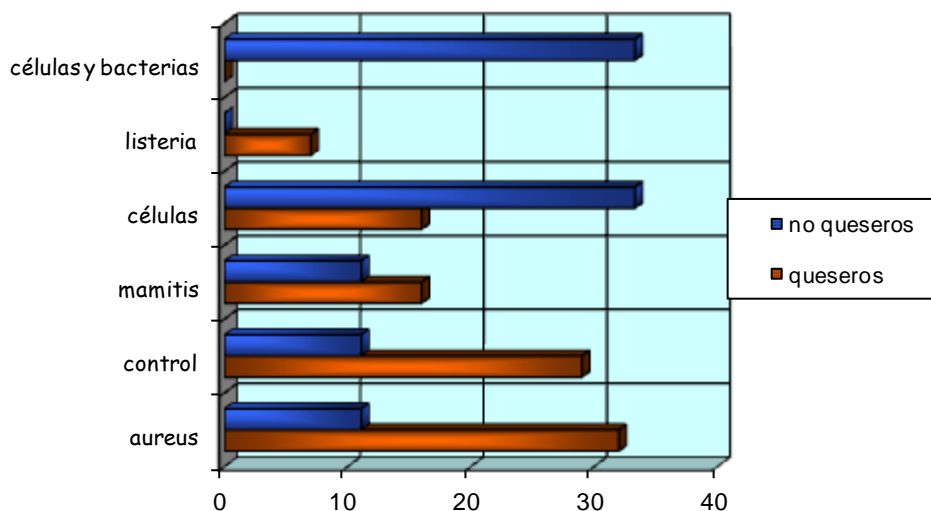


Fig.7. Diferencias entre los motivos de actuación del programa de calidad de leche en explotaciones “lecheras” y “queseras”.

Desde la campaña 2006-2007 y hasta la actualidad el perfil de las explotaciones sobre las que se actúa es similar, al igual que los motivos por los que se actúa. Son explotaciones de dedicación exclusiva al ovino, elaboradoras de queso en su mayoría, con instalaciones modernas y adecuadas (ordeño mecánico), con recuentos medios de células en tanque óptimos ( En los ganaderos integrados en Artzai gazta y durante la campaña 2.011-2.012, el 68% de las muestras de tanque analizadas se encuentran en valores inferiores a las 500.000 células por ml., el 26% entre 500.000 y un millón y únicamente un 6% de las muestras de tanque analizadas superan el millón de células somáticas) y muy mentalizados sobre la importancia de tener un estado óptimo higiénico-sanitario de las ubres, ya que ellos sí ven directamente la repercusión que una mala calidad de leche tiene sobre el queso que elaboran a diario.

En la actualidad está establecido un protocolo de actuación bien marcado en función de la causa que lleva a realizar el programa de calidad de leche en cada granja. A

continuación vamos a explicar, de manera resumida, cual es este protocolo de actuación en el programa de calidad de leche.

A. PROTOCOLO DE ACTUACION ANTE RECuentOS CELULARES ELEVADOS, RECuentOS *S. aureus* ELEVADOS O BROTES DE MAMITIS CLINICAS: En los tres casos el protocolo de actuación es muy similar:

- Correcta anamnesis del problema: recogiendo toda la información relacionada con el caso por parte del pastor.
- Realización de C.M.T. (California Mastitis Test) a todas las ovejas en lactación. A las ovejas CMT positivas se les realiza palpación de la ubre con anotación de las lesiones presentes y toma de muestras de leche para microbiología.

Al ganadero se le aconseja la realización de un lote de ovejas positivas al CMT para ordeñarlas al final de la línea; al menos hasta que obtengamos los resultados de la microbiología.

Una vez obtenidos los resultados de los análisis microbiológicos se toman las siguientes medidas:

- **En caso de *S. aureus* positivas:** Inmediata comunicación al ganadero y eliminación de las ovejas positivas del rebaño.
- **En caso de otros aislamientos:** Valorar la palpación de las ubres y la microbiología y aconsejar la eliminación o el tratamiento de los animales afectados (tratamiento de secado acorde al antibiograma). En definitiva, establecer unas pautas concretas a seguir.

Tras la actuación se realiza un seguimiento de las analíticas y, en caso de que se mantengan altas, se informa al ganadero y se acude a la explotación para ver si realmente se han tomado las medidas aconsejadas. Además, no debemos olvidar el seguimiento aún más cercano que habrá que realizar en el caso de recuentos elevados de *S. aureus*.

En estos supuestos se suelen realizar una media de tres actuaciones por explotación y campaña: la primera visita al inicio del ordeño, otra posterior cuando las corderas y primas se incorporan al ordeño y finalmente una visita

previa a las fechas previstas de secado. Pero, en cualquier caso, el número de actuaciones por explotación irá determinado por las circunstancias y características propias del problema existente.

B. PROTOCOLO DE ACTUACION ANTE UN PROBLEMA DE BACTEROLOGIA ELEVADA: Variará en función de:

- Si se trata de pastores que anteriormente han tenido este mismo problema y ya se les ha realizado una visita: se les llama por teléfono y se les comenta la analítica.
- Si se trata de pastores nuevos, en los que ha surgido el problema por primera vez: se les llama por teléfono explicándoles el programa, se les visita, se realiza la anamnesis, se les da unas pautas mínimas a seguir y se realiza el seguimiento de la analítica.

C. EXPLOTACIONES SIN PROBLEMAS APARENTES PERO QUE DEMANDAN EL PROGRAMA (PREVENCION): En estas explotaciones se realiza una visita y se establece un protocolo de “buenas prácticas”, que permita un periodo de adecuación para conseguir que sea el pastor mismo quien adquiriera un hábito en la prevención de los problemas relacionados con la obtención de leche de buena calidad.

# JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

---

Enmarcado dentro del Programa de Mejora de la Calidad de la Leche aplicado en las explotaciones profesionales de ganado ovino de raza Latxa de Guipúzcoa hemos llevado a cabo el presente estudio, enfocado a mejorar el conocimiento sobre las mamitis para favorecer un mejor control de las mismas.

Las mamitis en ovino de leche, a pesar de ser un tema ampliamente trabajado y estudiado, siguen siendo la principal causa de pérdidas económicas en las explotaciones ovinas del País Vasco, no estando resuelto, en gran medida, su prevención y control.

Podríamos resumir los principales puntos que justifican el presente trabajo en los siguientes:

1. Importancia de las mamitis en ovino de leche, dadas las importantes pérdidas económicas que ocasiona.
2. Las mamitis continúan siendo una de las principales preocupaciones del ganadero de ovino de leche, de los productores de queso y de los técnicos que trabajan en el sector, sobre todo en relación a la salud pública.
3. A pesar de que existen numerosos estudios (más en vacuno que en ovino), se requieren muchos más trabajos enfocados hacia la prevención y control de las mamitis, siendo además, que la problemática y los sistemas de explotación han variado considerablemente en los últimos años.

Basándonos en nuestra experiencia y en la bibliografía consultada, sabemos que se realizan importantes esfuerzos en el control microbiológico de la leche y en el recuento de las células somáticas, pero en nuestro enfoque pretendemos hacer especial hincapié en las lesiones mamarias, relacionándolas con los agentes microbiológicos implicados y con otras posibles causas. Si desarrollamos un perfil lesional que permita al ganadero, o al técnico, detectar infecciones de manera temprana, podríamos incidir de forma notable en la prevención de la diseminación de determinados gérmenes patógenos. Del mismo modo, hemos podido constatar en múltiples ocasiones que ovejas con lesiones mamarias, dan cultivo microbiológico de leche negativo, posiblemente debido a que son eliminadoras intermitentes. Si fuéramos capaces de detectar esas ovejas mediante palpación, pudiendo justificar

ante el ganadero la relación entre la lesión mamaria y la causa de la misma, ayudaría, en gran medida, a evitar la posible diseminación de microorganismos que realizan estas ovejas.

Con el fin de desarrollar este perfil lesional mamario, así como en la búsqueda de otros factores que influyan en el desarrollo de mamitis en nuestras explotaciones, nos planteamos los siguientes **objetivos**:

1. Facilitar el diagnóstico clínico de las mamitis estableciendo una relación entre el tipo de lesión hallada en la ubre con los microorganismos implicados en el proceso infeccioso. Asimismo, nos planteamos determinar el porcentaje de aislamientos positivos con ausencia de lesión y, de igual manera, la presencia de lesión mamaria con aislamientos negativos.
2. Relacionar la afección de nódulos linfáticos supramamarios con microorganismos aislados en leche y con el tipo de lesión de la glándula mamaria.
3. Construir un perfil de las lesiones mamarias halladas en función de los resultados microbiológicos obtenidos.
4. Análisis de los factores de explotación implicados en el desarrollo de la mamitis en el ganado ovino de leche del País Vasco, así como en la aparición de recuentos de *S. aureus* elevados en leche de tanque.

# MATERIAL Y MÉTODOS

---

## 1. CARACTERÍSTICAS DE LAS EXPLOTACIONES ANALIZADAS

El estudio ha sido llevado a cabo en 12 explotaciones de ovino de raza Latxa de la provincia de Guipúzcoa, distribuidos en diez municipios diferentes, que se muestran en el mapa detallado a continuación.



Los datos analizados en el presente estudio fueron recogidos durante el trabajo realizado para el Programa para la Mejora de la Calidad de la Leche, instaurado en Guipúzcoa desde 1.999 y para el que he estado trabajando desde el año 2000. Por lo tanto, todas las explotaciones analizadas participan de forma habitual en dicho programa. Los datos estudiados provienen de actuaciones realizadas en estas explotaciones durante alguna de las siguientes campañas: 2004-05, 2006-07, 2007-08, 2008-09, 2009-10 y 2012-13.

El número total de explotaciones muestreadas para el presente estudio es de 12 y son las que se citan a continuación:

1. Explotación 1: ABAROA, Olaberria.
2. Explotación 2: AIZPORRA, Zaldibia.
3. Explotación 3: ARMUÑO, Berastegi.
4. Explotación 4: ARRETA, Beizama.
5. Explotación 5: ILLORRETA, Bedaio (Tolosa).
6. Explotación 6: GALARRAGA , Errezil.
7. Explotación 7: LEKUNGARAI, Oiartzun.
8. Explotación 8: OIHAN TXIKI KOOP, Oresa.



9. Explotación 9: ORORTEGI, Aia.
10. Explotación 10: ARANBERRI, Ataun.
11. Explotación 11: AGERREBURU, Aia.
12. Explotación 12: GALTZATA, Oiartzun.

El perfil de las doce explotaciones en las que hemos analizado los datos recogidos es, en rasgos generales, bastante similar; once de las doce explotaciones participantes se caracterizan por ser explotaciones “profesionales”, con dedicación exclusiva al ovino de leche. La única explotación que no es de dedicación exclusiva, complementa su actividad pecuaria con el trabajo fuera de la explotación de uno de los miembros de la familia.

A excepción de una, que es una cooperativa, son explotaciones de tipo familiar, en las que la mano de obra está compuesta por miembros de la misma familia, sin trabajadores externos. Las doce explotaciones incluidas son elaboradoras de queso, con su correspondiente registro sanitario y con importantes inversiones en instalaciones: máquina de ordeño, queserías, nave específica para el rebaño...



Imagen 1.Explotación. Imagen 2. Cintas transportadoras. Imagen 3. Artesanos queseros. Imagen 4. Elaboración de queso artesano.

Todas trabajan bajo el sistema de un único parto por año, a excepción de la cooperativa, cuyo censo, 1.791 cabezas, es considerablemente superior a la media de rebaños profesionales en Guipúzcoa, y que trabajan bajo el sistema de cuatro épocas de partos al año (Diciembre; Febrero-Marzo; Junio y Septiembre).

Son explotaciones integradas en asociaciones profesionales de control lechero y mejora genética, así como en la asociación de elaboradores artesanos de queso “Artzai gazta” y también en la Denominación de origen de queso Idiazabal.

A continuación mostramos una tabla con las principales características de las 12 explotaciones participantes en el estudio:

EXPLOTACIÓN	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
*Tipo dedicación	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	1	1
*Censo AÑO	689	410	343	321	418	150	422	1791	455	503	410	299
Censo reposición	153	80	60	80	40	32	56	340	86	80	80	45
% reposición	26%	24%	18%	29%	11%	27%	15%	23%	23%	20%	23%	20%
% desvieje	15%	20%	17%	29%	21%	21%	17%	21%	22%	20%	20%	19%
*Variedad	LCN	LCR	LCN	LCR	LCR	LCR	LCR	LCR	LCR	LCR	LCR	LCR
*Alojamiento	N	N	N	N	N	C	N	N	N	N	C	N
Ordeño mecánico	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ	SÍ
*Tipo máquina	LB	LA	LB	LB	LB	LB	LB	LB	LA	LB	LB	LB
*Tipo de secado	G	S	S	S	S	G	S	S	S	S	S	S
*Tipo suelo	P	P	CC	P	P	P	P	CC	P	P	CC	P

Tabla 1. Principales características de las explotaciones y las instalaciones recogidas para el estudio.

El significado de las siglas se describe a continuación:

\*Tipo dedicación: **1** exclusiva, **2** mixta

\*Censo año: Censo que tenía la explotación durante la campaña en la que se actuó.

\*Variedad: **LCR** Latxa cara rubia, **LCN**, Latxa cara negra.

\*Alojamiento: **N** nave, **C** cuadra en el caserío

\* Tipo máquina: **LA** línea alta, **LB** línea baja

\* Tipo secado: **G** general, **S** selectivo

\* Tipo suelo: **P** parrilla, **CC** cama caliente

Decidimos analizar estos parámetros a nivel de granja porque pensamos que podrían tener repercusión en la aparición de mamitis, aunque con los datos recogidos para este trabajo se diluye mucho el análisis de su influencia, de modo que no han sido, por el momento analizados.

A continuación explicaremos un poco más algunos de los datos de explotación recogidos. En el estudio del **tipo de alojamiento** que poseen las ovejas en estabulación, denominamos “nave” cuando se trata de una instalación nueva o remodelada, independiente del caserío (aunque siempre en sus terrenos), que consta de espacio suficiente para estabular a la totalidad del rebaño y donde también suelen ir incluido el espacio para la máquina de ordeño y la quesería (debidamente aislada de donde están las ovejas). Y denominamos “cuadra tradicional integrada en el caserío”, cuando las ovejas se localizan en el espacio tradicional que han ocupado las cuadras en los caseríos del país vasco, con o sin modificación de las mismas.

Otro de los parámetros recogidos es el **tipo de suelo** que poseen las ovejas en la nave y/o cuadra. En los casos estudiados, todas ellas tenían o bien parrilla (denominada también cama fría), que recubre la fosa o bien paja (cama caliente), paja que, en invierno, suele renovarse una vez al día o cada dos días debido a la elevada humedad de la zona.

