

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA
DEPARTAMENT DE CIÈNCIA ANIMAL

TESINA MÁSTER EN PRODUCCIÓN ANIMAL

**REGISTRO DIARIO Y AUTOMATIZADO
DE LA CONDUCTIVIDAD ELÉCTRICA
DE LA LECHE DE UBRE PARA LA
DETECCIÓN DE MAMITIS EN
GANADO OVINO**

CAROLINNE SIMÕES FÁVERO

DIRECTOR: CRISTÒFOL PERIS RIBERA



VALENCIA
UPV

2008

AGRADECIMIENTOS

Primero a Dios que ha permitido que yo llegase hasta aquí. A mi novio, Jean, que ha tenido mucha participación en mi adaptación en un país nuevo para mí, con todo tan distinto de lo que estaba acostumbrada en Brasil. A mis padres, Ana y Edinho, por la fuerza para alcanzar mis objetivos, principalmente a mi madre por escuchar con tanta paciencia todos los desahogos por echar de menos a mi vida en Brasil. A mi familia y amigos, por torcer por mí, por las oraciones (tías, tíos, primos, primas). A mi hermano y su mujer (Júnior y Odília), que me recibieron tan bien en España y a Ana Carolina, que con su sonrisa ayudó a que los días fueran más alegres. Al profesor Cristófol Peris, que desde el principio ha confiado en mí y que tanto me ayudó en las cuestiones profesionales y también en las particulares, y por la dedicación para que la tesina estuviera hecha a tiempo. Al profesor Enrique Blas, que me ha permitido participar en el Máster y que también ha tenido tanta paciencia. A todos los profesores que me enseñaron, más allá del contenido de las asignaturas, un poco de castellano y por la dedicación que me otorgaron (Pilar Molina, Pilar Hernández, Antonio Torres, Juanjo Pascual, Manolo Lainez, Martín). A mis compañeros de aula, que me ayudaron en las asignaturas, en el castellano (Begoña, Tamara, Ion, Andrés, Eugenio). A mis compañeros de la granja (José Luis, Amine, Mari Carmen), por la amistad.

Muchas Gracias a todos aquellos que han hecho que la distancia de casa, no fuera tan dolorosa y me han ayudado a crecer un poco más como ser humano.

Carolinne Simões Fávoro

RESUMEN

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar si los registros de conductividad eléctrica (CE) en la leche de ubre, recogidos automáticamente mediante un sensor incorporado al medidor electrónico MM25SG (De Laval, S.A.), podrían ser utilizados para detectar a los animales afectados de mamitis subclínica o clínica en una explotación de ganado ovino.

Para ello, a 46 ovejas se les controló diariamente, en el ordeño de la mañana, la CE en la leche de ubre mediante el sensor citado anteriormente. El ensayo tuvo una duración de 51 días, separado en un periodo pre-experimental (10 días) y uno experimental (41 días). En este último periodo también se registró, dos veces por semana, el CMT y la CE por glándula y ubre utilizando un equipo manual (MILKCHER); además semanalmente también se realizó un análisis bacteriológico de todas las glándulas.

Se compararon 4 métodos de detección de mamitis basados en los registros automatizados por ubre (Métodos 1, 2 y 3) o los recogidos manualmente por glándula (Método 4). El Método 1 se aplicaba sin identificar al animal durante el ordeño (CE máxima superior a un único umbral); el Método 2 requería que los animales estuvieran identificados (CE máxima superior al historial de CE del propio animal); el Método 3 era una combinación de los dos anteriores.

Durante el periodo experimental existieron 7 ovejas con mamitis subclínica y 2 con mamitis clínica. Los Métodos 1, 2 y 3 no fueron capaces de detectar con suficiente precisión a los animales afectados con mamitis subclínica (Sensibilidad del 6,6 al 17,6 %); sin embargo los tres detectaron las mamitis clínicas, de modo que es posible que pudieran tener una aplicación práctica en las explotaciones comerciales, especialmente el Método 3 (menor número de alarmas), aunque se debería confirmar en un nuevo experimento a realizar en una granja comercial con un elevado número de animales en ordeño.

El Método 4 (diferencia de CE entre glándulas de un mismo animal) permitió detectar las mamitis subclínicas con razonable precisión (Sensibilidad 58,5%; Valor Predictivo Positivo: 73,8%), por que lo que sería interesante poder disponer de equipos que detectaran automáticamente estos registros.

Palabras clave: Conductividad eléctrica, mamitis, diagnóstico, ovejas.

ÍNDICE

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	1
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 LA LECHE DE OVEJA EN EL MUNDO	3
1.2 LA CALIDAD DE LA LECHE DE OVEJA	5
1.3 MAMITIS	8
1.4 DETECCIÓN DE MAMITIS	11
1.4.1 Recuento de células somáticas	11
1.4.2 California Mastitis Test (CMT)	12
1.4.3 Conductividad Eléctrica	13
CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS	14
2.1 DISEÑO EXPERIMENTAL	14
2.2 CARACTERÍSTICAS DEL ORDEÑO	15
2.3 IDENTIFICACIÓN DE LOS ANIMALES	15
2.4 VARIABLES MEDIDAS	16
2.4.1 CE, producción y flujo con el medidor MM25SG	16
2.4.2 CE medida por el equipo manualmente	18
2.4.3 CMT	19
2.4.4 Composición y RCS	19
2.4.5 Análisis Microbiológico	20
2.5 MÉTODOS UTILIZADOS PARA DETECCIÓN DE MAMITIS A PARTIR DE LA CE	22
2.6 ANÁLISIS DE DATOS	24
CAPÍTULO 3. RESULTADOS	26
CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN	34
CONCLUSIÓN	36
REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFIA	37
ANEJOS	40

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Distribución de la producción de leche de oveja en el mundo.....	4
Figura 2. Principales países productores de leche de oveja (Tm).....	5
Figura 3. Distintos factores que afectan la calidad de la leche	7
Figura 4. Secreción láctea normal de oveja y suero-sangre de mama con mamitis clínica.....	9
Figura 5. Muestras de leche y mezcla con reactivo CMT.....	12
Figura 6. Folleto explicativo de test CMT comercial y relaciones de colores y características de las muestras después de la mezcla con reactivo para interpretación de los resultados.....	12
Figura 7. ovejas Guirras (A); ovejas Manchega (B) utilizadas en el experimento.....	14
Figura 8. Medidores volumétricos de leche	15
Figura 9. Bolo Ruminal e Identificador Electrónico.....	16
Figura 10. Medidor electrónico	17
Figura 11. Dispositivo automático acoplado al equipo de ordeño.....	17
Figura 12. Pantallas mostrando los datos enviados por el ordenador procedentes del medidor electrónico.....	18
Figura 13. Equipo manual para medir la CE.....	18
Figura 14. Mezcla de muestras de leche con el reactivo CMT.....	19
Figura 15. Equipos: Milko Scan FT120 (A) y Fossomatic 5000 (B).....	20
Figuras 16. A: Muestras almacenadas en microtubos eppendorf.....	21
Figura 17. Evolución de los Falsos Negativos utilizando los 4 métodos (M1,M2,M3,M4) de detección.....	32
Figura 18. Evolución de la Sensibilidad utilizando los 4 métodos (M1,M2,M3,M4) de detección.....	32

Figura 19. Evolución de los Falsos Positivos utilizando los 4 métodos (M1,M2,M3,M4) de detección.....33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Producción mundial de leche por especie en el año de 2004	3
Tabla 2. Composición de la leche de oveja	6
Tabla 3. Composición de la leche en distintas especies	6
Tabla 4. Composición de leche de ovejas: de diferentes razas.....	8
Tabla 5. Características de las ovejas afectadas de mamitis controladas en el período experimental	26
Tabla 6. Producción y diversas características de la leche obtenida en el ordeño de la mañana en las ovejas sanas y en las infectadas	27
Tabla 7. Número de controles y parámetros de validez en los 4 métodos utilizados para la detección de ovejas afectadas de mamitis.....	28
Tabla 8. Ovejas detectadas como infectadas utilizando el Método 1.....	30
Tabla 9. Ovejas detectadas como infectadas utilizando el Método 2.....	30
Tabla 10. Ovejas detectadas como infectadas utilizando el Método 3.....	31
Tabla 11 Ovejas detectadas como infectadas utilizando el Método 4.....	31

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

CE – Conductividad Eléctrica

CMT – *California Mastitis Test*

ECN – Estafilococos Coagulasa Negativo

FP – Falsos Positivos

RCS – Recuento de Células Somáticas

S - Sensibilidad

UPV – Universidad Politécnica de Valencia

VPP – Valor Predictivo de los Positivos

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

En la actualidad existen varios métodos para detectar los animales afectados de mamitis subclínica o clínica, como el análisis bacteriológico, el recuento de células somáticas (RCS), el California Mastitis Test (CMT) y la conductividad eléctrica (CE) de la leche. De todos ellos, la CE es el único que puede automatizarse totalmente (sin intervención de ningún operario), con el objeto de poder realizar la detección “on line”, en el ordeño diario de cada animal (Nielen *et al*, 1992; Norberg, 2005).

En un trabajo anterior Peris *et al.* (1998) demostraron que registrando la CE por glándulas, mediante un equipo manual, era posible detectar con bastante precisión a las ovejas afectadas de mamitis subclínica, utilizando como base de cálculo a la diferencia de CE entre glándulas. Sin embargo, para automatizar estos datos sería necesario instalar equipos específicos en la máquina de ordeño lo cual presentaría dos dificultades: a) la ausencia de equipos comerciales que registren la CE por glándula en pequeños rumiantes y b) la inversión específica que se debería realizar para llevar a cabo la detección de mamitis.

Por otra parte, los medidores electrónicos utilizados actualmente en pequeños rumiantes incorporan, en ocasiones, un sensor de CE (por ejemplo el medidor MM25SG de la empresa De Laval, S.A.) de modo que estos medidores proporcionan datos de CE casi sin coste adicional, si bien los registros se realizan en la leche total de ubre (mezcla de las dos glándulas).

El objetivo de este trabajo es evaluar si los registros de CE en la leche de ubre, mediante un sensor incorporado a un medidor electrónico (MM25SG), podrían ser utilizados para detectar a los animales afectados de mamitis subclínica o clínica en una explotación de ganado ovino.

CAPITULO 1. INTRODUCCIÓN

1.1 LA LECHE DE OVEJA EN EL MUNDO

La leche constituye un alimento de importancia universal, su riqueza en proteína de alto valor biológico, su aporte de energía, la contribución de minerales osteotróficos hacen que ésta forme parte esencial de la dieta del hombre. Es el alimento natural que mayor número de sustancias nutritivas aporta a la dieta; otros son más ricos que ella en algún nutriente en particular, pero ninguno la supera como alimento equilibrado en componentes necesarios para el ser vivo (Rodríguez y Rodríguez, 2004).

En el año 2004, la producción mundial de leche de todas las especies que se ordeñan fue de 613 millones de Tm. Del total mencionado, el 84 % está representado por la leche de vaca, siguiendo en orden de importancia decreciente la leche de búfala (12,4%), la de cabra (2%), la de oveja (1,3%) y, por último, la de camella (2,0%).

Tabla 1. Producción mundial de leche por especie en el año de 2004

Tipo de leche	Producción
	Millones de Tm
Vaca	515,8
Búfala	75,86
Cabra	12,27
Oveja	8,17
Camella	1,29
Producción Total	613

Fuente: FAO, 2005

El ordeño de ovejas para producción de leche es relativamente nuevo en muchos países y, consecuentemente, el conocimiento en esta área es escaso y poco difundido. Por el contrario, en otros países, como los mediterráneos, ésta es una actividad tradicional, donde es practicado desde hace centenares de años. Así mismo, la introducción del ordeño mecánico es relativamente reciente, ya que se inició en Francia en 1962 (Bencini y Pulina, 1997).

La producción de leche de oveja se sitúa principalmente en Asia, Europa y África (42%, 34% y 19%, respectivamente; Figura 1). Sin embargo, en la elaboración de quesos con

leche de oveja, Europa ocupa un lugar preponderante otorgado por la tradición y el posicionamiento que han logrado los mismos en el mercado mundial. Dentro de Europa, los principales productores de queso de oveja son España, Francia, Grecia, Italia y Portugal (Dulce, 2005).

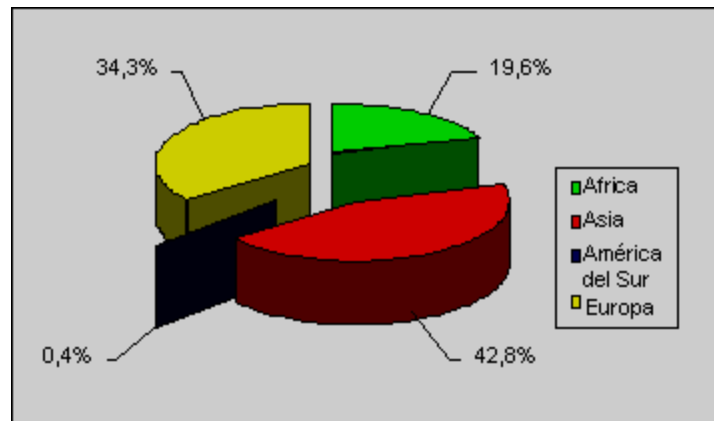


Figura 1. Distribución de la producción de leche de oveja en el mundo

Fuente: Dulce, 2005

La región mediterránea es, por excelencia, el centro de la actividad de producción de leche de oveja en el mundo. Entre los países europeos, asiáticos y africanos de esta zona, se obtiene entre el 60 y el 80% de la producción mundial (Avendaño *et al.*, 2002; FAO, 2005; Figura 2). Es una actividad asociada históricamente a regiones marginales, con dificultades climáticas y geográficas. En muchos casos ha sobrevivido sin alteraciones a los avances tecnológicos, con utilización casi exclusiva de praderas naturales. Sin embargo ha habido áreas donde la actividad ha generado abundante información en manejo, alimentación y sanidad (Avendaño *et al.* 2002).

La mayoría de la leche de oveja producida en el mundo es transformada en diversos tipos de quesos. Raramente la leche de oveja es consumida en la forma líquida, ya que este producto tiene un menor valor añadido en el mercado (Emediato, 2008).

