#### **ARTÍCULO DE REVISIÓN**

# Asistencia al parto y eficacia del ordeño en la búfala de agua: aspectos etológicos y neuroanatómicos

Fabio Napolitano,<sup>1,a</sup> Daniel Mota Rojas,<sup>2,a,\*</sup>Ada Braghieri,<sup>1</sup> Agustín Orihuela,<sup>3</sup> Adolfo Álvarez Macías,<sup>2\*</sup> Daniela Rodríguez,<sup>2</sup> Adriana Domínguez,<sup>2</sup> Nancy José Pérez,<sup>2</sup> Joseline Jacome,<sup>2</sup> Andrea Castellón,<sup>2</sup> Ximena Armenta<sup>2</sup> y Giuseppe de Rosa<sup>4</sup>

Resumen. La producción de leche de búfala de agua tiene una larga tradición y una importancia creciente en el mundo, principalmente en países asiáticos. No obstante, la literatura disponible en la actualidad sobre esta especie es limitada, por lo cual, este artículo de revisión tiene como objetivo analizar factores fisiológicos y conductuales en procesos clave como el parto y el ordeño, para evaluar sus efectos sobre el bienestar y los procesos de producción y reproducción de las búfalas de agua. Se procedió a una amplia revisión bibliográfica, priorizando artículos científicos recientes y especializados. Los hallazgos se organizaron en dos partes: la primera sobre las tres etapas del parto, abordando las causas y consecuencias de las distocias. En la segunda, se examina el proceso de ordeña, comprendiendo aspectos anatómicos, fisiológicos y patológicos (mastitis). Se concluye sobre la relevancia de mantener el máximo de atención en estos procesos, debido al efecto que tienen sobre el bienestar animal, productividad y rentabilidad de las empresas lecheras bufalinas.

**Palabras clave:** Bienestar de la búfala de agua, Bienestar del feto, Búfalo doméstico, Bubalus bubalis, Distocia, Mastitis.

Fecha de recepción: 06 de mayo de 2022—Fecha de aceptación: 18 de junio de 2022

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Scuola di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali, Università degli Studi della Basilicata, 85100 Potenza, Italy.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, CDMX.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca, 62209 Morelos, México.

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Dipartimento di Agraria, Università di Napoli Federico II, Portici, Naples, Italy.

<sup>\*</sup> Autores de correspondencia: dmota@correo.xoc.uam.mx y aalvarez@correo.xoc.uam.mx

<sup>&</sup>lt;sup>a</sup> Estos autores contribuyeron de igual forma en este artículo.

Abstract: Water buffalo milk production systems have a long tradition and global growing importance, mainly in Asian countries. However, currently available literature on this species is limited. Therefore, this review article aims to analyze physiological and behavioral factors in key processes such as parturition and milking, to assess their effects on the welfare, production, and reproduction of water buffaloes. Through an extensive bibliographic review, prioritizing recent and specialized scientific articles, the findings were organized in two parts: first, the three stages of parturition, addressing the causes and consequences of dystocia. The second examines the milking process, including anatomical, physiological, and pathological aspects. It is concluded on the relevance of maintaining the maximum attention in these processes due to the effect they have on animal welfare, productivity, and profitability of buffalo dairy production units.

**Keywords:** Water buffalo welfare, Fetal welfare, Domestic buffalo, Bubalus bubalis, Mastitis, dystocia.

## INTRODUCCIÓN

El búfalo de agua (*Bubalus bubalis*) se ha catalogado como el animal del futuro gracias a su rusticidad, prolificidad y versatilidad productiva. Actualmente son utilizados como animales de doble propósito, produciendo de manera simultánea carne y leche, además de servir como animales de trabajo (Mota-Rojas, *et al.*, 2020a; Napolitano *et al.*, 2020a; Mota-Rojas *et al.*, 2021a; Napolitano *et al.*, 2021; Bertoni *et al.*, 2022a,b). Debido a ello, su uso se ha expandido rápidamente, pasando de 168 millones de ejemplares en 2005 a 206 millones de búfalos en 2018 en el mundo (FAO, 2019). Aunado a esto, los sistemas de producción intensivos se han instaurado en diversos países como México, Colombia, Ecuador e Italia, representando una industria rentable y de calidad (González-Lozano *et al.*, 2020; Napolitano *et al.*, 2020a,b,c; Bertoni *et al.*, 2021; Rodríguez-González *et al.*, 2022).

Dentro de la producción bufalina, uno de los principales productos es la leche y sus derivados, especialmente queso (Mota-Rojas *et al.*, 2020a). En India son considerados *Diamantes Negros*, ya que aportan más de la mitad en la producción total de leche (Indurkar *et al.*, 2019). Los búfalos son la segunda fuente de suministro de leche en el mundo, con una producción mundial que supera los 120.35 millones de toneladas y que contribuye a 14.4% del total de leche producida anualmente, de la cual 60% proviene de India y 30% de Pakistán (FAO, 2019).

Sin embargo, la productividad general de la búfala se puede afectar por trastornos reproductivos relacionados con el parto (Dhami et al., 2012), al ser un proceso inflamatorio por la liberación de citocinas y prostaglandinas (Mota-Rojas et al., 2019). Un parto normal o eutócico consiste en una serie de respuestas fisiológicas, hormonales, conductuales y morfológicas (Mota-Rojas, et al., 2020b), comprendidas en tres etapas principales: 1) preparto y comienzo del parto; 2) expulsión de la cría, y 3) expulsión de las membranas fetales (Mohammad y Abdel-Rahman, 2013). Con una labor de expulsión normal (eutócica) y/o difícil y prolongada (distócica) se presentan complicaciones con una duración excesiva, que suele requerir asistencia médica (Schuenemann et al., 2011), y puede ser originado por causas fetales o maternas (Napolitano et al., 2020a) (p. ej. pelvis estrecha, torsión uterina o descenso en la dilatación cervical) (Mota-Rojas et al., 2019; Napolitano *et al.*, 2020c). En búfalos, el porcentaje de distocias oscila entre 1 y 2%, pero en algunas razas puede aumentar hasta 5.6 y 12.6% (González-Lozano et al., 2020). Este último tipo de parto suele ser sumamente estresante para la búfala, afectando tanto su producción, como su bienestar, por ello es importante conocer el proceso normal del parto y reconocer los cambios que indican una distocia o patología asociada. Además, resulta relevante reconocer el inicio del parto para asegurar el bienestar, tanto de la cría como de la madre (Deka et al., 2021), con el fin de salvaguardar la producción y capacidad reproductiva (Mota-Rojas, et al., 2020a,b,c; Napolitano et al., 2020a,b,c; Mota-Rojas et al., 2021c).

De igual manera, la productividad y salud de la madre pueden verse afectadas durante el ordeño, ya que un mal manejo por parte de los cuidadores, sumado al nerviosismo del animal, perturba la interacción humano-animal y puede provocar lesiones en extremidades y en ubre, menguando el bienestar de la búfala (Mota-Rojas *et al.*, 2020a,c). Así mismo, procesos como la mastitis, una enfermedad común en el ganado lechero, responde a factores traumáticos, tóxicos o infecciosos (Mota-Rojas *et al.*, 2019; Mota-Rojas, *et al.*, 2020a; Napolitano *et al.*, 2021). La falta de atención a esta enfermedad propicia un deterioro en la salud de la hembra, lo que puede conducir a una baja de productividad y a transcurrir en un proceso sistémico y, por tanto, a desecharla del hato en el primer caso y a su muerte en el segundo (Fagiolo y Lai, 2007). Por todo lo anterior, este artículo se generó con el objetivo de analizar los factores fisiológicos y conductuales dentro de la labor de parto, así como en la rutina del ordeño, con el fin de evaluar su impacto en el bienestar, producción y reproducción de los búfalos de agua.

### El bienestar de la búfala en las etapas y modalidades del parto

El control y la asistencia al parto resultan cruciales en el bienestar de la madre y la cría (Napolitano et~al., 2020a,b,c). Al ser un animal gregario, la búfala tiende a retirarse del grupo antes de presentarse el parto, bajo sitios seguros, alejada de otras hembras (Mota-Rojas et~al., 2020b), de este modo, en sistemas intensivos resultaría idóneo el alojamiento en corrales individuales días previos ( $12.5 \pm 2.5$  días) a presentarse el parto (Lanzoni et~al., 2021). En la labor de parto se conjuntan respuestas físicas, hormonales y conductuales (Titler et~al., 2015) en tres fases continuas: 1) dilatación del cuello uterino o cérvix y la ruptura del corioalantoides; 2) la cría comienza a ser visible en la vulva y es expulsada, y 3) eliminación de las membranas fetales (Mohammad y Abdel-Rahman, 2013; Mota-Rojas et~al., 2019). Previo a estas tres fases, es importante identificar las manifestaciones de la etapa preparto para brindar una oportuna asistencia durante el proceso. Éstas comprenden una serie de signos que constituyen un sistema de alerta para prever el momento del nacimiento y aplicar la asistencia oportuna (Streyl et~al., 2012; Napolitano et~al., 2018; Mota-Rojas et~al., 2019; González-Lozano et~al., 2020; Napolitano et~al., 2020c).

La comprensión de los comportamientos naturales específicos de la especie durante el parto permiten evaluar el bienestar en el proceso, dado que si el parto se prolonga o se complica se tratará de una distocia, la que, sin la asistencia oportuna, puede comprometer el bienestar de la búfala, su fertilidad, producción de leche, además del crecimiento y rendimiento futuro de la cría e, incluso, su supervivencia (Mota-Rojas *et al.*, 2020a,b; Crociati *et al.*, 2022; Mota-Rojas *et al.*, 2022). Esto se puede traducir en pérdidas económicas debido a fetos expulsados muertos por causas como la asfixia uterina y el síndrome de aspiración de meconio (Mota-Rojas *et al.*, 2020d; Mota-Rojas *et al.*, 2021c). Estos mortinatos pueden registrar una prevalencia de entre 13.9 y 34% en unidades de producción bufalina (Nasr, 2017; Martínez-Burnes *et al.*, 2020).

Entre los signos claves de preparto en la búfala se encuentran: el agrandamiento de la ubre (más notorio en primíparas), cuyo efecto es notorio durante los 2 a 3 días previos al parto, a través de la visualización de las venas mamarias tensas; edema de la vulva (se muestra muy flácida) durante las 24 a 36h antes del parto, y ocurrencia de diarreas acuosas que se resuelven después del parto (Das *et al.*, 2013; Napolitano *et al.*, 2020c). Además, la búfala comienza a mostrar inquietud que se intensifica en las últimas dos horas antes del nacimiento dado el aumento de la incomodidad (Barrier *et al.*, 2012), por lo cual es común que se incremente el número de veces en que la hembra se pone de pie y el tiempo para caminar (Huzzey *et al.*, 2005).

De igual forma, previo al proceso del parto, las búfalas presentan con frecuencia un comportamiento de aislamiento, es decir, se alejan de su manada en busca de sitios protegidos para el parto; con ello, también se favorece el vínculo entre la madre y la cría (De Rosa *et al.*, 2009; Mota-Rojas *et al.*, 2019; Napolitano *et al.*, 2020c). La interferencia de este proceso genera conductas de rechazo materno que se correlacionan negativamente con el crecimiento y supervivencia de la cría (Lanzoni *et al.*, 2021). Este vínculo también puede perturbarse por la falta de experiencia de las madres, en especial en hembras primíparas y en partos distócicos (Mota-Rojas, *et al.*, 2021d; Orihuela *et al.*, 2021).

En resumen, el parto es un evento crucial que puede comprometer el bienestar de la madre y de la cría (Napolitano *et al.*, 2020c). Por tanto, un monitoreo adecuado puede dar lugar a la asistencia durante las tres fases del parto que se mencionan a continuación. Las modificaciones que experimenta la búfala antes del nacimiento, incluyendo aspectos fisiológicos y de comportamiento, serán claves para identificar tanto el comienzo de éste, como para prevenir complicaciones y evolucione a distocia, tomando medidas oportunas para disminuir la incidencia de mortinatos en búfalos. Para mayores detalles consultar a Martínez-Burnes *et al.* (2020 y 2021).