El **tipo de máquina de ordeño** que posee cada explotación lo describimos a continuación:

- Máquina de ordeño de Línea Alta: La conducción o tubería por dónde va la leche está colocada por encima de la plataforma de ordeño. Tiene la ventaja de que una misma unidad de ordeño se emplea en ambos lados de la sala. El nivel de vacío debe ser más alto para una buena ascensión de la leche.
- Máquina de ordeño de Línea Baja: La tubería está colocada por debajo del nivel de las ovejas. La conducción de la leche se hace con mucha facilidad, pero cada unidad de ordeño sólo sirve para un lado de la sala.

El **tipo de secado** hace referencia a si realizan tratamiento de secado intramamario en todas las ovejas (secado sistemático), o si realizan un secado selectivo, realizando

únicamente el tratamiento intramamario en el momento del secado en aquellas ovejas y cuarterones que han presentado algún problema: mamitis subclínica diagnosticada, mamitis clínicas, etc., o que aún están produciendo una cantidad considerable de leche cuando decide secarse la totalidad del rebaño.

A continuación recogemos los datos productivos de cada explotación (Tabla 2). Los parámetros analizados son:

- **Lactación tipo:** Es una estimación de la leche producida desde el parto hasta el día 120 de la lactación, expresada en litros. Estos datos los obtenemos a través de la “Asociación de Criadores de ganado Latxo de Gipuzkoa” (E.L.E), puesto que todas las explotaciones sobre las que realizamos este estudio están integradas en la asociación y por lo tanto tienen datos de control lechero.
- **Motivos de actuación:** Tal y como apuntábamos en la introducción, los motivos por los que se actúa y se participa dentro del programa de calidad de la leche son diversos, pero en este estudio, las actuaciones se debían, o bien a recuentos celulares de *S. aureus* en tanque (las alertas se dan a partir de 1.000 UFC /ml., pero a veces se actúa incluso con recuentos inferiores ya que se pueden dar casos de toxina en queso con recuentos no demasiado elevados), o bien a revisiones rutinarias del estado sanitario de las ubres en la explotación. Nos parece importante diferenciar este dato, porque a pesar de que la sistemática de actuación es prácticamente similar para ambos casos, cuando nos encontramos en explotaciones en las que tienen recuentos de *S. aureus* en tanque, tomamos muestras de leche de aquellos animales que dan un CMT de grado dudoso y que en ausencia de problema de *S. aureus* probablemente lo daríamos como CMT negativo. Esto se hace así porque no podemos arriesgarnos a dejar eliminadores en el rebaño, dado el riesgo que ello supone a nivel de salud pública.
- **Recuentos de células somáticas de muestra de tanque:** Con este dato ofrecemos los datos de las medias de los recuentos de tanque en la campaña sobre la que se actuó y los obtenemos a través de las “Asociación de elaboradores de queso artesanos” (Artzai-gazta). Los ganaderos integrados tienen una media de al menos 2 recuentos celulares de tanque al mes.

Explotación	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
*LT 2004-2005								152			178	185
*LT 2006-2007				164								
*LT 2007-2008			155							123		
*LT 2008-2009	189		145							129		
*LT 2009-2010		126	189		141	196	147					
*LT 2012-2013									220			
*Motivo de actuación	R	A	A	A	A	A	A	R	A	A	A	R
*RCS medio en campaña	412	527	477	159	1.628	467	466	467	478	354	---	151

Tabla 2. Datos productivos de las explotaciones en estudio.

\* Lactación tipo en campaña de actuación (LT): lactación a 120 días (en litros)

\* Motivo de actuación: **A** recuento de *S. aureus* en tanque, **R** revisión.

\* RCS: Recuento de células somáticas en tanque medio durante la campaña en la que se realizó la actuación clínica.

Tanto si se acude a la explotación por un elevado recuento de *S. aureus* en tanque, como para realizar una revisión enmarcada en el Programa para la Mejora de la Calidad de la Leche, el protocolo de actuación a nivel de granja es el siguiente:

- 1º. Se realiza el CMT a todas las ovejas que están en ordeño.
- 2º. Se toman muestras de leche para realizar un estudio microbiológico de los animales CMT positivos.
- 3º. Se lleva a cabo una palpación de la ubre en aquellas ovejas que muestran resultados positivos al CMT.

## 2. REALIZACIÓN DE CALIFORNIA MASTITIS TEST (CMT)

El California Mastitis Test (CMT) es una prueba indirecta y rápida que se realiza a modo de screening a nivel de campo y que consiste en la adición de un compuesto químico a la leche, el cual rompe las células (lisador) y deja salir su ADN fuera de la membrana celular, estos filamentos de ADN tienen tendencia a formar unas estructuras tipo gel

cuando se unen unos con otros. El grado de viscosidad de la muestra nos da idea de la cantidad de células somáticas que tiene la leche y, en consecuencia, nos detecta la presencia de mamitis subclínicas, no detectables en la exploración clínica de la ubre.

A nivel práctico, el CMT resulta una útil herramienta que, además de discriminar las infecciones subclínicas, sirve como primera estimación de cara a determinar la pérdida de potencial lechero dentro de un rebaño (*Romeo et al.,1995*).

En el trabajo del Programa de control de Calidad de la leche los CMTs se realizan siempre a la entrada de las ovejas a la fosa de ordeño, antes de poner las pezoneras para ordeñar. El CMT lo realizamos con paletas específicas de ovino, que tienen únicamente dos pocillos, uno para cada glándula mamaria.

La rutina llevada a cabo al realizar el CMT es la siguiente: tras desechar los primeros chorros, recogemos leche en cada pocillo (leche de la derecha en pocillo derecho y leche de la izquierda en pocillo izquierdo), a la cual añadimos el reactivo específico para el CMT (puede ser de diferentes marcas comerciales: Drofilsa, CMT detector de farco veterinaria...) en la misma cantidad aproximada de la leche del pocillo, y a continuación agitamos la paleta en círculos, observando por una parte la precipitación y la viscosidad que va adquiriendo la muestra y por otra parte, el cambio de color.

En función al grado de viscosidad obtenido, graduamos los resultados en tres niveles diferentes:

- Grado 1 de reacción (+): Débil precipitación, que además va disminuyendo rápidamente conforme pasa el tiempo.
- Grado 2 de reacción (++) : Un grado de viscosidad más aparente y que se mantiene durante más tiempo.
- Grado 3 de reacción (+++) : La muestra se “coagula” de forma clara y el color cambia también de manera patente.

Se toma nota del número de identificación de las ovejas que dan resultado positivo a la prueba y del grado de reacción y, además, estos animales son identificados mediante una marca de espray en la mama afectada para, de ese modo, poder mantenerla identificada y controlada hasta la obtención de los resultados microbiológicos.

### 3. TOMA DE MUESTRAS PARA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

A las ovejas con resultado CMT positivo, sea el grado que sea, se les toma muestra de leche para realizar un análisis microbiológico y detectar los microorganismos implicados en el proceso.

Las muestras de leche se toman siempre al inicio del ordeño. Tras desechar los primeros chorros, realizamos el CMT e inmediatamente después se toma muestra del lado positivo o de ambos en el caso de que los dos sean CMT positivo, siempre en tubos independientes para cada cuarterón y bien identificados.

Los tubos para la recogida de muestra son estériles (vacuette, 9 ml), la muestra suele ser de aproximadamente 8 ml y el protocolo de recogida de muestra es el siguiente:

- 1º. Limpieza y desinfección del pezón mediante toallitas desinfectantes.
- 2º. Desechamos los primeros chorros de leche.
- 3º. Destapar el tubo de muestras, asegurando que el tapón no entra en contacto con ningún material “contaminante”.
- 4º. Toma de muestra de la leche colocando el tubo de manera inclinada y sin que tenga contacto con el pezón para evitar contaminaciones.
- 5º. Identificación de la muestra con el número de oveja y cuarterón afectado.
- 6º. Refrigeración a 4°C hasta su envío al laboratorio, el cual se debe realizar en menos de 48 horas.
- 7º. Desinfección de las manos antes de tomar otra muestra.



Imagen 5. Material necesario para la toma de muestras.

Las muestras son enviadas en refrigeración a los laboratorios de Neiker Tecnalia (Instituto vasco de investigación y desarrollo agrario), siempre y cuando sea posible su envío inmediato. En ocasiones, cuando no es posible su envío inmediato, las muestras son congeladas para enviarlas posteriormente (nunca se mantienen muestras más de una semana en congelación).

En el presente estudio únicamente se incluyen 7 muestras de leche de animales CMT negativos, el resto de las muestras, 264 eran procedentes de animales CMT positivos, porque esa es la rutina de trabajo que utilizábamos en aquellas campañas.

Estas muestras de estos 7 animales CMT negativos las recogimos porque se trataba de animales con lesiones palpables en ubre, o animales que habían sido tratadas de mamitis clínicas con anterioridad y cuyas muestras decidimos analizar para descartar la existencia de posibles portadores, ya que nos encontrábamos ante explotaciones que tenían elevados recuentos de *S. aureus* en tanque.

#### **4. EXPLORACIÓN CLÍNICA DE LA GLÁNDULA MAMARIA**

Una vez realizado el CMT y tras realizar la toma de muestras para microbiología y marcar las ovejas CMT positivas, los ganaderos ordeñan la tanda de ovejas que están en la fosa. Cuando las ubres ya están ordeñadas pasamos a realizar la exploración clínica de las mamas de las ovejas CMT positivo.

En la exploración clínica de la ubre se detectan tanto lesiones de la piel que recubre la mama y los pezones (impétigo, verrugas...), como lesiones de la glándula mamaria. En la palpación del parénquima mamario se pretende valorar la consistencia y sensibilidad de la glándula. En casos de mamitis aguda, el tejido glandular se aprecia duro, caliente y sensible a la palpación y en los casos de mamitis crónica, el tejido también estará duro, pero ni caliente, ni doloroso. En ocasiones se pueden detectar nódulos o induraciones concretas. En el caso particular de las mamitis indurativas crónicas provocadas por el virus de Maedi Visna, las ubres muestran una simetría perfecta, aumento del tamaño y tejido glandular muy duro.



En la exploración de la ubre no hay que olvidar los nódulos linfáticos supramamarios, ya que suponen la primera barrera defensiva de la mama y nos dan mucha información acerca de su estado. Se localizan en la parte superior de la ubre y, en condiciones normales, puede resultar difícil su localización. Para su palpación se debe abordar la ubre por detrás, pellizcando en la zona más alta y detectando las formaciones nodulares que saltan al ser presionadas. Un importante aumento de los nódulos linfáticos es indicador de mamitis de tipo crónico.



Imagen 6. Palpación de la ubre.



Imagen 7. Importante aumento del tamaño de los nódulos linfáticos.

Tras la exploración las ubres se califican y anotan de la siguiente manera:

Glándulas mamarias sin lesión aparente:

No existen síntomas ni alteraciones en la textura del tejido glandular, las dos mamas son simétricas, los linfonodos no se observan alterados o aumentados y el aspecto de la leche es normal.

Glándulas mamarias con lesiones palpables:

Tras la observación y palpación discernimos y apuntamos las diferentes lesiones:

- Atrofia en alguna de las mamas.
- Presencia de nódulos en parénquima mamario.
- Induración ó tumefacción de la glándula mamaria.
- Presencia de rubor, calor, dolor... al tacto.
- Linfonodos supramamarios aumentados de tamaño o de aspecto alterado.
- Quistes de leche.
- Aspecto de la leche alterado.
- Piel de la ubre con alteraciones: Impétigo, ectima, mordeduras en pezón, “espinillas” en pezón...

De modo que, al finalizar la actuación los datos que poseemos en nuestro haber son los siguientes:

- Número de crotal de la oveja CMT positiva.
- Grado de CMT.
- Tipo de lesión que presenta (o ausencia de lesiones).
- Muestra de leche de la mama(s) CMT positivo.
- Número total de animales en ordeño el día de la actuación.
- Fecha de actuación.

El siguiente ejemplo ilustra los datos recogidos en una toma de muestras rutinaria.

Crotal	CMT	Cuarterón	Linfonodos	Lesión gl. mamaria	Piel	Leche
93546	+	D	Ok	Atrof. D	N	N
15425	++	I	Ok	Atrof. I	N	N
23233	++	ambos	Ok	Nód.	Impet.	N
23225	++	D	A	N	N	N

## 5. ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE LAS MUESTRAS

El procesado y cultivo de las muestras de leche se realiza en los laboratorios de Neiker Tecnalia, en Derio (Vizcaya), pertenecientes al Gobierno Vasco.

El objetivo es el aislamiento de especies bacterianas de interés veterinario capaces de crecer en un medio general enriquecido (Agar Sangre) a partir de muestras de leche y el protocolo de actuación en el laboratorio es el que a continuación se explica.

Se siembran 20 µl (2 asas de siembra) en una placa de agar sangre. Las placas de medio se incuban a una temperatura de 37±1 °C, durante 18-24 horas. Cuando se sospecha de la implicación de especies bacterianas de crecimiento lento (p.ej. micobacterias), las placas pueden ser incubadas a 37±1 °C, durante 7 días.

A las 24 h se efectúa una primera lectura de las placas. Si no existe crecimiento o si las colonias son extremadamente pequeñas, se introducen las placas en el incubador, a 37°C, durante otras 24 horas más.

Para la interpretación de los resultados, en una primera instancia se observa la placa de agar sangre y se evalúa la PUREZA de los cultivos obtenidos. Si se obtienen más de 2 tipos bacterianos diferentes se considera el cultivo general microbiológico como contaminado, salvo que se sospeche de la presencia de un patógeno mayor. En este

caso se realizarán subcultivos de las colonias de interés en una nueva placa de agar sangre. Además, se evalúan y anotan distintas características de las colonias: color, tamaño, morfología, olor...

En función de las características clínicas del proceso patológico y de la morfología de las colonias citada, se realiza una primera clasificación presuntiva del crecimiento obtenido y se decide la conveniencia o no de continuar con pruebas bioquímicas adicionales para la identificación a nivel de especie. Además, en función de los mismos criterios, se evalúa la necesidad de realizar un antibiograma para determinar la resistencia o sensibilidad de la especie bacteriana a distintos antimicrobianos.

Además, en la evaluación de los cultivos se puede realizar un conteo semicuantitativo del número de colonias mediante la siguiente notación en cruces: <10 colonias (+); de 10-50 colonias (++) colonias; >50 colonias (+++).

Por último, en determinadas ocasiones y tras la evaluación de toda esta información puede resultar de interés realizar:

- a.- Un subcultivo de una colonia de la especie bacteriana en un medio selectivo para asegurar la identificación.
- b.- La resiembra de la propia muestra en medios selectivos para intentar el aislamiento de la especie bacteriana de la que se sospecha.