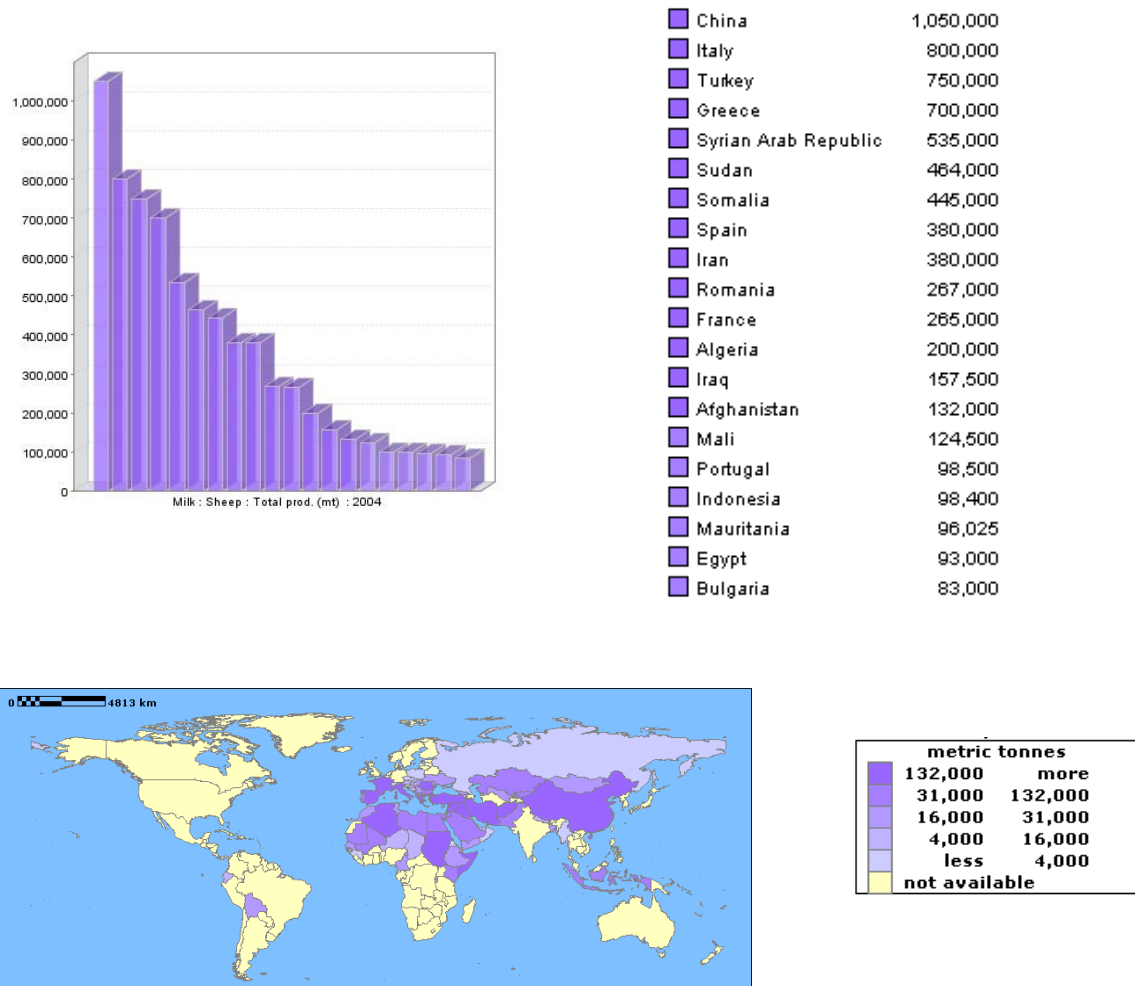


Figura 2. Principales países productores de leche de oveja (Tm)

Fuente: FAO, 2005

1.2 LA CALIDAD DE LA LECHE DE OVEJA

El color de la leche es blanco nacarado y resulta más opaca que la de vaca y cabra. Es más viscosa, característica ligada a la riqueza de sus componentes. Al igual que la leche de cabra, la leche de oveja tiene una alta proporción de glóbulos de grasa de tamaño pequeño, por lo cual es de fácil digestión. Presenta un punto crioscópico de valor constante (Busetti, 2006b).

La leche de oveja presenta un contenido en grasa y proteína más elevado que la leche de vaca (Tablas 2 y 3), lo cual se ve reflejado en el rendimiento quesero. Efectivamente, para elaborar un kilo de queso de oveja son necesarios alrededor de 5 a 6 litros de leche de oveja, mientras que se necesita el doble de leche para elaborar un kilo de queso de vaca (Dulce, 2005).

Tabla 2. Composición de la leche de oveja

<i>Nutrientes</i>	<i>Unidad</i>	<i>Contenido en 100g de leche</i>
Agua	g	80.70
Calorías	Kcal	108.0
Proteínas	g	5.98
Lípidos totales (grasa)	g	7.00
Hidratos de Carbono (por diferencia)	G	5.36
Fibra total dietética	g	0
Cenizas	g	0.96
<i>Minerales</i>		
Ca	mg	193
Fe	mg	0.1
Mg	mg	18
P	mg	158
K	mg	137
Na	mg	44
Zn	mg	0.54
Cu	mg	0.046
Mn	mg	0.018
Se	mcg	1.7
<i>Vitaminas</i>		
Vit C, ácido ascórbico total	mg	4.2
Tiamina	mg	0.065
Riboflavina	mg	0.355
Niacina	mg	0.417
Acido Pantoténico	mg	0.407
Vitamina B6	mg	0.06
Folato total	mcg	0.71
Vitamina A	UI	147
Vitamina A, RAE	mcg	44
<i>Lípidos</i>		
Acidos Grasos, total saturado	g	4.603
Acidos Grasos, total monoinsaturado	g	1.724
Acidos Grasos, total poliinsaturado	g	0.308
Colesterol	mg	27

Fuente: USDA, 2006

Tabla 3. Composición de la leche en distintas especies

Especie	Proteína	Grasa	Lactosa	Cenizas	Agua
<i>Mujer</i>	1,5	3,5	7,0	0,2	87,8
<i>Yegua</i>	2,6	1,6	6,1	0,4	89,3
<i>Vaca</i>	3,5	3,8	5,0	0,7	87,0
<i>Cabra</i>	4,0	3,0	4,8	0,8	87,4
<i>Oveja</i>	5,4	8,2	4,8	0,9	80,7

Fuente: Oliveira, 1986

La calidad de la leche de oveja está relacionada, en gran medida, con la capacidad de ser transformada en derivados lácteos de alta calidad con altos rendimientos (kg de leche/ kg de producto), que dependerá de las propiedades de coagulación de leche, y éstas a su vez están directamente afectadas por la composición, calidad microbiológica y RCS de leche, y por el procesado de los productos lácteos fabricados (quesos, yogures, dulces, helados; Emediato,2008).

Finalmente debemos recordar que existen muchos factores que influyen en la calidad de la leche, tanto intrínsecos (genéticos, fisiológicos...) como extrínsecos del animal (alimentación, manejo, ordeño, etc. Figura 3).

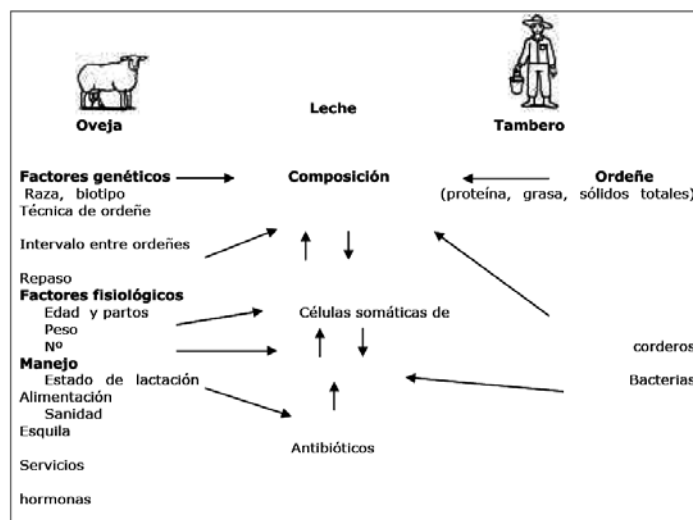


Figura 3. Distintos factores que afectan la calidad de la leche
Fuente: Busetti, 2006

En general, los principales componentes de la leche de oveja varían de forma natural a lo largo de la lactación, siguiendo una curva inversa a la de producción, de tal forma que ambas curvas son casi simétricas, coincidiendo el máximo de producción con el mínimo de composición (Velasco *et al.*, 2001).

La correlación entre producción y composición de leche suelen ser negativas, es decir, cuanto más leche se produce, menores son los contenidos de grasa y proteína. Esto ocurre al comparar entre razas (Tabla 4), entre animales de un mismo rebaño y en un mismo animal a lo largo de la lactación (Emediato, 2008).

Tabla 4. Composición de leche de ovejas en diferentes razas

Raza de Oveja	PB (%)	G (%)	Fuente Bibliográfica
Aragat	5,49	5,70	Dilanian, 1969
*Awassi	6,05	6,70	Mavrogenis & Louca, 1980
Babass	5,29	5,84	Dilanian, 1969
Boutsiko	6,04	7,68	Voutsinas et al. 1988
Bulgaria population	5,83	8,10	Baltadjieva et al. 1982
*Chios	6,00	6,60	Mavrogenis & Louca, 1980
Clun Forest	5,90	5,80	Poulton & Ashton, 1970
*Comisana	7,30	9,10	Muscio et al. 1987
Dorset	6,50	6,10	Sakul & Boyland, 1992
*East Friesian	6,21	6,64	Shalichev & Tanev, 1967
Egyptian population	5,84	8,30	Askar et al. 1984
Fat-tailed	6,40	6,26	Mavrogenis & Louca, 1980
Finn	5,40	6,00	Sakul & Boyland, 1992
Greece population	5,74	6,88	Baltadjieva et al. 1982
Karagounilu	6,60	8,70	Anifantakis et al. 1980
Karakul	5,57	7,36	Kirichenko & Popov, 1974
*Lacaune	5,81	7,14	Delacroix-Buchet et al. 1994
Massese	5,48	6,79	Casoli et al. 1989
Merino	4,85	8,48	Bencini & Purvis, 1990
NZ Romney	5,50	5,30	Barnicoat, 1952
Rambouillet	5,90	6,10	Sakul & Boyland, 1992
Romanov	6,10	5,90	Sakul & Boyland, 1992
*Sarda	5,89	6,61	ARA, 1995
Suffolk	5,80	6,60	Sakul & Boyland, 1992
Sumaya	6,47	7,93	Flam et al. 1970
Targhee	4,51	9,05	Reynolds & Brown, 1991
Tzigai	5,45	7,41	Margetin, 1994
Vlachiki	6,52	9,05	Anifantakis et al. 1980
Welsh Mountain	5,40	6,20	Owen, 1957

***Razas productoras de leche**

Fuente: Bencini y Pulina, 1997

1.3 MAMITIS

La mamitis es una inflamación de la glándula mamaria generalmente causada por agentes infecciosos que entran al interior de la glándula a través del canal del pezón. Esta enfermedad, que no se puede erradicar, causa importantes perjuicios económicos en las explotaciones, principalmente porque se reduce la cantidad y calidad de la leche, y aumenta el número de animales de desvieje.

Tiene distribución mundial, con incidencia principalmente en las razas con aptitud lechera, aunque también afecta a las razas cárnicas, ocasionando que los corderos tengan una menor ganancia de peso y una mayor mortalidad (Domingues y Leite, 2005).

La mamitis, puede ser dividida en dos grandes grupos, en cuanto a su forma de manifestación: la mamitis subclínica y la mamitis clínica.

Se denomina mamitis subclínica, cuando la enfermedad es silenciosa, ya que no presenta síntomas clínicos (en la leche ni en el animal), pero si que afecta a la producción y

composición de la leche (Marti, 2006). En general, no se recomienda su tratamiento con antibióticos durante la lactación, pero si en el secado. (Domingues y Leite, 2005).

Se considera que existe una mastitis clínica cuando se manifiestan alteraciones visibles en la leche (grumos, coágulos, pus, sangre...; Figura 4) o en el animal (edematización, enrojecimiento de la ubre, postración de la oveja...). En general, los animales afectados deben recibir inmediatamente un tratamiento con antibióticos (intramamario o intramuscular) aunque con ello no siempre se consigue eliminar la infección.

Dentro de las mastitis clínicas, podemos destacar a las mastitis gangrenosas, normalmente causadas por *S. aureus*. En este caso la enfermedad evoluciona muy rápidamente, con formación de edema. La ubre está caliente y genera dolor al animal; su piel se vuelve primero roja y más tarde púrpura, con exudación de una secreción suero-sanguinolenta. La decoloración muchas veces se extiende más allá de la mama, por la pared del abdomen. La extensión de la gangrena puede llegar a alcanzar a toda la glándula. Si el animal sobrevive a la fase inicial, la glándula y los tejidos vecinos con la lesión de gangrena pueden caer después de un período de algunas semanas, formando una herida que se cura posteriormente. Cuando el animal no es tratado, la muerte puede ocurrir en un 40% de los casos (Santos *et al.*, 2007).



Figura 4. Secreción láctea normal de oveja (A), y suero-sangre de mama con mastitis clínica (B)

Fuente: Santos *et al.*, 2007

Por otra parte, los tipos de mamitis también se pueden agrupar de acuerdo a la forma de contagio, distinguiendo entre mamitis contagiosa o ambiental.

La mamitis contagiosa presenta baja incidencia de casos clínicos y alta incidencia de casos subclínicos, generalmente de larga duración o crónico, presentando una elevación importante el RCS. Este tipo de mamitis está causado por patógenos que habitan preferentemente en la piel de los pezones y en el interior de la glándula mamaria. La principal vía de transmisión a los animales es durante el ordeño (Fonseca y Santos, 2000).

Por el contrario, el reservorio de los patógenos responsables de la mamitis ambiental es el entorno del animal. Los pezones no infectados se pueden exponer al patógeno causal en cualquier momento durante la vida, incluyendo el ordeño, entre ordeños y durante el período seco. La mamitis ambiental se asocia sobre todo a la mamitis clínica más que a la infección subclínica (Suárez *et al.*, 2008). Una particularidad importante en la mamitis ambiental es que generalmente se manifiesta en rebaños bien manejados y con bajo RCS. En este sentido se considera que la alta prevalencia de mamitis subclínica y el alto RCS de los rebaños con problemas de mamitis contagiosa ofrecen, hasta cierto punto, una protección parcial contra los agentes ambientales (Fonseca y Santos, 2000).