#### Dilatación del cuello uterino

También denominada primera fase del parto, involucra la dilatación del cuello uterino, el inicio de las contracciones miometriales y el posicionamiento del feto para su posterior expulsión, es decir, el momento de preparación para iniciar el parto (Mainau y Manteca, 2011; Martínez-Burnes  $et\ al.$ , 2021). La duración de esta etapa en búfalas se reporta entre los  $35.25\pm1.08$  a  $128.3\pm14.10$  minutos (Dodamani  $et\ al.$ , 2010; Das  $et\ al.$ , 2013), siendo las primerizas las que suelen emplear mayor tiempo (Mohammad y Abdel-Rahman, 2013).

En rumiantes como la búfala, el inicio del parto ocurre tras la maduración fetal (Young et al., 2011), con un rango que varía entre los búfalos de pantano (320-340 días) y el búfalo de río (305-315 días) (Purohit, 2016 sólo hay 2010); dentro de este último grupo, la raza Murrah muestra 300-306 días en contraste a las Mediterráneo, con 311 a 315 días (Crudeli, 2011), y de los 310 a 315 días de gestación en raza Buffalypso (Rodríguez-González et al., 2022). El inicio del parto se detecta por la secreción de cortisol fetal, mismo que conduce a la síntesis de enzimas placentarias 17-hidroxilasa y 17-20 ligasa, las que son copartícipes de la conversión de progesterona en estrógenos; estos últimos tienen efecto sobre todo el sistema, lo que facilita la disponibilidad de la fosfolipasa

A (enzima ligada a membrana) y, en consecuencia, inicia la hidrólisis de los fosfolípidos con la posterior liberación de ácido araquidónico, contribuyendo en la síntesis de prostaglandina F2α (PGF2α), responsable de dar el paso l al parto. La PGF2α tiene tres efectos principales: en primera instancia, es la responsable de la liberación de Ca+ intracelular, que se une a las fibras de actina y miosina para inaugurar el proceso contráctil, asimismo, estimula la liberación de oxitocina del cuerpo lúteo y propicia la pérdida de colágeno, acompañada de un aumento de glucosaminoglicanos, alterando la agregación de las fibras de colágeno, además de iniciar la regresión del cuerpo lúteo (Young *et al.*, 2011; Autumn y Stabenfeldt, 2020).

Durante cada contracción, la búfala puede expresar signos conductuales como: levantar la cola, arquear la espalda y flexionar los corvejones, o bien, mostrar abultamiento en la base de la cola como consecuencia del relajamiento de los ligamentos pélvicos. De igual modo, es posible apreciar movimientos de cola de izquierda a derecha, cambios de postura (decúbito esternal y pararse de forma repetitiva) y mirada constante hacia el flanco derecho, todos estos considerados como signos de dolor (Das *et al.*, 2013; Mota-Rojas *et al.*, 2019; González-Lozano *et al.*, 2020).

Sin embargo, la aparición de estos síntomas también puede variar conforme al tipo de parto (eutócico o distócico) o el número de partos y experiencia materna. Con base en un estudio realizado por Mohammad y Abdel-Rahman (2013) en búfalas, se develó que el número de vocalizaciones es predominante en novillas (P<0,05), independientemente del tipo de parto; sin embargo, ante procesos distócicos, las búfalas tendieron a presentar, en mayor porcentaje, comportamientos como: patadas con los miembros delanteros, mirar hacia los flancos o arquear la espalda, en contraste a las búfalas con eutocia (P<0,01), resaltando de este modo, la importancia de la observación de este tipo de comportamientos ante la posibilidad de presentarse alguna dificultad durante esta primera etapa del parto (Napolitano et al., 2018). Por su parte, Deka et al. (2021) encontraron que 100% de las búfalas de pantano manifestó disminución en el consumo de alimento y agua, presencia de secreción vaginal, nerviosismo, cambios concurrentes de postura (decúbito-ponerse de pie), levantamientos de cola, arqueamiento de espalda y esfuerzo abdominal con micciones frecuentes durante la primera etapa del parto, todo ello como cambios de conducta asociados a una etapa que precede a la expulsión fetal.

# Expulsión del feto

La segunda etapa del parto, también llamada fase de expulsión, se caracteriza por la presencia de contracciones abdominales y la ruptura del saco alantocorioideo que desembocan en la expulsión del feto (Mainau y Manteca, 2011; Das *et al.*, 2013; González-Lozano *et al.*, 2020; Martínez-Burnes *et al.*, 2021; Rodríguez-González *et al.*, 2022). La duración de esta etapa en búfalas oscila entre los 30 y 60 minutos (Jainudeen y Hafez, 2000); sin embargo, la duración mínima y máxima se ha calculado en  $8.9 \pm 0.80$  y  $43.6 \pm 5.25$  minutos, respectivamente (Das *et al.*, 2013). Durante esta etapa la dilatación máxima del cuello uterino se alcanza mediante contracciones uterinas, donde la oxitocina resulta protagónica (Purohit, 2010; Mainau y Manteca, 2011). En primera instancia, los estrógenos contribuyen en la formación de receptores de oxitocina en el miometrio, la cual tiende a liberarse en grandes cantidades a causa de la entrada del feto al canal de parto, de modo que, al contacto de los miembros anteriores del feto con la pelvis, provocan estímulos reflejos y su consecuente liberación de oxitocina (reflejo de Ferguson) (Purohit, 2010; Autumn y Stabenfeldt, 2020).

La unión de la oxitocina con sus receptores provoca la contracción del músculo liso y la motilidad uterina, lo que promueve aún más la dilatación del cuello uterino (Purohit, 2010; Chouksey *et al.*, 2022). Asimismo, la relaxina induce la dilatación cervical al relajar el ligamento interpubiano y los músculos asociados que rodean el canal pélvico, provocando que el feto pueda expandirlo a su máxima capacidad de dilatación (Autumn y Stabenfeldt, 2020; Chouksey *et al.*, 2022). Una vez que el feto es expuesto al ambiente extrauterino, la madre continúa con la tercera fase del proceso de parto, mientras que el neonato comienza un proceso de termorregulación con el fin de disminuir la cantidad de calor que se disipa por el pelaje húmedo de líquido amniótico y por su baja capacidad de termogénesis, lo cual influye en las temperaturas superficiales que se pueden evaluar mediante la termografía infrarroja (Mota-Rojas *et al.*, 2022), como se describen en la Figura 1.

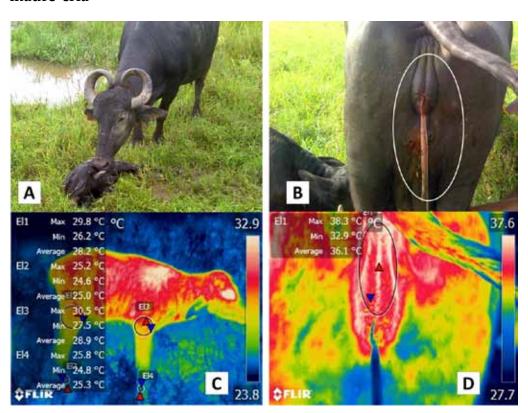


Figura 1. El parto de la búfala de agua, su termoestabilidad y el vínculo madre-cría

A. Búfala de agua estableciendo el vínculo con su becerro recién nacido. La formación del lazo madre-cría se lleva a cabo mediante estímulos visuales, olfatorios, táctiles y auditivos. B. Búfala de agua recién parida; se observa la vulva turgente y edematosa con restos de membranas placentarias sanguinolentas.

C. Imagen radiométrica de un becerro de búfalo de agua recién nacido. En esta imagen se destaca el proceso de hipotermia presente en miembro pelviano (El1 y El2) con temperaturas promedio de 26.6°C, que son similares a la registrada en miembro torácico (El3 y El4), con un promedio de 27.1°C. Este efecto se atribuye a la vasoconstricción periférica presente en las extremidades, con el fin de redirigir el flujo sanguíneo a órganos centrales y prevenir una disminución significativa de la temperatura corporal.

D. Termograma de la región vulvar después de la expulsión del feto. La región vulvar (El1) muestra una temperatura máxima, mínima y promedio de 38.3, 32.9 y 36.1°C, respectivamente. La temperatura máxima indica un aumento de temperatura en dicha área a causa de las continuas contracciones a favor de la expulsión de las membranas fetales.

Para mayor información consulte a Mota-Rojas et al. (2022).

# Expulsión de las membranas fetales

Consumado el nacimiento de la cría, comienza la tercera y última etapa del parto, que consiste en la expulsión de la placenta para entablar la involución uterina (Mota-Rojas *et al.*, 2019; Mota-Rojas, *et al.*, 2020a). Se ha estimado que la expulsión placentaria suele ser en las primeras 0.5 a 8 horas post parto, tanto en búfalas como en vacas (González-Lozano *et al.*, 2020), pero si este proceso no ocurre dentro de las primeras 12 horas o se extiende más allá de 24h después del parto, la búfala estaría reteniendo las membranas fetales (RFM), la cual tiene una incidencia de 22.8% en búfalas en comparación con 19.44% en vacas lecheras (Fourichon *et al.*, 2000; González-Lozano *et al.*, 2020; Eppe *et al.*, 2021).

La información sobre el mecanismo de retención de la placenta en búfalas, así como sus posibles consecuencias es limitada; sin embargo, se puede asumir que es similar a otros bovinos (González-Lozano *et al.*, 2020), además de presentar características morfológicas similares en su placenta (Schmidt *et al.*, 2006; Morini *et al.*, 2008). Los bovinos presentan placentas cotiledonarias, en donde los cotiledones fetales se unen a las carúnculas maternas gracias a sus vellosidades, formando estructuras especializadas llamados placentomas (Patel y Parmar, 2016), los que permiten el anclaje de la placenta, así como el intercambio de sustancias entre la madre y el feto (Schmidt *et al.*, 2006; Napolitano *et al.*, 2020c).

La retención primaria de las membranas fetales se explica porque el desprendimiento de las carúnculas maternas no se lleva a cabo, en comparación con la retención secundaria, la cual se asocia con la dificultad mecánica para expulsar las membranas fetales que ya han sido desprendidas, debido a distocias o atonía uterina por algún traumatismo (Patel y Parmar, 2016). El desprendimiento de los componentes placentarios depende de respuestas fisiológicas y endocrinas (Attupuram et al., 2016) que comprenden la pérdida de adherencia entre los epitelios maternos y fetales (Kamemori *et al.*, 2011), esto debido a una disminución en la concentración de colágeno en la carúncula por la acción de la relaxina secretada en respuesta de la lisis del cuerpo lúteo (Patel y Parmar, 2016) que, en conjunto con las contracciones miometriales, provocan alteraciones en las vellosidades de los cotiledones, facilitando la expulsión placentaria (González-Lozano et al., 2020) (Figura 2). Lo anterior es el resultado de una serie de procesos que inician con la suspensión de la circulación feto-placentaria, propiciando que las vellosidades del placentoma disminuyan (Patel y Parmar, 2016), lo cual, a su vez, induce una reducción del tamaño y cantidad de las células epiteliales maternas, produciendo una "maduración placentaria" que aumenta la apoptosis en los trofoblastos del endotelio materno, culminando en la lisis de la matriz extracelular que mantiene asociados los epitelios maternos y fetales (Figura 2) (Benedictus et al., 2015; González-Lozano et al., 2020; Napolitano *et al.*, 2020c).

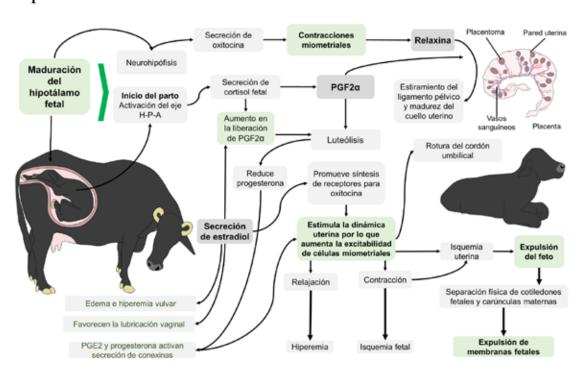


Figura 2. Mecanismos fisiológicos y endocrinos involucrados en la tercera etapa del parto

La imagen ilustra los cambios fisiológicos y morfológicos que inducen el parto, además de su rol en la separación y expulsión de las membranas fetales.

H-P-A: Eje Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal.

Prostaglandina (PG).