A partir de una colonia sospechosa se realiza una tinción GRAM. Se efectúa una primera clasificación de las bacterias en dos grupos, GRAM negativas (rojas) y GRAM positivas (azules). En el caso de las bacterias GRAM negativas (coliformes, *E. coli*, *Pseudomonas* spp., etc.) se realiza un test Oxidasa sobre una de las colonias obtenidas y en el caso de las bacterias GRAM positivas (*Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Listeria* spp., etc.) se realiza un test Catalasa sobre una de las colonias obtenidas.

Además, para la identificación presuntiva de los cultivos pueden ser empleadas diferentes pruebas bioquímicas como son: ureasa, indol, esculina, bilis esculina, factor CAMP, beta-lactamasa.

### Resultados posibles:

- **Muestra contaminada:** contaminación que impide una evaluación adecuada del crecimiento de posibles especies de interés veterinario.
- **Compatible con la especie bacteriana en cuestión:** aislamiento pendiente de confirmación definitiva (ejemplo: Compatible con *Brucella* spp.)
- **Género:** aislamiento sin una confirmación de especie acompañado de alguna característica bioquímica o cultural de interés (ejemplo: *Streptococcus* sp. ( $\alpha$ -hemolítico)); CoN *Staphylococcus* (*Staphylococcus* sp. Coagulasa Negativo).
- **Género y especie:** aislamiento confirmado (ejemplo: *Staphylococcus aureus*).
- **Sin crecimiento:** crecimiento negativo.
- **No significativo:** crecimiento de especies bacterianas sin relación con el proceso patológico en cuestión; o crecimiento de especies sin reconocido interés veterinario; o crecimiento de <5UFC (excepto patógenos mayores como *S. aureus* y *St. agalactiae*).

Por último, para la identificación de los cultivos a nivel de especie se pueden emplear pruebas bioquímicas tipo API o VITEK. Asimismo, se pueden emplear pruebas de aglutinación serológica para la identificación, como son la identificación del grupo de Lancefield para estreptococos (grupos A-G), y para *S.aureus*. A continuación explicamos en detalle en qué consiste el sistema VITEK.

### IDENTIFICACIÓN DE AISLADOS Y ANTIBIOGRAMA (sistema Vitek 2™)

El Vitek 2 (Biomérieux; FR) es un equipo automatizado para la identificación bacteriana y la realización de test de sensibilidad antimicrobiana.

El proceso consiste en ajustar un inóculo de un microorganismo en cultivo puro a una densidad de 0,5-0,7 McFarland (McF) en un tubo con al menos 2,8 ml de solución salina al 0,45 %, mediante un densitómetro. Estos tubos se colocan en una gradilla provista de un chip de memoria (casete), y junto a ellos se colocan las tarjetas en las

que va a ser repartido el inóculo y se van a producir las reacciones químicas. Estas reacciones se leen periódicamente en el equipo Vitek 2 mediante lectura colorimétrica, de transmitancia o de fluorescencia, y la información generada se va transmitiendo al ordenador donde, una vez finalizado el proceso, se pueden tratar los resultados generados.

### **Test de sensibilidad a antimicrobianos**

El proceso de preparación del inóculo es muy similar al de identificación, con la diferencia de que en este caso en los pocillos de las tarjetas AST se distribuyen antimicrobianos. Después de una incubación a una temperatura y tiempo determinados se mide el crecimiento del microorganismo inoculado en los pocillos. A estos datos brutos en CMI (concentración mínima inhibitoria) se les aplica el punto de corte recomendado por el NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) y así se obtiene la primera interpretación de Resistente o Sensible (Datos Vitek 2). Estos resultados también son analizados en función del fenotipo obteniéndose así otros resultados (Datos Experto).

Finalmente el programa escoge una de las dos interpretaciones y ofrece los resultados finales de sensibilidad o resistencia (Datos Final). Para cada tipo de microorganismo se utiliza un tipo de tarjeta: *Enterococcus* spp. y *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus* spp., Bacilos aerobios gramnegativos.

## **6. ESTUDIO ESTADÍSTICO**

A partir de los datos recogidos a nivel de explotación y los datos recogidos posteriormente sobre las producciones de las granjas analizadas (información obtenida en E.L.E.) y los resultados de las analíticas de leche de tanque recogidos por Artzai gazta, se desarrolló una base de datos en formato EXCELL, plantilla sobre la que se realizó el análisis estadístico.

Los análisis se llevaron a cabo con el paquete de software estadístico SPSS para Windows (SPSS-PC, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

Los estudios realizados para la asociación entre variables cualitativas se realizaron mediante pruebas no paramétricas de chi cuadrado con corrección de medio punto cuando los valores de las casillas fueron inferiores a 5 unidades. El valor adoptado para obtener significación estadística fue de  $p < 0,05$ . En aquellos casos en los que se pudo calcular el riesgo relativo de los factores se asumió la misma significación.

Para el estudio y agrupación de la variable cuantitativa “lactación de las ovejas” se empleo una técnica de clasificación estadística a través del subprograma Tree del paquete estadístico SPSS. La agrupación de dicha variable requirió encontrar diferencias estadísticas entre grupos con el nivel de significación  $p < 0,05$ . Para cada una de las ramas principales se les exigió la presencia mínima de 100 animales y para los nodos terminales un mínimo de 40 animales.

# RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---



## 1.- MICROBIOLOGÍA

Se analizaron 271 muestras individuales de leche recogidas en 12 explotaciones de ganado ovino de Guipúzcoa, dentro del Programa de Mejora de la Calidad de la Leche llevado a cabo por el departamento de agricultura y ganadería de la Diputación de Guipúzcoa durante el periodo que comprende desde la campaña de 2004-05 hasta la de los años 2012-13.

Los resultados microbiológicos obtenidos en las 271 muestras de leche recogidas de ovejas positivas al California Mastitis Test (264 ovejas CMT positivas y 7 muestras de ovejas CMT negativas) fueron los siguientes (Figura 1 y Tabla 1):

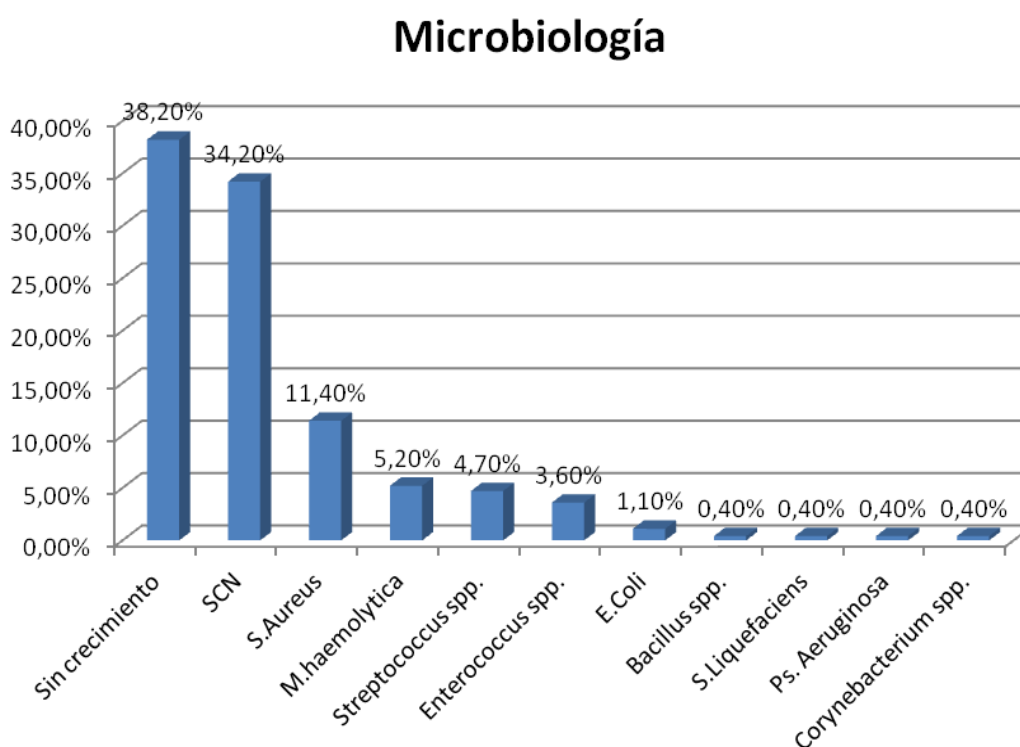


Figura 1: porcentaje de aislamientos en leche de las ovejas muestreadas.

Microbiología	Nº muestras	Porcentaje
Sin crecimiento	104	38,2
SCN	93	34,2
<i>S.Aureus</i>	31	11,4
<i>M.Haemolytica</i>	14	5,2
<i>Streptococcus spp.</i>	13	4,7
<i>Enterococcus spp.</i>	10	3,6
<i>E.Coli</i>	3	1,1
<i>Bacillus spp.</i>	1	0,4
<i>S.Liquefaciens</i>	1	0,4
<i>Pseudomona Aeruginosa</i>	1	0,4
<i>Corynebacterium spp.</i>	1	0,4
	<b>271</b>	<b>100%</b>

Tabla 1: Número total de aislamientos microbiológicos y porcentaje en leche de ovejas sospechosas.

El grupo de microorganismos más frecuentemente aislados en la toma de muestras realizada son los *Staphylococcus coagulasa negativos* (SCN). A cierta distancia se encuentran los aislamientos de *Staphylococcus aureus*, *Mannheimia haemolytica*, diferentes especies de *Streptococcus*, y posteriormente otros gérmenes de menor incidencia en las mamitis subclínicas y crónicas detectadas mediante el CMT.

Si analizamos el porcentaje de los microorganismos únicamente sobre los cultivos positivos observamos la importancia relativa que tienen los SCN (Figura 2).

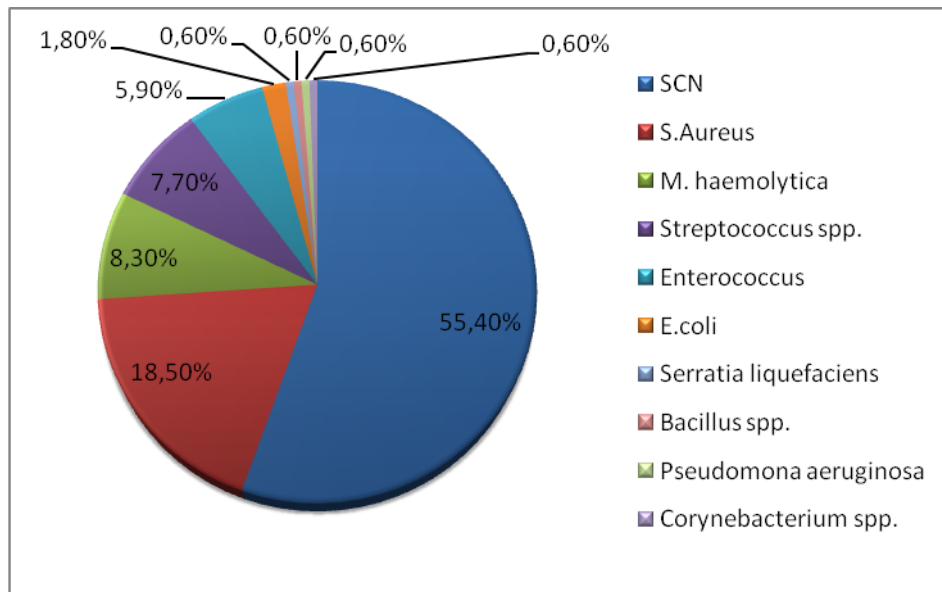


Figura 2: Porcentaje de aislamientos microbiológicos únicamente sobre los cultivos positivos.

Los datos obtenidos en nuestro estudio son muy similares a las frecuencias obtenidas por Juan C. Marco en el desarrollo de su tesis doctoral en 1994. Este trabajo de tesis doctoral trataba sobre la mastitis en la oveja Latxa (“Mastitis en la oveja Latxa, epidemiología, diagnóstico y control”) y se basó en un estudio llevado a cabo en explotaciones comerciales del País Vasco durante los años 1991 y 1992, en los que se realizaron visitas a lo largo de, prácticamente, todo el periodo de ordeño (Enero-Julio), realizando muestreos, CMT, palpación de ubres y análisis microbiológico de las muestras. Se muestrearon un total de 6.046 ubres. Los resultados de aislamientos microbiológicos obtenidos en muestra de leche individual mostraban unas prevalencias de 52,9% de SCN, 19,4% de *S. aureus*, 11,6% para *Streptococcus* spp., 5,8% de *Pasterella haemolytica* (actualmente *Mannheimia haemolytica*) y el resto, *Enterobacterias*, *Serratia liquefaciens*, *Pseudomona Aeruginosa*, en porcentajes que van desde el 0,4% al 0,8%. Estos resultados concuerdan plenamente con los obtenidos en el presente trabajo.

En otro estudio llevado a cabo por *Marogna G. et al. (2010)*, en 15 rebaños de ovejas de raza Sarda, que se caracterizaban por ser explotaciones con problemas recurrentes de mamitis y recuentos celulares medios en tanque de más de 5 millones de células, describen como las principales bacterias aisladas a: SCN en un 36,8% de los casos, *S. aureus* con un 18%, *Streptococcus* spp. en un 38,8% y *enterococcus* en un 7%. Si bien el

porcentaje de animales con cultivo positivo a *S. aureus* es similar y los SCN siguen siendo los microorganismos más aislados, cabe destacar la elevada proporción de aislamientos de microorganismos del género *Streptococcus*. Esta diferencia puede estar determinada, entre otras cosas, por tratarse de rebaños con serios problemas de mamitis clínica, cuyos recuentos medios de células somáticas en tanque superan los 5 millones. Tal y como se describe en la bibliografía, algunas especies de *Streptococcus* (*S. uberis*) se transmiten fundamentalmente durante el ordeño y si la eliminación del circuito de la máquina, así como la eliminación de los portadores, no es la adecuada, pueden dar lugar a grandes brotes y disparar los porcentajes de mamitis debida a estos gérmenes.

No obstante, los porcentajes de aislamientos microbiológicos varían cuando la población a estudiar es la de aquellos animales que presentan únicamente mamitis clínicas. *Mork et al. (2007)* realizaron un estudio sobre 509 ovejas con mamitis clínicas en Noruega y aislaron *S. aureus* en un 65,3% de las muestras, *E. coli* en un 6,4%, SCN en un 2,9% , *Streptococcus uberis* en 1,6% y *Streptococcus dysgalactiae* en 1,5%. Por lo que podemos evidenciar, tal y como se describe en otros estudios, que SCN sería el principal germen aislado en las mamitis subclínicas (*Bergonier et al., 2003*), mientras que *S. aureus* se aísla sobre todo a partir de las mamitis clínicas.

