



Análisis de campo usando el RCSd

En el siguiente estudio mostramos algunos análisis previos que los autores hemos realizado en los últimos años con la aparición de un nuevo parámetro que aporta una descripción más definida del estado real de la salud de la ubre de vacas lecheras que el actual RCS: el recuento diferenciado de células somáticas (RCSd).

Juan Cainzos¹, Ramiro A. Fouz², Carlos Noya³

Senior Sales Manager ABS Progenex¹

Facultad de Veterinaria de Lugo (USC)²

Veterinario asesor en Calidad de Leche en Seragro SCG³

INTRODUCCIÓN

Como bien es sabido por los lectores de esta revista, a pesar de los esfuerzos realizados en los últimos años por la industria, la mastitis sigue siendo una de las enfermedades más compleja, frecuente y costosa que afectan al vacuno lechero (Alanis *et al.*, 2022). Según el Consejo Nacional de

Mastitis de EE. UU. (National Mastitis Council, NMC-USA), esta dolencia se define como “una inflamación de uno o más cuarterones de la glándula mamaria, casi siempre causada por la infección de un microorganismo” (López-Benavides *et al.*, 2012) y se puede clasificar en clínica o subclínica, dependiendo del grado de afectación y de la sintomatología (Denis-Robichaud *et al.*, 2021).

Algunas de las principales dificultades con las que se ha topado la industria a la hora de evaluar y disminuir sus consecuencias han sido la determinación y el diagnóstico de este pro-

► EL RIESGO DE DESARROLLAR MASTITIS EN EL GRUPO DE ANIMALES CON BAJO RCS PERO ALTO RCSD NO SOLO SE APRECIÓ EN EL SIGUIENTE MES, SINO QUE SE MANTUVO DURANTE LOS 4 MESES SIGUIENTES

ceso inflamatorio, especialmente en los casos subclínicos. Es por eso que a lo largo de los años hemos visto la aparición de diferentes herramientas diagnósticas, desde los iniciales test de California (CMT), pasando por el recuento de células somáticas o conductividad de la leche, hasta proteínas de la leche que han sido sugeridas recientemente como marcadores bioquímicos con diferente grado de precisión, como son la proteína amiloide A, la haptoglobina o la lactoferrina (Giagu *et al.*, 2022).

Pero entre todos ellos, sin duda, el recuento de células somáticas (RCS) ha sido el que ha tenido más impacto en las últimas décadas para el diagnóstico y la monitorización de la salud de la ubre, tanto en programas de control lechero oficial como a través de distintos dispositivos en granja. Pero, a mayores del RCS, recientemente se ha introducido un nuevo parámetro que viene a aportar una descripción más definida del estado real de la salud de la ubre de vacas lecheras (Damm *et al.*, 2017): el recuento diferenciado de células somáticas (RCSd). El objetivo del presen-

te artículo es divulgar algunos análisis previos que los autores hemos realizado en los últimos años con esta nueva herramienta.

¿QUÉ SON LAS CÉLULAS SOMÁTICAS?

Antes de seguir avanzando, necesitamos hacer una breve pausa para revisar ciertos conceptos que nos permitan entender el porqué del RCSd. Las células somáticas son principalmente células del sistema inmunitario que forman parte del mecanismo de defensa natural y que responden a un desafío inflamatorio o infeccioso en la glándula mamaria. Cuando una vaca se infecta –con un *E. coli* por ejemplo–, las células somáticas “residentes” en la mama desencadenan una respuesta inflamatoria que atrae más células defensivas desde la sangre hacia el punto de infección, por lo que el RCS aumenta. Una vez que las bacterias son eliminadas por esas células defensivas, el RCS en la leche vuelve a la normalidad en unas pocas semanas (Schukken *et al.*, 2003). ►►

