



Análise de campo usando o RCSd

No seguinte estudo amosamos algunhas análises previas que os autores realizamos nos últimos anos coa aparición dun novo parámetro que achega unha descrición máis definida do estado real da saúde do ubre de vacas leiteiras que o actual RCS: o recuento diferenciado de células somáticas (RCSd).

Juan Cainzos¹, Ramiro A. Fouz², Carlos Noya³

Senior Sales Manager ABS Progenex¹

Facultade de Veterinaria de Lugo (USC)²

Veterinario asesor en Calidade de Leite en Seragro SCG³

INTRODUCCIÓN

Como ben é sabido polos lectores desta revista, malia os esforzos realizados nos últimos anos pola industria, a mastite segue a ser unha das enfermidades máis complexa, frecuente e custosa que afectan ao vacún leiteiro (Alanis *et al.*, 2022). Segundo o Consello Nacional de Mastite dos EE. UU. (Na-

tional Mastitis Council, NMC-USA), esta doenza defínese como “unha inflamación dun ou máis cuarteirons da glándula mamaria, case sempre causada pola infección dun microorganismo” (López-Benavides *et al.*, 2012) e pódese clasificar en clínica ou subclínica, dependendo do grao de afectación e da sintomatoloxía (Denis-Robichaud *et al.*, 2021).

Algunhas das principais dificultades coas que se topou a industria á hora de avaliar e diminuír as súas consecuencias foron a determinación e o diagnóstico deste proceso inflamatorio, especialmente nos casos subclínicos. É

► O RISCO DE DESENVOLVER MASTITE NO GRUPO DE ANIMAIS CON BAIXO RCS PERO ALTO RCSD NON SÓ SE APRECIÓU NO SEGUINTE MES, SENÓN QUE SE MANTIVO DURANTE OS 4 MESES SEGUINTE

por iso que ao longo dos anos vimos a aparición de diferentes ferramentas diagnósticas, desde os iniciais test de California (CMT), pasando polo reconto de células somáticas ou condutividade do leite, ata proteínas do leite que foron suxeridas recentemente como marcadores bioquímicos con diferente grao de precisión, como son a proteína amiloide A, a haptoglobina ou a lactoferrina (Gauguier *et al.*, 2022).

Pero entre todos eles, sen dúbida, o reconto de células somáticas (RCS) foi o que tivo máis impacto nas últimas décadas para o diagnóstico e a monitorización da saúde do ubre, tanto en programas de control leiteiro oficial como a través de distintos dispositivos na granxa. Pero, a maiores do RCS, recentemente introduciuse un novo parámetro que vén achegar unha descrición máis definida do estado real da saúde do ubre de vacas leiteiras (Damm *et al.*, 2017): o reconto diferenciado de células somáticas (RCSD). O obxectivo

do presente artigo é divulgar algunhas análises previas que os autores realizamos nos últimos anos con esta nova ferramenta.

QUE SON AS CÉLULAS SOMÁTICAS?

Antes de seguir avanzando, necesitamos facer unha breve pausa para revisar certos conceptos que nos permitan entender o porqué do RCSD. As células somáticas son principalmente células do sistema inmunitario que forman parte do mecanismo de defensa natural e que responden a un desafío inflamatorio ou infeccioso na glándula mamaria. Cando unha vaca se infecta –cun *E. coli* por exemplo–, as células somáticas “residentes” na mama desencadean unha resposta inflamatoria que atrae máis células defensivas desde o sangue cara ao punto de infección, polo que o RCS aumenta. Unha vez que as bacterias son eliminadas por esas células defensivas, o RCS no leite volve á normalidade nunhas poucas semanas (Schukken *et al.*, 2003). ►►

2 Soluciones PREMIUM para el control celular

POWER BLUE MIX



SELLADOR
MARCANTE
DE DIÓXIDO



HMVIR FILM +



SELLADOR CON
NUESTRA EXCLUSIVA
MOLECULA LSA®



POTENTE ACCIÓN
DESINFECTANTE

▼
Fungicidas
Bactericidas
Viricidas

FUERTE EFECTO
MARCANTE

▼
Aplicación
muy visible

REFORZADOS CON
AGENTES COSMÉTICOS

▼
Hidratación hasta
el siguiente
ordeño.