## **2.- LESIONES GLÁNDULA MAMARIA**

Se llevó a cabo una exploración clínica mamaria mediante palpación de las 271 ovejas sospechosas de mamitis, la mayoría de las cuales mostraron resultados positivos al CMT. A cada una de ellas se le realizó una ficha clínica individual con los datos obtenidos.

### **A. TIPO DE LESIONES**

De las 271 ovejas examinadas, el número total de animales que presentaron lesiones palpables de algún tipo en la glándula mamaria fue de 170 (62,7%), frente a 101 (37,3%) que no presentaban lesiones detectables mediante palpación.

*Marco (1994)*, en su trabajo sobre mamitis en la oveja Latxa, describe un 32,4% de ubres calificadas como lesionadas. El porcentaje obtenido por Marco es claramente inferior al nuestro, pero hemos de tener en cuenta el hecho de que nuestro muestreo está dirigido a aquellos animales que, en principio, pueden ser “conflictivos”, ya que son CMT positivos o muestran alguna sospecha de mamitis, sin embargo Marco habla de porcentajes de ubres lesionadas frente al total de animales de la granja. Por lo tanto, los datos finalmente no resultan tan discrepantes. En este mismo estudio, disponían de datos de exploración mamaria de 295 ovejas, de las cuales 166 eran cultivo positivo. Al analizar únicamente las que mostraban cultivo positivo, obtuvieron que el 57,8% presentaba lesiones, frente al 42,2 % que estaban libres de lesión aparente. Este porcentaje se acerca en gran medida al obtenido por nosotros.

Sin embargo, en un estudio realizado por *Marogna G. et al. (2010)*, sobre una población de ovejas sardas con procesos recurrentes de mamitis, en el que los autores analizan y describen lesiones mamarias clasificándolas únicamente entre agudas y crónicas. Los resultados muestran que un 19% de los animales tenían al menos un síntoma clínico de mamitis aguda y un 46% al menos un signo clínico de mamitis crónica. Estos datos concuerdan con los obtenidos en nuestro estudio, con un 62,7% de animales con lesiones, ya que las lesiones que nosotros detectamos en sala de ordeño, prácticamente siempre corresponden a lesiones mamarias de tipo crónico. Análisis realizado teniendo en cuenta el sesgo que supone llevar a cabo únicamente la palpación a los animales sospechosos.

Más comparable sería el estudio realizado por *Herrtage y col. (1974)* sobre animales de desvieje cuyas glándulas mamarias eran exploradas in vivo a su llegada al matadero. El porcentaje de glándulas mamarias con lesión en este caso fue de 50,2%, dato que se acerca a nuestros resultados, hecho que parece lógico, puesto que estos animales con ubres lesionadas que describimos en nuestro estudio son candidatas al desvieje.

Las frecuencias de detección de los diferentes tipos de lesiones en glándula mamaria halladas en nuestro trabajo se muestran en la Tabla 2.

<b>Tipo de Lesiones</b>	<b>Frec.</b>	<b>%</b>
<b>Atrofia</b>	122	<b>71,8 %</b>
<b>Lesiones nodulares</b>	35	<b>20,5%</b>
<b>Induración</b>	9	<b>5,3%</b>
<b>Leche enquistada</b>	1	<b>0,6%</b>
<b>Impétigo</b>	1	<b>0,6%</b>
<b>Edema</b>	1	<b>0,6%</b>
<b>Atrofia+ nódulos</b>	1	<b>0,6%</b>
	<b>170</b>	<b>100%</b>

Tabla 2: Frecuencia de aparición de los diferentes tipos de lesiones mamarias.

Las lesiones encontradas con una mayor frecuencia son la atrofia de alguna de las glándulas mamarias (71,8%) y la presencia de nódulos y/o abscesos de diferentes tamaños (20,5%). Estos datos contrastan con los obtenidos por *Marco (1994)*, en los que destaca la induración de la glándula mamaria como lesión predominante (10,5%). Además, el autor describe que este tipo de lesión disminuye su porcentaje de aparición al aumentar los días de lactación (a partir del día 30). Tal vez esta sea la causa de la discrepancia de los datos, ya que en nuestro estudio la mayoría de las tomas de muestra se realizan entre los días de lactación 38 y 180, con un valor promedio de 76 días, siendo en nuestro caso la atrofia la principal lesión observada. En este sentido, *Marco (1994)*, en este mismo estudio, sí que cita la atrofia como la siguiente lesión en porcentaje de aparición, con un 3,7% de los animales analizados, seguida por la presencia de nódulos (1,4%). Asimismo, describe también un ligero aumento de la presencia de atrofias conforme aumentan los días de lactación, concretamente a partir del día 104, lo cual parece lógico y puede responder a la cronificación de las que inicialmente eran mamitis subclínicas no detectadas. Otra de las posibles explicaciones al elevado número de induración observado en el estudio de Marco en comparación con el nuestro, podría ser la modificación en la sistemática de ordeño mecánico y la mayor experiencia con el mismo durante estas últimas 2 décadas.

## B. RELACIÓN DE OVEJAS CMT POSITIVO CON LA PRESENCIA DE LESIÓN MAMARIA

De las 271 muestras tomadas de leche, 264 dieron CMT positivo, ya que, como hemos dicho, el test de screening que se usaba era precisamente el CMT, de modo que a todas las que daban CMT positivo se les tomaba muestra para microbiología y se les realizaba la exploración mamaria.

De estos 264 animales que dieron positivo en mayor o menor grado frente al CMT, 162 presentaban algún tipo de lesión aparente en glándula mamaria (61,36%), frente a 102 (38,64%), que tenían la ubre sin ningún tipo de alteración detectable (Figura 3). Recaltar en este punto que en esta clasificación de glándulas mamarias con lesión no incluimos la afección de los linfonodos, ya que los estudiaremos en otro apartado.

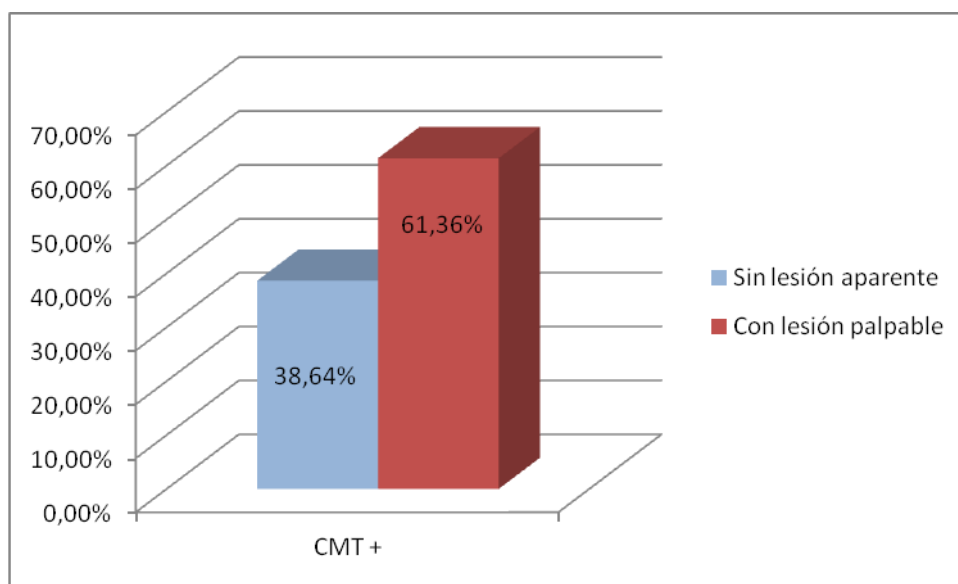


Figura 3. Porcentaje de animales CMT + con y sin lesión mamaria.

En La tesis doctoral de *Marco J.C. (1994)*, se demuestra la asociación significativa entre ambos parámetros (lesiones mamarias y CMT), concretamente, el autor dice que la probabilidad de reacción CMT positiva en presencia de lesión mamaria es 6,81 veces superior que la probabilidad de reacción positiva al CMT con ausencia de lesión. En nuestro estudio no hallamos estas diferencias debido a que la mayor parte de las ovejas de las que partíamos eran CMT positivas, como ya hemos explicado.

*Las Heras del Río et al.(2002)*, en un estudio que evalúa el efecto de la infección subclínica intramamaria por diferentes agentes etiológicos sobre determinados

parámetros de interés clínico, resuelve que las infecciones producidas por SCN están asociadas a reacciones CMT de tipo moderado, las causadas por *Corynebacterium* a reacciones de CMT tipo leve y finalmente, las infecciones producidas por *S. aureus* y *Streptococcus* spp. estarían más ligadas a reacciones inflamatorias muy fuertes y por lo tanto a CMT de grado +++.

Del mismo modo, en los estudios realizados por *Groos et al., 1978; Kalinowska et al., 1985; Torres Hernandez y Hohenboken., 1979* se constató la relación existente entre el CMT y el efecto de las mastitis ovinas sobre la disminución de la producción lechera, el menor peso de corderos, así como la mayor mortalidad de los mismos, determinando que aquellos animales que dan CMT positivo tienen mayor probabilidad de tener disminución en la producción, menor ganancias de peso de sus corderos y una mayor mortalidad de los mismos. Asimismo, *Romeo et al. (1995)* describen y hallan diferencias significativas en el descenso de la producción de los animales CMT positivos con respecto a los CMT negativos y, además, el descenso es significativamente mayor en aquellos animales con reacciones CMT más intensas.

### C. RELACIÓN ENTRE PRESENCIA DE LESIÓN MAMARIA Y CULTIVO MICROBIOLÓGICO

En este apartado analizamos la relación entre cultivos microbiológicos positivos/negativos y aquellos individuos con presencia o ausencia de lesión mamaria (Tabla 3).

	Cultivo +	Cultivo -	
GM sin lesión	56 (54,4%)	47 (47,6%)	100%
GM con lesión	111 (66,1%)	57 (33,9%)	100%
			271

Tabla 3. Relación entre presencia de lesión mamaria y aislamiento microbiológico.



Este análisis, en primer lugar, revela una **fuerte tendencia a la significación** en la asociación de lesiones palpables en glándulas mamarias con el cultivo positivo de las muestras de leche ( $p=0,54$ ). En la tesis doctoral de *Marco(1994)* se describe una asociación significativa entre lesión mamaria e infección para los siguientes microorganismos: *S. aureus*, *S. simulans*, *S. epidermis*, *Streptococcus*, *Enterococcus* y *Enterobacterias*.

Del mismo modo, en concordancia con nuestros datos, el estudio realizado por *Marogna G et al.(2010)* sobre una población de ovejas Sargas con procesos de mastitis recurrentes y recuentos celulares medios de tanque superiores a 5 millones por ml., mostró una correlación positiva entre la presencia de síntomas clínicos en la glándula mamaria y la positividad del cultivo microbiológico cuando las lesiones mamarias eran abscesos y/ o nódulos, no obstante, no hallaron diferencias significativas cuando el tipo de lesión era atrofia mamaria.

Un 66,1 % (111) de los animales con **lesiones mamarias palpables presenta cultivo positivo** para algún microorganismo. Podemos decir que estos son los animales con lesiones de mastitis crónicas, candidatos a un desvieje inmediato. Estos, a su vez, suponen un 41% del total de muestras analizadas (111/271).

En el estudio de *Marogna G.et al.(2010)*, en que analizan y describen las lesiones mamarias y la microbiología en rebaños con problemas recurrentes de mastitis y RCS elevados de tanque, observan que un 46% de las ovejas estudiadas poseen al menos un síntoma clínico de mastitis crónica. En nuestro estudio, si analizamos el porcentaje de presencia de mastitis crónicas en el total del rebaño, es decir, los animales con lesiones palpables en mama y cultivo positivo frente al total de animales en ordeño durante las actuaciones, sería de un 2,5%, muy inferior al que describen *Marogna et al.* Pero hay que tener en cuenta que en su estudio, los recuentos celulares de leche de tanque eran superiores a 5 millones y se trataba de explotaciones ovinas con problemas recurrentes de mastitis.

La distribución de los aislamientos microbiológicos para estas muestras de cultivo positivo procedentes de glándulas mamarias con lesiones aparentes se muestra en la Figura 5.

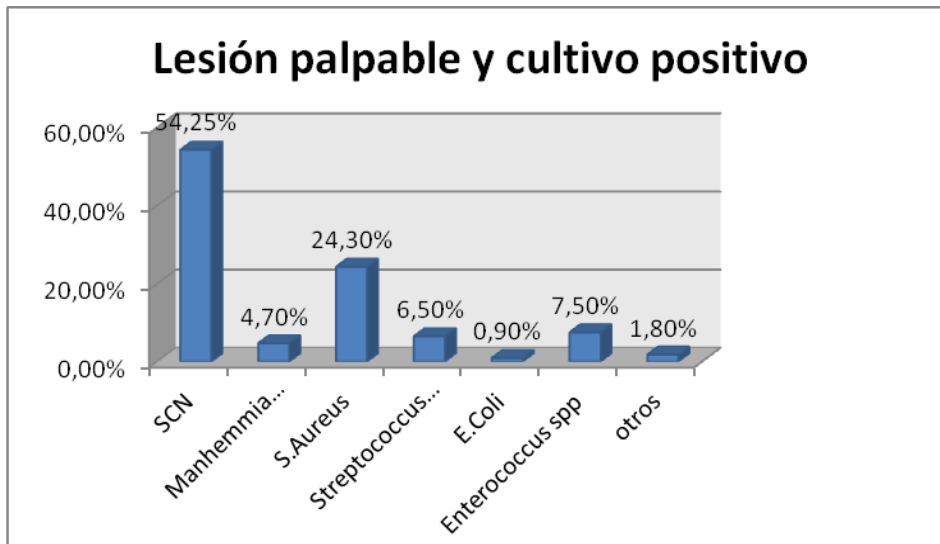


Figura 5. Aislamientos microbiológicos en los animales con lesión mamaria detectable mediante palpación.

Observamos que de nuevo son los SCN los microorganismos más frecuentemente aislados (54,25%), sin embargo, *S. aureus* adquiere una mayor relevancia en este tipo de lesiones crónicas (24,30%).