En las mamitis clínicas, los agentes etiológicos más frecuentemente aislados, solos o en asociación, son *S. aureus* y *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* (más del 80% de los casos de mamitis clínica aguda). Por el contrario, en la forma subclínica predominan los especies del grupo *Staphylococcus* coagulase-negativo y del género *Streptococcus* spp. (Santos *et al.*, 2007). En la mayor parte de los rebaños, la prevalencia de este tipo de patología oscila entre el 30% y el 45%, con niveles inferiores al 10% en los mejores casos y superiores al 80% en los peores (Yenes y Gómez, 2003).

Aunque la mamitis pueda ocurrir en cualquier momento de la lactación, es más frecuente alrededor de la tercera y cuarta semanas después del parto (Domingues y Leite, 2005). Eso posiblemente ocurra en sintonía con el pico de producción de leche.

Finalmente, debemos destacar que en todos los países con cierto desarrollo ganadero el grado de mastitis, estimado a partir del RCS de la leche, constituye un índice de calidad de la leche, por lo que se incluye como elemento adicional de pago o funciona como un mecanismo de advertencia y penalización (Emediato, 2008).

1.4 DETECCIÓN DE MAMITIS

Las mastitis clínicas se pueden detectar mediante examen físico de la ubre (dolor, rubor, alteraciones de la consistencia del tejido mamario o la presencia de nódulos, edema o hinchazón). El examen debe ser hecho por palpación de la glándula mamaria inmediatamente después del ordeño, con la ubre vacía (Fonseca y Santos, 2000). Aunque el sistema de detección es simple, requiere una importante inversión de mano de obra, lo cual hace que no siempre se realice de forma rutinaria en las grandes explotaciones de ganado ovino.

Por otra parte, para identificar los animales afectados de mastitis subclínica es necesario recurrir a métodos de diagnóstico directo (análisis microbiológico) o indirecto (RCS, CMT, conductividad eléctrica).

1.4.1 Recuento de células somáticas

Cuando un agente patógeno invade la glándula mamaria, el organismo del animal reacciona, enviando al sitio células de defensa, principalmente leucocitos, para intentar revertir el proceso infeccioso. Esas células de defensa, más las células del epitelio secretor de leche de los alvéolos, son las llamadas células somáticas de la leche y su recuento se denomina Recuento de Células Somáticas (RCS). Por tanto, cuando se establece un microorganismo patógeno en la glándula mamaria, generalmente el RCS se eleva (Fonseca y Santos, 2000).

Las elevaciones del número de células somáticas cuando hay mastitis, en la forma clínica y subclínica, varían de acuerdo con la intensidad de la respuesta en función del tipo y virulencia del agente etiológico envuelto en el proceso infeccioso (Fthenakis y Jones 1990, citados por De La Fuente *et al.* 1993, Gonzalo *et al.* 2002, Suarez *et al.* 2002, Winter *et al.* 2003, Santos *et al.* 2007).

En general, la mayoría de autores consideran que el umbral de RCS, para diagnosticar mastitis subclínicas en ovejas de razas lecheras, se sitúa en 250.000 céls/ml (Bergonier y Berthelot, 2003).

Por otra parte, los rebaños suelen clasificarse atendiendo a su situación sanitaria, como: buena (RCS en leche de tanque <500.000 cél./ml), mediocre (500.000-1.000.000 cél./ml) y mala (>1.000.000 cél./ml; Yenes y Gómez, 2003).

1.4.2 California Mastitis Test (CMT)

Es uno de los tests más populares y prácticos para el diagnóstico de la mastitis subclínica, al realizar una estimación indirecta del RCS de la leche. Se utiliza como reactivo un detergente aniónico neutro, que actúa rompiendo la membrana de las células presentes en la muestra de leche, liberando el material nucleico (DNA), que presenta alta viscosidad. Por tanto, a mayor número de células somáticas en la leche, mayor viscosidad de la mezcla del reactivo+leche. El resultado del test es evaluado en función del grado de gelatinización o viscosidad de la mezcla de partes iguales de leche y reactivo (unos 2 ml de ambos; Fonseca y Santos, 2000).

Como los resultados son basados en la viscosidad y color de la muestra es un test muy subjetivo, por eso es importante que sea hecho siempre por la misma persona.



Figura 5. Muestras de leche y mezcla con reactivo CMT

1) Cada cavidade da placa possui 4 riscos. Os riscos da esquerda são para pessoas que seguram a placa com a mão direita e, os da direita para aqueles que seguram a placa com a mão esquerda.

1º risco da esquerda 1º risco da direita
2º risco da esquerda 2º risco da direita

2) Segure a placa ligeiramente inclinada para direita ou esquerda, e ordene até que o leite atinja o 1º risco.

3) Usando um dosador coloque sobre o leite ordenhado o reagente CMT-FATEC até alcançar o 2º risco.

4) Agite vagarosamente forma de círculos durante aproximadamente 1 minuto.

5) Determine o grau de infecção analisando a coagulação. Para diagnosticar use o "Padrão para diagnóstico CMT-FATEC".

Apresentação	Determinação	Diagnóstico
	Negativo (-)	Não há sinal de infecção
	Duvidoso (+ -)	Duvidoso: repetir o teste
	Positivo (+)	Mastite
	Positivo (++)	Mastite
	Positivo (+++)	Mastite

Figura 6. Folleto explicativo de test CMT comercial y relaciones de colores y características de las muestras después de la mezcla con reactivo para interpretación de los resultados

El CMT posee gran importancia práctica ya que permite un diagnóstico de campo rápido y sin muchas exigencias técnicas, aunque presente algunas deficiencias debido a la gran subjetividad de las lecturas (Cepero *et al.* 2005).

1.4.3 Conductividad eléctrica (CE)

Este test está basado en el principio de que animales con mamitis presentan alteraciones en la carga iónica de la leche debido a lesiones en el aparato secretor y/o alteraciones de la permeabilidad vascular (Fonseca y Santos, 2000). Efectivamente, como consecuencia de la reacción inflamatoria aumenta la transferencia de ciertos iones de la sangre a la leche, como el cloruro de sodio y bicarbonato de sodio, que causan una elevación del pH y de la CE de la leche. La detección de mamitis mediante la CE se ha estudiado en ganado vacuno desde hace más de veinte años, especialmente desde la introducción del robot de ordeño (Norberg, 2005). Por el contrario, apenas existe información de esta técnica en pequeños rumiantes.

En la actualidad existen equipos manuales pensados para determinar en ganado vacuno la CE de la leche de glándula, pero no es posible su aplicación diaria por las necesidades de mano obra. Por ese motivo se han diseñado dispositivos automatizados, insertados en el propio equipo de ordeño, que permiten evaluar diariamente la CE de la leche de cada vaca y el almacenamiento de estos datos en un ordenador. De este modo, las alarmas de mamitis se disparan cuando se detecta una CE excesivamente elevada, en valor absoluto y/o en relación a la media de los valores observados en ese mismo animal en las últimas semanas. Sin embargo, no hay un valor fisiológico fijo para la CE de la leche de vaca que pueda ser utilizado para todos los animales del rebaño (Fonseca y Santos, 2000).

Finalmente, también debemos destacar que desde la introducción del robot de ordeño en vacuno, en que se registra diariamente la CE de la leche de cada glándula, se ha intentado utilizar a la CE en los esquemas de mejora genética para mejorar la resistencia a la mamitis (Norberg, 2005). Por ejemplo, Norberg *et al.* (2006) encuentran que la CE presenta una heredabilidad moderada (0,2 a 0,39) y que la correlación genética entre la CE y mamitis es elevada (0,75). Por tanto, estos autores consideran que la mejora genética de la resistencia a la mamitis sería factible a través de la selección de individuos que produjesen leche con una conductividad baja.

CAPÍTULO 2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

Este trabajo se realizó en la granja experimental de pequeños rumiantes de la Universidad Politécnica de Valencia, utilizando un total de 46 ovejas, 34 de raza Guirra (28 y 6 de primera y superior lactación, respectivamente) y 12 de raza Manchega (todas de segunda o superior lactación), que se encontraban en la 6ª semana de lactación. Todos los controles se llevaron a cabo en el ordeño de la mañana

El ensayo tuvo una duración de 51 días (del 07-11-07 al 27-12-07), separado en un periodo pre-experimental (10 días para la adaptación de los animales y del *software* diseñado) y un periodo experimental (41 días) en el que se registraba diariamente la CE de la leche ordeñada de cada animal (leche de ubre) mediante seis medidores automáticos MM25SG (uno por cada unidad de ordeño). La CE por glándula y por ubre también se registró dos veces por semana mediante un conductímetro manual.

Cuando diariamente el programa informático detectaba un animal supuestamente afectado de mamitis, se comprobaba registrando manualmente el CMT por glándula y la CE por glándula y ubre. Así mismo, la evolución del estado sanitario de todas las glándulas se controló semanalmente mediante CMT y análisis bacteriológico; además también se determinó semanalmente el RCS en la leche de ubre.

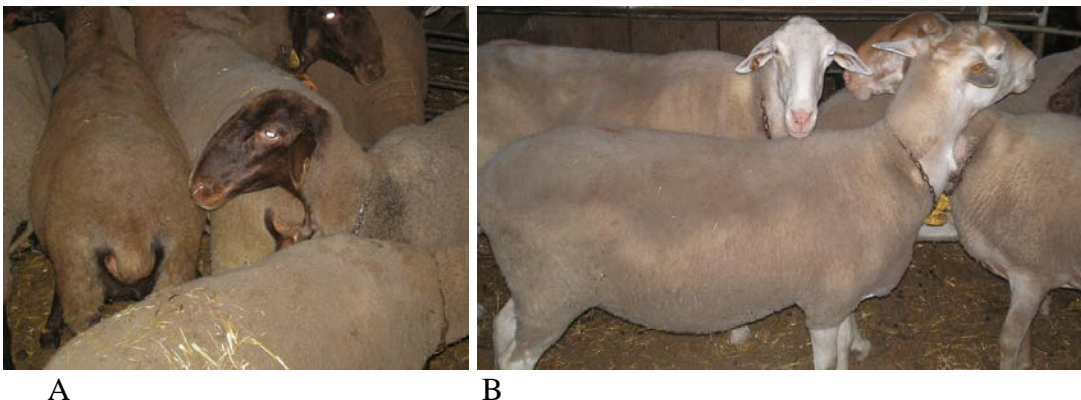


Figura 7. ovejas Guirras (A); ovejas Manchega (B) utilizadas en el experimento

2.2 CARACTERÍSTICAS DEL ORDEÑO

Tras el destete de los corderos (42 ± 3 días post-parto), todas las ovejas pasaron a ordeñarse a máquina, dos veces al día (8:00h y 17:30 h). La sala de ordeño disponía de dos plataformas, 12 plazas por plataforma y 6 unidades de ordeño instaladas en línea alta (2x12x6). Los parámetros de la máquina de ordeño fueron: vacío 36 kPa, 180 pulsaciones/min y 50% de relación de pulsación. La rutina de ordeño utilizada incluía el apurado a máquina, repaso manual e inmersión de los pezones en yodo al finalizar el ordeño.

La máquina de ordeño también disponía de 6 medidores electrónicos MM25SG (DeLaval S.A.), uno por cada unidad de ordeño, y 6 medidores volumétricos, dispuestos en serie (juego de ordeño-medidor electrónico-medidor volumétrico-conducción de leche, Figura 8). Los medidores electrónicos recogían, cada dos segundos, el flujo de leche, el volumen de leche y la CE, y enviaban estos datos a un ordenador donde se acumulaban en un fichero de texto.

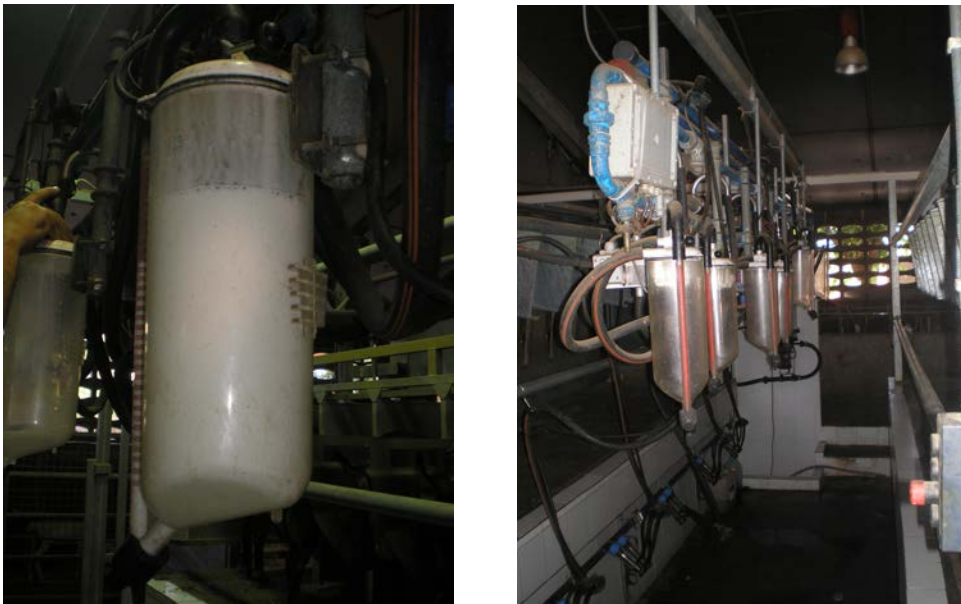


Figura 8. Medidores volumétricos de leche

2.3 IDENTIFICACIÓN DE LOS ANIMALES

Todas las ovejas disponían de un bolo ruminal (cápsula cerámica de 7 cm de largo por 3 de ancho que contiene en su interior un microchip), de modo que éstas eran identificadas en cada ordeño mediante un lector electrónico manual (Figura 9). Así mismo, para cada animal también se registraba la unidad de ordeño utilizada y la hora (hh:mm:ss) en que se colocaban las pezoneras. Estos tres datos (animal, juego de ordeño y hora) eran necesarios para localizar los registros de CE, flujos y producción de leche de cada animal en la base de datos obtenida cada día (unos 15.000 registros diarios). De este modo era posible conocer el historial diario de las tres variables citadas de cada oveja.