2 Soluciones PREMIUM para el control celular

POWER BLUE MIX



SELLADOR
MARCANTE
DE DIÓXIDO

POTENTE ACCIÓN
DESINFECTANTE

▼
Fungicidas
Bactericidas
Viricidas

FUERTE EFECTO
MARCANTE

▼
Aplicación
muy visible

HMVIR FILM +



SELLADOR CON
NUESTRA EXCLUSIVA
MOLECULA LSA®

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

Es importante recalcar que el concepto de células somáticas no incluye un único tipo específico de células, sino que abarca una amplia familia con funciones defensivas distintas, como son linfocitos, macrófagos y neutrófilos, además de células epiteliales. Así, y de una manera muy simplista, podríamos decir que los linfocitos son los que regulan todo el proceso inflamatorio, especialmente al inicio y a la finalización de la respuesta inmune (Nickerson, 1989) y su porcentaje permanece más o menos constante en el tiempo. Los neutrófilos, por su parte, tienen como objetivo principal defender la mama de las bacterias invasoras al comienzo del proceso inflamatorio (Oviedo-Boyso *et al.*, 2007). De las tres poblaciones celulares, se sabe que los neutrófilos aumentan considerablemente durante el curso de la infección y se ha informado que son el tipo de células predominantes en la leche con mastitis (Pillai *et al.*, 2001). Por su parte, los macrófagos ingieren bacterias, restos celulares y componentes de la leche (Sordillo y Nickerson, 1988). Los macrófagos están asociados con la fase tardía de la infección (Sladek y Rysanek, 2009), cuando esta no estaría ya activa. Del mismo modo, se esperaría que su porcentaje fuese elevando en las infecciones crónicas (Sladek y Rysanek, 2009).

RECuento DIFERENCIAL DE CÉLULAS SOMÁTICAS

Por lo tanto, y como vimos anteriormente, conocer el tipo celular predominante en el recuento de células somáticas nos daría información adicional sobre el estado y la evolución del proceso inflamatorio e infeccioso. Así, de una manera general, en las fases iniciales de la infección mamaria debiéramos observar un mayor porcentaje de neutrófilos, correlacionado con un estado de infección activa, mientras que en fases más tardías de la enfermedad, en las que tal vez se ha resuelto ya la infección activa y se está limpiando la inflamación, debiéramos ver porcentajes de macrófagos más elevados. Y esto es lo que representa el recuento diferencial de células somáticas.

Hasta donde sabemos, disponemos actualmente de dos tecnologías que pueden determinar el RCSd en muestras de leche de manera automática. La primera máquina es producida por FOSS Analytical A/S (Hillerød, Dinamarca). Se trata de un dispositivo de laboratorio que permite la medición del RCSd

a partir de muestras de leche usando citometría de flujo. Esta tecnología reporta un valor de RCSd que representa el porcentaje combinado de neutrófilos y linfocitos expresados en porcentaje del total de células somáticas (Damm *et al.*, 2017). La proporción de macrófagos, por su parte, se puede calcular por la diferencia del RCSd sobre el total del 100 %. La segunda máquina (a saber, QScout) es producida por Advanced Animal Diagnostics (EE. UU.) y puede usarse para diagnósticos en la granja. Esta máquina mide los valores absolutos y las proporciones de los leucocitos (neutrófilos, macrófagos y linfocitos) en la leche mediante microscopía de fluorescencia.

Sea con una tecnología o la otra, uno de los usos específicos sería para determinar presencia de infecciones activas en animales con bajos recuentos de célula somáticas, ya que se pueden detectar cambios en las proporciones de cada tipo de células en leche independientemente del RCS (Pilla *et al.*, 2012). En el otro extremo, podría reportar información sobre animales que tuviesen recuentos celulares altos, pero el tipo de células predominantes nos podría sugerir que ya no tiene lugar una infección activa en la ubre y que se está resolviendo el proceso inflamatorio.

Con todo esto en mente, y motivado por el hecho de que los primeros dispositivos a gran escala de FOSS para el diagnóstico de RCSd que se han instalado a nivel mundial (Fossomatic 7 DC), lo han hecho en el Laboratorio Interprofesional Gallego de Análisis de la Leche (Ligal), situado en Mabegondo (A Coruña). Los autores hemos venido realizando una serie de análisis de datos disponibles con el objetivo de entender un poco más qué información adicional podemos obtener de este nuevo parámetro y cómo implementarlo de manera práctica a nivel de campo.