CONSUMO
CONTROLADO

▼
Viscosidad óptima
Sin goteo



EL NUEVO
NOMBRE
PARA



KERSIA IBÉRICA, S.L. Tel: 948 32 45 32 | kersiaiberica@kersia-group.com www.kersia-group.com

É importante recalcar que o concepto de células somáticas non inclúe un único tipo específico de células, senón que abrangue unha ampla familia con funcións defensivas distintas, como son linfocitos, macrófagos e neutrófilos, ademais de células epiteliais. Así, e dunha maneira moi simplista, poderíamos dicir que os linfocitos son os que regulan todo o proceso inflamatorio, especialmente ao comezo e á finalización da resposta inmune (Nickerson, 1989) e a súa porcentaxe permanece máis ou menos constante no tempo. Os neutrófilos, pola súa banda, teñen como obxectivo principal defender a mama das bacterias invasoras ao comezo do proceso inflamatorio (Oviedo-Boyso *et al.*, 2007). Das tres poboacións celulares, sábese que os neutrófilos aumentan considerablemente durante o curso da infección e informouse que son o tipo de células predominantes no leite con mastite (Pillai *et al.*, 2001). Pola súa banda, os macrófagos inxiren bacterias, restos celulares e compoñentes do leite (Sordillo e Nickerson, 1988). Os macrófagos están asociados coa fase tardía da infección (Sladek e Rysanek, 2009), cando esta non estaría xa activa. Do mesmo xeito, esperábase que a súa porcentaxe fose elevando nas infeccións crónicas (Sladek e Rysanek, 2009).

RECONTO DIFERENCIAL DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Por tanto, e como vimos anteriormente, coñecer o tipo celular predominante no recuento de células somáticas daríanos información adicional sobre o estado e a evolución do proceso inflamatorio e infeccioso. Así, dunha maneira xeral, nas fases iniciais da infección mamaria deberíamos observar unha maior porcentaxe de neutrófilos, correlacionada cun estado de infección activa, mentres que nas fases máis tardías da enfermidade, na que talvez se resolveu xa a infección activa e se está limpando a inflamación, deberíamos ver porcentaxes de macrófagos máis elevadas. E isto é o que representa o recuento diferencial de células somáticas.

Ata onde sabemos, dispoñemos actualmente de dúas tecnoloxías que poden determinar o RCSd en mostras de leite de maneira automática. A primeira máquina é producida por FOSS Analytical A/S (Hillerød, Dinamarca). Trátase dun dispositivo de laborato-

rio que permite a medición do RCSd a partir de mostras de leite usando citometría de fluxo. Esta tecnoloxía reporta un valor de RCSd que representa a porcentaxe combinada de neutrófilos e linfocitos expresados en porcentaxe do total de células somáticas (Damm *et al.*, 2017). A proporción de macrófagos, pola súa banda, pódese calcular pola diferenza do RCSd sobre o total do 100 %. A segunda máquina (a saber, QScout) é producida por Advanced Animal Diagnostics (EE. UU.) e pode usarse para diagnósticos na granxa. Esta máquina mide os valores absolutos e as proporcións dos leucocitos (neutrófilos, macrófagos e linfocitos) no leite mediante microscopía de fluorescencia.

Sexa cunha tecnoloxía ou coa outra, un dos usos específicos sería para determinar presenza de infeccións activas en animais con baixos recontos de célula somáticas, xa que se poden detectar cambios nas proporcións de cada tipo de células en leite independentemente do RCS (Pilla *et al.*, 2012). No outro extremo, podería reportar información sobre animais que tivesen recontos celulares altos, pero o tipo de células predominantes poderíanos suxerir que xa non ten lugar unha infección activa no ubre e que se está resolvendo o proceso inflamatorio.