Figura 9. Bolo Ruminal e Identificador Electrónico

2.4 VARIABLES MEDIDAS

2.4.1 CE, volumen y flujo de leche con el medidor MM25SG

El medidor electrónico MM25SG registra por infrarrojos el flujo instantáneo de la leche que lo atraviesa y, por acumulación, el volumen de leche (producción del animal). El modelo instalado en la granja de la U.P.V. también disponía de un sensor de CE conectado a la salida del equipo (Figuras 10 y 11). Todos los medidores fueron conectados a un ordenador donde se almacenaban los registros anteriores, cada dos segundos, en un único fichero de texto (ASCII). Además se elaboró un primer programa en DBASE encargado de abrir el fichero texto anterior, cada diez segundos durante el ordeño, con el objeto de:

- a) Mostrar los datos en pantalla del ordenador, organizados por medidor electrónico. La pantalla era visible desde la sala de ordeño (Figura 12).

- b) Calcular en tiempo real si la CE obtenida de un medidor electrónico era sospechosa de proceder de un animal con mamitis (Método 1 descrito en el apartado 2.5) y, en caso de que lo fuera, mostrar una señal de alarma en la pantalla del ordenador.
- c) Almacenar los datos de cada ordeño en un fichero DBASE

También se creó un segundo programa en DBASE para que, una vez finalizado el ordeño de un día, relacionara los datos de CE, volumen y flujo de leche almacenados en el fichero DBASE con los datos de identificación de los animales recogidos manualmente.

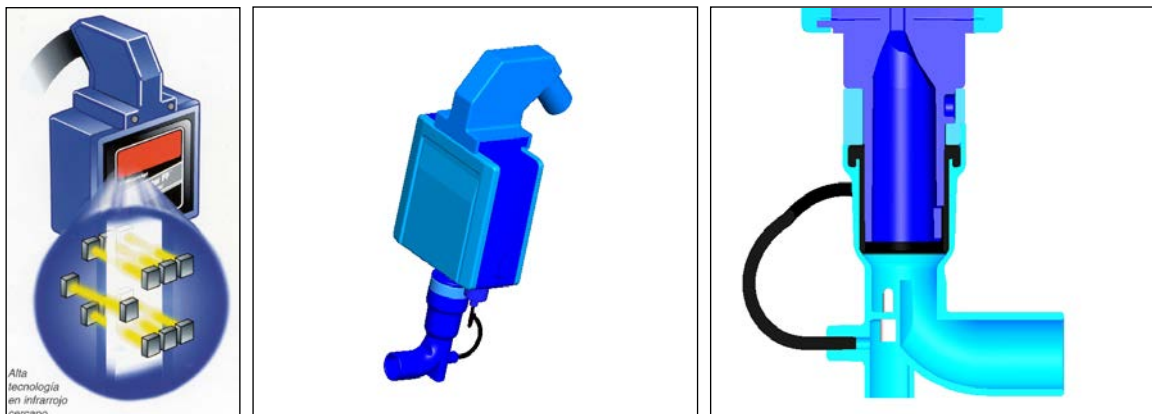


Figura 10. Medidor electrónico

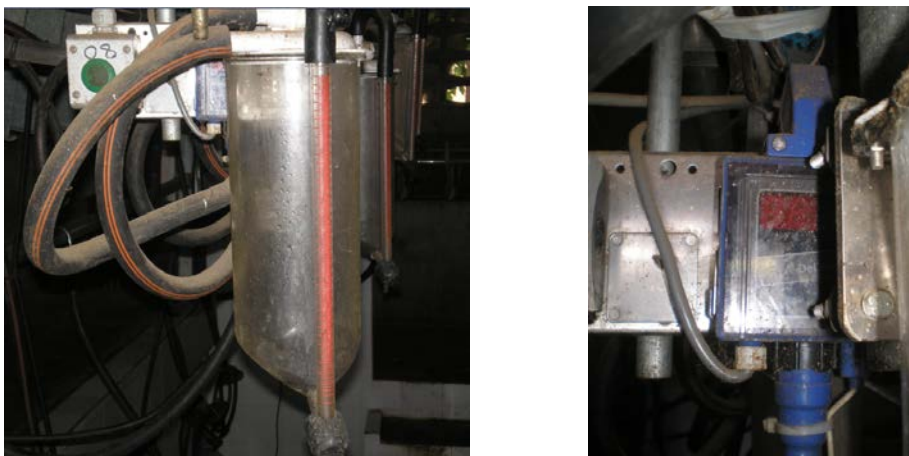


Figura 11. Dispositivo automático acoplado al equipo de ordeño



Figura 12. Pantallas mostrando los datos enviados por el ordenador procedentes del medidor electrónico

2.4.2 CE medida con un equipo manual

Se utilizó un equipo comercial diseñado específicamente para registrar la CE de la leche (*Milk Checker*, Figura 13). Para realizar el análisis se introducían unos 10 ml de leche en una cavidad donde estaban alojados dos electrodos (generan una corriente eléctrica) y un sensor de temperatura (la CE depende de la temperatura). Los resultados se expresaban en mS/cm corregidos a 25°C.



Figura 13. Equipo manual para medir la CE

Esta determinación se realizó: a) dos veces por semana en la leche de glándula (primeros chorros de cada pezón por separado antes del ordeño) y de ubre (una muestra de la leche total ordeñada) de todas las ovejas y b) en cada ordeño diario, en la leche de glándula y

ubre de aquellas ovejas detectadas como sospechosas de mamitis según la CE del medidor MM25SG (Método 1, descrito en el apartado 2.5).

2.4.3 California Mastitis Test (CMT)

En un paleta se mezclaban unos 2 ml de leche con 2 ml del reactivo (un detergente aniónico – lauril sulfato sódico- junto con un indicador, púrpura de bromocresol) con movimientos rotatorios suaves, haciendo la lectura de la reacción unos 7 segundos después, momento que generalmente se alcanza el pico de la reacción. Dado que es un método subjetivo, la determinación fue siempre hecha por la misma persona. Las lecturas se evaluaron en 8 niveles (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3 y 4) siendo el 0 el nivel de menor reacción (RCS normalmente inferior a 100.000 cels/ml) y el 4 de mayor reacción (RCS superior a 10 millones/ml en casos de mamitis clínicas). Esta determinación se realizó: a) una vez por semana en la leche de glándula (primeros chorros de cada pezón por separado antes del ordeño) de todas las ovejas y b) en cada ordeño diario, en la leche de glándula de aquellas ovejas detectadas como sospechosas de mamitis según la CE del medidor MM25SG (Método 1, descrito en el apartado 2.5).

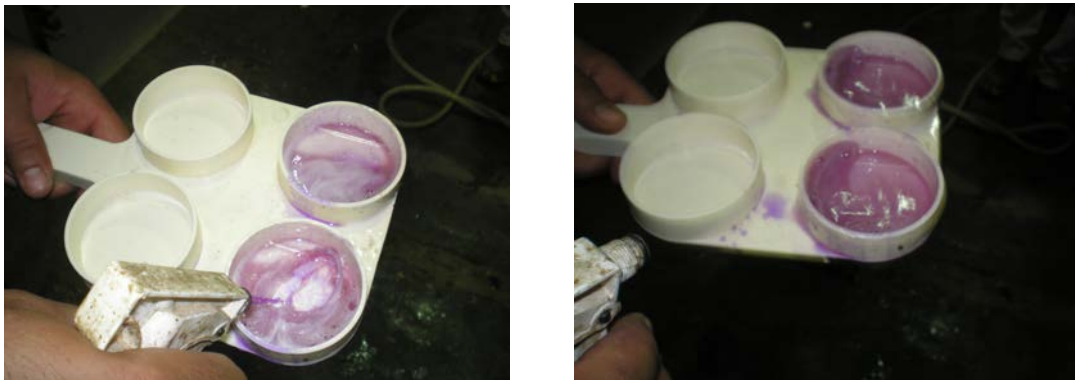


Figura 14. Mezcla de muestras de leche con el reactivo CMT

2.4.4 Composición y RCS

Estas variables se analizaron semanalmente en la leche total ordeñada de cada animal.

Las muestras se recogieron en frascos de 40 ml con cierre hermético directamente de los medidores volumétricos, previa agitación de la leche. Las muestras se conservaron en refrigeración (4°C) para después ser analizadas, siempre en un plazo inferior a 48 horas tras su

recogida, en el *Laboratori Interprofessional Lleter de la Comunitat Valenciana (LILCOVAL)* ubicado en Departamento de Ciencia Animal de la UPV.

La composición de la leche (grasa, proteína, lactosa y materia seca) se determinó mediante espectroscopia del infrarrojo medio (Milko Scan FT120, Foss Electric S.A.) mientras que el RCS se analizó por el método fluoro-opto-electrónico (Fossomatic 5000, Foss Electric S.A.; Figura 15).



A



B

Figura 15. Equipos: Milko Scan FT120 (A) y Fossomatic 5000 (B)

2.4.5 Análisis Microbiológico

La toma de muestras para el análisis bacteriológico siempre se realizó antes del ordeño. Para ello, el extremo del pezón se limpiaba con algodón empapado en alcohol etílico al 70 %. A continuación se eliminaban los primeros chorros y se recogían unos 3 ml de muestra en tubos estériles de cristal de 10 ml, claramente identificados y provistos de un tapón metálico.

Las muestras fueron conservadas en refrigeración (4 °C), un máximo de 24 hasta la siembra. En este momento se inoculaban 20 µl de leche de cada pezón en un cuarto de placa Petri, con un medio de agar-sangre (Trypticasa soja suplementado con 5% de sangre de carnero: Lab. Bio-Mérieux). La incubación se efectuó a 37 °C durante 3 días, realizándose las lecturas a las 24 h, 48 h y 72 h post-inoculación.

Una muestra se consideró positiva cuando presentaba al menos 250 ufc/ml, esto es, al menos 5 colonias identificables en el cultivo. En el caso de *S. aureus* se consideró un aislamiento positivo a partir de 1 ufc/ml de muestra sembrada (Marco, 1994). Se consideró

que una glándula estaba infectada cuando ambos resultados de dos muestreos consecutivos ofrecieron cultivos positivos.

Los criterios considerados en el laboratorio para la interpretación de los análisis bacteriológicos, descritos a continuación, estaban basados en las recomendaciones de Marco (1994) y del National Mastitis Council (Harmon *et al.*, 1990). Las pruebas preliminares consistieron en la anotación, durante las sucesivas lecturas, del aspecto de los cultivos, de su velocidad de crecimiento y su densidad. En cualquiera de los casos, a las 48 horas se efectuó la tinción de Gram de todos los microorganismos aislados, junto con los ensayos preliminares de catalasa, en aquellas colonias de morfología compatible con microorganismos Gram positivos.

En el caso de los cocos Gram positivos y catalasa + se realizaron rutinariamente las pruebas preliminares de coagulasa con el objeto de separar el *S. aureus* de los estafilococos coagulasa negativos. Los cocos Gram positivo y catalasa negativo fueron considerados como estreptococos spp. Los cocobacilos Gram positivos que no dieron lugar a colonias visibles a 24 y si a 48 horas, fueron considerados como corinebacterias spp (no hubo ningún caso). Por cada una de las glándulas infectadas se conservaron, al menos, dos de los aislamientos llevados a cabo a lo largo de los distintos controles semanales en que permanecieron infectadas. La conservación se realizó bajo congelación (-20 °C) en leche desnatada estéril con un 20 % de glicerol (Harmon *et al.*, 1990). De este modo queda abierta la posibilidad de que en un futuro, se pueda realizar la identificación de especie.



Figura 16. Muestras almacenadas en microtubos eppendorf

2.5 MÉTODOS UTILIZADOS PARA DETECCIÓN DE MAMITIS A PARTIR DE LA CE

Durante el periodo pre-experimental se tomaron dos decisiones, con el objeto de mejorar la precisión de las lecturas de CE del medidor MM25SG:

- a) se comprobó que estas lecturas dependían del flujo de leche que existía en ese momento, especialmente cuando los flujos eran extremos. Por este motivo, tras la revisión de los datos, se consideró que los registros de CE se considerarían como validos solamente cuando el flujo de leche fuera superior a 150 ml/min e inferior a 950 ml/min.
- b) Aunque el sensor de CE de cada medidor había sido calibrado al inicio del ensayo, se observó que, al transcurrir varios días, las lecturas de una misma leche variaban entre medidores. En consecuencia, se decidió que los datos de CE de cada medidor se deberían corregir por el valor medio de CE registrado en ese mismo medidor en los dos días anteriores.

Por otra parte, en este trabajo se han evaluado cuatro métodos de detección de mamitis mediante la CE recogida con el medidor MM25SG (Métodos 1,2,3) o con el medidor manual (Método 4):

- a) **Método 1.** Un animal es sospechoso cuando la CE máxima obtenida durante su ordeño es igual o superior en X unidades a la CE media de ese mismo medidor (media de los valores válidos registrados en los dos días anteriores). El valor de X utilizado en este trabajo ha sido de 1,75 mS/cm, aunque también se probaron otros valores (1.5 y 2; resultados no mostrados). Es decir:

$$\text{Sospecha de mamitis: } CEmaxA_iM_jD_k \geq CEmM_jD_{k-1,k-2} + 1,75$$

Siendo: $CEmaxA_iM_jD_k$ = CE máxima, de entre los valores válidos, en el ordeño del Animal i en el Medidor j realizado el Día k

$CEmM_jD_{k-1,k-2}$ = CE media de los ordeños realizados con el Medidor j durante los dos Días anteriores. Para calcular esta media solo se consideraban los valores válidos

Este método es el que estaba activo durante el desarrollo del experimento (generaba las alarmas en la sala de ordeño) y es el que se podría utilizar en las explotaciones que no identifican a los animales durante el ordeño

- b) Método 2.** Un animal es sospechoso cuando la CE máxima obtenida durante su ordeño (corregida por la CE media de ese medidor de los dos días anteriores) es igual o superior en Y unidades a la media de esos tres mismos valores obtenidos en los tres días anteriores (histórico de tres días anteriores de ese mismo animal). El valor de Y utilizado en los resultados que se presentan en este trabajo ha sido de 1 mS/cm, aunque también se probaron otros valores (resultados no mostrados).

Es decir:

$$C_k = [CE_{maxA_iM_jD_k} - CEmM_jD_{k-1,k-2}];$$

$$C_{k-1} = [CE_{maxA_iM_jD_{k-1}} - CEmM_jD_{k-2,k-3}] \text{ etc....}$$

$$\text{Sospecha de mamitis: } C_k \geq [\text{Media } (C_{k-1}, C_{k-2}, C_{k-3}) + 1]$$

- c) Método 3.** Un animal es sospechoso de tener mamitis si, al aplicar los Métodos 1 y 2 ambos coinciden en indicar que es sospechoso de mamitis.