RCSd Y EVOLUCIÓN DE LA MASTITIS

Una de las ideas iniciales del uso del RCSd era que pudiese servir como información adicional de la evolución del proceso inflamatorio, detectando por ejemplo infecciones activas en animales con bajo recuento de células somáticas. Para ello, en un trabajo publicado en 2019 (Noya-Couto *et al.*, 2019), se trató de evaluar el uso del RCSd bien para predecir nuevos casos de mastitis en los días siguientes al control lechero o para evaluar si se trataba de inflamaciones crónicas. ►►

► CONOCER EL TIPO CELULAR PREDOMINANTE EN EL RECuento DE CÉLULAS SOMÁTICAS NOS DARÍA INFORMACIÓN ADICIONAL SOBRE EL ESTADO Y LA EVOLUCIÓN DEL 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. Seguimiento de animales con bajo RCS en base a su RCSd



► PARECE QUE [...] SE PODRÍAN ESTABLECER RELACIONES A MEDIO-LARGO PLAZO, TANTO PARA LA APARICIÓN DE MASTITIS COMO PARA LAS TASAS DE CURACIÓN

En dicho trabajo participaron 9 granjas comerciales de A Coruña y se seleccionaron dos tipos de animales en base a los resultados de RCS y RCSd durante el control lechero rutinario: el Grupo 1, que representaban animales con ubres sanas (RCS<100.000 cél./mL, Schward *et al.*, 2010) pero con porcentajes altos de RCSd (>68 %), que nos podría indicar la presencia de una infección activa y una mastitis inminente, y el Grupo 2, animales con mastitis subclínica (RCS≥200.000 cél./mL, Pyörälä, 2003) pero con porcentajes elevados de macrófagos que nos podría indicar ausencia de infección activa (RCSd<72 %). Todos estos animales fueron testeados durante los siguientes 6 días, cada 48 horas, para determinar la evolución del RCS (ver gráfico 1).

Los resultados del Grupo 1 indicaron que, a pesar de que se consideraban animales con una infección activa pero con bajos recuentos de células somáticas, solo un 13 % de ellos (2 de 15) desarrollaron un caso de mastitis subclínica en los siguientes 6 días. De la misma manera, el 69 % de los animales en el Grupo 2 (27 de 39) seguían teniendo un RCS mayor a 200.000 cél./mL cuando acababa el periodo de observación, a pesar de que se consideraban animales sin infección activa al inicio del seguimiento.

Tratando de entender si los datos de RCSd podrían, sin embargo, aportar información a más largo plazo, se realizó el seguimiento de 13.183 animales presentes en 738 granjas durante 5 meses (datos no publicados). A esos animales, además del análisis rutinario de control lechero, se procedió a la determinación del RCSd. En cada una de las pruebas, se estableció la presencia de mastitis subclínica cuando el RCS era superior a 200.000 cél./mL.

En un primer análisis, se eliminaron todos los animales con mastitis subclínica al inicio del seguimiento, en el control lechero número 1 de la serie de seguimiento (n=2.624). De esta manera tendríamos solo animales “sanos”, sin mastitis subclínica. Estos animales se clasificaron en base al RCSd en ese primer control en animales “en riesgo”, si la proporción de RCSd indicara que, a pesar de tener un bajo RCS podría haber una infección activa (RCSd>70 %, n=1.379), y en animales “fuera de riesgo”, cuando no cumplieren este criterio. El seguimiento de esos animales a través de control lechero durante los siguientes meses nos mostró que el porcentaje de animales con mastitis subclínica en el siguiente control fue más alto para el grupo “en riesgo” que para el grupo “fuera de riesgo” (18,42 frente a 7,63 %, respectivamente, esto es, el riesgo relativo de desarrollar mastitis subclínica en el siguiente control lechero fue un 241 % más alto para las vacas clasificadas en riesgo (p<0.0001). Este mayor riesgo de desarrollar mastitis en el grupo de animales con bajo RCS pero alto RCSd, no solo se apreció en el siguiente mes, sino que se mantuvo durante los cuatro meses siguientes. Así, el riesgo de tener mastitis subclínica en alguno de los cuatro meses posteriores fue 173 % más alto para vacas clasificadas “en riesgo” al inicio del seguimiento.