Con todo isto en mente, e motivado polo feito de que os primeiros dispositivos a grande escala de FOSS para o diagnóstico de RCSd que se instalaron a nivel mundial (Fossomatic 7 DC) fixérono no Laboratorio Interprofesional Galego de Análise do Leite (Ligal), situado en Mabegondo (A Coruña). Os autores viñemos realizando unha serie de análises de datos dispoñibles co obxectivo de entender un pouco máis que información adicional podemos obter deste novo parámetro e como implementarlo de maneira práctica a nivel de campo.

RCSd E EVOLUCIÓN DA MASTITE

Unha das ideas iniciais do uso do RCSd era que puidese servir como información adicional da evolución do proceso inflamatorio, detectando, por exemplo, infeccións activas en animais con baixo recuento de células somáticas. Para iso, nun traballo publicado en 2019 (Noya-Couto *et al.*, 2019), tratouse de avaliar o uso do RCSd ben para predicir novos casos de mastites nos días seguintes ao control leiteiro ou para avaliar se se trataba de inflamacións crónicas. ►►

► COÑECER O TIPO CELULAR PREDOMINANTE NO RECONTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS DARÍANOS INFORMACIÓN ADICIONAL SOBRE O ESTADO E A EVOLUCIÓN DO PROCESO INFLAMATORIO E INFECCIOSO

SHUTOUT®



Una nueva barrera en la protección del pezón



SELLADO POR VACACIONES

TODAS
LAS VACAS

MERECEN UN
SELLADOR

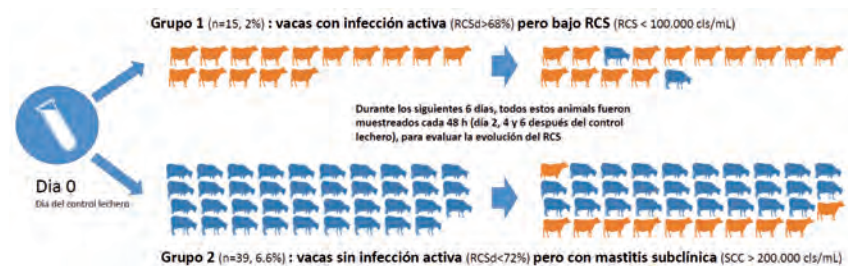
¿Listos para el cambio?
Descárgate la ficha formativa
de Secado Selectivo



Salubre
SECADO SELECTIVO

 **MSD**
Animal Health

Gráfico 1. Seguimento de animais con baixo RCS con base no seu RCSd



► PARECE QUE [...] SE PODERÍAN ESTABLECER RELACIONES A MEDIO-LONGO PRAZO, TANTO PARA A APARICIÓN DE MASTITE COMO PARA AS TAXAS DE CURACIÓN

No devandito traballo participaron 9 granxas comerciais da Coruña e seleccionáronse dous tipos de animais con base nos resultados de RCS e RCSd durante o control leiteiro rutineiro: o Grupo 1, que representaban animais con ubres sans (RCS<100.000 cl/s/mL, Schward *et al.*, 2010) pero con porcentaxes altas de RCSd (>68 %), que nos podería indicar a presenza dunha infección activa e unha mastite inminente, e o Grupo 2, animais con mastite subclínica (RCS≥200.000 cl/s/mL, Pyörälä, 2003) pero con porcentaxes elevadas de macrófagos que nos podería indicar ausencia de infección activa (RCSd<72 %). Todos estes animais foron testeados durante os seguintes 6 días, cada 48 horas, para determinar a evolución do RCS (ver gráfico 1).

Os resultados do Grupo 1 indicaron que, malia que se consideraban animais cunha infección activa pero con baixos recontos de células somáticas, só un 13 % deles (2 de 15) desenvolveron un caso de mastite subclínica nos seguintes 6 días. Da mesma maneira, o 69 % dos animais no Grupo 2 (27 de 39) seguían a ter un RCS maior a 200.000 cél./mL cando acababa o período de observación, a pesar de que se consideraban animais sen infección activa ao comezo do seguimento.

Tratando de entender se os datos de RCSd poderían, con todo, achegar información a máis longo prazo, realizouse o seguimento de 13.183 animais presentes en 738 granxas durante 5 meses (datos non publicados). A eses animais, ademais da análise rutineira de control leiteiro, procedeuse á determinación do RCSd. En cada unha das probas, estableceuse a presenza de mastite subclínica cando o RCS era superior a 200.000 cél./mL.