Los Métodos 2 y 3 se aplicaron a todos los datos una vez había finalizado el experimento y solamente podrían ser utilizados en las explotaciones que si identifican a los animales durante el ordeño (es necesario disponer del historial de CE de cada animal)

- d) Método 4.** Un animal es sospechoso de tener mamitis cuando la diferencia de CE entre sus dos glándulas es igual o superior a un valor umbral Z. El valor de Z utilizado en los resultados que se presentan en este trabajo ha sido de 0,5 mS/cm, aunque también se

probaron otros valores (resultados no mostrados). Este método se aplicó a partir de los registros de CE tomados con el conductímetro manual y podría considerarse como el método de referencia (los mejores resultados que puede ofrecer la técnica de la CE). Para aplicar este método de modo automatizado sería necesario disponer de un equipamiento específico para el registro en continuo de la CE de la leche de cada pezón, y no sería necesario que los animales se identificaran durante el ordeño.

2.6 ANÁLISIS DE DATOS

Los parámetros de validez de cada uno de los 4 métodos utilizados para la detección de mamitis se calcularon tanto diariamente como conjuntamente para el global del experimento (41 días). Para ello se utilizaron las siguientes formulas:

a) Animales Correctamente Clasificados (CC); $CC = \frac{(NSDS + NIDI) \times 100}{N}$

b) Sensibilidad (S) ; $S = \frac{NIDI \times 100}{NI}$

c) Especificidad (E); $E = \frac{NSDS \times 100}{NS}$

d) Falsos Negativos (FN) ; $FN = \frac{NIDS \times 100}{N}$

e) Falsos Positivos (FP); $FP = \frac{NSDI \times 100}{N}$

f) Valor Predictivo de los Positivos (VPP) ; $VPP = \frac{NIDI \times 100}{NSDI + NIDI}$

g) Valor Predictivo de los Negativos (VPN) ; $VPN = \frac{NSDS \times 100}{NSDS + NIDS}$

Siendo: N = N° total de animales ordeñados en un día.

NI = N° de animales realmente infectados (mamitis) en ese día

NS = N° de animales realmente sanos ese día

NSDS = N° de animales sanos, diagnosticados como sanos

NIDI = N° de animales infectados, diagnosticados como infectados

NIDS = N° de animales infectados, diagnosticados como sanos

NSDI = N° de animales sanos, diagnosticados como infectados

Por otra parte, se realizó un análisis estadístico para comparar la producción y varias características de la leche en las ovejas sanas (n=37) e infectadas (n=9). Para ello, previamente se calculó para cada animal la media de cada una de las variables durante todo el periodo experimental (ovejas sanas) o de los controles que permanecieron infectadas (ovejas con mamitis). A continuación estos datos fueron analizados con el PROC GLM del programa SAS, utilizando el siguiente modelo:

$$Y_{ij} = \mu + E_{Si} + e_{ij}$$

Siendo:

Y_{ij} = para cada oveja, media de cada una de las variables analizadas: producción de leche, CE por ubre, diferencia de CE por pezones, grasa, proteína, lactosa, materia seca y RCS en logaritmos (para normalizar su distribución).

μ = media general

E_{Si} = estado sanitario de la ubre: $i=1$ dos pezones sanos; $i=2$ al menos un pezón infectado

e_{ij} = error residual

CAPÍTULO 3. RESULTADOS

Durante los 41 días que transcurrieron del periodo experimental solamente se presentaron 9 ovejas con infección intramamaria, de las cuales 7 fueron subclínicas y 2 clínicas (Tabla 5), lo que representa un 20% de las 46 ovejas utilizadas en el ensayo. Las infecciones fueron causadas mayoritariamente por bacterias del genero estafilococos (8 ovejas de 9), lo cual coincide con lo encontrado normalmente en el ovino lechero (Bergonier y Berthelot, 2003). Una oveja presentó una infección mixta de un ECN con una bacteria del género estreptococos (nº 88G) y otra sufrió una mastitis subclínica unilateral en la que no se pudo identificar el germen (107G). Solamente se dispusieron de datos de RCS en 5 ovejas infectadas, presentando valores entre 575.000 y 7.585.000 cels/ml. La CE en leche de ubre (método manual) fue muy variable, con valores mínimos de 4,1 mS/cm (oveja 521M) y máximos de 6,4 (oveja 501M). Sin embargo, la diferencia de CE entre pezones fue casi siempre superior a 0,5 mS/cm (solo en la oveja 77G fue inferior: 0,4 mS/cm).

Tabla 5. Características de las ovejas afectadas de mastitis controladas en el período experimental

Identif. Oveja ¹	Días totales	Días infect.	Mamitis			Ubre		Glándula		
			Pezón ²	Tipo	Germen ³	RCS ⁴ (x1000cel/ml)	CE ⁵ (mS/cm)	CMTd/ CMTi ⁶	CEd/CEi	dCE ⁷
37 G	37	35	I	Subcl.	<i>S. aureus</i>	5888	5.0	0.4/2.5	4.9/5.7	0.8
75 G	41	36	D	Subclí.	ECN	1513	4.2	1.8/0.6	4.7/4.1	0.6
77 G	37	37	I	Subclí.	ECN	575	4.3	0.2/1.4	4.4/4.8	0.4
80 G	4	4	D/I	Subclí.	ECN	*	6.2	3.0/2.9	8.0/5.9	2.1
88 G	41	41	D	Subclí.	ECN +T	1047	4.5	2.8/0.8	6.0/4.2	1.9
107 G	14	10	I	Subclí.	NI	7585	5.2	0.8/2.7	4.8/6.8	2.2
501 M	04	1	D/I	Clínica	ECN	*	6.4	4.0/2.0	8.1/4.3	3.8
508 M	05	5	D/I	Subclí.	ECN	*	5.4	1.7/2.3	5.1/6.6	1.5
521 M	15	2	I	Clínica	<i>S. aureus</i>	*	4.1	0.0/4.0	3.8/5.3	1.5

1 G: Guirra, M: Manchega;

2 Pezón Infectado (D: derecho, I: izquierdo).

3 ECN: estafilococos coagulasa negativo; T: Estreptococos; NI: No identificado

4 Debido al poco tiempo que estuvieran en ordeño, después de iniciarse la infección, en varios animales no se tomaron muestras para el RCS (valor =*)

5 CE por el método de referencia (medidor manual)

6 Media del CMT de los pezones derecho e izquierdo

7 dCE: diferencia, en valor absoluto entre las medias de la CE de los dos pezones

En la Tabla 6 puede observarse que las ovejas infectadas, respecto a las sanas, presentaban una significativa menor producción de leche (421 vs 604 ml; $p < 0,05$) y una mayor CE de la leche de ubre (4,9 vs 4,1 mS/cm; $p < 0,001$) y de la diferencia de CE entre pezones (1,27 vs 0,13 mS/cm; $p < 0,001$). El RCS también fue significativamente superior en las ovejas infectadas ($\log \text{RCS} = 6,32$ vs $5,18$; $p < 0,001$), mientras que el contenido en grasa y lactosa de la leche tendió a disminuir en estas últimas ($p = 0,06$) respecto a las ovejas sanas.

Tabla 6. Producción y diversas características de la leche obtenida en el ordeño de la mañana en las ovejas sanas y en las infectadas

	Sanas	Infectadas	Niv. Sig.
Nº de ovejas	37	9	-
Leche total (mL)	604 ± 25	421 ± 54	*
CE (mS/cm)	4,1 ± 0,07	4,9 ± 0,14	***
Diferencia de CE	0,13 ± 0,07	1,27 ± 0,15	***
Grasa (%p/p)	9,18 ± 0,27	8,09 ± 0,49	NS (p=0,06)
Proteína (%p/p)	6,01 ± 0,11	6,37 ± 0,21	NS
Lactosa (%p/p)	4,83 ± 0,05	4,63 ± 0,09	NS (p=0,06)
Materia Seca (%p/p)	21,03 ± 0,35	20,21 ± 0,64	NS
LRCS (cel/mL)	5,18 ± 0,08	6,32 ± 0,15	***
Media Geom. RCS (x1000 cels/ml)	151	2.089	-

Nivel de Significación: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; NS= no significativo

En la tabla 7 se han recogido los resultados globales de los 4 métodos utilizados. Podemos observar que el **Método 1** de detección de mamitis provocó un total 84 alarmas (ordeños de ovejas con presunta mamitis = 54 + 30) de un total de 1583 ordeños controlados a lo largo del periodo experimental, lo que representa un 5,3% de los ordeños. De estas alarmas tan solo 30 (36%) correspondieron verdaderamente a ovejas infectadas mientras que el resto (54 alarmas; 64%) correspondieron a falsos positivos. Con los datos globales de todo el experimento, hubo un 3,4% de Falsos Positivos, un 8.9% de Falsos Negativos y valores bajos de sensibilidad (17,65%) y del Valor Predictivo de los Positivos (35,7%). En la Tabla 8, se detallan las ovejas que fueron detectadas, al menos en un ordeño, por el Método 1 como presuntas infectadas. De las 37 ovejas que permanecieron sanas durante todo el experimento, 16 (43%) se detectaron en algún control como presuntas infectadas, mientras que de las 9 ovejas que sufrieron una mamitis subclínica o clínica (Tabla 8), fueron detectadas como infectadas en algún control 8 (89%). Podemos destacar que los dos casos de mamitis clínicas

(oveja 501M y 521 M) fueron detectados automáticamente al aplicar el método 1. La única oveja realmente infectada, que permaneció sin ser detectada a lo largo de todo el experimento, fue la 75G, la cual presentaba una baja CE de su leche (4.2 mS/cm), a pesar de presentar un RCS relativamente elevado (1.5 millones cels/ml; Tabla 5).

Tabla 7. Número de controles y parámetros de validez en los 4 métodos utilizados para la detección de ovejas afectadas de mamitis

a) Número de Controles

	Total Controles	Controles de ovejas sanas			Controles de ovejas infectadas		
		Total	Detectadas sanas	Detectadas infect	Total	Detectadas sanas	Detectadas infect.
Método 1	1583	1413	1359	54	170	140	30
Método 2	1563	1396	1358	38	167	146	21
Método 3	1563	1396	1383	13	167	156	11
Método 4	477	424	413	11	53	22	31

b) Parámetros de validez

	CC	FN	FP	S	E	VPP	VPN
Método 1	87,74	8,84	3,41	17,65	96,18	35,71	90,66
Método 2	88,23	9,34	2,43	12,57	97,28	35,59	90,29
Método 3	89,19	9,98	0,83	6,59	99,07	45,83	89,86
Método 4	93,08	4,61	2,31	58,49	97,41	73,81	94,94

CC = correctamente clasificados, FN = falsos negativos, FP = falsos positivos, S= sensibilidad; E = especificidad, VPP = valor predictivo de los positivos; VPN = valor predictivo de los negativos

El **Método 2** presentó resultados similares al Método 1. Se dispararon 59 alarmas (3,8% de los ordeños) de los cuales solamente 21 (36% de las detecciones) correspondieron realmente al ordeño de ovejas infectadas. Los parámetros de validez de este método, para el conjunto del experimento, no son en general mejores que los del método 1 (FN: 9,34%; FP: 2,43%; Sensibilidad: 12,6%, VPP: 35,6%). En la Tabla 9 se aprecia que 22 ovejas sanas fueron detectadas en al menos un control como falsamente infectadas (59% de las 37 ovejas sanas), mientras que 8 de las ovejas detectadas como infectadas, realmente eran infectadas. Este método también detectó los dos casos de mamitis clínica que ocurrieron en el ensayo (oveja 501 M y 521 M).

El **Método 3** presentó un descenso importante en el número de alarmas: tan solo 24 (1,5% de los ordeños) de los cuales casi la mitad (11) correspondieron a controles de ovejas realmente infectadas. Respecto a los parámetros de validez de este método, en relación a los dos métodos anteriores, podemos destacar que hubo una reducción importante de los Falsos Positivos (0,83%) y una mejora del Valor Predictivo de los Positivos (46%), pero la sensibilidad también disminuyó de forma acusada (6,6%). Todas las alarmas se produjeron en los controles de 17 animales, 10 sanos y 7 infectados. Podemos observar que con este método dos de las 9 ovejas infectadas no se detectaron en ningún control, y nuevamente el método detectó los dos casos de mamitis clínica que ocurrieron en el ensayo.

El **Método 4** que, recordemos, es el que podemos considerar como referencia (diferencia de CE entre pezones registrado con un equipo manual) fue el que presentó, como cabía esperar, los mejores resultados. Se produjeron 42 alarmas (8,8% de los controles realizados de CE por pezones), de las cuales el 74% (31) procedían del ordeño de ovejas realmente infectadas. Los falsos positivos (2,3%) fueron similares a los encontrados en los dos primeros métodos, pero los falsos negativos (4,6%) se redujeron a la mitad y la sensibilidad fue mucho más elevada (58,4%). Las alarmas se concentraron en 12 animales, de los cuales 7 realmente estaban infectados y 5 estaban libres de infección intramamaria. El método también detectó los dos casos de mamitis clínica. No obstante debemos precisar que las ovejas 501M y 521M no aparecen en la Tabla 11 porque el día que presentaron los síntomas clínicos (jueves y sábado, respectivamente) no coincidía con el día semanal en el que se controlaba la CE por pezones a todo el rebaño; aún así, esos días se realizó la CE por pezones a estos dos animales, presentando una diferencia de CE de 3,5 y 2,9 mS/cm, respectivamente (superior al umbral de $\geq 0,5$ mS/cm).

Finalmente, en las Figuras 17, 18 y 19 se presentan la evolución durante los 41 días del periodo experimental de los Falsos Negativos, la Sensibilidad y los Falsos Positivos en los cuatro métodos utilizados. En los métodos 1, 2 y 3 no se observa que los tres parámetros anteriores presentaran ninguna tendencia clara durante el periodo experimental, mientras que en el Método 4 puede apreciarse una ligera tendencia a disminuir los Falsos Negativos a medida que avanzaba la lactación (Figura 17), y a aumentar la Sensibilidad en los últimos días del periodo experimental (Figura 18).