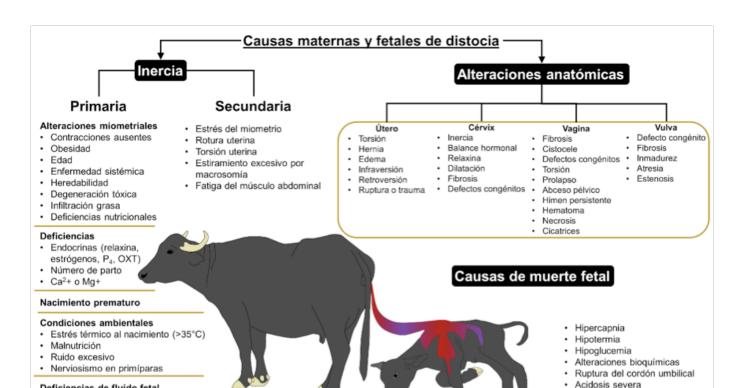
Prostaglandina F2α (PGF2α) necesaria para la luteólisis, la pérdida de colágeno y la liberación de Ca+ celular, facilitando las contracciones del miometrio y la regresión del cuerpo lúteo. Prostaglandina E2 (PGE2).

Se ha previsto que algunos eventos como el aborto, partos forzados o prematuros, gestación tardía, atonía uterina, así como deficiencias nutricionales (Patel y Parmar, 2016) y la respuesta inmune materno-fetal puedan estar implicados en la RFM. Esta última puede deberse a que los fetos expresan anticuerpos paternos, que son semi alogénicos para el sistema inmune de la madre, el cual regula su respuesta para evitar un rechazo inmuno-lógico fetal. Sin embargo, durante el parto puede ser de vital importancia, ya que ayuda en la pérdida de la adherencia materno-fetal en la placenta, por lo que una inmunosupre-sión puede propiciar el desarrollo de la RFM (Benedictus *et al.*, 2015; Patel y Parmar, 2016).

De igual forma RFM en las búfalas es una de las principales complicaciones postparto que predispone al desarrollo de endometritis severa, piometra, ovaritis, parametritis, cistitis, peritonitis, prolapsos vaginales, disminución en la producción láctea y fertilidad, así como un aumento del período entre partos, lo cual preocupa a los productores, ya que se requiere atención médica, tratamientos costosos (Gohar *et al.*, 2018; Indurkar *et al.*, 2019; Mota-Rojas *et al.*, 2019), y una reducción del rendimiento reproductivo, ya que la tasa de concepción después de presentar RFM es entre 4 y 10% inferior a una búfala sin estos antecedentes (Gohar *et al.*, 2018). Por tanto, las afectaciones a la salud del hato, la producción láctea y la eficiencia reproductiva repercuten en una disminución de los ingresos del productor y están íntimamente ligadas a distocias (Kamemori *et al.*, 2011; Dhami *et al.*, 2012; Kalasariya *et al.*, 2017; Mota-Rojas *et al.*, 2020c).

#### **Distocia**

Una distocia es aquella que se complica y alarga y, por lo general, requiere intervención quirúrgica, aunque en búfalos de agua no siempre se puede llevar a cabo debido a la falta de un médico veterinario en la finca (González-Lozano *et al.*, 2020; Mota-Rojas *et al.*, 2020c). Aproximadamente 23% de los casos de distocia por torsión uterina requiere cirugía y otro 84% tiende a corregirse con asistencia médica de forma manual vía vaginal (Zaborski *et al.*, 2009). Aún no se asume alguna clasificación en común para determinar la dificultad del parto, sin embargo, existen algunos parámetros que coadyuvan en su determinación por medio de puntuaciones o de características específicas que se aprecian durante un caso distócico (Zaborski *et al.*, 2009; Mota-Rojas *et al.*, 2019; Napolitano *et al.*, 2020c; Mota-Rojas *et al.*, 2020c) (Figura 3).



Tinción e meconio grado severo

Calificación de vitalidad baja

Figura 3. Causas maternas y fetales de distocia

Deficiencias de fluído fetal

Infecciones uterinas

Dematawewa y Berger (1998) determinaron el efecto de la distocia en los rendimientos de leche y el contenido de grasa y proteína, número de servicios y las pérdidas en vacas Holstein para estimar la pérdida económica asociada con la distocia y, de ello, resultó un sistema de puntuación de distocia. Este último se fundamentó en el grado de dificultad, con un puntaje máximo de 5, en donde: 1) no existe ningún problema 2) requiere asistencia leve, 3) asistencia necesaria, 4) se necesita una fuerza considerable y 5) dificultad extrema. Por otro lado, Hansen et al. (2004) llevaron a cabo inferencias sobre las heredabilidades maternas y directas de la duración de la gestación, la mortinatalidad, dificultad de parto y tamaño de la cría en el primer parto, examinando la asociación genética en vacas Holstein, de esto surgió una calificación de cuatro puntos para la dificultad del parto: 1) fácil, 2) Fácil con asistencia, 3) Difícil, pero sin asistencia veterinaria y 4) Difícil con asistencia veterinaria.

Los procesos de distocia representan cuantiosas pérdidas económicas en hatos de búfalas, por la mortalidad de neonatos, reducción de producción de leche, sacrificios, enfermedades y gastos veterinarios, entre otros (Zaborski *et al.*, 2009). En búfalas y neonatos es esencial observar su comportamiento durante el parto para diagnosticar si están atravesando por un proceso de distocia. Por ejemplo, las hembras pueden permanecer inmóviles, golpear el suelo con alguna extremidad, mirar su abdomen o encorvar su espalda, comportamientos que no se han detectado en alumbramientos eutócicos (Derar y Abdel-Rahman, 2012), y cuya manifestación depende de los factores maternos o fetales que pueden desencadenar una distocia.

#### Causas maternas

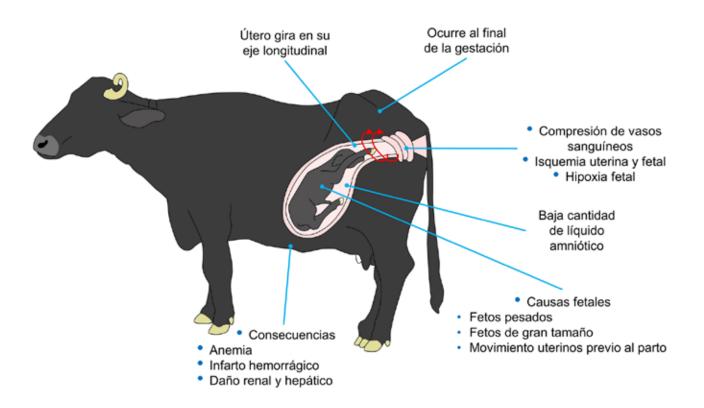
En los búfalos se observa una mayor cantidad de distocias por las causas mencionadas. Los problemas reproductivos en búfalas al momento del parto se relacionan principalmente con la torsión uterina o su desplazamiento ventral, anomalías pélvicas, estenosis, neoplasias vaginales/vulvares, cistocele vaginal, inadecuada dilatación del cérvix, edad, genética, hormonal y mal manejo, principalmente. Las causas de distocia surgen generalmente por una constricción/obstrucción o una disminución de la fuerza durante las diferentes etapas del parto (Mee, 2013; Mota-Rojas *et al.*, 2019; González-Lozano *et al.*, 2020), como se describe a continuación.

Entre las anomalías, las proporciones pélvicas pequeñas en relación con el tamaño del neonato representan una de las causas de distocia en búfalas, junto a las deformidades pélvicas, exostosis, hipoplasia en vulva o vagina, luxaciones o desplazamiento del sacro (Uematsu *et al.*, 2013). Por otro lado, las neoplasias en cuello uterino y vagina de búfalas suelen identificarse después del parto cuando sucede el prolapso, e incluyen carcinomas, adenomas, lipomas, fibromas o pólipos (Kumar y Singh, 1984). El cistocele vaginal es la protrusión de la vejiga urinaria sobre la vagina, debido a la distensión del piso pélvico que provoca distocia materna. De esta manera la vejiga obstruye el canal del parto y deriva en una distocia (Jeengar *et al.*, 2015).

La dilatación del cuello uterino es esencial para la cavidad del feto a través del canal de parto. Para ello, las hormonas juegan un papel fundamental para el ablandamiento de las fibras y la fuerza uterina contráctil, las cuales favorecen una dilatación eficaz del cuello uterino. A pesar de que este factor no es comúnmente reportado en búfalas, cuando la dilatación del canal de parto es incompleta se puede generar una distocia (Das *et al.*, 2013; Martínez-Burnes *et al.*, 2021).

La torsión del útero puede ocurrir en un cuerno uterino gestante y es sobre su propio eje longitudinal, provocando la constricción de la vasculatura. La torsión uterina es la principal causa de distocia en búfalas debido a las características de su útero, que facilita la entrada de bacterias y puede inducir la muerte fetal, catalogada como una emergencia médica (Figura 4) (Khan *et al.*, 2009; Mota-Rojas *et al.*, 2020c; Martínez-Burnes *et al.*, 2021).

Figura 4. Torsión uterina en búfalos de agua: causas y consecuencias



Una de las principales causas maternas de distocia es la torsión uterina, que se suele presentar en las etapas finales de la gestación, como resultado de un giro del útero sobre su eje longitudinal. Esta rotación compromete la circulación sanguínea hacia el útero y la cría, complicando tanto a la madre como al feto/neonato. En el desplazamiento ventral del útero, la disminución de fuerzas expulsoras uterinas es otra de las causas de distocia, ya que se obstruye la expulsión del feto, quedando atrapado en el canal de parto, por las insuficientes contracciones para evacuarlo (Noakes *et al.*, 2009).

#### Causas fetales

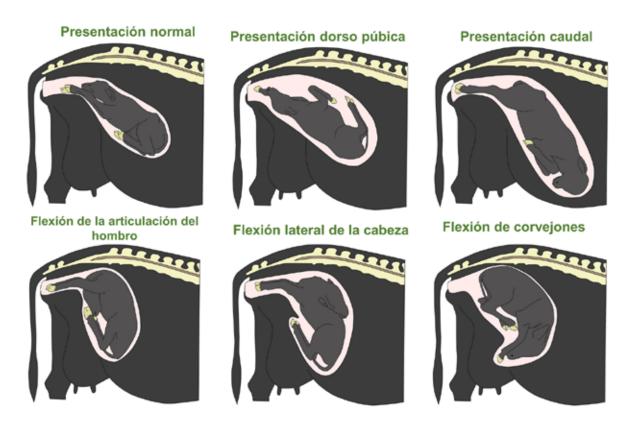
Las complicaciones durante el parto pueden generar crías con menor vigor y, como consecuencia de un parto prolongado, los cuidados maternos pueden reducirse debido al dolor y el agotamiento (Barrier *et al.*, 2013).

Las búfalas muestran una baja predisposición a los partos distócicos debido a sus características anatómicas, como la estructura genital y pélvica que favorecen la dilatación (Rodríguez-González *et al.*, 2022). No obstante, existen condiciones propias del feto que pueden complicar el parto, una de ellas asociada al elevado peso al nacimiento, respecto al tamaño de la madre (Lombard *et al.*, 2007). Sobre esta relación se ha demostrado que las búfalas que paren terneros machos tienden a presentar una mayor incidencia de este tipo de trastornos durante el parto (Rabbani *et al.*, 2010).

Dado que las búfalas tienen un período de gestación más largo que las vacas, aproximadamente de 10 y 9 meses, respectivamente, se pronostica un mayor peso del bucerro al nacimiento (Fraga *et al.*, 2004). Aunado a ello, el sexo, periodo de gestación, y enfermedades congénitas alteran el tamaño del feto y, aunque no son comunes, existen estudios de casos en búfalos con hidrocefalia, los que han requerido una dilatación intencional y tracción por el gran tamaño del feto que obstaculiza el canal de parto (Ahuja *et al.*, 2017).

Como se ha mencionado, la deficiente posición del feto durante la labor de parto es un factor que detona las distocias (Figura 5). En este sentido, estudios en terneros, realizados por Holland et al. (1993), revelaron que en 96% de los nacimientos las presentaciones fueron normales y 4% con anomalías. Estos estudios también establecieron que la gran mayoría de las malas presentaciones fueron en posición dorsal posterior (72.8%), seguidas de una posición de flexión unilateral del carpo o del hombro (11.4%), presentación caudal (8.2%), flexión lateral de la cabeza (2.5%), flexión de corvejones (1.9%), ventral posterior y transversa (1.3%), y ventro-vertical oblicua (0.6%). Esta clase de complicaciones comprometen el bienestar de la cría como de la madre y suelen demandar una intervención mediante la tracción o, en casos extremos, la intervención quirúrgica (Abdullah *et al.*, 2014).