Nunha primeira análise, elimináronse todos os animais con mastite subclínica ao comezo do seguimento,

no control leiteiro número 1 da serie de seguimento (n=2.624). Desta maneira teríamos só animais “sans”, sen mastite subclínica. Estes animais clasificáronse en base ao RCSd nese primeiro control en animais “en risco”, se a proporción de RCSd indicase que, a pesar de ter un baixo RCS podería haber unha infección activa (RCSd>70 %, n=1.379), e en animais “fóra de risco”, cando non cumprisen este criterio. O seguimento deses animais a través de control leiteiro durante os seguintes meses reflectiu que a porcentaxe de animais con mastite subclínica no seguinte control foi máis alta para o grupo “en risco” que para o grupo “fóra de risco” (18,42 fronte a 7,63 %, respectivamente). Isto é, o risco relativo de desenvolver mastite subclínica no seguinte control leiteiro foi un 241 % máis alto para as vacas clasificadas en risco (p<0.0001). Este maior risco de desenvolver mastite no grupo de animais con baixo RCS pero alto RCSd non só se apreciou no seguinte mes, senón que se mantivo durante os catro meses seguintes. Así, o risco de ter mastite subclínica nalgún dos catro meses posteriores foi 173 % máis alto para vacas clasificadas “en risco” ao comezo do seguimento.

Nunha segunda análise, procedeu-se a unha selección máis intensiva dos animais, eliminando aqueles con RCS≥100.000 cél./mL ao comezo do seguimento (n=4.487). O resto clasificouse igualmente con base no RCSd en animais “en baixo risco” cando o RCSd foi maior ao 70 % e o resto clasificouse en “fóra de risco”. Do mesmo xeito que na anterior análise, o valor do RCSd parece achegar certa información sobre o risco de evolución da saúde do ubre nos seguintes controis leiteiros. Así, o risco relativo de desenvolver mastite subclínica foi un 148 % máis alto para vacas con RCSd maiores a 70 %, mesmo can-



MASTIVAC

EL PODER ESTÁ EN TU MANO

La protección más efectiva
para el control de la mastitis

7 ANTÍGENOS
EN UNA DOSIS

EL MANEJO
MÁS SENCILLO

LA PROTECCIÓN
MÁS DURADERA

MASTIVAC suspensión inyectable para bovino. Vacuna inactivada polivalente frente a la mastitis.

Composición por dosis (5 ml): Antígenos inactivados de *S. agalactiae* cepa L01 ≥ 1 PR; *S. dysgalactiae* cepa ATCC 43078 ≥ 1 PR; *S. uberis* cepa L01 ≥ 1 PR; *S. pyogenes* cepa L01 ≥ 1 PR; *S. aureus* cepa L01 ≥ 1 PR; *A. pyogenes* cepa ATCC 9730 ≥ 1 PR; *E. coli* cepa Bov-10 ≥ 1 PR; *E. coli* cepa Bov-14 ≥ 1 PR; *E. coli* cepa Bov-15 ≥ 1 PR; *E. coli* cepa Suis-21 ≥ 1 PR; *E. coli* cepa J5 ATCC 43745 ≥ 1 PR. **Indicaciones y especies de destino:** Bovino (novillas y vacas). Para la inmunización activa frente a las mastitis clínicas y/o subclínicas producidas por *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. uberis*, *S. pyogenes*, *S. aureus*, *A. pyogenes* y *E. coli*. Reducción de los signos clínicos de las mastitis clínicas producidas por *S. dysgalactiae*, *S. pyogenes*, *A. pyogenes* y *E. coli*. Reducción del recuento de células somáticas en las mastitis subclínicas producidas por *S. agalactiae*, *S. uberis* y *S. aureus*. **Vía de administración:** Subcutánea. **Posología:** 5 ml. **Pauta de vacunación:** Primovacuna: Administrar 2 dosis separadas 15 días. Novillas: Administrar 2 meses antes del primer parto. Vacas: Administrar en cualquier momento independientemente del estado fisiológico del animal. Revacunación: cada 6 meses. **Contraindicaciones:** Ninguna. **Tiempo de espera:** Cero días. **Presentación:** 20 ml y 100 ml. Con prescripción veterinaria. **Titular:** CZ Veterinaria S.A. **Reg. N°:** 2990 ESP