El estudio de Marco (1994) sobre mastitis en ovino latxo analiza más exhaustivamente estos datos (desglosa el total de muestras positivas obtenidas para cada microorganismo y obtiene los porcentajes de lesión mamaria para cada uno de ellos) y constata que las infecciones causadas por SCN se acompañan de la presencia de lesiones en un 53,3% de los casos y que el microorganismo más lesivo resulta ser *S. aureus*, ya que provocó lesiones en un 72,2% de las infecciones que causó. Nosotros no hemos trabajado estos datos, pero el porcentaje de los aislamientos en animales con lesiones palpables de *S. aureus* es de 24,3%, a pesar de que el número total de muestras con cultivo positivo de *S. aureus* es mucho menor que el de SCN (18,5 % de *S. aureus* frente a 55,4% de SCN), por lo que parece que nuestros datos se aproximan bastante a los de la tesis de Marco ,(1994).

En cuanto a las muestras procedentes de animales con **lesiones palpables en glándula mamaria pero con cultivo negativo** suponen un 33,9% (57) del total de animales con lesión detectable. Este grupo supone un 21% del total de muestras analizadas (271) y es un grupo que nos interesan especialmente, ya que estos animales detectables mediante palpación, seguramente eliminarán microorganismos en algún momento (Burriel A.R.,1997; Saratsis P.,et al.,1999; Fthetenakis y Junes,1990a; Clement et al.,

2003) y, sin embargo, no son desechados, ni tratados, por parte de los ganaderos, los cuáles únicamente descartan las ovejas que ofrecen cultivos positivos, y más si son animales de alta producción.

La negatividad de los cultivos, tal y como se expone en el estudio realizado sobre ovino de carne en Quebec por *Arsenault et al.(2008)*, puede deberse a la eliminación intermitente de los gérmenes en algunos casos de mamitis crónicas. Del mismo modo, *Bergonier et al.(2003)*, en una revisión sobre mamitis en pequeños rumiantes, relacionan la fluctuación en la dinámica de eliminación de SCN cuando existe infección en glándula mamaria con tres factores analizados por diferentes autores: la congelación de las muestras de leche antes de su análisis (*Schukken et al.1989; Sanchez A. et al.,2003*), los niveles bajos de contaminación bacteriana en glándula mamaria o con la eliminación intermitente del microorganismo (*Burriel A.R.,1997; Saratsis P., et al. ,1999; Fthetenakis y Junes, 1990a; Clement et al.,2003*).

En el caso concreto de las ubres con atrofia en alguna de las mamas y que muestran crecimiento negativo en el cultivo, podría ser consecuencia del amamantamiento desigual durante el periodo en el que los corderos están con las madres, pero, tal y como apuntan *Arsenault J. et al.(2008)*, también podría ser debido a que no detectemos el germen que la produjo.

La existencia de animales con lesiones palpables que no son detectados por CMT, ya que no dan resultados positivos, y/o de animales con lesiones cuyos cultivos resultan negativos, a pesar de ser CMT+, nos hace pensar en la importancia que adquiere la palpación de la glándula mamaria de todos y cada uno de los animales en ordeño como herramienta rutinaria para la detección de mamitis crónicas.

Como decimos, estos animales con lesión palpable y cultivo negativo podrían resultar ser una fuente importante de infección en el rebaño, ya que no son eliminados de la explotación. No obstante, nuevos estudios son necesarios para realizar un seguimiento de estos animales que constaten la eliminación intermitente de las bacterias a través de la leche de estas glándulas mamarias con lesión.

En nuestro trabajo, un 45,6% (47) de las muestras procedentes de **glándulas mamarias sin lesiones palpables resultaron ser cultivo negativo**. Estos resultados muestran a los animales que dan falsos positivos al CMT. *Arsenalt et al.(2008)* describen que los falsos positivos al CMT se dan ante la presencia de contaminantes.

Este elevado porcentaje, que supone un 17,3% del total de animales muestreados, puede ser debido, en gran medida, a que un número importante de las explotaciones sobre las que se actúo en el presente trabajo tenían un recuento elevado de *S. aureus* en tanque en el momento de la visita, y ante estos casos, se toma muestra de leche para su posterior análisis microbiológico de animales con resultados al CMT de grado dudoso, para así evitar que queden animales eliminadores de la bacteria en ordeño, ya que ello entrañaría un gran riesgo sanitario en la elaboración y comercialización del queso.

Asimismo, el porcentaje de animales con **cultivo positivo que no muestra lesiones mamarias** aparentes supone un 54,4% (56) del total de animales sin lesión mamaria y un 20,7% del total de animales muestreados. Este resultado muestra a los animales con mamitis subclínicas que no se detectan mediante palpación, pero que si que provocan una disminución de la producción láctea.

Si nos centramos en el estudio de la microbiología concerniente a estas 56 muestras de leche procedentes de animales sin lesión aparente pero con cultivo positivo, observamos que Las principales bacterias aisladas fueron los SCN, como muestra la Figura 4.

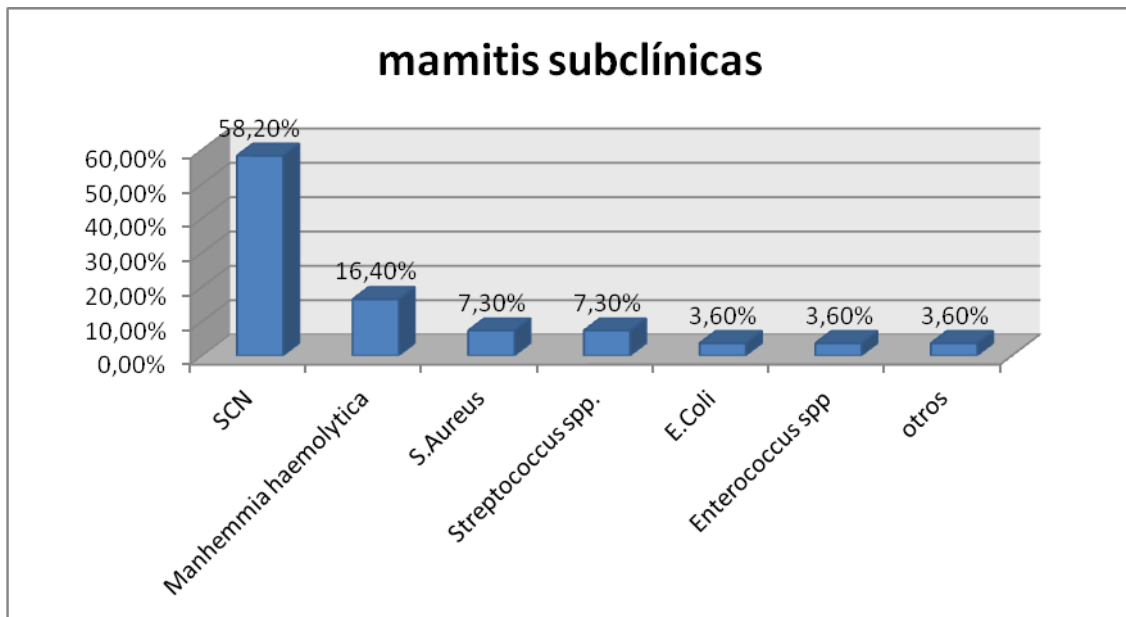


Figura 4. Aislamientos microbiológicos de los animales sin lesión mamaria detectable.

Estos datos concuerdan con los observados en la revisión sobre mamitis en pequeños rumiantes realizada *Bergonier D., et al.(2003)*, donde describen a los SCN como microorganismos de mayor prevalencia en las mamitis subclínicas, con prevalencias que varían del 25% al 93% (valores medios del 62%), seguido por *S. aureus* (del 3% al 37%), a pesar de que esta última bacteria se aísla sobre todo de infecciones que ya han cronificado. A su vez, esta misma revisión constata que *Streptococcus spp.*, *E. coli* y *Corynebacterium* se aíslan con menor frecuencia en las mamitis subclínicas.

En otro estudio realizado sobre ganado de leche en España, se obtienen prevalencias de mamitis subclínicas del 24,6%, datos muy similares a las obtenidas por nosotros (*Gonzalo et al., 2002*).

*Arsenault et al.(2008)*, en un estudio realizado sobre ganado ovino de carne en Quebec, describe prevalencias del 28,8% para las mamitis subclínicas, datos similares a los nuestros, sin embargo, en contraste con los resultados microbiológicos obtenidos en nuestro trabajo, las bacterias más frecuentemente aisladas fueron: *S. aureus* (9,3%), y *SCN* (9,3%). Esta fuerte discrepancia con nuestros datos puede ser debida a que el nuestro es un trabajo realizado sobre ovino de leche y el papel que juega en la transmisión de la infección la máquina de ordeño es muy importante, pudiendo elevar

el porcentaje de aislamiento de SCN de las muestras de leche con respecto a las aisladas en ovino de carne. En los múltiples estudios realizados sobre la microbiología de las mamitis subclínicas en ovino de leche, los resultados concuerdan con los nuestros y confirman que los principales gérmenes aislados son SCN y, en mucha menor medida, *S. aureus* (Kirk. et al., 1980; Bork et al., 1989; Watkins et al., 1991; Ahmad et al., 1992; Keisler et al., 1992; Gonzalez Rodriguez et al., 1995; Jones and Watkins, 1998; Lafi et al., 1998; Croft et al., 2000).

#### D. RELACIÓN DE LOS AISLAMIENTOS MICROBIOLÓGICOS CON EL TIPO DE LESIÓN MAMARIA

En el análisis de estos datos únicamente nos centramos en aquellas muestras CMT positivas, que fueron 264.

En la siguiente gráfica mostramos la distribución de los aislamientos microbiológicos de las 102 muestras procedentes de animales sin lesiones aparentes en glándula mamaria frente a las 162 procedentes de ovejas con lesiones palpables en glándulas mamarias (Figura 5).

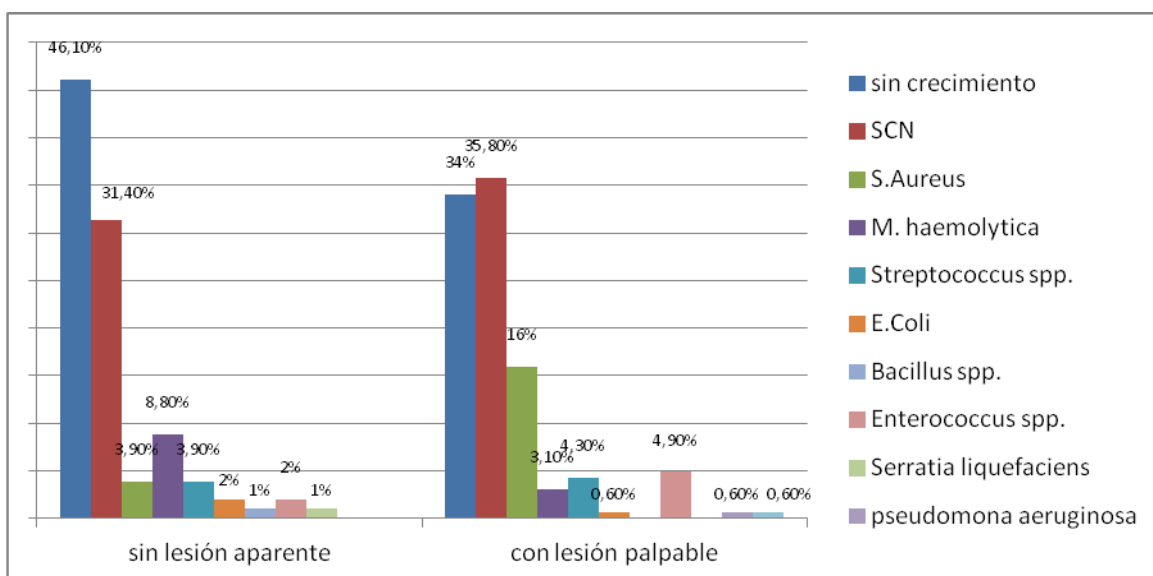


Figura 5. Relación de aislamientos microbiológicos con y sin lesión mamaria detectable.

En esta gráfica constatamos que las mamas sin lesión aparente tienen un mayor porcentaje de ausencia de aislamientos (falsos positivos al CMT), siendo los principales microorganismos aislados los SCN, patógenos importantes en las mamitis subclínicas.

Al contrastar las frecuencias y tipos de lesiones palpables en glándulas mamarias producidos por los dos microorganismos más habituales en infecciones mamarias, SCN y *S. aureus*, observamos que existen diferencias significativas ( $p= 0,16$ ) y que *S. aureus* produce un mayor número de lesiones palpables en ubre que las infecciones por SCN.

En la Tabla 4 desglosamos el tipo de lesión mamaria según los aislamientos obtenidos.

Micro/lesión	Normal	Atrofia	Lesiones nodulares	Induración	Lupia	Impétigo	edema	Atro Nod	
<b>Sin aislamiento</b>	46 44,2%	43 41,3%	12 11,5%	1 1%	1 1%	0	0	1 1%	104
<b>SCN</b>	33 35,9%	53 57,6%	6 6,5%	0	0	0	0	0	92
<b><i>S. aureus</i></b>	4 12,9%	11 35,5%	10 32,3%	6 19,4%	0	0	0	0	31
<b><i>M. haemolytica</i></b>	9 64,3%	4 28,6%	0	1 7,1%	0	0	0	0	14
<b><i>Streptococcus spp.</i></b>	3 23%	5 38,4%	3 23%	1 7,7%	0	1 7,7%	0	0	13
<b><i>E. coli</i></b>	2 66,7%	1 33%	0	0	0	0	0	0	3
<b><i>Bacillus spp.</i></b>	1 100%	0	0	0	0	0	0	0	1
<b><i>Enterococcus spp.</i></b>	2 20%	5 50%	2 20%	0	0	0	1 10%	0	10
<b><i>S. liquefaciens</i></b>	1 100%	0	0	0	0	0	0	0	1
<b><i>P. aeruginosa</i></b>	0	0	1 100%	0	0	0	0	0	1
<b><i>Corynebacterium spp.</i></b>	0	0	1 100%	0	0	0	0	0	1
	101 37,3%	122 45%	35 12,9%	9 3,3%	1 0,4%	1 0,4%	1 0,4%	1 0,4%	271 100%

Tabla 4. Relación del tipo de lesión mamaria con los aislamientos microbiológicos.

Como observamos en la tabla 4, SCN son los principales causantes de mamitis subclínicas sin lesión detectable, pero, cuando producen lesión, es mayoritariamente de tipo atrófico (57,6%). Aislándose, además, en un 6,5% de lesiones nodulares.

*S. aureus*, sin embargo, se aísla poco de glándulas mamarias sin lesiones aparentes (12,9%), y las lesiones que tiende a producir, con frecuencias similares, son: atrofias (35,5%), lesiones nodulares (32,3%) y tumefacción (19,4%) (Figura 6). Estos datos están

en concordancia con los obtenidos por *Marco(1994)* en su estudio, el cual constata que *S. aureus* muestra una mayor asociación a lesiones atróficas, mixtas y nodulares, con una frecuencia sensiblemente superior al resto de los estafilococos.