Figura 5. Posiciones anormales del feto que causan distocia en las búfalas



La ilustración representa las posiciones inadecuadas del feto que se pueden detectar durante el parto de búfalas y que complican la expulsión de la cría. Se contrasta con una presentación normal. Para mayores detalles consulte la tercera edición del libro de Bienestar del búfalo de agua en las Américas de Napolitano *et al*. (2020).La distocia en búfalas motiva la aplicación de prácticas que promuevan la correcta asistencia, monitoreo e intervención del parto que serán fundamentales para mantener el bienestar de la búfala y la cría, con el propósito de disminuir el número de mortinatos y mejorar la eficiencia animal.

# Ordeño, comportamiento y bienestar de la búfala

Un elemento fundamental en la vida productiva de la búfala lechera es la eficiencia en la ordeña, inherente al proceso de lactación, el cual oscila de 240 a 270 días (Bertoni *et al.*, 2020a; Napolitano *et al.*, 2020b; Vázquez-Luna *et al.*, 2020; Rodríguez-González *et al.*, 2022). Los niveles de productividad por lactancia también se relacionan con factores genéticos,

número de lactancia, salud de la ubre y el grado de bienestar alcanzado durante el día y durante la ordeña (Patbandha *et al.*, 2015; Gabr *et al.*, 2017; Rahman *et al.*, 2019).

La ordeña influye en el rendimiento lechero y se han observado prácticas inadecuadas del personal, como gritos, golpes y forcejeo (Bertoni, et al., 2020b; González-Lozano et al., 2020; Mota-Rojas, et al., 2020d), u otros factores como el deficiente mantenimiento de las ordeñadoras o un vacío incorrecto de las mismas (Rosa et al., 2007; De Rosa et al., 2009), elementos que merman el desempeño productivo y predisponen hacia comportamientos negativos o nerviosismo, los que pueden derivar en lesiones en extremidades y ubre al intentar patear al manejador o escapar (Mota-Rojas et al., 2020a). Por ello, es trascendente planear el proceso de ordeño con el objetivo de precisar las acciones, prácticas o procedimientos que propicien un ambiente positivo para las hembras y, por ende, la bajada de leche.

En el ordeño, las búfalas presentan una alta sensibilidad a estímulos externos que generan la síntesis y secreción de adrenalina al torrente sanguíneo, induciendo vaso-constricción en glándula mamaría (GM) a nivel de capilares y vasos sanguíneos, limitando el aporte de oxitocina, neuropéptido necesario en la eyección activa de la leche (Di Palo *et al.*, 2007; Espinosa *et al.*, 2011; Napolitano *et al.*, 2020b), además de inhibir la contracción de las células mioepiteliales presentes en los alvéolos. Entre estos estímulos destaca el ruido excesivo de las máquinas de ordeño, que les generan incomodidad y retención de la leche (Polikarpus *et al.*, 2014), por ello es relevante la habituación previa al ingreso a la sala de ordeño y el establecimiento de rutinas para evitar neofobia en las búfalas, además de proveer un manejo amable para suscitar efectos positivos, productivos y fisiológicos (Ellingsen *et al.*, 2014).

Ante cambios en la rutina de ordeño, se ocasionan estados de alerta e incomodidad que afectan la producción durante la lactancia (Thomas *et al.*, 2004). Se ha informado que de acuerdo a la fisiología y anatomía de la búfala, la extracción de la mayor cantidad de leche (alveolar) se presenta después de la liberación de oxitocina en torrente sanguíneo, de ahí la importancia de una estimulación previa para lograr una eyección activa (Faraz *et al.*, 2021).

Los estímulos antes mencionados dependen del tipo de ordeña. En el ordeno manual es común observar la presencia del bucerro a un costado de la hembra, el cual incentiva la secreción y liberación de oxitocina en la madre (Espinosa *et al.*, 2011). Por el contrario, en el procedimiento mecánico se dificulta el apoyo de la cría y se realiza el lavado manual y movimientos moderados por parte del manejador sobre la ubre para estimular la bajada de la leche (Bidarimath y Aggarwal, 2007). Esta práctica también es común en el ordeño manual.

Otras actividades que favorecen el bienestar en la búfala son el orden durante la ordeña, en el cual los animales presentan una disposición constante a la sala (Flower *et al.*, 2006; Melin *et al.*, 2006). Esta actividad puede estar influenciada por factores jerárquicos, de salud o productivos (Polikarpus, 2013; Polikarpus *et al.*, 2014). En las búfalas se han detectado preferencias respecto al sitio de ordeño en la sala (Polikarpus, 2013; Napolitano *et al.*, 2020b), debido a que se habitúan a espacios específicos y cuando éstos son modificados o no se respetan patrones de procedimiento pueden causar estrés (Mota-Rojas *et al.*, 2020b).

En sistemas de producción intensivos, con ordeños mecánicos, el estrés por separación madre-cría, la entrada a un ambiente nuevo y la interacción con humanos, especialmente cuando desconocen estas rutinas antes del primer parto y lactancia, son factores que alteran a los animales durante el proceso (De Rosa *et al.*, 2009).

Se ha reportado que en unidades de producción lechera especializadas se utiliza más de 50% del tiempo de trabajo en el proceso de ordeño, buscando la optimización de ocupaciones, aumentando la capacidad de ordeño para reducir costos mediante la selección de animales con las mejores cualidades para el mantenimiento del hato (Boselli *et al.*, 2016, 2020). En este sentido, Prasad y Laxmi (2004) recomendaron la selección de búfalas con temperamento dócil para facilitar el manejo y reducir los niveles de ansiedad, ya que los animales agresivos suelen retener leche, disminuyendo la capacidad de ordeño y aumentando el tiempo dedicado a esta actividad.

Para establecer rutinas y un ordeño ordenado que no produzca ansiedad o estrés en las búfalas, también se ha sugerido el uso de oxitocina exógena. Aunque se tienen controversias a lo largo de los años con esta práctica, resulta común bajo el argumento de que de otra forma no habría una bajada de leche activa y correcta (Olmos-Hernández et al., 2020; Bertoni et al., 2022a,b; Rodríguez-González et al., 2022). En contraste, algunos estudios han reportado efectos negativos a corto y largo plazo, en ellos se señala al desempeño reproductivo como una de las áreas más afectadas. En este sentido, se ha encontrado que el uso a largo plazo de oxitocina exógena reduce la eyección espontánea de leche en cuanto se deja de administrar (Faraz et al., 2020).

Faraz *et al.* (2021) compararon la productividad y contenido nutricional de leche de búfalas, con y sin tratamiento de oxitocina intramuscular previo a la ordeña, y encontraron que el grupo con dicha administración presentó tasas de producción de leche significativamente más altas (P<0.05), demostrando que la oxitocina exógena impulsa la bajada de leche residual y contribuye a prevenir enfermedades en glándula mamaria. Del mismo modo, Lollivier *et al.* (2002) detectaron una asociación positiva, con un aumento de 8% de producción láctea. Aun con estos resultados, se han registrado conse-

cuencias negativas respecto a esta aplicación frecuente a largo plazo, como la reducción de la secreción de oxitocina endógena y su respuesta en glándula mamaria, con lo que se disminuye la eyección láctea cuando ésta es retirada, debido a la pérdida de sensibilidad de la glándula mamaria ante la unión de receptores, además de una reducción en la contractibilidad de las células mioepiteliales bajo niveles normales de oxitocina. Por ello, diversos autores la catalogan como una práctica perjudicial en el largo plazo (Lollivier *et al.*, 2002; Bertoni *et al.*, 2020a; Faraz *et al.*, 2020, 2021; Napolitano *et al.*, 2020b; Ozenc *et al.*, 2020; Ahmad, 2021; Murtaza *et al.*, 2021).

# Anatomía y fisiología de la glándula mamaria

Es imperante el conocimiento de la anatomía y fisiología de la GM para implementar prácticas que aseguren el bienestar durante el ordeño de la búfala. En este sentido, la GM es descrita de acuerdo a la especie animal con base en criterios como tamaño, forma y localización, reconociendo que se trata de una estructura anatómica especializada responsable de sintetizar y secretar leche (Jena *et al.*, 2015), además de que atraviesa por diversos cambios durante la vida de la hembra, desde su nacimiento, como una estructura ductal rudimentaria, hasta su desarrollo posterior durante la gestación, lactancia e involución (Borghese *et al.*, 2007).

La ubre de la búfala de agua se encuentra topográficamente en la zona inguinal y presenta dos surcos (*Sulcus intermammarius*), uno longitudinal y otro transversal, adherida al abdomen y sostenida por un ligamento suspensorio (*Ligamentum suspensorium uberis*) en su posición fisiológica (Tătaru *et al.*, 2022). Este órgano se encuentra constituido por cuatro complejos mamarios comúnmente llamados cuartos, formado cada uno por un cuerpo glandular y un pezón, dos craneales y dos caudales, estos últimos los más desarrollados, responsables de producir más de 50% de la leche secretada (Olmos-Hernández *et al.*, 2020), además de ser 1.5 cm más grandes que los craneales; la GM tiene una apariencia cónica que finaliza ventralmente con una tetilla (Tătaru *et al.*, 2022).

Las estructuras previamente descritas responden a estímulos físicos y hormonales para su correcta funcionalidad y productividad durante el ordeño (Borghese *et al.*, 2007). Se compone de diversas células epiteliales, adipocitos, fibroblastos y células inmunitarias para la producción láctea (Macias y Hinck, 2012), además de vasos sanguíneos, linfáticos y plexos nerviosos (Tătaru *et al.*, 2022), mismos que pueden experimentar cambios conforme a la edad de la hembra, el número de lactancias y factores genéticos (Rodríguez-González *et al.*, 2022). Desde esta perspectiva, Tătaru *et al.* (2022) realizaron

cortes histológicos que develaron la presencia de tejido conectivo interalveolar más denso y rico en fibras de colágeno y capilares sanguíneos en la estructura del parénquima mamario durante la lactancia, debido a la mayor necesidad de suministro sanguíneo durante la síntesis láctea.

La formación de leche, conocido como lactogénesis, es un proceso realizado en GM, es así como se considera una glándula exocrina y sebácea que sintetiza, almacena y secreta leche en los alvéolos durante la lactancia. Ante estímulos hormonales o físicos, como el amamantamiento de la cría o por el ordeño a través del pezón que presenta pliegues longitudinales que forman la roseta de Fürstenberg, la leche es movilizada al sistema ductal para su eyección (Weaver y Hernandez, 2016; Cardiff *et al.*, 2018).

De la proporción láctea encontrada en las diferentes estructuras de la GM, 5% se almacena en la porción cisternal de la ubre, mientras que 95% restante se anida en el compartimiento alveolar (Thomas *et al.*, 2004; Borghese *et al.*, 2007; Espinosa *et al.*, 2011; Mora-Medina *et al.*, 2018; Olmos-Hernández *et al.*, 2020; Tătaru *et al.*, 2022). Por tanto, es necesaria la eyección activa para extraer la leche presente en la fracción alveolar y, así, evitar pérdidas por una inadecuada rutina de ordeño y una mayor susceptibilidad a infecciones en GM (Olmos-Hernández *et al.*, 2020).

Se ha mostrado, además, que las búfalas cuentan con pezones de mayor longitud que las vacas lecheras, con un esfínter más estrecho, una capa muscular más gruesa, mayor relación de vasos sanguíneos y fibras nerviosas que brindan una mayor protección ante la entrada de microorganismos infecciosos, a lo que se suma la oclusión presente en el pezón, generada por un mayor nivel de queratina, aspecto que minimiza las incidencias de enfermedades de importancia económica (Bertoni *et al.*, 2020c sólo hay a y b) que pudieran dar paso a la mastitis en esta especie (Borghese *et al.*, 2007, 2013).

La GM responde a cambios hormonales asociados a la luteinización y ovulación con el aumento de la actividad mitótica y con la intervención de hormonas en la regulación de mamogénesis, lactogénesis y galactopoyesis (Cardiff *et al.*, 2018). Sobresale la hormona del crecimiento secretada por la glándula pituitaria, que es un regulador clave en el desarrollo de la GM. Por otra parte, los estrógenos, reguladores críticos de la mama puberal durante la morfogénesis ductal, contribuyen a la liberación de prolactina, siendo esta última la hormona luteotrópica sintetizada y liberada en adenohipófisis, la cual promueve la diferenciación de estructuras especializadas como los alveolos que sintetizan y secretan leche durante la lactancia. A su vez, la progesterona se asocia al desarrollo de la ramificación lateral y alveologénesis, procesos requeridos para la formación de una GM funcional durante la lactancia (Macias y Hinck, 2012; Weaver y Hernandez, 2016; Cardiff *et al.*, 2018).