En caso de duda consulte a su veterinario

vêtia®

A COMPANY OF ZENDAL GROUP

VETIA ANIMAL HEALTH, S.A.U. C/ Teide, n° 4. 28703 San Sebastián de los Reyes - Madrid

✉ info@vetia.es
☎ (+34) 910 901 526
🌐 www.vetia.es

► O RCSd PODE PROPORCIONAR UNHA ANÁLISE DO ESTADO DE SAÚDE DO UBRE DUNHA MANEIRA MÁIS DETALLADA QUE A PROPORCIONADA POR RCS SÓ, PERO NECESÍTASE MÁIS INFORMACIÓN PARA UTILIZAR ESTE VALOR COMO INDICADOR DA EVOLUCIÓN DA SAÚDE DO UBRE A NIVEL DE CAMPO

do se trataba só de animais con RCS menores a 100.000 cél./mL ao comezo do seguimento.

Nunha terceira análise, pola contra, tratouse de avaliar a probabilidade de certa conexión entre os valores de RCSd e a probabilidade de curación nos seguintes controis leiteiros. Neste caso seleccionáronse animais con RCS maiores a 400.000 cél./mL ao comezo do seguimento (n=1.503) e clasificáronse con base no RCSd en animais con baixo RCSd (<40 %) ou non (RCSd≥40 %). Como se describiu anteriormente, o que nos indicaría un baixo nivel de RCSd (40 %, por exemplo), é que o 40 % das células somáticas serían neutrófilos e linfocitos, mentres que poderíamos asumir que o resto (60 %) se trataría de macrófagos. Vimos que estes últimos están asociados coa fase tardía da infección e, por tanto, expúxose se esas vacas con RCSd poderían representar aquelas que xa solucionasen a fase activa e estarían en proceso de resolución da inflamación. O seu seguimento mostrou que aqueles animais con altos RCS pero baixos RCSd tiñan un risco moito menor de ter mastite subclínica no seguinte control leiteiro (RR=0,51, p<0,02).

Por tanto, parece que de momento non dispoñemos de suficiente información que nos permita usar o RCSd como unha ferramenta predictiva a curto prazo (nos seguintes seis días), pero parece que se poderían establecer relacións a medio-longo prazo, tanto para a aparición de mastite como para as taxas de curación.

RCSd E SECADO

Outro punto interesante que se avaliou nos últimos anos é a conexión entre o período seco –especialmente os valores de RCSd no último control ao secado– e a prevalencia de mastite no primeiro test posparto. Para iso recuperouse información procedente de 16.572 vacas múltiples, tanto do último test da lactación anterior como do primeiro test

da seguinte lactación (Cainzos *et al.*, 2019), co obxectivo de avaliar o seu impacto na prevalencia de mastite ao comezo da lactación. Así, viuse que variables como a paridade (2 partos fronte a 3 ou máis), a presenza de cetose ao comezo da lactación, a presenza de mastite subclínica no último control ou os días en leite a primeiro control gardaban relación coa prevalencia de mastite subclínica ao comezo da lactación. Con todo, e en contra do esperado, a presenza de valores de RCSd por riba do 70 % no último control antes do secado –que nos indicaría a existencia dunha infección activa (Schwarz, 2018)– non parecían gardar ningunha relación coa prevalencia de mastite subclínica no primeiro control posparto.

Cabe lembrarlos aos lectores que todos os datos usados e as análises reportadas son meramente observacións, polo que só poderemos establecer relacións de asociación e que cumpriría desenvolver análises prospectivas para poder establecer relacións causais nas asociacións descritas anteriormente.