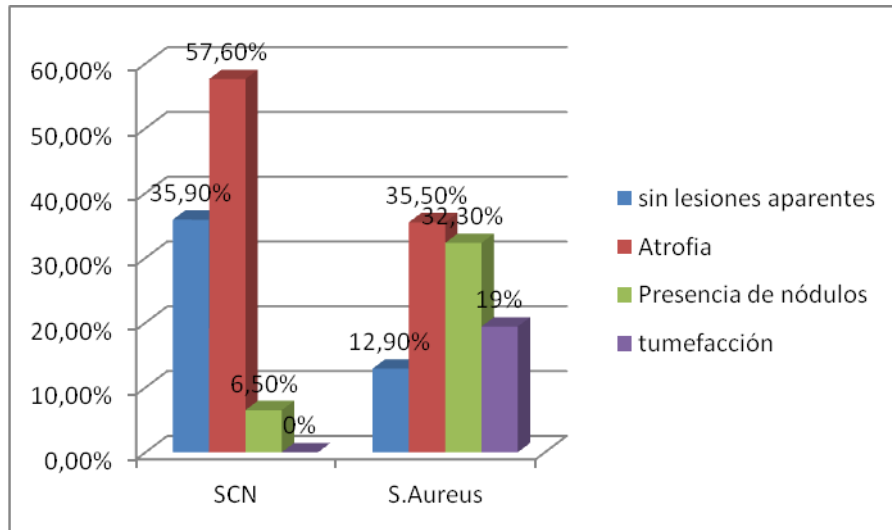


Figura 6. Tipo de lesión mamaria en función del microorganismo aislado.

Por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio corroboran lo que es citado en múltiples trabajos, que relacionan los SCN como el principal productor de mamitis subclínicas (*Kirk. et al.,1980; Bork et al.,1989; Watkins et al., 1991; Ahmad et al.,1992; Keisler et al.,1992; Gonzalez Rodriguez et al.,1995; Jones y Watkins,1998; Lafi et al., 1998;Croft et al.,2000*). Mientras que *S. aureus* produce, o bien mamitis clínicas agudas o sobreagudas (escasamente reflejadas en este estudio) o crónicas, con un mayor porcentaje de animales con lesiones en glándulas mamarias de tipo atrófico y nodular. Estas diferencias, en nuestro estudio, resultaron ser significativas ( $p= 0,000$ ) y el riesgo de presentar lesiones palpables en glándulas mamarias es casi 4 veces mayor (factor de riesgo: 3,775) ante una infección de *S. aureus* que ante una de SCN (Figura 7).



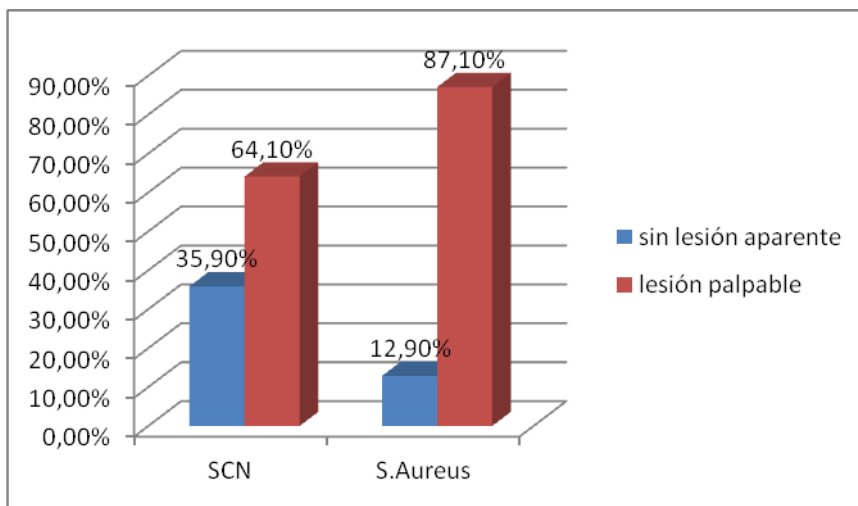


Figura 7. Porcentaje de lesión mamaria en función del microorganismo aislado.

La diferencia entre el tipo de lesiones que producen SCN y *S. aureus* se hace más evidente si nos centramos únicamente en los animales con lesiones palpables en glándulas mamarias (Figura 8).

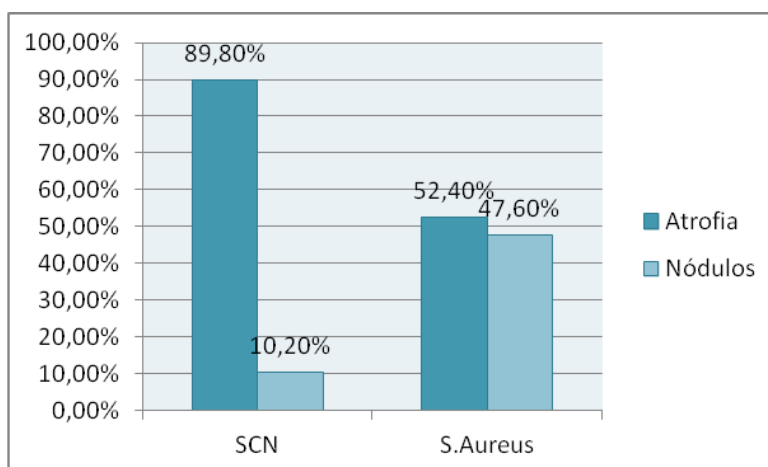


Figura 8. Tipo de lesión mamaria que producen SCN y *S. aureus*.

*Marco(1994)*, en su tesis doctoral, corrobora nuestros datos y al comparar *S. aureus* con SCN, observó 2,1 veces más atrofias por *S. aureus* que por SCN, 3,4 veces más formaciones nodulares y 1,3 veces más lesiones mixtas.

Del mismo modo, *Marogma et al.,(2010)*, en el estudio realizado sobre rebaños de ovejas sardas con problemas de mamitis recurrentes, revela diferencias significativas y una correlación entre aislamiento de *S. aureus* y lesiones o síntomas de mamitis

crónicas; concretamente con la presencia de nódulos, abscesos y atrofas en glándula mamaria.

Por último, citar el grupo de los *Streptococcus spp.* como agentes importantes de la producción de mamitis en el ganado ovino. En la mayor parte de las ocasiones se aíslan de muestras procedentes de ovejas con lesiones mamarias, obteniéndose en nuestro trabajo únicamente en un 23% de mamas sin lesión. Las lesiones con las que se relacionó este microorganismo fueron, fundamentalmente, atrofia (38,4%) y formaciones nodulares (23%), aunque también se aisló en un 7,7% de los casos en lesiones indurativas.

El resto de los microorganismos menores aislados también producen lesiones en mayor o menor porcentaje, pero dado que han sido aislados en un número bajo de muestras que no es representativo, no expondremos aquí los resultados.

Podemos concluir que, a la vista de los resultados obtenidos se empiezan a vislumbrar relaciones claras entre microorganismos y tipos de lesión que producen, serán necesarios estudios posteriores para corroborar estos resultados que creemos que pueden resultar de gran utilidad en el trabajo de campo, tanto del ganadero, como del veterinario que trabaja con mamitis.

### **3.-LINFONODOS**

La afección de los nódulos linfáticos supramamarios, los cuales defienden de infecciones a la glándula mamaria, la vamos a estudiar en un capítulo aparte porque no siempre está relacionada su alteración con afección de la glándula mamaria y pensamos que pueden dar información adicional en su valoración.

#### **A. RELACIÓN ENTRE AFECCIÓN DE LINFONODOS Y CMT**

En la recogida de datos, únicamente dimos dos valores diferentes en función al estado de los linfonodos, diferenciando aquellos que presentaban un aumento de su tamaño, fuera cual fuese, y los nódulos linfáticos que mostraban un aspecto normal.

Al analizar y contrastar los datos obtenidos hemos podido observar que los animales con linfonodos aumentados de tamaño dan un mayor número de reacciones positivas al CMT que aquellos que no tienen alteración en el tamaño o forma de los mismos. De un total de 264 animales que eran CMT positivo, 71 presentaban alteración en los linfonodos, frente a 193 con linfonodos normales.

El análisis estadístico de los datos obtenidos confirma ( $p= 0.2$ ) que el riesgo de que un animal con linfonodos aumentados de tamaño sea CMT positivo es 6,7 veces mayor que en aquellos animales que tienen los linfonodos supramamarios normales. En concordancia con estos resultados, en el estudio realizado por *Las Heras del Río et al. (2002)*, en el que se evalúa el efecto de infección subclínica intramamaria por diferentes agentes etiológicos sobre determinados parámetros de interés clínico, CMT, recuentos bacterianos, tumefacción den linfonodos supramamarios, etc., los autores describen que los microorganismo aislados que dan lugar a mayores reacciones al CMT irían acompañados de recuentos bacterianos en leche más elevados y de una mayor tumefacción en linfonodos supramamarios.

## **B. RELACIÓN ENTRE AFECCIÓN DE NÓDULOS LINFÁTICOS Y AISLAMIENTO MICROBIOLÓGICO**

Del total de 271 ovejas muestreadas, un 28% (76) mostraban un aumento de tamaño apreciable de los nódulos linfáticos supramamarios y 195(72%) no mostraban alteración de los linfonodos. De las ovejas con afección de nódulos linfáticos un 71,10% dieron cultivo de leche positivo a algún microorganismo, en contraste con las que no tenían afección de nódulos linfáticos que sólo dieron cultivo positivo un 57,90% (Figura 9).

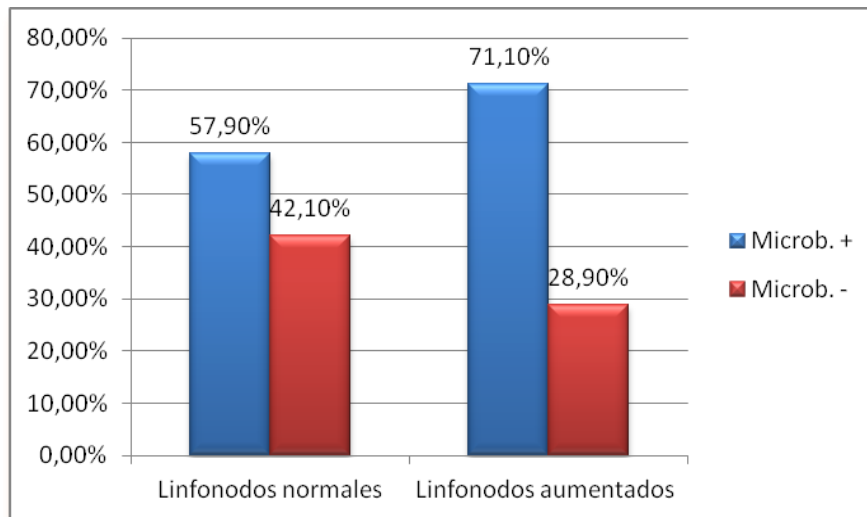


Figura 9. Relación entre la afección de nódulos linfáticos y aislamientos microbiológicos.

El estudio de los datos y su contraste estadístico muestra que existen diferencias significativas entre aquellos animales con linfonodos aumentados de tamaño y los que no con respecto a la microbiología ( $p=0,46$ ). Las ovejas que muestran los nódulos linfáticos supramamarios aumentados de tamaño tienen 1,78 veces más riesgo de estar padeciendo una infección bacteriana en la glándula mamaria que las que no los tienen afectados o, lo que vendría a ser lo mismo, tenemos una mayor posibilidad de obtener cultivo positivo de una oveja con los linfonodos aumentados que de una oveja cuyos linfonodos estén normales. Estos datos discrepan con los resultados obtenidos por *Marco (1994)* en su estudio sobre la mamitis en la oveja Latxa, el cual, tras analizar la tumefacción de los linfonodos, resuelve que no ha mostrado una relación significativa con la infección mamaria y por lo tanto debe excluirse como criterio de anormalidad de la ubre.

No obstante, en concordancia con nuestros resultados, *Marogna G. et al. (2010)*, en el estudio realizado sobre hallazgos clínicos en explotaciones afectadas por episodios de mamitis bacterianas recurrentes, describe que el hallazgo clínico más común es el aumento del tamaño de linfonodos supramamarios y que las ovejas con linfonodos reactivos tienen un 38% más de posibilidades de ser cultivo positivo que las que tienen los linfonodos normales.

### C. RELACIÓN ENTRE AFECCIÓN DE NÓDULOS LINFÁTICOS Y MICROORGANISMO

En la Tabla 5 observamos el porcentaje de aislamientos microbiológicos en los animales con nódulos linfáticos aumentados de tamaño y en los que presentan los linfonodos normales.

Microbiología	LN Normales	LN Alterados
Sin crecimiento	42,1%	28,9%
SCN	37,4%	25%
<i>S. aureus</i>	9,2%	17,1%
<i>M. haemolytica</i>	3,6%	9,2%
<i>Streptococcus spp.</i>	2%	11,8%
<i>D. coli</i>	1,5%	0
<i>Bacillus spp.</i>	0,5%	0
<i>Enterococcus spp.</i>	3,1%	5,3%
<i>Ser. liquifaciens</i>	0,5%	0
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	0	1,3%
<i>Corynebacterium spp.</i>	0	1,4%

Tabla 5. Porcentaje de aislamientos microbiológicos en animales con nódulos linfáticos afectados y no afectados.

Al comparar la reacción que producen en los linfonodos los diferentes microorganismos productores de mamitis observamos que existen diferencias significativas. *S. aureus* produce significativamente ( $p=0,19$ ) una mayor alteración en los linfonodos que los SCN (Figura 10). El 42% de los animales con cultivo positivo a *S. aureus* tenían los nódulos linfáticos aumentados de tamaño, siendo en los animales positivos a SCN únicamente en un 20%. Esto concuerda con lo dicho hasta ahora en relación a que SCN son productores de mamitis subclínicas, sin alteración de la glándula mamaria ni, como vemos ahora, de los nódulos linfáticos. No así *S. aureus* que es un microorganismo relacionado fundamentalmente con mamitis clínicas, en las que hay afección del parénquima mamario, pero también de los nódulos linfáticos que lo protegen.