Tabla 8. Ovejas detectadas como infectadas utilizando el Método 1

a) Ovejas realmente sanas

Ident. Oveja	Días ordeñado	Días detect	Máxima Diferencia CE ¹
6 G	41	2	1,84-3,41
65 G	37	1	2,08
67 G	41	1	2,37
69 G	41	6	1,75-2,17
79 G	41	1	3,08
82 G	41	1	1,94
92 G	37	6	1,77-2,15
96 G	41	2	1,89-2,51
102 G	41	4	1,78-1,91
103 G	37	1	1,82
112 G	41	1	1,82
512 M	41	4	1,76-2,02
520 M	41	1	1,87
531 M	37	3	1,79-2,33
532 M	41	2	1,76-1,94
534 M	37	20	1,80-3,29

b) Ovejas realmente infectadas

Ident. Oveja	Días ordeñado	Días detect	Máxima Diferencia CE ¹
37 G	37	19	1,76-4,48
77 G	37	1	1,85
80 G	4	3	2,15-3,54
88 G	41	3	2,27-2,52
107 G	14	1	3,29
501 M	4	1	5,39
508 M	5	1	3,20
521 M	15	1	1,82

¹ Diferencia de CE entre la máxima registrada en el ordeño del animal y la media del medidor**Tabla 9. Ovejas detectadas como infectadas utilizando el Método 2**

a) Ovejas realmente sanas

Ident. Oveja	Días ordeñado	Días detect	Máxima Diferencia CE ¹
1 G	41	4	1,08-1,78
2 G	41	1	1,00
6 G	41	3	1,09-2,28
20 G	41	1	1,32
21 G	41	1	1,04
31 G	37	2	1,00-1,01
47 G	37	2	1,36-1,76
65 G	37	1	1,00
69 G	41	1	1,26
79 G	41	1	2,38
86 G	41	1	1,09
90 G	41	1	1,08
92 G	37	3	1,02-1,45
93 G	41	1	1,11
96 G	41	3	1,44-1,96
102 G	41	2	1,23-1,49
103 G	37	5	1,12-2,46
105 G	37	2	1,24-1,33
109 G	41	1	1,34
520 M	41	1	1,03
531 M	37	1	1,23
534 M	37	1	1,36

b) Ovejas realmente infectadas

Ident. Oveja	Días ordeñado	Días detect	Máxima Diferencia CE ¹
37 G	37	3	1,24-2,52
75 G	41	2	1,19-1,24
77 G	37	1	1,43
88 G	41	9	1,03-2,50
107 G	14	3	1,62-3,75
501 M	4	1	4,23
508 M	5	2	2,01-2,75
521 M	15	1	1,27

¹ Diferencia de CE entre la máxima registrada en el ordeño del animal y la media de los 3 días anteriores (siempre corregidas por la media del medidor)

Tabla 10. Ovejas detectadas como infectadas utilizando el Método 3

a) Ovejas realmente sanas

Ident. Oveja	Días ordeñado	Días detect	Máxima Diferencia CE	
			Mét 1	Mét 2
6 G	41	1	3,41	2,28
65 G	37	1	2,08	1,00
69 G	41	1	1,99	1,26
79 G	41	1	3,08	2,38
92 G	37	3	1,77-1,86	1,02-1,45
96 G	41	2	1,89-2,51	1,44-1,96
102 G	41	1	1,88	1,23
103 G	37	1	1,82	1,12
531 M	37	1	2,33	1,23
534 M	37	1	3,29	1,36

b) Ovejas realmente infectadas

Ident. Oveja	Días ordeñado	Días detect	Máxima Diferencia CE	
			Mét 1	Mét 2
37 G	37	3	2,47-4,48	1,24-2,52
77 G	37	1	1,85	1,43
88 G	41	3	2,27-2,52	1,51-1,97
107 G	14	1	3,29	3,75
501 M	4	1	5,39	4,23
508 M	5	1	3,20	2,75
521 M	15	1	1,82	1,27

Tabla 11. Ovejas detectadas como infectadas utilizando el Método 4

a) Ovejas realmente sanas

Ident. Oveja	Días ordeñado	Días detect	Máxima Diferencia CE ¹
1 G	41	2	0,7
84 G	37	1	0,5
109 G	41	3	0,5-2,1
512 M	41	2	0,5-1,0
526 M	41	3	0,5

b) Ovejas realmente infectadas

Ident. Oveja	Días ordeñado	Días detect	Máxima Diferencia CE ¹
37 G	37	7	0,5-1,9
75 G	41	6	0,5-1,4
77 G	37	1	1,7
80 G	4	1	2,2
88 G	41	12	0,5-3,2
107 G	14	3	1,4-4,7
508 M	5	1	2,5

1 Diferencia de CE entre las dos glándulas del mismo animal

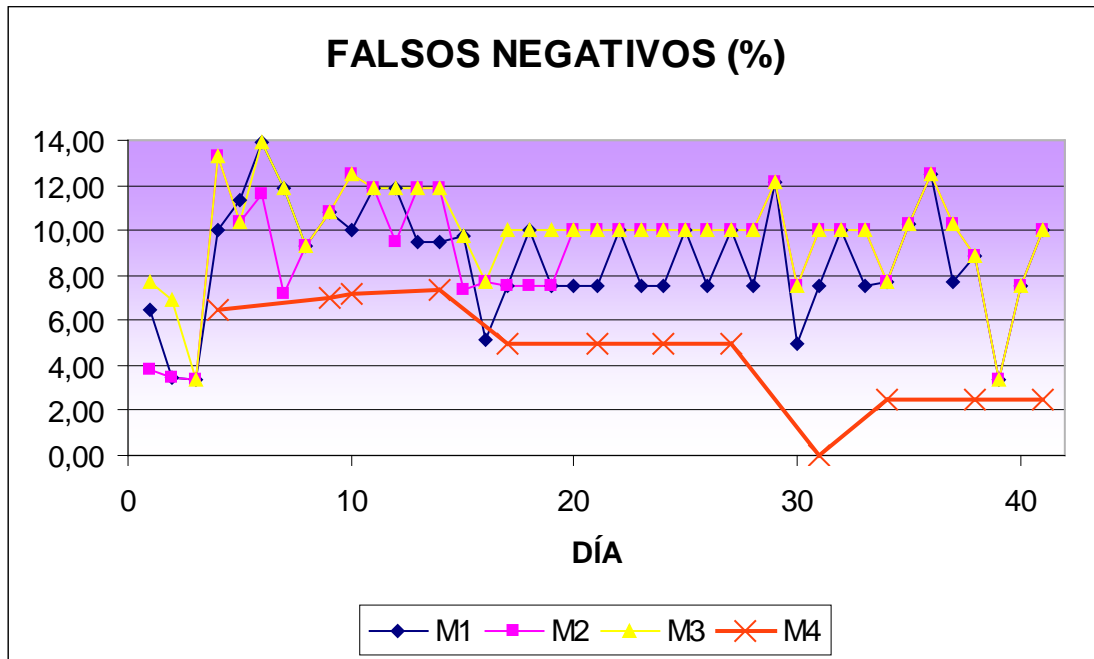


Figura 17. Evolución de los Falsos Negativos utilizando los 4 métodos (M1,M2,M3,M4) de detección

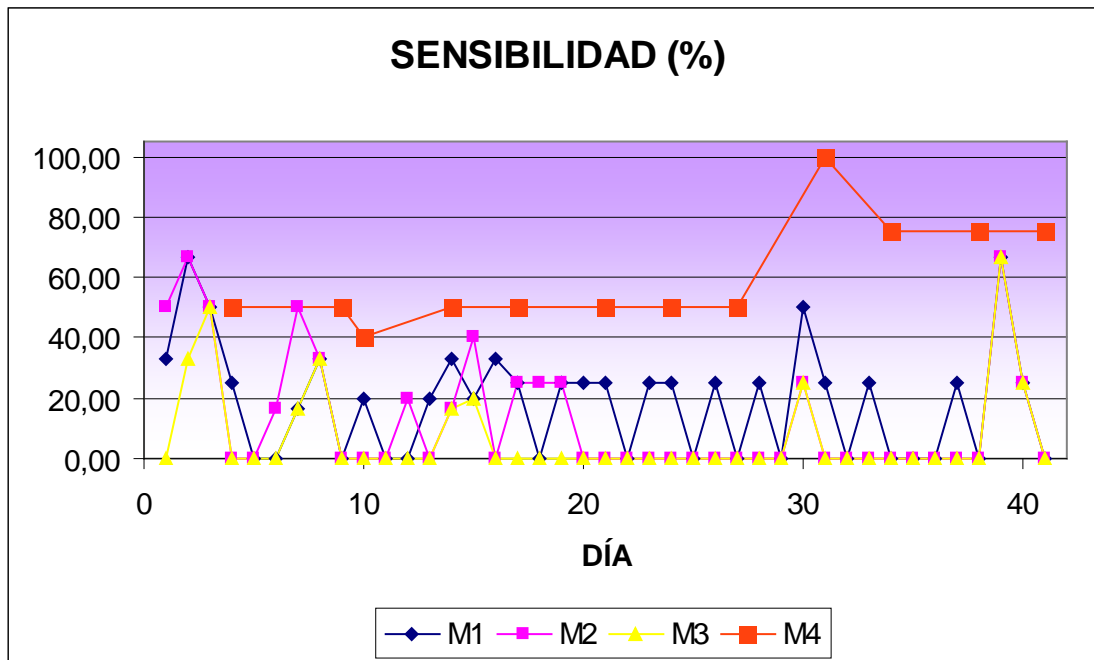


Figura 18. Evolución de la Sensibilidad utilizando los 4 métodos (M1,M2,M3,M4) de detección

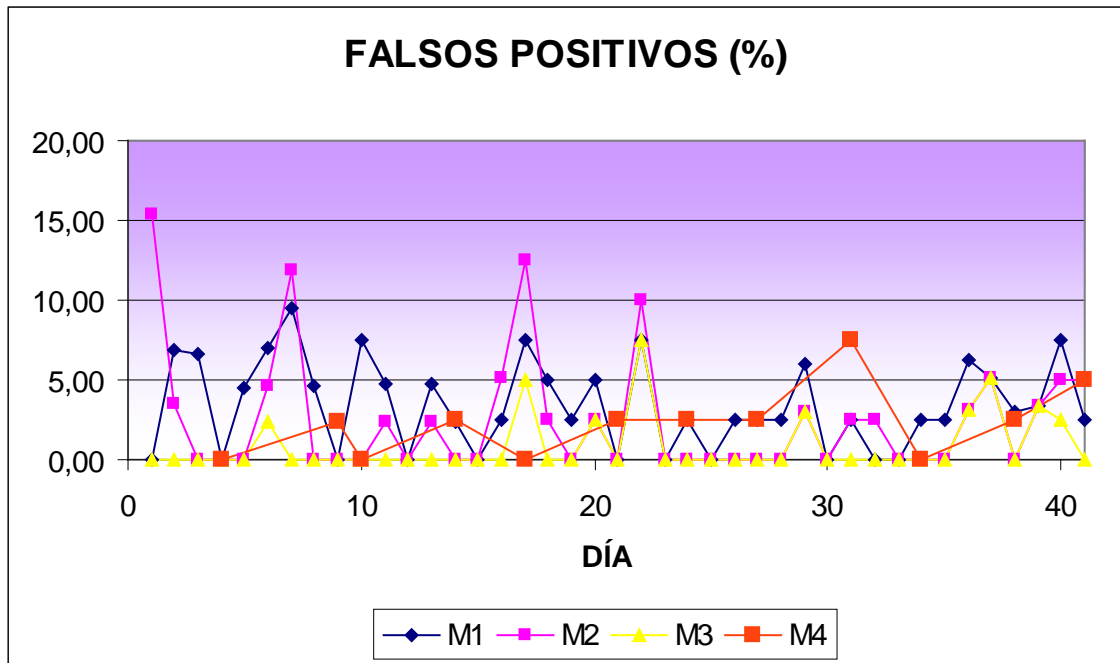


Figura 19. Evolución de los Falsos Positivos utilizando los 4 métodos (M1,M2,M3,M4) de detección

CAPÍTULO 4. DISCUSIÓN

En primer lugar, debemos precisar que la prevalencia de mamitis subclínica (entorno al 20%), su etiología (mayoritariamente ECN) y el RCS tanto de las ovejas sanas (50-200.000 cels/ml) como de las infectadas (0,5 a 10 millones cels/ml) en el rebaño en el que se realizó el experimento es similar al encontrado en la mayoría de explotaciones de ganado ovino lechero (Bergonier y Berthelot, 2003; Contreras *et al.*, 2007).

Por tanto, podemos aceptar que los resultados encontrados en este experimento, a pesar del limitado número de animales utilizado (46 ovejas), son bastante extrapolables a los que se obtendrían en granjas comerciales.

La detección diaria y automatizada de animales afectados de mamitis podría tener varias utilidades: a) en mamitis subclínicas, establecer un orden de ordeño o realizar un tratamiento selectivo con antibióticos al secado; b) en mamitis clínicas, la identificación precoz del animal, lo cual también permitiría establecer un orden de ordeño (o desinfección de pezoneras), tratar con antibióticos inmediatamente y separar la leche de la glándula afectada.

Los resultados de este trabajo indican que los tres métodos evaluados basados en el registro automático de la CE en la leche de ubre (Métodos 1, 2 y 3) no son adecuados para realizar la detección de mamitis subclínica, ya que presentaron valores muy bajos tanto de Sensibilidad ($S= 6.6\%$ al 17.7%) como del Valor Predictivo Positivo ($VPP=35$ al 45%). Dado que este último parámetro tiene valores tan bajos, sería necesario que los animales detectados fueran confirmados con un método rápido (por ejemplo el CMT) lo cual implicaría la utilización de mano de obra en el proceso.

Sin embargo, los tres métodos citados detectaron los dos únicos casos de mamitis clínica que aparecieron en el experimento, lo que sugiere que podrían ser útiles (particularmente el Método 3) para la detección de este tipo de mamitis. Esto sería importante, para las grandes explotaciones que disponen de mano de obra asalariada. Por ejemplo, supongamos una explotación de 1000 ovejas en ordeño y una incidencia de mamitis clínica del 5% (Bergonier y Berthelot, 2003) en lactaciones de 6 meses. En este caso cabría esperar que cada semana aparecerían 2 nuevos casos de ovejas con mamitis clínica ($1000 \times 0,05/25$ semanas). Si consideramos el Método 3, por ser el de menor FP (0,8%) y mayor VPP (46%), y extrapolamos que se produjeron 1,5% de alarmas, significaría que cada día habrían 15

alarmas (un centenar a la semana) a las que habría que confirmar manualmente si realmente corresponden a una mamitis clínica (en este caso solamente sería necesario extraer unos chorros de leche de cada pezón y observar si existen alteraciones macroscópicas en la leche). Tener que comprobar manualmente a 100 animales para detectar solamente a 2 animales con mamitis clínica no parece que sea un proceso muy eficiente, pero tampoco debería ser descartado, en ausencia de otros métodos que tengan un mayor VPP.