Tal e como reportaron previos autores (Gonçalves *et al.*, 2017), o reconto diferencial de células somáticas pode proporcionar unha análise do estado de saúde do ubre dunha maneira máis detallada que a proporcionada por RCS só; con todo, necesítase máis información para utilizar este valor como indicador da evolución da saúde do ubre a nivel do campo. ■

BIBLIOGRAFÍA

- Alanis *et al.*, 2022. Calculating clinical mastitis frequency in dairy cows: Incidence risk at cow level, incidence rate at cow level, and incidence rate at quarter level. *Prev Vet Med*, 198: 105527
- Cainzos *et al.*, 2019. Can differential somatic cell count at dryoff help to predict postpartum mastitis prevalence? In proceedings of European Bovine Congress.
- Damm *et al.*, 2017. Differential somatic cell count A novel method for routine mastitis screening in the frame of Dairy Herd Improvement testing programs *J Dairy Sci* 100:4926-4940
- Denis-Robichaud *et al.*, 2021. Randomized controlled trial of pegbovigrastim as an adjunct therapy for naturally occurring severe clinical mastitis cases in dairy cows. *JDS Communications* 2021; 2:398-402.
- Giagu *et al.*, 2022. Milk proteins as mastitis markers in dairy ruminants - a systematic review. *Vet Res Commun*. <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09901-y>
- Gonçalves *et al.*, 2017. Using milk leukocyte differentials for diagnosis of subclinical bovine mastitis *Journal of Dairy Research* doi 10.1017/S0022029917000267
- Nickerson, S. C. 1989. Immunological aspects of mammary involution. *J. Dairy Sci.* 72:1665-1678
- Noya-couto *et al.*, 2019. Evaluation of udder health based on DHI milk test SCC and milk leukocyte differential (MLD): a descriptive study. In proceedings of European Bovine Congress.
- Oviedo-Boyso *et al.*, 2007. Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *J. Infect.* 54:399-409
- Pilla *et al.*, 2012. Microscopic differential cell counting to identify inflammatory reactions in dairy cow quarter milk samples. *Journal of Dairy Science* 95 4410-4420
- Pillai *et al.*, 2001. Application of differential inflammatory cell count as a tool to monitor udder health. *Journal of Dairy Science* 84 1413-1420
- Sladek y Rysanek, 2009. Expression of macrophage CD44 receptor in the course of experimental inflammatory response of bovine mammary gland induced by lipopolysaccharide and muramyl dipeptide. *Res. Vet. Sci.* 86:235-240.
- Sordillo y Nickerson, 1988. Morphometric changes in the bovine mammary gland during involution and lactogenesis. *Am. J. Vet. Res.* 49:1112-1120
- Ynte Schukken, David Wilson, Francis Welcome, Linda Garrison-Tikofsky, Ruben Gonzalez. Monitoring udder health and milk quality using somatic cell counts. *Veterinary Research, BioMed Central*, 2003, 34 (5), pp.579-596. [ff10.1051/vetres:2003028ff](https://doi.org/10.1051/vetres:2003028ff). fhal-00902769

Speed Mam Color™

TEST RÁPIDO DE IDENTIFICACIÓN Y ANTIBIOGRAMA EN MASTITIS

Identifica en 48h las 8 principales bacterias implicadas en mastitis clínicas

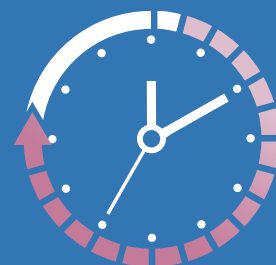
48h



24h

Antibiograma en 24h
con 14 opciones de antibióticos disponibles en veterinaria

SPEED MAM COLOR DETECTA EL ANTIBIÓTICO ADECUADO EN 24 HORAS



- Listo para utilizar
- Siembra fácil y rápida, en menos de 3 minutos
- Lectura e interpretación clara y rápida
- Ayuda a prevenir resistencias y a bajar la tasa de crónicas

Virbac España S.A.

Àngel Guimerà, 179-181
08950 Esplugues de Llobregat (Barcelona)
934 707 940
es.virbac.com

Construyendo el futuro
de la salud animal

Virbac

3775-RD