El tejido alveolar alberga a los lactocitos y es el encargado de secretar la leche. Estas estructuras están encapsuladas por tejido conectivo que forma los lobulillos mamarios (*Lobuli glandulae mammariae*), que a su vez conforman a los lóbulos mamarios (*Lobi glandular mammariae*) (Macias y Hinck, 2012), a través de los cuales se vierte la leche por ductos intralobulillares o galactóforos hacia conductos lactíferos para ser eyectada al exterior mediante diversos estímulos (Espinosa *et al.*, 2011). Esta configuración está rodeada de células mioepiteliales y un sistema capilar (Mota-Rojas *et al.*, 2021b) que desemboca en una red profunda alrededor de los ácinos y los conductos excretores que convergen en la base de la ubre (Tătaru *et al.*, 2022).

La eyección de la leche es producida por la acción del neuropéptido oxitocina ante estímulos táctiles del ordeñador, la máquina de ordeño y la presencia y acción del bucerro, reflejo con el cual se libera oxitocina, que precede a la expulsión de leche (Olmos-Hernández et al., 2020). Este importante neuropéptido es el responsable de desencadenar la contracción de las células mioepiteliales para la expulsión de la leche alveolar hacia el área cisternal. Por tanto, es necesaria la liberación de oxitocina durante el proceso de ordeño para la correcta y completa eliminación de leche (Espinosa et al., 2011; Napolitano et al., 2020a; Olmos-Hernández et al., 2020), requisito previo para el mantenimiento de un alto nivel de síntesis de leche y secreción durante la lactancia. Además, es relevante para que la leche no permanezca en la ubre, ya que eleva el riesgo de generar una infección mamaria al retener leche residual como sustrato para el crecimiento de microorganismos en la glándula. Por lo mismo, es necesario propiciar la eyección mediante un reflejo neuroendocrino facilitado por estímulos en fibras nerviosas aferentes a las raíces dorsales de la médula espinal, lo que inicia las respuestas hormonales con la participación activa de cortisol y prolactina (Bruckmaier y Wellnitz, 2008).

Esta hormona neurohipofisaria nonapeptídica es sintetizada en las células neurosecretoras magnocelulares de las regiones supraópticas y núcleos hipotalámicos paraventriculares para ser almacenada en el lóbulo pituitario posterior hasta su liberación al torrente sanguíneo como resultado de un reflejo neuroendocrino (Cosenza *et al.*, 2007). En vacas lecheras se ha reportado que el estímulo de colocar las pezoneras para el ordeño origina el aumento de las concentraciones plasmáticas de oxitocina, llegando a su máximo en los siguientes dos minutos, para disminuir lentamente hasta su nivel basal, generalmente 15 minutos después (Lollivier *et al.*, 2002).

Al ser liberada la oxitocina al torrente sanguíneo, llega a los receptores de membrana específicos en las células mioepiteliales en glándula mamaria, mismas que se encuentran rodeando alvéolos y los conductos presentes en ellos, generando la contracción de estas células y minimizando la luz alveolar. Así se induce la expulsión de la leche a los conductos galactóforos hacia el área cisternal y los conductos presentes en el pezón para su posterior eyección por el canal excretor (Figura 6) (Bruckmaier y Wellnitz, 2008).

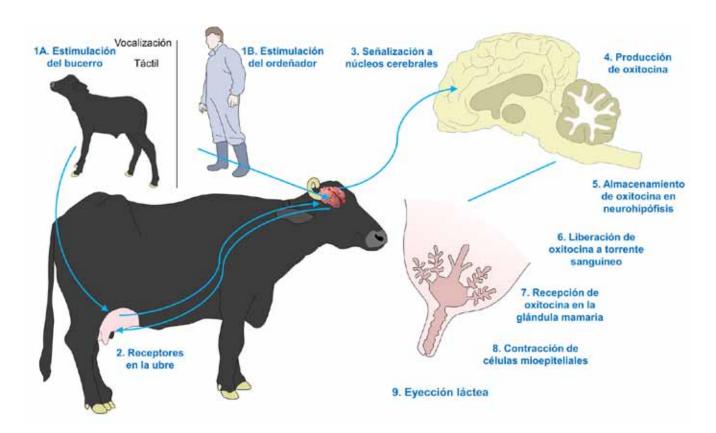


Figura 6. Neurofisiología de la eyección láctea

Cuando la leche es eyectada del área alveolar se genera mayor presión en la cisterna de la ubre, aun con ello, y por las características de la búfala, no toda la leche alveolar puede ser desalojada si no es extraída simultáneamente de la glándula mamaria. Por ello, debe ser considerada la capacidad de ordeño y las diversas estrategias como el brindar un entorno confortable, una correcta estimulación y favorecer una conducta positiva en la búfala durante el ordeño para así aumentar la secreción de oxitocina endógena (Faraz *et al.*, 2021) y, con ello, el máximo vaciamiento posible de la cisterna a fin de inhibir la posible incidencia de patologías como la mastitis.

# Prevalencia y factores de riesgo de mastitis

La mastitis es una patología común en unidades lecheras de rumiantes y se asocia a las prácticas de ordeño detalladas con anterioridad (De Rosa *et al.*, 2009). Se trata de un proceso inflamatorio de la GM, resultado de la colonización de microorganismos de origen bacteriano (Oviedo-Boyso *et al.*, 2007). En las búfalas, los patógenos contagiosos que más se han reportado en las mastitis son *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* (El-Khodery y Osman, 2008), responsables de la mastitis aguda y autolimitante que provoca alteraciones en el tejido mamario y en las características organolépticas de la leche (Burvenich *et al.*, 2003). En el caso de mastitis ambientales, microorganismos como *S. uberi* y *Escherichia coli* son los más comunes (El-Khodery y Osman, 2008). Otros patógenos se asocian con coliformes (*Klebsiella pneumoniae*), enterobacterias, *Arcanobacter piogenes* (Fagiolo y Lai, 2007), hongos y levaduras (Petzl *et al.*, 2008).

Existen dos presentaciones de la mastitis: clínica y subclínica (Burvenich *et al.*, 2003). La primera se diagnostica mediante cambios visibles en la leche o la ubre (Sharma y Sindhu, 2007), por ejemplo, coágulos en la leche o inflamación de la GM (Seegers *et al.*, 2003). La subclínica no denota signos clínicos aparentes y en las búfalas es tres veces más común diagnosticarla, con una prevalencia de hasta 81.6% en países líderes en el ganado bufalino, como Bangladesh (Sharun *et al.*, 2021).

La importancia de evaluar esta patología inflamatoria en las búfalas radica en que genera alteraciones en la leche (Rainard y Riollet, 2006; De Boyer des Roches *et al.*, 2017; Bertoni *et al.*, 2019; Mota-Rojas *et al.*, 2019), afectando la cantidad, calidad y sanidad de la misma (Singha *et al.*, 2021). Al respecto, Catozzi *et al.* (2017) encontraron que de 83 muestras de leche de hembras con mastitis subclínica, dos de los géneros bacterianos presentes en todas fueron *Acinetobacter* y *Pseudomonas*, con una abundancia relativa de 4.47% y 15.09%, de forma respectiva.

La mastitis también afecta la salud y bienestar de las mismas hembras (Bradley, 2002; De Boyer des Roches *et al.*, 2017), que conlleva pérdidas económicas. Leslie y Petersson-Wolfe (2012) calcularon dichas pérdidas en 400 millones de dólares en Estados Unidos, incluyendo los gastos que implican los antibióticos para su tratamiento (Mota-Rojas *et al.*, 2019) y las repercusiones que el mal uso de éstos puede inducir, como el desarrollo de bacterias resistentes *S. aureus*, aisladas de leche de bovinos y búfalos de agua (Wang *et al.*, 2008; De Medeiros *et al.*, 2011).

Por las características y diferencias morfológicas de los búfalos del agua, en comparación con los bovinos convencionales (*B. taurus* e *indicus*), existe menos predisposición a contraer mastitis (Guccione, 2017). Esto es gracias a que la glándula mamaria

de las búfalas es pendulante, con pezones más largos y, por ende, un canal del pezón largo y estrecho que obstaculiza la colonización bacteriana (Fagiolo y Lai, 2007). En otros estudios se ha considerado que la frecuencia de presentación es similar en ambas especies (Guccione *et al.*, 2014), y se requiere diagnosticar para evitar las consecuencias derivadas del proceso, como el dolor (Leslie y Petersson-Wolfe, 2012).

Entre los factores que predisponen para esta patología, se identifica el mal manejo durante la ordeña, ya sea por un vaciamiento incompleto de la ubre (Cavallina *et al.*, 2008; De Rosa *et al.*, 2009) o por la falta de salubridad al momento de la ordeña, propiciando la contaminación con bacterias gram positivas (Burvenich *et al.*, 2003). Hussain *et al.* (2013) reportaron entre los factores de riesgo para mastitis subclínica en búfalas de Pakistán, el peso del animal, número de parto, amamantamiento, ubre pendulante, la cantidad de trabajadores en la granja y mala higiene de miembros pelvianos. Asimismo, la contaminación por otros animales en casos subclínicos es otro riesgo para la salud del resto de hato (Şahin y Yıldırım, 2014). Además de las repercusiones económicas, organolépticas y de salud, el proceso inflamatorio local genera dolor, que es uno de los signos que alteran el estado físico y mental de las búfalas y, una vez presente, requiere tratamiento farmacológico para mitigarlo.

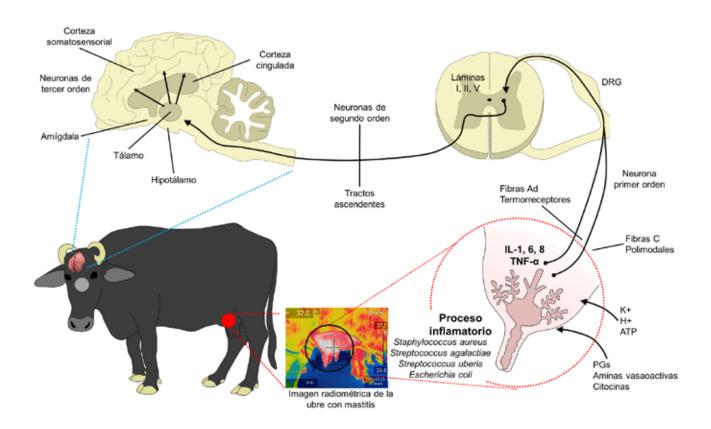
# Mastitis: reconocimiento del dolor y sus consecuencias

El dolor, definido como una experiencia sensorial desagradable asociada, o similar a la asociada, con un daño real o potencial en tejidos (Raja *et al.*, 2020), es uno de los signos típicos de la mastitis. Esta patología evoluciona a cuadros de dolor severo que no siempre son perceptibles en los búfalos o bovinos en general, ya que se consideran especies estoicas en quienes estas expresiones son sutiles para no exponerse a depredadores (Fitzpatrick *et al.*, 1998; Petersson-Wolfe *et al.*, 2018).