Los resultados del Método 4 (FP: 2,3%; S=58,5%; VPP=73,8%), considerado como referencia, fueron mucho mejores que los anteriores, de modo que este método si que parece adecuado para llevar a cabo la detección, no solo de las mamitis clínicas (detectó los dos casos aparecidos), sino también de las mamitis subclínicas, lo cual coincide con lo encontrado previamente por Peris et al. (1998). El umbral utilizado en el presente trabajo (0,5 mS/cm) es prácticamente el mismo al que se suele utilizar en el ganado vacuno (Barth *et al.*,2008). Por otra parte, no se ha encontrado en la bibliografía ningún otro trabajo que haya estudiado la detección de mamitis en ganado ovino mediante la CE a nivel de glándula o ubre. En ganado caprino Mehdid *et al* (2007) también encuentran que el registro de la CE a nivel de leche de ubre no permite detectar las mamitis subclínicas, dejando abierta la posibilidad de que pueda detectar las mamitis clínicas, lo cual también coincide a lo encontrado en este trabajo.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES

El registro de la CE en leche de ubre, mediante un sensor instalado *en línea* anexo al medidor electrónico MM25SG, no permite detectar con suficiente precisión a las ovejas afectadas de mamitis subclínica, ya que la Sensibilidad (S) y el Valor Predictivo Positivo (VPP) son muy bajos (S=6,6 al 17,6% y VPP=35,6 a 45,8 %, según el método considerado). Sin embargo, los resultados de este trabajo sugieren que el citado sensor podría ser útil para identificar las mamitis clínicas, si bien sería necesario disponer de identificación automática de los animales durante el ordeño (historial de CE de cada animal). Este aspecto debería ser confirmado en un nuevo experimento a realizar en una explotación comercial con un elevado número de efectivos (al menos 500 ovejas).

El registro de la CE en leche de glándula, mediante un equipo manual, ha permitido detectar a las mamitis subclínicas con razonable precisión (S=58,5 %; VPP=73,8 %). Por tanto, es necesario diseñar equipos que detecten *en línea* la CE en la leche de cada pezón por separado, si bien su interés económico dependerá del coste de esta instalación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AVENDAÑO, J.R.; FERNANDEZ F.E.; SANDOVAL C.P. **Comparación de la producción láctea de tres grupos raciales de ovejas en la zona centro-sur de Chile.** Agricultura Técnica [online]. oct. 2002, vol.62, no.4, p.530-540. Disponible en la World Wide Web: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0365-28072002000400005&lng=es&nrm=iso>. ISSN 0365-2807. Acceso 12 dic 2007.

BARTH, K.; BUROW, E.; KNAPPSTEIN, K. EC and CMT detect subclinical mastitis in dairy sheep but less sensitive than in dairy cows. Landbauforschung Volkenrode. Jun, 2008, vol. 58, p. 65 – 69.

BENCINI, R.; PULINA, G. **The quality of sheep milk: a review.** Wool Technology and Sheep Breeding [online]. 1997, vol.45, no.3, art. 5, p.180-220. Disponible en la World Wide Web: <<http://sheepjournal.une.edu.au/cgi/viewcontent.cgi?article=2236&context=sheepjournal>>. Acceso 30 nov 2007.

BERGONIER, D.; BERTHELOT, X.. New advances in epizootiology and control ewe mastitid. Livestock Production Science. 2003, vol. 79, p. 1-16.

BUSETTI, M. **La calidad en la leche de oveja.** Investigación en producción animal 2005 - Región subhúmeda y Semiárida Pampeana. Boletín de divulgación técnica [online]. Oct. 2006, no. 90, cap 25, p. 206-214. Disponible en la World Wide Web:<<http://www.inta.gov.ar/anguil/info/boletines/bol90/pdf/cap25.pdf>>. Acceso 30 nov 2007.

BUSETTI, M. **Composición de la leche de ovejas Pampinta a lo largo de un período de lactación.** Investigación en producción animal 2005 - Región subhúmeda y Semiárida Pampeana. Boletín de divulgación técnica [online]. Oct. 2006 b, no. 90, cap 26, p. 206-214. Disponible en la World Wide Web: <<http://www.inta.gov.ar/anguil/info/boletines/bol90/pdf/cap26.pdf>>. Acceso 30 nov 2007.

CEPERO, O.; CASTILLO, J.C.; SALADO, J. **Mastitis Subclínica: su detección mediante diferentes técnicas diagnóstica en unidades bovinas.** Revista electrónica de veterinaria [online]. España, mar. 2005, vol. VI, no.3. Disponible en la World Wide Web: <<http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>>. Acceso 01 jul 2008.

CONTRERAS, A.; SIERRA, D.; SÁNCHEZ, A.; CORRALES, J.C.; MARCO, J.C.; PAAPE, M.J.; GONZALO, C. **Mastitis in small ruminants.** Small Ruminant Research. 2007, no. 68, p. 145-153.

DOMINGUES, P.F.; LEITE C. A. **Mastite em ovinos.** Boletim do cordeiro [online]. UNESP/ Sao Paulo, 2005. Disponible en la World Wide Web: <<http://www.cordeirobrasileiro.com.br/boletim.php?id=134>>. Acceso 19 dic 2007.

DULCE, E. **El crecimiento de las leches no tradicionales en Argentina.** Lechería ovina [online]. Dirección nacional de alimentos, 2005. Disponible en la World Wide Web: <http://www.produccion-animal.com.ar/produccion_ovina/produccion_ovina_leche/13-lecheria_ovina.pdf>. Acceso 15 agosto 2008.

EMEDIATO, R.M.S. **Qualidade do leite ovino.** Boletim Técnico Farm Point [online]. Sao Paulo, Brasil. Fev, 2008. Disponible en la World Wide Web:

<<http://www.farmpoint.com.br/?noticiaID=43014&actA=7&areaID=3&secaoID=27>>. Acceso 11 jun 2008.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. Disponible en la World Wide Web: <<http://www.fao.org>>. Acceso 12 enero 2008.

FONSECA, L.F.L.; SANTOS, M.V. **Qualidade do leite e controle de Mastite**. São Paulo, 2000. 175p.

HARMON R.J.; EBERHART, R.J.; JASPER, D.E.; LANGLOIS, B.E.; WILSON, P.J. **Microbiological Procedures For Use In The Diagnosis Of Bovine Udder infections**. NATL. MASTITIS COUNC., ARLINGTON, VA 22201.1990.

MARCO J.C. **Mastitis en la oveja Latxa: epidemiologia, diagnostico y control**. Universidad de Zaragoza, 1994. Tesis doctoral, 398p.

MEHID, A.; ESCOLAR, E.; HIDALGO, MANZUR, A.; DÍAZ, J.R. Y PERIS, C. **Utilización de la conductividad eléctrica en la leche de ubre para la detección de mamitis durante el ordeño del ganado caprino**. Jornadas científicas de la SEOC [online]. 2007, p. 239-242. Disponible en la World Wide Web: <<http://www.exopol.com/seoc/docs/19hi6jfb.pdf>>. Acceso 10 enero 2008.

NIELEN, M.; DELUYKER, H.; SCHUKKEN, Y. H., BRAND, A. **Electrical Conductivity of milk: measurement, modifiers and meta análisis os Mastitis detection performance**. J. Dairy Sci., 1992, vol. 75, p. 606 – 614

NORBERG, E. **Electrical conductivity of milk as a phenotypic and genetic indicador of bovine mastitis: A review**. Livestock Production Science, 2005, vol. 96, p. 129 – 139.

NOBERG, E.; ROGERS, G.W.; ODEGARD, J.B., COOPER, J.B. Y MADSEN P. **Genetic Correlation Between Test-Day Electrical Conductivity of Milk and Mastitis**. J. Dairy Sci. 2006, no. 89, p. 779-781. Disponible en la World Wide Web: <<http://jds.fass.org/cgi/reprint/89/2/779.pdf>>. Acceso 14 agosto 2008.

OLIVEIRA, J. S. **Queijos: Fundamentos Tecnológicos**. Governo do Estado de São Paulo, 1986. 146p.

PERIS, C.; DÍAZ, J.R.; FERNANDEZ, N.; RODRÍGUEZ, M.; MOLINA, P. Y TORRES, A. **Utilización de la conductividad eléctrica para la detección de mamitis en ganado ovino**. XXIII Jornada Científica de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia, oct. 1998.

RODRÍGUEZ, O.C.; RODRÍGUEZ J.L.S. **Conductividad eléctrica, California mastitis test (CMT) y conteo celular en la determinación de la mastitis subclínica**. [online]. Cuba, jul. 2004. Disponible en la World Wide Web: <<http://academicos.cualtos.udg.mx/DiplomadoCalidadLeche/doctos/24jul04/CMT%20en%20Cuba.pdf>>. Acceso 10 dic 2007.

SANTOS, R. A.; MENDONCA, C.L.; AFONSO, J. A. B.; SIMAO, L.C.V. **Aspectos clínicos e características do leite em ovelhas com mastite induzida experimentalmente com Staphylococcus aureus**. Pesq. Vet. Bras. [online]. 2007, vol. 27, no. 1, p. 6-12. Disponible en la World Wide Web:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-736X2007000100002&lng=en&nrm=iso> Acceso 08 dic 2007.

SUÁREZ, P. G.; FERNÁNDEZ, B. M.; GONZÁLEZ, A. R. **Nuevas alternativas en el tratamiento de las mamitis en el ganado vacuno.** Tecnología Agroalimentaria [on line]. 2008, 2ª Época, vol.5. Disponible en la World Wide Web: <<http://www.serida.org/pdfs/02211.pdf>>. Acceso 14 agosto 2008.

VELASCO, S.; CAÑEQUE V.; DÍAZ, M.T., PÉREZ, C.; LAUZURICA, S.; HUIDOBRO F.; MANZANARES C.; GONZÁLEZ, J. **Producción lechera y composición lipídica de la leche de ovejas Talaveranas durante el período de lactancia.** Invest. Agr.: Prod. Sanid. Anim. 2001, vol. 16 (1), p.181-192.

USDA - United States Department of Agriculture, National Nutrient Database for Standard Reference, Release 19. 2006. Disponible en la World Wide Web: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl> Acceso 11 jun. 2008.

YENES, E.H.; GÓMEZ, S.M. **Cómo conseguir tener una media anual inferior de 750.0000 células somáticas/ml en ovejas assaf .** Tierras [on line]. 2003, no. 93, p. 20-24. Disponible en la World Wide Web: <<http://www.oviespana.net/monograficos/gana%2093%20pgs%2020-24.pdf>>. Acceso 11 dic. 2008.

ANEJOS

En las 4 tablas anejas están los resultados diarios obtenidos en los ordeños, de acuerdo con cada método estudiado.

Donde:

NN: n° total de animales

NS: n° de animales sanos

NSDS: n° de animales sanos detectados como sanos

NSDI: n° de animales sanos detectados infectados

NI: n° de animales infectados

NIDS: n° de animales infectados detectados sanos

NIDI: n° de animales infectados detectados infectados

CC: correctamente clasificados

FN: falsos negativos

FP: falsos positivos

S: sensibilidad

E: especificidad

VPP: valor predictivo de los positivos

VPN: valor predictivo de los negativos

RESUMEN MÉTODO 1

<i>DATA</i>	<i>NN</i>	<i>NS</i>	<i>NSDS</i>	<i>NSDI</i>	<i>NI</i>	<i>NIDS</i>	<i>NIDI</i>	<i>CC</i>	<i>FN</i>	<i>FP</i>	<i>S</i>	<i>E</i>	<i>VPP</i>	<i>VPN</i>
13-11	31	28	28	0	3	2	1	93,55	6,45	0,00	33,33	100,00	100,00	93,33
14-11	29	26	24	2	3	1	2	89,66	3,45	6,90	66,67	92,31	50,00	96,00
15-11	30	28	26	2	2	1	1	90,00	3,33	6,67	50,00	92,86	33,33	96,30
16-11	30	26	26	0	4	3	1	90,00	10,00	0,00	25,00	100,00	100,00	89,66
19-11	44	39	37	2	5	5	0	84,09	11,36	4,55	0,00	94,87	0,00	88,10
20-11	43	37	34	3	6	6	0	79,07	13,95	6,98	0,00	91,89	0,00	85,00
21-11	42	36	32	4	6	5	1	78,57	11,90	9,52	16,67	88,89	20,00	86,49
22-11	43	37	35	2	6	4	2	86,05	9,30	4,65	33,33	94,59	50,00	89,74
23-11	37	33	33	0	4	4	0	89,19	10,81	0,00	0,00	100,00		89,19
26-11	40	35	32	3	5	4	1	82,50	10,00	7,50	20,00	91,43	25,00	88,89
27-11	42	37	35	2	5	5	0	83,33	11,90	4,76	0,00	94,59	0,00	87,50
28-11	42	37	37	0	5	5	0	88,10	11,90	0,00	0,00	100,00		88,10
29-11	42	37	35	2	5	4	1	85,71	9,52	4,76	20,00	94,59	33,33	89,74
30-11	42	36	35	1	6	4	2	88,10	9,52	2,38	33,33	97,22	66,67	89,74
1-12	41	36	36	0	5	4	1	90,24	9,76	0,00	20,00	100,00	100,00	90,00
2-12	39	36	35	1	3	2	1	92,31	5,13	2,56	33,33	97,22	50,00	94,59
3-12	40	36	33	3	4	3	1	85,00	7,50	7,50	25,00	91,67	25,00	91,67
4-12	40	36	34	2	4	4	0	85,00	10,00	5,00	0,00	94,44	0,00	89,47
5-12	40	36	35	1	4	3	1	90,00	7,50	2,50	25,00	97,22	50,00	92,11
6-12	40	36	34	2	4	3	1	87,50	7,50	5,00	25,00	94,44	33,33	91,89
7-12	40	36	36	0	4	3	1	92,50	7,50	0,00	25,00	100,00	100,00	92,31
8-12	40	36	33	3	4	4	0	82,50	10,00	7,50	0,00	91,67	0,00	89,19
9-12	40	36	36	0	4	3	1	92,50	7,50	0,00	25,00	100,00	100,00	92,31
10-12	40	36	35	1	4	3	1	90,00	7,50	2,50	25,00	97,22	50,00	92,11
11-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
12-12	40	36	35	1	4	3	1	90,00	7,50	2,50	25,00	97,22	50,00	92,11
13-12	40	36	35	1	4	4	0	87,50	10,00	2,50	0,00	97,22	0,00	89,74
14-12	40	36	35	1	4	3	1	90,00	7,50	2,50	25,00	97,22	50,00	92,11
15-12	33	29	27	2	4	4	0	81,82	12,12	6,06	0,00	93,10	0,00	87,10
16-12	40	36	36	0	4	2	2	95,00	5,00	0,00	50,00	100,00	100,00	94,74
17-12	40	36	35	1	4	3	1	90,00	7,50	2,50	25,00	97,22	50,00	92,11
18-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
19-12	40	36	36	0	4	3	1	92,50	7,50	0,00	25,00	100,00	100,00	92,31
20-12	39	36	35	1	3	3	0	89,74	7,69	2,56	0,00	97,22	0,00	92,11
21-12	39	35	34	1	4	4	0	87,18	10,26	2,56	0,00	97,14	0,00	89,47
22-12	32	28	26	2	4	4	0	81,25	12,50	6,25	0,00	92,86	0,00	86,67
23-12	39	35	33	2	4	3	1	87,18	7,69	5,13	25,00	94,29	33,33	91,67
24-12	34	31	30	1	3	3	0	88,24	8,82	2,94	0,00	96,77	0,00	90,91
25-12	30	27	26	1	3	1	2	93,33	3,33	3,33	66,67	96,30	66,67	96,30
26-12	40	36	33	3	4	3	1	85,00	7,50	7,50	25,00	91,67	25,00	91,67
27-12	40	36	35	1	4	4	0	87,50	10,00	2,50	0,00	97,22	0,00	89,74
TOTAL	1583	1413	1359	54	170	140	30	87,74	8,84	3,41	17,65	96,18	35,71	90,66