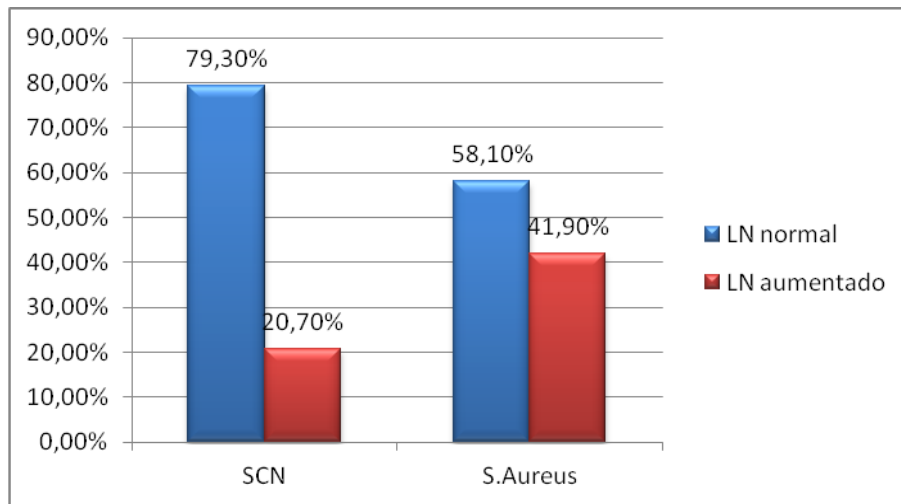


Figura 10. Afección de linfonodos en animales con aislamientos positivos en leche a SCN y *S. aureus*.

En el caso de los aislamientos positivos a microorganismos del G<sup>o</sup> *Streptococcus* observamos que un 11,8% de los animales con linfonodos afectados son positivos a estos gérmenes y únicamente un 2% de los que tenían linfonodos normales. Estos datos arrojan significación, con lo cual podemos concluir que también las mamitis producidas por *Streptococcus* spp. se acompañan de mayor alteración en linfonodos que las de SCN. Dato que también concuerda con los resultados de la alteración del parénquima mamario ya que eran más productores de mamitis clínicas, al igual que *S. aureus*. Este dato concuerda con el obtenido por *Marogma et al.(2010)*, donde describen la existencia de correlación significativa entre aislamiento de *Streptococcus uberis* y la reactividad de los linfonodos supramamarios.

Del mismo modo, en el estudio realizado por *Las Heras del Río et al.(2002)*, donde estudian la relación entre el grupo bacteriano aislado de las mamitis subclínicas y algunos parámetros de interés clínico, observaron que *Staphylococcus aureus* ocupa el primer lugar en cuanto a la alteración del estado de linfonodos supramamarios, seguidos por SCN, *Corynebacterium* y, en último lugar, los *Streptococcus*, pero sin diferencias significativas entre los grupos, aunque mostró una tendencia a la significación entre *S. aureus* y el resto. También detectan una correlación positiva moderada del CMT con los recuentos bacterianos (0,15) y la alteración de linfonodos (0,18) por lo que, de manera moderada también, parece que los aislados que dan lugar a mayores reacciones al CMT irían acompañados de mayores recuentos bacterianos y darían lugar a mayor tumefacción de linfonodos supramamarios.

Asimismo, en el estudio llevado a cabo por *Marogma et al.(2010)*, sobre rebaños de ovejas sardas que se caracterizaban por tener episodios recurrentes de mastitis, concluye que los animales con los linfonodos alterados tienen un 38 % más posibilidades de presentar un cultivo positivo en la muestra de leche que aquellos que tienen los linfonodos supramamarios sin alteraciones.

Si comparamos SCN con *M. haemolytica* observamos que las infecciones mamarias producidas por *Mannheimia haemolytica* se acompañan de más reacciones en linfonodos que las producidas por SCN. No obstante, y dado al pequeño número de muestras de *M. haemolytica* obtenidas en el estudio, no se alcanzó significación en los datos. Serán necesarios estudios posteriores para confirmar este hecho.

El resto de los datos de los microorganismos menores productores de mastitis también se contrastaron con los datos positivos de SCN (principal germen aislado en las mastitis), sin embargo no hayamos diferencias significativas debido al pequeño número de aislamientos positivos a estos gérmes. Nuevamente estudios posteriores serán necesarios.

#### **4.-LACTACIONES**

A pesar de que es un estudio sesgado porque carecemos de la distribución completa por lactaciones de los rebaños, sí que podemos corroborar con los datos obtenidos que el mayor número de animales CMT positivos se obtiene en animales que están entre la 3ª y 4ª lactación (Figura 11). Además, la mayoría de las muestras con cultivo positivo proceden de animales situados en alguna de estas dos lactaciones.

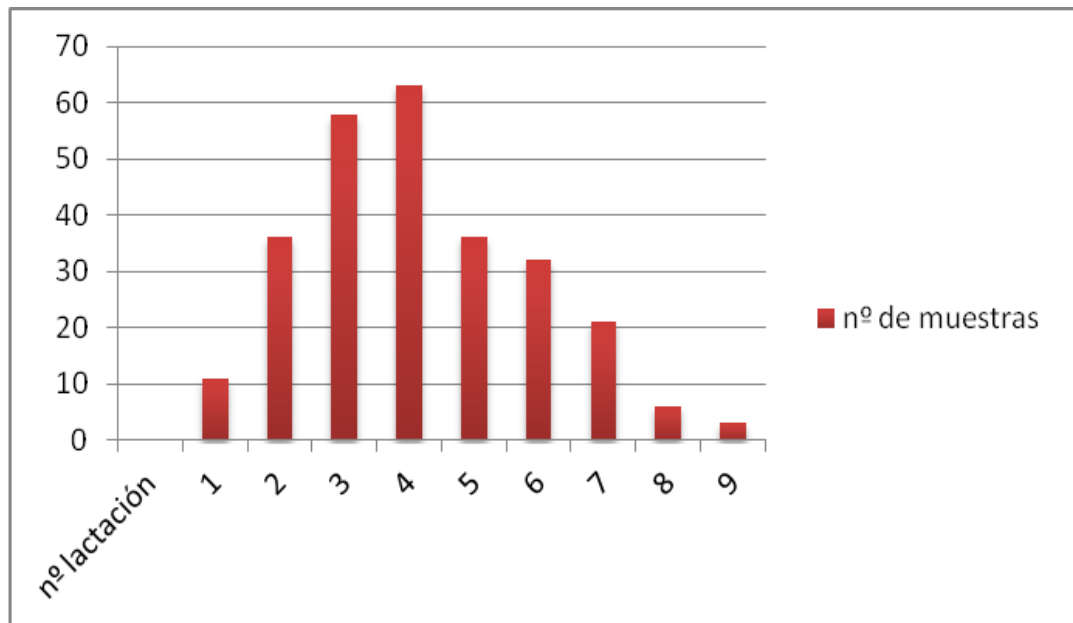


Figura 11. Número de lactación en el que se encontraban las ovejas en el momento de su estudio.

En concordancia con estos resultados, algunos estudios realizados al respecto (*Gross et al. 1978; Lafi et al. 1998*) describen un aumento de la positividad del CMT conforme avanza la edad o lactación del animal. Del mismo modo, la revisión sobre mamitis en pequeños rumiantes realizada por *Bergonier et al. (2003)* detalla diferentes trabajos realizados donde se describe un aumento de la prevalencia de mamitis conforme avanza el número de lactaciones, tanto en ovino, como en caprino (*Boscos et al., 1996; Fthenakis et al., 1994; Leitner et al., 2001; Seyi et al., 2000*).

No obstante, debemos ser cautos al interpretar estos datos dada la dificultad que genera el diferenciar entre incidencia y prevalencia (cronicidad o reactivación), puesto que el aumento de las prevalencias durante la lactación podría deberse a que existe una incidencia que determina nuevos contagios o, por el contrario, que el aumento de prevalencia conforme aumenta la lactación se deba a que infecciones ya existentes anteriormente cronifican o se reactivan.

*Arsenault et al. (2008)* en su estudio sobre factores de riesgo e impacto de las mamitis en ovino de carne en Quebec, dice también que el riesgo de obtener un CMT positivo aumenta con la edad. Asimismo, describen que el riesgo de obtener un cultivo positivo en las muestras de leche aumenta en animales con dos partos o más. Estos datos son concordantes también con los obtenidos por nosotros tal y como muestra la figura 12.



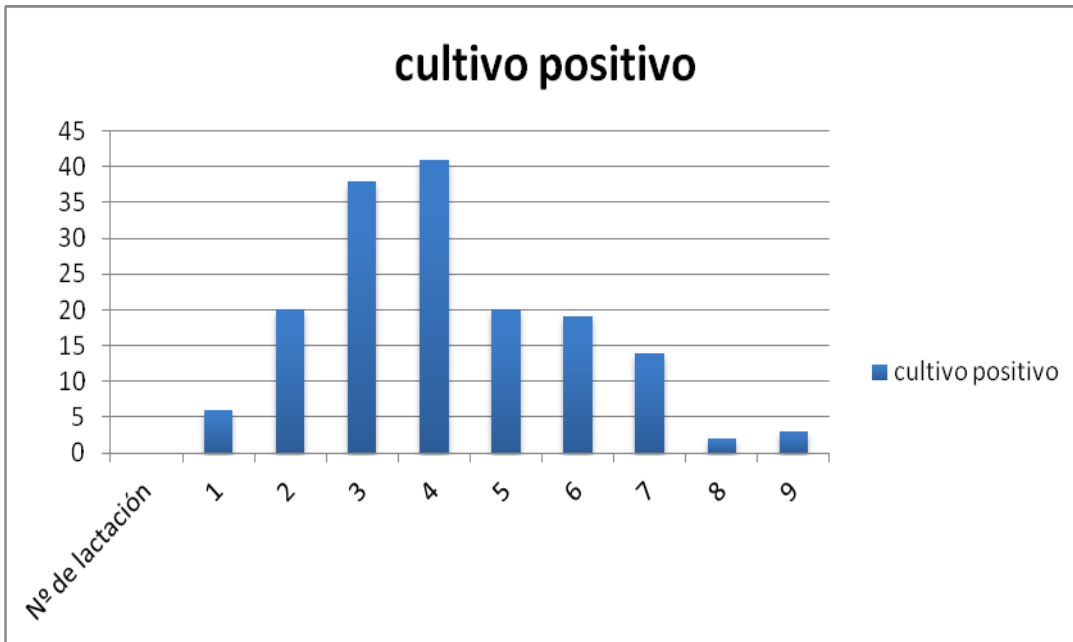


Figura 12. Número de lactación en el que se encontraban las ovejas que dieron cultivo positivo.

El que disminuya el número de animales positivos a partir de la 5ª lactación no significa que se den menos cultivos positivos en animales más viejos, sino que hay menos animales que lleguen a estas lactaciones y, como consecuencia, el número de muestras es menor.

Exactamente igual ocurre si analizamos los animales que presentan mayor número de lesiones palpables en glándulas mamarias. Estos también son los que se encuentran entre la 3ª o 4ª lactación.

En cualquier caso, serán necesarios estudios posteriores para corroborar esta tendencia, pero los datos obtenidos parecen indicar que existe un mayor número de animales afectados y con microbiología positiva en aquellas ovejas que se encuentran entre su tercera o cuarta lactación, aunque probablemente, cuando analicemos un mayor número de datos veremos que el porcentaje de animales afectados aumenta con la edad.

## 5.-RECUESTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN TANQUE DE LECHE

Numerosos estudios han descrito el uso del recuento de células somáticas de tanque como una herramienta más para el diagnóstico colectivo de la situación sanitaria a nivel mamario en un rebaño (*Lagriffoul et al.,1999*). Es por ello que decidimos incluir en nuestro estudio los datos referentes a los recuentos celulares de tanque de cada explotación.

En la Tabla 6 mostramos, por una parte, los recuentos celulares en el momento en que se realizó la actuación y, por otra parte, la media de las células somáticas de tanque en la campaña sobre la que actuamos (cada ganadero posee al menos dos recuentos celulares por mes).

Los parámetros analizados son: las prevalencias de CMT positivo obtenidas el día de la actuación ( $\text{N}^{\circ}$  total de animales CMT positivos/  $\text{n}^{\circ}$  total de animales en ordeño el día de la actuación) y las prevalencias de cultivo positivo ( $\text{N}^{\circ}$  total de animales CMT positivos que presentan cultivo positivo /  $\text{n}^{\circ}$  total de animales en ordeño el día de la actuación).

Finalmente, el último parámetro incluido es la presencia o ausencia de *S. aureus* en tanque en las fechas inmediatamente anteriores a la actuación. Este dato lo incluimos porque pensábamos que quizás podría tener influencia en la prevalencia de CMT positivo, ya que ante este tipo de situaciones solemos considerar CMT positivos resultados que pueden ser de un grado dudoso.

Los recuentos de células somáticas en tanque medios por campaña en nuestro estudio varían de 150.000 a 1.001.000 , con un valor medio de 398.000 células y las prevalencias de cultivo positivo van desde 1% al 17,8% (valor medio: 4,53 %).

	Prev. CMT+	Prev. Cul.+	RCS tanque en fecha	RCS medio anual	S. aureus tanque
<b>1</b>	4,3%	2,8%	349.000	412.000	No
<b>2</b>	4,4%	3,75%	471.000	527.000	Sí
<b>3.1</b>	9,5%	4,8%	430.000	477.000	Sí
<b>3.2</b>	5,4%	2,7%	269.000	251.000	Sí
<b>4</b>	3%	1,03%	179.000	159.000	No
<b>5</b>	4,8%	4,2%	1.001.000	1.628.000	Sí
<b>6.1</b>	6,57%	3,9%	448.000	467.000	Sí
<b>6.2</b>	28,7%	17,8%	771.000	467.000	No
<b>7</b>	9%	4,5%	401.000	466.000	Sí
<b>8</b>	2,5%	1,4%	373.000	467.000	No
<b>9.1</b>	14,9%	10,7%	765.000	422.000	Sí
<b>9.2</b>	4,1%	3%	403.000	458.000	No
<b>9.3</b>	2,5%	1,3%	438.000	490.000	Sí
<b>9.4</b>	11%	8,2%	626.000	647.000	Sí
<b>10.1</b>	4,9%	3,18%	277.000	354.000	Sí
<b>10.2</b>	5,9%	3,9%	370.000	478.000	Sí
<b>10.3</b>	7%	3,4%	648.000	478.000	No
<b>12</b>	3,37%	1%	96.000	151.000	Sí

Tabla 6. Datos obtenidos de las 12 explotaciones: prevalencias de CMT y cultivos microbiológico positivo de leche; recuentos de células somáticas medios y en el momento del muestreo y presencia de *S. aureus* en leche de tanque. En ocasiones se realizó más de una actuación sobre una misma explotación en diferentes fechas y/o campañas, por lo que recogemos los datos de tanque en las distintas fechas para la misma explotación (3.1, 3.2;6.1,6.2;...).