Durante la colonización del epitelio mamario por los microorganismos previamente señalados, la respuesta local y el inicio del dolor comienza en el tejido del pezón y la ubre. La inflamación regional conlleva el reclutamiento de neutrófilos al sitio de infección, los cuales son activados por las toxinas o metabolitos bacterianos (Shaheen *et al.*, 2020). La presencia de dichas células inmunes produce la secreción de mediadores inflamatorios con el fin de combatir al microorganismo (Burvenich *et al.*, 2003). Entre estos mediadores se encuentran las prostaglandinas y aminas vasoactivas (Mohammad y Abdel-Rahman, 2013). Las citocinas como las interleucinas (IL) 1, 6, 8, y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α) tienen un rol esencial durante este proceso, ya que se

han encontrado en vacas lecheras con mastitis subclínica, en las cuales se observa un incremento significativo en IL-1, IL-2, IL-6 y TNF-α (P<0.001) (Shaheen *et al.*, 2020). En búfalas se ha evaluado el nivel de expresión de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-8, lactoferrina (LTF), y genes del receptor tipo toll (TLR) en hembras sanas y otras con mastitis. En este estudio se encontró que la expresión de TNF-α, IL-1β, IL-8 aumentó 7.15, 62.49 y 26.20 veces, respectivamente, durante el proceso inflamatorio, lo cual constituye la respuesta inmune innata del organismo para recobrar la salud de la ubre (Tanamati et al., 2019). La proteína C reactiva y el factor nuclear kappa (NFkB) son otras sustancias asociadas a la mastitis en rumiantes (Ingman et al., 2014). Aumentos en la concentración de haptoglobina también se han registrado en casos de mastitis moderada en los bovinos convencionales (1.6 g/l) (Fitzpatrick et al., 1998), y en mastitis causadas por S. aureus en 12 búfalos (2.68 g/l) (Pisanu *et al.*, 2019). La presencia de dichas sustancias proinflamatorias genera la activación de los receptores periféricos -o nociceptores-, que son los encargados de la transducción y transmisión del estímulo nocivo proveniente de la inflamación del tejido mamario a la médula espinal y centros supraespinales para la percepción consciente del mismo (Hudson *et al.*, 2008). Este proceso se resume en la Figura 7.

Figura 7. Activación del arco nociceptivo en el proceso inflamatorio originado por la mastitis



El proceso inflamatorio iniciado por la colonización de agentes bacterianos genera la secreción y presencia de mediadores inflamatorios como los PGs o las citocinas, las cuales activan y sensibilizan a las neuronas de primer orden (fibras Ad y C). El estímulo captado por estas fibras es transmitido hacia el asta dorsal de la médula espinal, para ser proyectado hacia centros supraespinales como el hipotálamo, amígdala o tálamo a través de las neuronas de segundo orden. Una vez en estructuras cerebrales, la señal eléctrica es llevada a la corteza somatosensorial, donde el estímulo nocivo generado en la ubre y la glándula mamaria se reconoce como dolor. ATP: adenosín trifosfato; DRG: ganglio dorsal; H+: ion hidrógeno; IL: interleucina; K+: ion potasio; PGs: prostaglandinas: TNF-α: factor de necrosis tumoral alfa.

Normalmente, la activación del arco nociceptivo asiste en la reparación del tejido, en la eliminación del agente que lo ocasionó y en la curación del proceso patológico producido por la presencia de bacterias (Cai et al., 2018). No obstante, como suele suceder en los grandes rumiantes, cuando el proceso se cronifica y los receptores periféricos se encuentran en constante activación y transmisión de impulsos nocivos, se desencadena un proceso de sensibilización periférica y central, en el que los tejidos responden con mayor intensidad a un estímulo que normalmente es doloroso, conocido como hiperalgesia (Rasmussen et al., 2011), o disminuye tanto su umbral de activación, que estímulos que generalmente no son dolorosos, provocan esta respuesta en los animales (Peters et al., 2015). Por ejemplo, en ganado *Bos* se han reportado bajas en los umbrales de activación durante pruebas experimentales de umbral térmico, produciendo el efecto de hiperalgesia en los animales (Peters et al., 2015). Estos factores, aunados a la falta de herramientas para reconocer el dolor durante cuadros subclínicos de mastitis, comprometen significativamente la salud de las búfalas (Leslie y Petersson-Wolfe, 2012) y deterioran el bienestar general de las mismas, desestabilizando su estado mental y su comportamientos (Mellor et al., 2020).

En la actualidad existen métodos de reconocimiento del dolor originado por la mastitis, a través de la evaluación de: 1) alteraciones en parámetros fisiológicos como taquicardia, taquipnea, fiebre o hipertermia local, catalogados como indicadores de mastitis aguda (Kemp *et al.*, 2008), y 2) cambios en el comportamiento o en el lenguaje corporal, con una menor presentación de comportamientos naturales, como la rumia o el descanso, se asocian a la presencia de dolor (Cyples *et al.*, 2012; Yeiser *et al.*, 2012), así como patear o levantar las extremidades (Siivonen *et al.*, 2011; Medrano-Galarza *et al.*, 2012).

Para facilitar el reconocimiento del dolor en cuadros subclínicos, Giovannini *et al.* (2017) diseñaron un sistema de puntuación para cuantificar el grado de dolor al inducir, de manera experimental, mastitis subclínica mediante la administración de ácido lipoteicoico y lipopolisacáridos de *S. aureus* y *E. coli* en vacas Holstein y Swiss Fleckvieh. Este sistema es similar a las escalas de dolor que se emplean en pequeñas especies como la de la Universidad de Melbourne (Hernandez-Avalos *et al.*, 2019); se basa en seis categorías que incluyen elementos como la postura corporal, expresión facial, interacción, respuesta al alimento y a la palpación. De manera semejante, en el estudio de De Boyer des Roches *et al.* (2017), la evaluación del dolor resulta de la combinación de parámetros fisiológicos, como conteo de células somáticas, concentraciones de haptoglobina, amiloide sérico A, cortisol, con elementos de comportamiento, como la atención a su entorno, la posición de la cola y de las orejas y cambios de postura, los que sirvieron para

cuantificar tres fases de dolor en mastitis inducida por  $E.\ coli.$  En esta investigación, la segunda fase, considerada como la de dolor agudo, se acompañó de altas concentraciones de cortisol (31.3 ng/mL) y amiloide sérico A (100.3  $\mu$ g/mL), crecimiento exponencial de bacterias y cambios en el comportamiento, como baja atención a su ambiente. De igual forma, existen otros etogramas que miden disminuciones en la locomoción, hiporexia, una mala condición del pelo o cambio en la expresión facial (p. ej. orejas caídas), entre otros, para clasificar en tres grados a la mastitis de acuerdo a la manifestación de dichos parámetros conductuales, fisiológicos y cambios observables (Huxley y Hudson, 2007).

Si bien este tipo de herramientas han sido desarrolladas y aplicadas en bovinos convencionales, debido a que son de fácil empleo y permiten el reconocimiento del dolor de manera temprana (Kemp *et al.*, 2008), su uso podría ser transferido a los búfalos, recordando que para un adecuado manejo del dolor se necesita identificarlo primero para prevenir las consecuencias de salud y establecer protocolos analgésicos pertinentes. En las búfalas, tratamientos antibióticos, en conjunto con antiinflamatorios no esteroidales como ketoprofeno o meloxicam (Sharma y Sindhu, 2007), constituye uno de los protocolos predominantes para atender las mastitis. De igual manera, tratamientos a base de citrato trisódico (Dhillon y Singh, 2013), medicina complementaria como la homeopatía (Parmar *et al.*, 2015), o estudios de composición láctea, pueden auxiliar en la identificación de la mastitis antes de que aparezcan los signos clínicos y, con ello, las consecuencias del dolor y su afectación en el bienestar de las búfalas (Petersson-Wolfe *et al.*, 2018).

#### CONCLUSIONES

El parto, la lactancia, y el periodo de ordeña son fases íntimamente vinculadas y que resultan clave en la competitividad de las unidades de producción lechera de búfalos del agua. Su relevancia implica que los médicos veterinarios, ganaderos y personal responsable garanticen el desarrollo y un correcto manejo de las hembras y las crías, con el fin de evitar complicaciones sanitarias y productivas. Por una parte, el parto y sus diferentes fases, que se pueden analizar y evaluar mediante los cambios fisiológicos y de comportamiento, implican un riesgo para la madre y el neonato cuando se diagnostica un parto distócico. En búfalas, las principales causas de distocias se atribuyen a efectos maternos, como alteraciones anatómicas del útero, cérvix, vagina o vulva, o al efecto de inercia miometrial, mientras que entre las causas fetales se encuentran: desproporciones fetopélvicas, malformaciones e inadecuado posicionamiento del feto. Estas manifestaciones

pueden culminar con la sensibilización nociceptiva de la madre, o con muerte fetal como consecuencia de anoxia, acidosis o baja vitalidad al nacimiento.

Debido a que las unidades de producción lechera en búfalos presentan alta dependencia de los nacimientos, ya que las crías facilitan la eyección de la leche, monitorear que los partos sean eutócicos fomenta la productividad de estas dos categorías de animales. Durante el ordeño y toda su duración, seguir protocolos de inocuidad y buenas prácticas pecuarias también coadyuva a la prevención de patologías como la mastitis. Este proceso inflamatorio de la glándula mamaria deriva de la colonización de bacterias que pueden ser adquiridas por una higiene insuficiente o una mala técnica de ordeño. Por ello, al asegurar que las búfalas reciban un manejo adecuado desde el inicio de la gestación hasta el parto, y durante el periodo de ordeña, se contribuye a la salud de las búfalas y a elevar su productividad, favorecer el bienestar de la madre y la cría y, en última instancia, a mantener el valor económico de los semovientes.

# **BIBLIOGRAFÍA**

- Abdullah, F. *et al.* (2014). Surgical management of a second degree perineal laceration in a buffalo sequel to dystocia. *International Journal of Livestock Research*, 4(1): 146.
- Ahmad, M. (2021). Oxytocin: Effects on milk production. *Pure and Applied Biology*, 10(1).
- Ahuja, A. K. *et al.* (2017). A case of dystocia due to fetal ascites in murrah buffalo. *International Journal of Environment, Agriculture and Biotechnology*, 2(4): 1767-1769.
- Attupuram, N. M. *et al.* (2016). Cellular and molecular mechanisms involved in placental separation in the bovine: A review. *Molecular Reproduction and Development*, 83(4): 287-297.
- Autumn y Stabenfeldt, G. (2020). "Gestación y parto". En: Klein, B. G. (comp.). *Cunningham fisiología veterinaria*. 6.ª ed. España: Elsevier.
- Barrier, A. C. *et al.* (2012). Effect of a difficult calving on the vigour of the calf, the onset of maternal behaviour, and some behavioural indicators of pain in the dam. *Preventive Veterinary Medicine*, 103(4): 248-256.
- Barrier, A. C. *et al.* (2013). Stillbirth in dairy calves is influenced independently by dystocia and body shape. *The Veterinary Journal*, 197(2): 220-223.
- Benedictus, L. *et al.* (2015). The role of placental MHC class I expression in immune-assisted separation of the fetal membranes in cattle. *Journal of Reproductive Immunology*, 112: 11-19.

- Bertoni, A. et al. (2019). Productive performance of buffaloes and their development options in tropical regions. Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente, 19: 59-80.
- Bertoni, A. *et al.* (2020a). "Productividad de los búfalos de agua y sus expectativas de desarrollo en zonas tropicales". En: Napolitano, F. *et al.* (comp.). *El búfalo de agua en Latinoamérica*. 3.ª ed. México: BM Editores: 167-207.
- Bertoni, A. *et al.* (2020b). "Ventajas y desventajas de los sistemas de ordeño manual y mecánico: productividad, bienestar animal y rentabilidad". En: Napolitano, F. *et al.* (comp.). *El búfalo de agua en Latinoamérica*. 3.º ed. México: BM Editores: 772-807.
- Bertoni A, *et al.* (2020c) "Similarities and differences between river buffaloes and cattle: Health, physiological, behavioral and productivity aspects" en Journal of Buffalo Science, 9:92–109. https://doi.org/10.6000/1927-520x.2019.08.03.12 Bertoni, A. *et al.* (2021). Dual-purpose water buffalo production systems in tropical Latin America: Bases for a sustainable model. *Animals*, 11(10): 2910.
- Bertoni, A. *et al.* (2022a). Description of four dual-purpose river Buffalo (Bubalis bubalis) production systems in tropical wetlands of Mexico. Part 1: Social aspects, herd distribution, feeding, reproductive, and genetic management. *Journal of Buffalo Science*, 11: 8-18.
- Bertoni, A. *et al.* (2022b). Description of four dual-purpose river Buffalo (Bubalis bubalis) production systems in tropical wetlands of Mexico. Part 2: Sanitary management, milking, zootechnical and economic indicator. *Journal of Buffalo Science*, 11: 8-18.
- Bidarimath, M., Aggarwal, A. (2007). Studies on cisternal and alveolar fractions & Samp; its composition and mammary health of Murrah buffaloes administered oxytocin. *Tropical Animal Health and Production*, 39(6): 433-438.
- Borghese, A. et al. (2013). Lactation curve and milk flow. Buffalo Bulletin, 32(1): 334-350.
- Borghese, A. et al. (2007). Milking management of dairy buffalo. *Italian Journal of Animal Science*, 6(2): 39-50.
- Boselli, C. *et al.* (2016). Study of milkability in Mediterranean Italian Buffalo cow raised in central Italy. *Revista CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 11(3):155.
- Boselli, C. *et al.* (2020). Study of milkability and its relation with milk yield and somatic cell in Mediterranean Italian water buffalo. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(432): 1-7.
- De Boyer des Roches, A. *et al.* (2017). Behavioral and patho-physiological response as possible signs of pain in dairy cows during Escherichia coli mastitis: A pilot study. *Journal of Dairy Science*, 100(10): 8385-8397.
- Bradley, A.J. (2002). Bovine mastitis: An evolving disease. *The Veterinary Journal*, 164(2): 116-128.