RESUMEN MÉTODO 2

DATA	NN	NS	NSDS	NSDI	NI	NIDS	NIDI	CC	FN	FP	S	E	VPP	VPN
13-11	26	24	20	4	2	1	1	80,77	3,85	15,38	50,00	83,33	20,00	95,24
14-11	29	26	25	1	3	1	2	93,10	3,45	3,45	66,67	96,15	66,67	96,15
15-11	30	28	28	0	2	1	1	96,67	3,33	0,00	50,00	100,00	100,00	96,55
16-11	30	26	26	0	4	4	0	86,67	13,33	0,00	0,00	100,00		86,67
19-11	29	26	26	0	3	3	0	89,66	10,34	0,00	0,00	100,00		89,66
20-11	43	37	35	2	6	5	1	83,72	11,63	4,65	16,67	94,59	33,33	87,50
21-11	42	36	31	5	6	3	3	80,95	7,14	11,90	50,00	86,11	37,50	91,18
22-11	43	37	37	0	6	4	2	90,70	9,30	0,00	33,33	100,00	100,00	90,24
23-11	37	33	33	0	4	4	0	89,19	10,81	0,00	0,00	100,00		89,19
26-11	40	35	35	0	5	5	0	87,50	12,50	0,00	0,00	100,00		87,50
27-11	42	37	36	1	5	5	0	85,71	11,90	2,38	0,00	97,30	0,00	87,80
28-11	42	37	37	0	5	4	1	90,48	9,52	0,00	20,00	100,00	100,00	90,24
29-11	42	37	36	1	5	5	0	85,71	11,90	2,38	0,00	97,30	0,00	87,80
30-11	42	36	36	0	6	5	1	88,10	11,90	0,00	16,67	100,00	100,00	87,80
1-12	41	36	36	0	5	3	2	92,68	7,32	0,00	40,00	100,00	100,00	92,31
2-12	39	36	34	2	3	3	0	87,18	7,69	5,13	0,00	94,44	0,00	91,89
3-12	40	36	31	5	4	3	1	80,00	7,50	12,50	25,00	86,11	16,67	91,18
4-12	40	36	35	1	4	3	1	90,00	7,50	2,50	25,00	97,22	50,00	92,11
5-12	40	36	36	0	4	3	1	92,50	7,50	0,00	25,00	100,00	100,00	92,31
6-12	40	36	35	1	4	4	0	87,50	10,00	2,50	0,00	97,22	0,00	89,74
7-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
8-12	40	36	32	4	4	4	0	80,00	10,00	10,00	0,00	88,89	0,00	88,89
9-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
10-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
11-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
12-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
13-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
14-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
15-12	33	29	28	1	4	4	0	84,85	12,12	3,03	0,00	96,55	0,00	87,50
16-12	40	36	36	0	4	3	1	92,50	7,50	0,00	25,00	100,00	100,00	92,31
17-12	40	36	35	1	4	4	0	87,50	10,00	2,50	0,00	97,22	0,00	89,74
18-12	40	36	35	1	4	4	0	87,50	10,00	2,50	0,00	97,22	0,00	89,74
19-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
20-12	39	36	36	0	3	3	0	92,31	7,69	0,00	0,00	100,00		92,31
21-12	39	35	35	0	4	4	0	89,74	10,26	0,00	0,00	100,00		89,74
22-12	32	28	27	1	4	4	0	84,38	12,50	3,13	0,00	96,43	0,00	87,10
23-12	39	35	33	2	4	4	0	84,62	10,26	5,13	0,00	94,29	0,00	89,19
24-12	34	31	31	0	3	3	0	91,18	8,82	0,00	0,00	100,00		91,18
25-12	30	27	26	1	3	1	2	93,33	3,33	3,33	66,67	96,30	66,67	96,30
26-12	40	36	34	2	4	3	1	87,50	7,50	5,00	25,00	94,44	33,33	91,89
27-12	40	36	34	2	4	4	0	85,00	10,00	5,00	0,00	94,44	0,00	89,47
TOTAL	1563	1396	1358	38	167	146	21	88,23	9,34	2,43	12,57	97,28	35,59	90,29

RESUMEN MÉTODO 3

DATA	NN	NS	NSDS	NSDI	NI	NIDS	NIDI	CC	FN	FP	S	E	VPP	VPN
13-11	26	24	24	0	2	2	0	92,31	7,69	0,00	0,00	100,00		92,31
14-11	29	26	26	0	3	2	1	93,10	6,90	0,00	33,33	100,00	100,00	92,86
15-11	30	28	28	0	2	1	1	96,67	3,33	0,00	50,00	100,00	100,00	96,55
16-11	30	26	26	0	4	4	0	86,67	13,33	0,00	0,00	100,00		86,67
19-11	29	26	26	0	3	3	0	89,66	10,34	0,00	0,00	100,00		89,66
20-11	43	37	36	1	6	6	0	83,72	13,95	2,33	0,00	97,30	0,00	85,71
21-11	42	36	36	0	6	5	1	88,10	11,90	0,00	16,67	100,00	100,00	87,80
22-11	43	37	37	0	6	4	2	90,70	9,30	0,00	33,33	100,00	100,00	90,24
23-11	37	33	33	0	4	4	0	89,19	10,81	0,00	0,00	100,00		89,19
26-11	40	35	35	0	5	5	0	87,50	12,50	0,00	0,00	100,00		87,50
27-11	42	37	37	0	5	5	0	88,10	11,90	0,00	0,00	100,00		88,10
28-11	42	37	37	0	5	5	0	88,10	11,90	0,00	0,00	100,00		88,10
29-11	42	37	37	0	5	5	0	88,10	11,90	0,00	0,00	100,00		88,10
30-11	42	36	36	0	6	5	1	88,10	11,90	0,00	16,67	100,00	100,00	87,80
1-12	41	36	36	0	5	4	1	90,24	9,76	0,00	20,00	100,00	100,00	90,00
2-12	39	36	36	0	3	3	0	92,31	7,69	0,00	0,00	100,00		92,31
3-12	40	36	34	2	4	4	0	85,00	10,00	5,00	0,00	94,44	0,00	89,47
4-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
5-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
6-12	40	36	35	1	4	4	0	87,50	10,00	2,50	0,00	97,22	0,00	89,74
7-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
8-12	40	36	33	3	4	4	0	82,50	10,00	7,50	0,00	91,67	0,00	89,19
9-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
10-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
11-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
12-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
13-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
14-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
15-12	33	29	28	1	4	4	0	84,85	12,12	3,03	0,00	96,55	0,00	87,50
16-12	40	36	36	0	4	3	1	92,50	7,50	0,00	25,00	100,00	100,00	92,31
17-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
18-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
19-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
20-12	39	36	36	0	3	3	0	92,31	7,69	0,00	0,00	100,00		92,31
21-12	39	35	35	0	4	4	0	89,74	10,26	0,00	0,00	100,00		89,74
22-12	32	28	27	1	4	4	0	84,38	12,50	3,13	0,00	96,43	0,00	87,10
23-12	39	35	33	2	4	4	0	84,62	10,26	5,13	0,00	94,29	0,00	89,19
24-12	34	31	31	0	3	3	0	91,18	8,82	0,00	0,00	100,00		91,18
25-12	30	27	26	1	3	1	2	93,33	3,33	3,33	66,67	96,30	66,67	96,30
26-12	40	36	35	1	4	3	1	90,00	7,50	2,50	25,00	97,22	50,00	92,11
27-12	40	36	36	0	4	4	0	90,00	10,00	0,00	0,00	100,00		90,00
TOTAL	1563	1396	1383	13	167	156	11	89,19	9,98	0,83	6,59	99,07	45,83	89,86

RESUMEN MÉTODO 4

DATA	NN	NS	NSDS	NSDI	NI	NIDS	NIDI	CC	FN	FP	S	E	VPP	VPN
13-11	5	4	4	0	1	1	0	80,00	20,00	0,00	0,00	100,00		80,00
14-11	6	3	3	0	3	0	3	100,00	0,00	0,00	100,00	100,00	100,00	100,00
15-11	7	4	4	0	3	1	2	85,71	14,29	0,00	66,67	100,00	100,00	80,00
16-11	31	27	27	0	4	2	2	93,55	6,45	0,00	50,00	100,00	100,00	93,10
19-11	7	3	3	0	4	1	3	85,71	14,29	0,00	75,00	100,00	100,00	75,00
20-11	9	6	6	0	3	0	3	100,00	0,00	0,00	100,00	100,00	100,00	100,00
21-11	11	7	7	0	4	1	3	90,91	9,09	0,00	75,00	100,00	100,00	87,50
22-11	14	9	7	2	5	2	3	71,43	14,29	14,29	60,00	77,78	60,00	77,78
23-11	43	37	36	1	6	3	3	90,70	6,98	2,33	50,00	97,30	75,00	92,31
26-11	42	37	37	0	5	3	2	92,86	7,14	0,00	40,00	100,00	100,00	92,50
27-11	9	4	4	0	5	3	2	66,67	33,33	0,00	40,00	100,00	100,00	57,14
28-11	7	2	2	0	5	2	3	71,43	28,57	0,00	60,00	100,00	100,00	50,00
29-11	8	3	3	0	5	1	4	87,50	12,50	0,00	80,00	100,00	100,00	75,00
30-11	41	35	34	1	6	3	3	90,24	7,32	2,44	50,00	97,14	75,00	91,89
1-12	7	2	1	1	5	2	3	57,14	28,57	14,29	60,00	50,00	75,00	33,33
2-12	6	2	2	0	4	2	2	66,67	33,33	0,00	50,00	100,00	100,00	50,00
3-12	40	36	36	0	4	2	2	95,00	5,00	0,00	50,00	100,00	100,00	94,74
4-12	8	4	4	0	4	1	3	87,50	12,50	0,00	75,00	100,00	100,00	80,00
5-12	7	3	1	2	4	2	2	42,86	28,57	28,57	50,00	33,33	50,00	33,33
6-12	6	2	2	0	4	2	2	66,67	33,33	0,00	50,00	100,00	100,00	50,00
7-12	40	36	35	1	4	2	2	92,50	5,00	2,50	50,00	97,22	66,67	94,59
8-12	7	3	3	0	4	3	1	57,14	42,86	0,00	25,00	100,00	100,00	50,00
9-12	8	4	3	1	4	3	1	50,00	37,50	12,50	25,00	75,00	50,00	50,00
10-12	40	36	35	1	4	2	2	92,50	5,00	2,50	50,00	97,22	66,67	94,59
11-12	0	0	0	0	0	0	0							
12-12	6	2	2	0	4	3	1	50,00	50,00	0,00	25,00	100,00	100,00	40,00
13-12	40	36	35	1	4	2	2	92,50	5,00	2,50	50,00	97,22	66,67	94,59
14-12	6	2	2	0	4	1	3	83,33	16,67	0,00	75,00	100,00	100,00	66,67
15-12	9	5	4	1	4	2	2	66,67	22,22	11,11	50,00	80,00	66,67	66,67
16-12	6	3	2	1	3	0	3	83,33	0,00	16,67	100,00	66,67	75,00	100,00
17-12	40	36	33	3	4	0	4	92,50	0,00	7,50	100,00	91,67	57,14	100,00
18-12	9	5	4	1	4	0	4	88,89	0,00	11,11	100,00	80,00	80,00	100,00
19-12	9	5	5	0	4	0	4	100,00	0,00	0,00	100,00	100,00	100,00	100,00
20-12	40	36	36	0	4	1	3	97,50	2,50	0,00	75,00	100,00	100,00	97,30
21-12	13	9	9	0	4	0	4	100,00	0,00	0,00	100,00	100,00	100,00	100,00
22-12	9	5	5	0	4	0	4	100,00	0,00	0,00	100,00	100,00	100,00	100,00
23-12	9	7	6	1	2	0	2	88,89	0,00	11,11	100,00	85,71	66,67	100,00
24-12	40	36	35	1	4	1	3	95,00	2,50	2,50	75,00	97,22	75,00	97,22
25-12	5	2	1	1	3	0	3	80,00	0,00	20,00	100,00	50,00	75,00	100,00
26-12	9	6	6	0	3	0	3	100,00	0,00	0,00	100,00	100,00	100,00	100,00
27-12	40	36	34	2	4	1	3	92,50	2,50	5,00	75,00	94,44	60,00	97,14
TOTAL	699	540	518	22	159	55	104	88,98	7,87	3,15	65,41	95,93	82,54	90,40
Total	477	424	413	11	53	22	31	93,08	4,61	2,31	58,49	97,41	73,81	94,94