En las 12 explotaciones en las que se actuó en nuestro estudio, 15 recuentos de tanque son inferiores a 500.000 células, dos tanques se encuentran entre 500.000 y 650.000 y, finalmente, hay una única explotación cuyo valor supera el millón de células. Estos recuentos no son muy elevados porque todas ellas son explotaciones elaboradoras de queso, con ganaderos muy concienciados sobre la importancia de la calidad de la leche y con un largo recorrido en el ordeño mecánico.

En 1.998, las medias de recuentos de células somáticas en tanque se situaban en 1,8 millones de células por ml en rebaños de oveja Sarda (*Ledda et al.,2000*), en 1,5 millones en Castilla –León y en 0,6 millones en el País Vasco (*Gonzalo et al., 2000*). Del mismo modo, en un estudio similar llevado a cabo en el área de los pirineos atlánticos franceses, los autores describen medias de 0.7 millones y 0.65 millones para la zona de Roquefort (*Lagriffoul et al.,2000*).

El estudio realizado por *Romeo et al.(1998)* sobre rebaños españoles de ovino de leche, en el que consideran que una oveja está infectada si sus recuentos celulares son superiores a 340.000 células somáticas, estiman que las prevalencias para las mamitis subclínicas se encuentran entre un 6% y 26% en rebaños que presentaban recuentos de células somáticas en tanque de 300.000 y 1.100.000, respectivamente. La relación entre las prevalencias de mamitis y los datos de recuentos celulares en tanque observados en nuestro estudio están en concordancia con este trabajo y con otros estudios más profundos realizados al respecto.

En cualquier caso será necesario realizar nuevos estudios para profundizar y analizar en profundidad el posible diagnóstico colectivo de las prevalencias de mamitis subclínicas en los rebaños de ovino de leche de Guipúzcoa a partir de los recuentos de células somáticas en leche de tanque.

# CONCLUSIONES

---

- 1. Los principales microorganismos aislados de las ovejas con resultado positivo al California Mastitis Test (CMT), pero sin síntomas de mastitis aguda, son *Staphilococcus coagulasa negativos (SCN)* (33,4%) y *S. aureus* (11,4%). Por lo tanto, estos dos grupos de bacterias se presentan como los principales productores de mastitis subclínicas y crónicas.**
- 2. Del total de muestras analizadas, un 41% corresponden a mastitis crónicas, un 20,7% a mastitis subclínicas, un 17,3% a falsos positivos al CMT y un 21% a ovejas con cultivo negativo pero procedentes de animales con lesiones palpables y, por lo tanto, animales crónicos con posible eliminación intermitente del germen. De modo que, podemos concluir que la exploración mamaria debería ser una herramienta a aplicar de manera rutinaria en la prevención y diagnóstico de las mastitis, debiendo realizarse a la totalidad de los animales en ordeño, sean CMT positivo o negativo, para así poder detectar y eliminar los animales con lesiones.**
- 3. Los principales microorganismos aislados de mastitis subclínicas son los SCN (58,2%). *S. Aureus* está más relacionado con afección clínica del parénquima mamario, por lo tanto es un agente más relacionado con las mastitis crónicas y agudas que con las subclínicas.**
- 4. La atrofia del parénquima mamario es la principal lesión detectable por palpación (71,8%), seguida de lesiones nodulares (20,5%). Cuando los SCN producen lesión mamaria, es mayoritariamente de tipo atrófico, sin embargo, *S. aureus* produce en similares proporciones atrofias y lesiones nodulares.**
- 5. Los animales con linfonodos alterados tienen mayor probabilidad de resultar CMT positivo y de dar cultivo positivo que aquellos que presentan linfonodos normales. El microorganismo que produce mayor reacción de los nódulos linfáticos supramamarios es *S. aureus*.**

# REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

---

1. Ahmad G, Timms LL, Morrical DG, Brackelsberg PO. Ovine subclinical mastitis efficacy of dry treatment. *Sheep Res J.*1.992; Vol.8: 30-33.
2. Arranz J, Beltrán de Heredia I. Testing of the CMT method in the detection of subclinical mastitis in sheep. 4<sup>th</sup> international symposium on machine milking of small ruminants.1.989; pp. 369-38, Israel, 13-19 sept.
3. Arsenault J, Dubreuil P, Higgins R, Belanger D. Risk factors and impacts of clinical and subclinical mastitis in commercial meat producing sheep flock in Quebec, Canada. *Prev. Vet. Med.*2.008;87:373-393.
4. Bergonier D, Berthelot X. New advances in epizootiology and control of ewe mastitis. *Livest. Prod. Sci.*2.003;79:1-16.
5. Bergonier D, Berthelot X, Romeo M, Contreras A, Coni V, et al. Frequences de differents germes responsables de mammites cliniques et subcliniques chez les petits ruminants laitiers.1.999; In: *Milking and milk production of dairy sheep and goats*(1.999). EAA publications 45:130-136. Barillet F and N.P. Zervas(ed.). Wageningen Pers, Wageningen. The Netherlands, 1.999.
6. Bergonier D, De Cremoux R, Rupp R, Lagriffoul G, Berthelot X. Mastitis of dairy small ruminants. *Vet. Res.*2.003; 34: 689-716.
7. Bergonier D, Van de Wiele A, Arranz JM, Barillet F, Lagriffoul G et al. Detection des infections mammaires subcliniques chez la brebis laitière á l'aide des comptages de cellules somatiques: proposition de seuils physiologiques. In: Rubino R. (Ed.) *Proceedings of somatic cells and milk of small ruminants, international symposium, Bella, Italy, Wageningen Pers, The Netherlands, 1.996; pp.41-47.*
8. Bor A, Winkler M, Gootwine E. Non clinical intramammary infection in lactating ewes and its association with clinical mastitis. *Br. Vet. J.*1.989; 145: 178-184.
9. Boscós C, Stefanakis A, Alexopoulos C, Samartzi F. Prevalence of subclinical mastitis and influence of breed, parity, stage of lactation and mammary bacteriological status on coulter counter counts and CMT in the milk of Saanen and autochthonous Greek goats. *Small Rumin. Res.*1.996; 21: 139-147.
10. Burriel AR. Dynamics of intramammary infection in the sheep caused by coagulase negative staphylococci and its influence on udder tissue and milk composition. *Vet. Res.* 1.997; 140: 419-423.



11. Burriel AR. Isolation of coagulase negative staphylococci from the milk and environment of the sheep. *J. Dairy. Res.* 1998; 65: 139-142.
12. Clement ACA, Taylor DJ, Fitzpatrick JL. Evaluation of diagnostic procedures for subclinical mastitis in meat –producing sheep. *J. Dairy. Res.* 2.003; 70: 139-148.
13. Croft A, Duffield T, Menzies P, Leslie K, Bagg R. et al. The effect of tilmicosin administered to ewes prior to lambing on incidence of clinical mastitis and subsequent lamb performance. *Can. Vet. J.* 2.000; 41: 306-311.
14. Esnal A, Romeo M, Extramiana B, Gonzalez L, Marco JL. mamitis en la oveja latxa: Eficacia del tratamiento y dinámica de infección durante el periodo seco. In: XIX Jornadas científicas de la Sociedad Ovinotécnica y caprinotécnica, Burgos, España. 1.994. pp.45-49.
15. Fthenakis GC. Prevalence and etiology of subclinical mastitis in ewes of southern Greece. *Small Rumin. Res.* 1994; 13: 293-300.
16. Fthenakis GC, Jones JET. The effect of experimentally induced subclinical mastitis on milk yield of ewes and on the growth of lamb. *Br. Vet. J.* 1.990; 146: 43-49.
17. Gonzalez Rodriguez MC, Gonzalo C, San Primitivo F, Carmenes P. Relationship between somatic cell count and intramammary infection of the half udder in dairy ewes. *J. Dairy. Sci.* 1.995; 2753-2759.
18. Gonzalo C, Ariznabarreta A, Carriedo JA, Primitivo FS. Mammary pathogens and their relationship to somatic cell count and milk yield losses in dairy ewes. *Journal of dairy Science.* 2.002; 85: 1460-1467.
19. Gross SJ, Pollak EJ, Anderson JG, Torell DT. Incidence and importance of subclinical mastitis in sheep. *J. Anim. Sci.* 1978; 46: 1-8.
20. Herrtage ME. Physical examination of cull ewes at point of slaughter. *Vet. Rec.* 1.974; 95: 257-260.
21. Hueston WD, Boner GJ, Baertsche ST. Intramammary antibiotic treatment at the end of lactation for prophylaxis and treatment of intramammary infections in ewes. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1.989; 194: 1041-1044.
22. Jones JET, Watkins GH. Studies on mastitis in sheep at the royal veterinary college. *Sheep Vet. Soc. Proc.* 1.998; 22: 83-90.

23. Kalinowska C, Golubinska B, Malgorzata D. The influence of a positive schlam milk test (CMT) in lowland female sheep on growth and survival lambs. *Med. Weterynaryjna*. 1985; XLI: 501-503
24. Keisler DH, Andrews ML, Moffat RJ. Subclinical mastitis in ewes and its effect on lamb performance. *J. Anim. Sci.* 1992; 70: 1677-1681.
25. Kirk JH, Anderson BC. Mastitis and udder abnormalities as relates to neonatal lamb mortality in shed-lambing ewes. *J. Anim. Sci.* 1980; 70: 1677-1681.
26. Kirk JH, Glem JS. Mastitis in ewes. *Comp Cont. Educ. Pract.* 1996; 18: 582-591.
27. Lafi SQ, Al-Majali AM, Rousan MD, Alawneh JM. Epidemiological studies of clinical and subclinical ovine mastitis in awasi sheep in northern Jordan. *Prev. Vet. Med.* 1998; 33: 171-181.
28. Lagriffoul G, Barillet F, Bergonier D, Berthelot X, Jacquin M. Relation entre les comptages de cellules somatiques du lait de troupeau et la prevalence des mammites subcliniques des brebis estimée avec les comptages de cellules somatiques individuels. In: Barillet F., Zervas N.P (eds.), *Proceeding of the sixth international Symposium on the milking of small ruminants. Milking and milk production of dairy sheep and goats, Athens, Greece, Wageningen Pers, The Netherlands.* 1999; pp. 151-156.
29. Lagriffoul G, Bergonier D, Bernard J, Millet F, Arranz JM, Berthelot X, et al. Situación de los recuentos de células somáticas en leche de oveja en Francia. *Ovis.* 2000; 66: 29-34.
30. Las Heras del Río A, Fernandez –Garayzabal JF, Legaz E, López I, Fernandez E et al. Asociación de diferentes agentes responsables de mastitis subclínicas en el ganado ovino lechero y determinados parámetros de interés clínico. In: XXVII *Jornadas científicas de la sociedad de ovinotécnica y caprinotécnica; Valencia, España.* 2002.
31. Leitner G, Chaffer M, Zamir S, Mor T, Glickman A et al. Udder disease etiology, milk somatic cell counts and NAGase activity in Israeli Assaf sheep through lactation. *Small Rumin. Res.* 2001; 39: 107-112.
32. Marco JC. Mastitis ovina. In: *seminario avanzado sobre la producción de ovino de leche (C.I.H.E.A.M). Montañana, Zaragoza.* 1990

33. Marco JC. Mastitis en la oveja latxa: Epidemiología, diagnóstico y control. Tesis doctoral. 1994.
34. Marogna G, Rolesu S, Tola S, Leori G. Clinical findings in sheep farms affected by recurrent bacterial mastitis. *Small Rum. R.* 2.010; 88: 119-125.
35. Menzues PI, Ramanoon SZ. Mastitis of sheep and goats. *Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Pract.* 2.001; 17: 333-358.
36. Omaleki L, Barber JR, Allen JL, Browning GF. Mannheimia species associated with ovine mastitis. *J. clin. microbiol.* 2.010; pp: 3419-3422.
37. Romeo M, Escobal I, Extramiana AB, Esnal A, Contreras A, et al. California mastitis test y producción láctea en ovino lechero. In: XX Jornadas científicas de la sociedad de ovinotecnia y caprinotecnia. Madrid, España. 1.995
38. Romeo M, Marco JC., Aduriz JJ, Marin C, Salazar LM. Mamitis ovinas: Relación entre el recuento celular y los parámetros productivos. IV jornadas sobre producción animal. ITEA. 1991; Vol. Extra, nº 11, tomo II: 727-730.
39. Romeo M, Ziluga I, Marco JC. Diagnóstico in situ de la infección mamaria mediante palpación, california mastitis test y su seguimiento mediante recuento de células somáticas. *Ovis.* 1.998; 56: 61-77.
40. Sanchez A, Contreras A, Jimenez J, Luengo C, Corrales JC, et al. Effect of freezing goat milk samples on recovery of intramammary bacterial pathogens. *Vet. Microbiol.* 2.003; 94: 71-77.
41. Saratsis P, Alexopoulos C, Tzora A, Fthenakis GC. The effect of experimentally induced subclinical mastitis on the milk yield of dairy ewes. *Small Rumin. Res.* 1.999; 32: 205-209.
42. Schalm OW, Carroll EJ, Jain NC. Bovine mastitis. Lea and Febiger ( Ed.). 1.971. Philadelphia.
43. Schukken JAH, Grommers FJ, Vandergeer D, Brand A. Effect of freezing on bacteriologic culturing of mastitis milk samples. *J. Dairy Sci.* 1.988; 72: 1900-06.
44. Scott MJ, Jones JE. The carriage of *Pasteurella haemolytica* in sheep and its transfer between ewes and in relation to mastitis. *J. Comp. Pathol.* 1.998; 118: 359-363.
45. Scott PR, Murphy S. Outbreak of staphylococcal dermatitis in housed lactating Suffolk ewes. *Vet. Rec.* 1.997; 140: 631-632.

46. Seyi A, Taibi L, Albenzio M, Muscio A, Annicchiarico G. Effect of parity on milk yield, composition, somatic cell count, renneting parameters and bacteria counts of comisana ewes. *Small Rumin. Res.* 2.000; 37: 99-107.
47. Torres –Hernandez G, Hohenboken W. Genetic and environmental effects of milk production, milk composition and mastitis incidence in crossbred ewes. *J. Anim. Sci.* 1.979; 46(2): 410-417.
48. Watkins GH, Burriel AR, Jones JET. A field investigation of subclinical mastitis in sheep in southern England. *Br. Vet. J.* 1.991; 147: 413-431.
49. Watson DL, Buswell JF. Modern aspects of sheep mastitis. *Br. Vet. J.* 1.984; 140: 529-534.
50. Ziluga I, Romeo M, Marco JC. Prevalencia, patogenicidad y epidemiología de los microorganismos implicados en procesos mamíticos del ganado ovino. *Ovis.* 1.998; 59: 27-49.
51. Ziv G, Shacked A, Risenberg-Tiner R. The effectiveness of the California mastitis test as a measure of somatic cell count of ewe's milk. *Refuah. Vet.* 1.968; pp: 179-184.