- Bruckmaier, R. M., Wellnitz, O. (2008). Induction of milk ejection and milk removal in different production systems. *Journal of Animal Science*, 86(13): 15-20.
- Burvenich, C. *et al.* (2003). Severity of E. coli mastitis is mainly determined by cow factors. *Veterinary Research*, 34(5): 521-564.
- Cai, Z. et al. (2018). Prioritizing candidate genes post-GWAS using multiple sources of data for mastitis resistance in dairy cattle. *BMC Genomics*, 19(1): 656.
- Cardiff, R. D. et al. (2018). "Mammary Gland". En: Treuting, P., Dintzis, S.M. (comp.). Comparative Anatomy and Histology. España: Elsevier.
- Catozzi, C. *et al.* (2017). The microbiota of water buffalo milk during mastitis. *PloS One*. 12(9): e0184710.
- Cavallina, R. *et al.* (2008). Buffalo behavioural response to machine milking in early lactation. *Italian Journal of Animal Science*, 7(3): 287-295.
- Chouksey, S. et al. (2022). Incomplete dilation of cervix in large animals: A review. *The Pharma Innovation Journal*, 11(2): 573-578.
- Cosenza, G. *et al.* (2007). Mediterranean river buffalooxytocin-neurophysin I (OXT) gene: structure, promoter analysis and allele detection. *Italian Journal of Animal Science*, 6(2): 303-306.
- Crociati, M. *et al.* (2022). How to predict parturition in cattle? a literature review of automatic devices and technologies for remote monitoring and calving prediction. *Animals*, 12(3): 405.
- Cyples, J. A. *et al.* (2012). Short communication: The effects of experimentally induced Escherichia coli clinical mastitis on lying behavior of dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95(5): 2571-2575.
- Das, G. *et al.* (2013). "Parturition and puerperium in the buffalo". En: Purohit, G. (comp.). *Bubaline Theriogenology*. International Veterinary Information Service, Ithaca.
- Deka, R. *et al.* (2021). Parturition behavior of Swamp buffalo cows (Bubalus bubalis) under organized system of rearing. *Biological Rhythm Research*, 52(3): 444-453.
- Dematawewa, C. B., Berger, J. (1998). Genetic and Phenotypic parameters for 305-Day yield, fertility, and survival in holsteins. *Journal of Dairy Science*, 81(10): 2700-2709.
- Derar, D. I., Abdel Rahman, M.A. (2012). A comparative study on behavioral, physiological and adrenal changes in blood cortisol of buffalo during actual labour. *Buffalo Bulletin*, 31: 129-135.
- Dhami, A. J. *et al.* (2012). Post-abortion and post-partum serum progesterone profile and breeding efficiency in buffaloes retaining fetal membranes. *Buffalo Bulletin*, 31(4): 189-192.

- Dhillon, K. S., Singh, J. (2013). A new horizon in the pathobiology, aetiology and novel treatment of mastitis in buffalo. *Buffalo Bulletin*, 32(1): 26-34.
- Dodamani, M. S. *et al.* (2010). Study on calving pattern in buffaloes. *Veterinary World*, 3(4): 188-190.
- El-Khodery, S. A., Osman, S.A. (2008). Cryptosporidiosis in buffalo calves (Bubalus bubalis): Prevalence and potential risk factors. *Tropical Animal Health and Production*, 40(6): 419-426.
- Ellingsen, K. *et al.* (2014). Using qualitative behaviour assessment to explore the link between stockperson behaviour and dairy calf behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 153: 10-17.
- Eppe, J. *et al.* (2021). Treatment protocols and management of retained fetal membranes in cattle by rural practitioners in Belgium. *Preventive Veterinary Medicine*, 188: 105267.
- Espinosa, Y. *et al.* (2011). Efecto de la estimulación con bucerro, oxitocina y manual sobre los indicadores de ordeño en búfalas. *Revista de Salud Animal*, 33(2): 90-96.
- Fagiolo, A., Lai, O. (2007). Mastitis in buffalo. Italian Journal of Animal Science, 6(2): 200-206.
- Faraz, A. *et al.* (2020). Impact of oxytocin administration on milk quality, reproductive performance and residual effects in dairy animals A Review. *Punjab University Journal of Zoology*, 35(1): 61-67.
- Faraz, A. *et al.* (2021). Effect of Eexogenous oxytocin administration on the performance of lactating Nili Ravi Buffalo. *Irian Journal of Applied Animal Science*, 11(3): 517-525.
- Fitzpatrick, J. L. *et al.* (1998). Recognising and controlling pain and inflammation in mastitis. *Proc of the British mastitis conference*. (Consultado: 15/01/2022).
- Flower, F. C. et al. (2006). Effects of milking on dairy cow gait. *Journal of Dairy Science*, 89(6): 2084-2089.
- Fourichon, C. *et al.* (2000). Effect of disease on reproduction in the dairy cow: a meta-analysis. *Theriogenology*, 53(9): 1729-1759.
- Fraga, L. M. *et al.* (2004). Influencia de algunos factores en el peso al nacer de bucerros de la raza Bufalipso. *Cuban Journal of Agricultural Science*, 38(4): 2002-2005.
- Gabr, A. E. *et al.* (2017). Upgrading mil productivity of primiparous buffaloes using glycogenic precursors; implications on milk production and blood biochemical parameters. *Zagazig Veterinary Journal*, 45(2): 92-103.
- Giovannini, A. J. *et al.* (2017). Experimentally induced subclinical mastitis: are lipopolysaccharide and lipoteichoic acid eliciting similar pain responses? *Acta Veterinaria Scandinavica*, 59(1): 40.
- Gohar, M. A. *et al.* (2018). Effect of oxytetracycline treatment on postpartum reproductive performance in dairy buffalo-cows with retained placenta in Egypt. *Journal of Veterinary Healthcare*, 1(3): 45-53.

- González, Lozano, M. *et al.* (2020). Review: Behavioral, physiological, and reproductive performance of buffalo cows during eutocic and dystocic parturitions. *Applied Animal Science*, 36(3): 407-422.
- Guccione, J. *et al.* (2014). Clinical outcomes and molecular genotyping of Staphylococcus aureus isolated from milk samples of dairy primiparous Mediterranean buffaloes (Bubalus bubalis). *Journal of Dairy Science*, 97(12): 7606-7613.
- Guccione, J. (2017). Mastitis in mediterranean buffaloes. *Journal of Dairy & Veterinary Sciences*, 2(5).
- Hansen, M. *et al.* (2004). Gestation length in Danish Holsteins has weak genetic associations with stillbirth, calving difficulty, and calf size. *Livestock Production Science*, 91(1-2): 23-33.
- Hernandez-Avalos, I. *et al.* (2019). Review of different methods used for clinical recognition and assessment of pain in dogs and cats. *International Journal of Veterinary Science and Medicine*, 7(1): 43-54.
- Holland, M. D. *et al.* (1993). Factors contributing to dystocia due to fetal malpresentation in beef cattle. *Theriogenology*, 39(4): 899-908.
- Hudson, G. M. *et al.* (2008). Effects of Caffeine and Aspirin on Light Resistance Training Performance, Perceived Exertion, and Pain Perception. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 22(6): 1950-1957.
- Hussain, R. *et al.* (2013). Risks factors associated with subclinical mastitis in water buffaloes in Pakistan. *Tropical Animal Health and Production*, 45(8): 1723-1729.
- Huxley, J. N., Hudson, C. D. (2007). Should we control the pain of mastitis? *International Dairy Topics*, 6(5): 17-18.
- Huzzey, J. M. *et al.* (2005). Changes in feeding, drinking, and standing behavior of dairy cows during the transition period. *Journal of Dairy Science*, 88(7): 2454-2461.
- Indurkar, S. et al. (2019). Biochemical and hormonal profiles in buffaloes with retained fetal membranes. *Buffalo Bulletin*, 38(1): 35-39.
- Ingman, W. V. *et al.* (2014). Inflammatory mediators in mastitis and lactation insufficiency. *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 19(2): 161-167.
- Jainudeen, M., Hafez, E. (2000). "Cattle and buffalo" (pp. 159-171). En: Hafez, E., Hafez, B. (comp.). *Reproduction in farm animals*. 7. ed. USA: Blackwell Publishing.
- Janjanam, J. *et al.* (2014). Comparative 2D-DIGE Proteomic Analysis of Bovine Mammary Epithelial Cells during Lactation Reveals Protein Signatures for Lactation Persistency and Milk Yield. *PloS One*, 9(8): e102515.
- Jeengar, K. *et al.* (2015). A retrospective study on incidence of dystocia in cattle and buffaloes at referral center. *Theriogenology Insight An International Journal of Reproduction in all Animals*, 5(1): 41.

- Jena, M. K. *et al.* (2015). DIGE based proteome analysis of mammary gland tissue in water buffalo (Bubalus bubalis): Lactating vis-a-vis heifer. *Journal of Proteomics*, 119: 100-111.
- Kalasariya, R. M. *et al.* (2017). Effect of peripartum nutritional management on plasma profile of steroid hormones, metabolites, and postpartum fertility in buffaloes. *Veterinary World*, 10(3): 302-310.
- Kamemori, Y. *et al.* (2011). Expressions of apoptosis-regulating factors in bovine retained placenta. *Placenta*, 32(1): 20-26.
- Kemp, M. H. *et al.* (2008). Animal-based measurements of the severity of mastitis in dairy cows. *Veterinary Record*, 163(6): 175-179.
- Khan, H. M. *et al.* (2009). Peripartum reproductive disorders in buffaloes An overview. *Vet Scan*, 4(2): 4: 1-10.
- Kumar, N., Singh, B. (1984). Some neoplasms involving female genitalia of buffaloes. *Indian Veterinary Journal*, 61: 185-187.
- Lanzoni, L. *et al.* (2021). Maternal and neonatal behaviour in Italian Mediterranean Buffaloes. *Animals*, 11(6): 1584.
- Leslie, K. E., Petersson-Wolfe, C.S. (2012). Assessment and management of pain in dairy cows with clinical mastitis. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 28(2): 289-305.
- Lollivier, V. *et al.* (2002). Oxytocin and milk removal: two important sources of variation in milk production and milk quality during and between milkings. *Reproduction Nutrition Development*, 42(2): 173-186.
- Lombard, J. E. *et al.* (2007). Impacts of dystocia on health and survival of dairy calves. *Journal of Dairy Science*, 90(4): 1751-1760.
- Macias, H., Hinck, L. (2012). Mammary gland development. Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology, 1(4): 533-557.
- Mainau, E., Manteca, X. (2011). Pain and discomfort caused by parturition in cows and sows. *Applied Animal Behaviour Science*, 135(3): 241-251.
- Martínez, Burnes, J. *et al.* (2020). "Mortinatos en la búfala de agua: factores de riesgo fetal y materno" (pp. 564-581). En: Napolitano, F. *et al.* (comp.). *El búfalo de Agua en Latinoamerica, Hallazgos Recientes*. 3 ed. Mexico: BM Editores.
- Martínez, Burnes, J. *et al.* (2021). Parturition in mammals: animal models, pain and distress. *Animals*, 11(10): 2960.
- De Medeiros, E. S. *et al.* (2011). Antimicrobial resistance of Staphylococcus spp. isolates from cases of mastitis in buffalo in Brazil. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(4): 793-796.