En un segundo análisis, se procedió a una selección más intensiva de los animales, eliminando aquellos con RCS≥100.000 cél./mL al inicio del seguimiento (n=4.487). El resto se clasificó igualmente en base al RCSd en animales “en bajo riesgo” cuando el RCSd fue mayor al 70 % y el resto se clasificó en “fuera de riesgo”. Del mismo modo que en el anterior análisis, el valor del RCSd parece aportar ►►



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:** Primovacunación: 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

► EL RCSD PUEDE PROPORCIONAR UN ANÁLISIS DEL ESTADO DE SALUD DE LA UBRE DE UNA MANERA MÁS DETALLADA QUE EL PROPORCIONADO POR RCS SOLO, PERO SE NECESITA MÁS INFORMACIÓN PARA UTILIZAR ESTE VALOR COMO INDICADOR DE LA EVOLUCIÓN DE LA SALUD DE LA UBRE A NIVEL DE CAMPO

cierta información sobre el riesgo de evolución de la salud de la ubre en los siguientes controles lecheros. Así, el riesgo relativo de desarrollar mastitis subclínica fue un 148 % más alto para vacas con RCSD mayores a 70 %, incluso cuando se trataba solo de animales con RCS menores a 100.000 cél./mL al inicio del seguimiento.

En un tercer análisis, por el contrario, se trató de evaluar la probabilidad de cierta conexión entre los valores de RCSD y la probabilidad de curación en los siguientes controles lecheros. En este caso se seleccionaron animales con RCS mayores a 400.000 cél./mL al inicio del seguimiento ($n=1.503$) y se clasificaron en base al RCSD en animales con bajo RCSD (<40 %) o no ($\text{RCSD} \geq 40$ %). Como se describió anteriormente, lo que nos indicaría un bajo nivel de RCSD (40 %, por ejemplo), es que el 40 % de las células somáticas serían neutrófilos y linfocitos, mientras que podríamos asumir que el resto (60 %) se trataría de macrófagos. Hemos visto que estos últimos están asociados con la fase tardía de la infección y, por lo tanto, se planteó si esas vacas con RCSD podrían representar aquellas que ya habían solucionado la fase activa y estarían en proceso de resolución de la inflamación. Su seguimiento mostró que aquellos animales con altos RCS pero bajos RCSD tenían un riesgo mucho menor de tener mastitis subclínica en el siguiente control lechero ($\text{RR}=0,51$, $p<0,02$).

Por lo tanto, parece que de momento no disponemos de suficiente información que nos permita usar el RCSD como una herramienta predictiva a corto plazo (en los siguientes seis días), pero parece que se podrían establecer relaciones a medio-largo plazo, tanto para la aparición de mastitis como para las tasas de curación.

RCSD Y SECADO

Otro punto interesante que se ha evaluado en los últimos años es la conexión

entre el período seco –especialmente los valores de RCSD en el último control al secado– y la prevalencia de mastitis en el primer test posparto. Para ello se recuperó información procedente de 16.572 vacas multíparas, tanto del último test de la lactación anterior como del primer test de la siguiente lactación (Cainzos *et al.*, 2019), con el objetivo de evaluar su impacto en la prevalencia de mastitis al inicio de la lactación. Así, se vio que variables como la paridad (2 partos frente a 3 o más), la presencia de cetosis al inicio de la lactación, la presencia de mastitis subclínica en el último control o los días en leche a primer control guardaban relación con la prevalencia de mastitis subclínica al inicio de la lactación. Sin embargo, y en contra de lo esperado, la presencia de valores de RCSD por encima del 70 % en el último control antes del secado –que nos indicarían la existencia de una infección activa (Schwarz, 2018)– no parecían guardar ninguna relación con la prevalencia de mastitis subclínica en el primer control posparto.

Cabe recordar a los lectores que todos los datos usados y los análisis reportados son meramente observaciones, por lo que solo podremos establecer relaciones de asociación y que sería necesario desarrollar análisis prospectivos para poder establecer relaciones causales en las asociaciones descritas anteriormente.

Tal y como han reportado previos autores (Gonçalves *et al.*, 2017), el recuento diferencial de células somáticas puede proporcionar un análisis del estado de salud de la ubre de una manera más detallada que el proporcionado por RCS solo; sin embargo, se necesita más información para utilizar este valor como indicador de la evolución de la salud de la ubre a nivel de 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). [ff10.1051/vetres:2003028ff](https://doi.org/10.1051/vetres:2003028ff)

Speed Mam Color™

TEST RÁPIDO DE IDENTIFICACIÓN Y ANTIBIOGRAMA EN MASTITIS

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

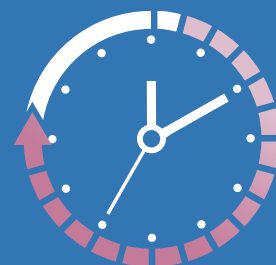
48h



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