- Medrano, Galarza, C. *et al.* (2012). Behavioral changes in dairy cows with mastitis. *Journal of Dairy Science*, 95(12): 6994-7002.
- Mee, J. (2013). Why do so many calves die on modern dairy farms and what can we do about calf welfare in the future? *Animals*, 3(4): 1036-1057.
- Melin, M. *et al.* (2006). Cow traffic in relation to social rank and motivation of cows in an automatic milking system with control gates and an open waiting area. *Applied Animal Behaviour Science*, 96(3-4): 201-214.
- Mellor, D. J. *et al.* (2020). The 2020 five domains model: including human–animal interactions in assessments of animal welfare. *Animals: an Open Access Journal from MDPI*, 10(10): 1-24.
- Mohammad, D. I., Abdel-Rahman, M. M. (2013). A comparative study on behavioral, physiological, and adrenal changes in buffaloes during the first stage of labor with normal and difficult parturition. *Journal of Veterinary Behavior*, 8(1): 46-50.
- Mora, Medina. P. et al. (2018). Behaviour and welfare of dairy buffaloes: pasture or confinement? *Journal of Buffalo Science*, 7(3): 43-48.
- Morini, A. C. *et al.* (2008). Caracterização das membranas fetais em búfalas no terço inicial da gestação. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 28(9): 437-445.
- Mota, Rojas, D. *et al.* (2019). Dairy buffalo behaviour and welfare from calving to milking. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 14(035):1-9.
- Mota, Rojas, D. *et al.* (2020a). "Comportamiento y bienestar de la búfala lechera". En: Napolitano, F. *et al.* (comp.). *El búfalo de agua en Latinoamérica, hallazgos recientes.* 3.ª ed. México: BM Editores.
- Mota, Rojas, D. *et al.* (2020b). "El parto y ordeño de la búfala: respuestas fisiológicas y conductuales". En: Napolitano, F. *et al.* (comp.). *El búfalo de agua en las Américas, hallazgos recientes*. 3a ed. México: BM Editores.
- Mota, Rojas, D. et al. (2020c). Dystocia: factors affecting parturition in domestic animals. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 15(013).
- Mota, Rojas, D. *et al.* (2020d). Effects of human-animal relationship on animal productivity and welfare. *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 8(3): 196-205.
- Mota, Rojas, D. et al. (2021a). The use of draught animals in rural labour. *Animals*, 11(9): 2683.
- Mota, Rojas, D. *et al.* (2021b). Clinical applications and factors involved in validating thermal windows in large rumiants to assess health and productivity. *Animals*, 11(8): 2247.

- Mota, Rojas, D. *et al.* (2021c). Pathophysiology of perinatal asphyxia in humans and animal models. *Biomedicines*, 10(2): 347.
- Mota, Rojas, D. *et al.* (2021d). Allonursing in wild and farm animals: biological and physiological foundations and explanatory hypotheses. *Animals*, 11(11): 3092.
- Mota, Rojas, D. *et al.* (2022). Neonatal infrared thermography images in the hypothermic ruminant model: Anatomical- morphological- physiological aspects and mechanisms for thermoregulation. *Frontiers in Veterinary Science* 9: In press.
- Murtaza, S. *et al.* (2021). Effect of exogenous administration of oxytocin on postpartum follicular dynamics, oestrous rate and ovulation in Nili-Ravi buffaloes. *Reproduction in Domestic Animals*, 1-8.
- Napolitano, F. *et al.* (2018). El bienestar de la búfala lechera al parto. Recuperado de: https://www.ganaderia.com/destacado/El-bienestar-de-la-bufala-lechera-al-parto, (Consultado: 10/01/2022, última actualización 17/12/18).
- Napolitano, F. et al. (2020a). El búfalo de agua en Latinoamérica, hallazgos recientes. 3.º ed. México: BM Editores.
- Napolitano, F. *et al.* (2020b). Factores productivos y su incidencia en el bienestar de la búfala lechera en sistemas de producción extensivos e intensivos. *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente,* 20: 155-173.
- Napolitano, F. *et al.* (2020c). "Perinatología y ginecobstetricia de la búfala de agua". En: Napolitano, F. *et al.* (comp.). *El búfalo de agua en Latinoamérica, hallazgos recientes.* 3.ª ed. México: BM Editores.
- Napolitano, F. *et al.* (2021). Advances and perspectives in research on buffalo milk production and mozzarella cheese. *Agro Productividad*, 14(6):1-9.
- Nasr, M. (2017). The impact of cross-breeding Egyptian and Italian buffalo on reproductive and productive performance under a subtropical environment. *Reproduction in Domestic Animals*, 52(2): 214-220.
- Noakes, D. E. et al. (2009). Veterinary Reproduction and Obstetrics. W.B. Saunders Elsevier, Inglaterra, Ltd. 9th ed. Londres, Reino Unido: W.B. Saunders Ltd.
- Olmos-Hernández, S.A. *et al.* (2020). Anatomofisiología de la glándula mamaria: neuroendocrinología de la eyección láctea en la búfala de agua. En: Napolitano, F. *et al.* (comp.). *El búfalo de agua en Latinoamérica, hallazgos recientes.* 3. ed. México: BM Editores.
- Orihuela, A. *et al.* (2021). Neurophysiological mechanisms of Cow-Calf bonding in buffalo and other farm animals. *Animals*, 11(7): 1968.
- Oviedo-Boyso, J. *et al.* (2007). Innate immune response of bovine mammary gland to pathogenic bacteria responsible for mastitis. *Journal of Infection*, 54(4): 399-409.

- Ozenc, E. *et al.* (2020). Teat characteristics in relation to animal temperament during milking in buffaloes, and comparison of buffalo and cow teat morphology. *Reproduction in Domestic Animals*, 55(5): 559-566.
- Di Palo, R. et al. (2007). Milk flow traits in Mediterranean Italian Buffaloes. *Italian Journal of Animal Science*, 6(2): 1319-1322.
- Parmar, V. *et al.* (2015). Therapeutic management of clinical mastitis caused by pseudomonas spp with special reference to homeopathy medicine in jafarabadi buffalo a case. *Ruminant Science*, 4(2): 159-165.
- Patbandha, T. K. *et al.* (2015). Effect of season and stage of lactation on milk components of Jaffrabadi. *The Bioscan*, 10(2): 635-638.
- Patel, R. V., Parmar, S. C. (2016). Retention of fetal membranes and its clinical perspective in Bovines. *Scholars Journal of Agriculture and Veterinary Sciences*, 3(2): 111-116.
- Peters, M. P. *et al.* (2015). Impact of subclinical and clinical mastitis on sensitivity to pain of dairy cows. *Animal*, 9(12): 2024-2028.
- Petersson, Wolfe, C. S. *et al.* (2018). An update on the effect of clinical mastitis on the welfare of dairy cows and potential therapies. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 34(3): 525-535.
- Petzl, W. *et al.* (2008). Escherichia coli, but not Staphylococcus aureus triggers an early increased expression of factors contributing to the innate immune defense in the udder of the cow. *Veterinary Research*, 39(2): 18.
- Pisanu, S. *et al.* (2019). Proteomic changes in the milk of water buffaloes (*Bubalus bubalis*) with subclinical mastitis due to intramammary infection by Staphylococcus aureus and by non-aureus staphylococci. *Scientific Reports*, 9(1): 15850.
- Polikarpus, A. (2013). Behavior of buffalo cows in the milking parlour: entrance order and side preference. *ResearchGate*.
- Polikarpus, A. *et al.* (2014). Milking behaviour of buffalo cows: entrance order and side preference in the milking parlour. *Journal of Dairy Research*, 81(1): 24-29.
- Prasad, R. V., Laxmi, J. (2004). Studies on the temperament of murrah buffaloes with various udder and teat shapes and its effect on milk yield. *Buffalo Bulletin*, 33(2): 170-176.
- Purohit, G. (2010). Parturition in domestic animals: A review. *WebmedCentral reproduction*: WMC00748.
- Purohit, G. (2013). "Maternal dystocia and uterine torsion in buffaloes" en: Purohit G (ed) Bubaline Theriogenology (252), Ithaca, NY, International Veterinary International Service, disponible en: https://www.ivis.org/library/bubaline-theriogenology.

- Rabbani, R. A. *et al.* (2010). Prevalence of various reproductive disorders and economic losses caused by genital prolapse in buffaloes. *Pakistan Veterinary Journal*, 30(1): 44-48.
- Rahman, S. R. *et al.* (2019). Buffalo milk yield, quality, and marketing in different agroclimatic districts of Bangladesh. *Journal of Buffalo Science*, 8(3): 62-67.
- Rainard y Riollet, C. (2006). Innate immunity of the bovine mammary gland. *Veterinary Research*, 37(3): 369-400.
- Raja, S. N. *et al.* (2020). The revised international association for the study of pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises. *Pain*, 161(9): 1976-1982.
- Rasmussen, M. R. et al. (2011). Prause, J. U. y Toft: B., "Phantom pain after eye amputation". Acta Ophthalmologica, 89(1): 10-16.
- Rodríguez, González, D. *et al.* (2022). Handling and physiological aspects of the dual-purpose water buffalo production system in the Mexican humid tropics. *Animals*, 12(5): 608.
- Rosa, D. *et al.* (2007). The effect of rearing system on behavioural and immune responses of buffalo heifers. *Italian Journal of Animal Science*, 6(2): 1260-1263.
- De Rosa, G. *et al.* (2009). Behavior and milk production of buffalo cows as affected by housing system. *Journal of Dairy Science*, 92(3): 907-912.
- Şahin, A., Yıldırım, A. (2014). Mandalarda Mastitis Olgusu. *Turkish Journal of Agriculture Food Science and Technology*, 3(1): 1-8.
- Schmidt, S. *et al.* (2006). Histo-morphology of the uterus and early placenta of the African buffalo (*Syncerus caffer*) and comparative placentome morphology of the African buffalo and cattle (*Bos taurus*). *Placenta*, 27(8): 899-911.
- Schuenemann, G. M. *et al.* (2011). Assessment of calving progress and reference times for obstetric intervention during dystocia in Holstein dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94(11): 5494-5501.
- Seegers, H. *et al.* (2003). Production effects related to mastitis and mastitis economics in dairy cattle herds. *Veterinary Research*, 34(5): 475-491.
- Shaheen, T. *et al.* (2020). Investigations on cytokines and proteins in lactating cows with and without naturally occurring mastitis. *Journal of King Saud University Science*, 32(6): 2863-2867.
- Sharma, A., Sindhu, N. (2007). Occurrence of clinical and subclinical mastitis in buffaloes in the State of Haryana (India). *Italian Journal of Animal Science*, 6(2): 965-967.
- Sharun, K. *et al.* (2021). Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. *Veterinary Quarterly*, 41(1): 107-136.
- Siivonen, J. *et al.* (2011). Impact of acute clinical mastitis on cow behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 132(3-4): 101-106.

- Singha, S. *et al.* (2021). Occurrence and aetiology of subclinical mastitis in water buffalo in Bangladesh. *Journal of Dairy Research*, 88(3): 314-320.
- Streyl, D. *et al.* (2012). Gene expression profiling of bovine peripartal placentomes: detection of molecular pathways potentially involved in the release of foetal membranes. *Reproduction*, 143(1): 85-105.
- Tanamati, F. *et al.* (2019). Differential expression of immune response genes associated with subclinical mastitis in dairy buffaloes. *Animal*, 13(8): 1651-1657.
- Tătaru, M. *et al.* (2022). Morphology of the mammary gland in romanian buffalo. *Anatomia, Histologia, Embryologia*, 51(2): 250-258.
- Thomas, C. S. *et al.* (2004). Mammary cisternal size, cisternal milk and milk ejection in Murrah buffaloes. *Journal of Dairy Research*, 71(2): 162-168.
- Titler, M. *et al.* (2015). Prediction of parturition in Holstein dairy cattle using electronic data loggers. *Journal of Dairy Science*, 98(8): 5304-5312.
- Uematsu, M. *et al.* (2013). Risk factors for stillbirth and dystocia in Japanese Black cattle. *The Veterinary Journal*, 198(1): 212-216.
- Vázquez, Luna, D. *et al.* (2020). Búfalo de agua *Bubalus bubalis* parámetros zootécnicos en el sur de Veracruz, México. *Ganadería*, 11(10:)27-32.
- Wang, Y. *et al.* (2008). Macrolide-lincosamide-resistant phenotypes and genotypes of Staphylococcus aureus isolated from bovine clinical mastitis. *Veterinary Microbiology*, 130(1-2): 118-125.
- Weaver, S. R., Hernandez, L. L. (2016). Autocrine-paracrine regulation of the mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 99(1): 842-853.
- Yeiser, E. E. *et al.* (2012). The effects of experimentally induced Escherichia coli mastitis and flunixin meglumine administration on activity measures, feed intake, and milk parameters. *Journal of Dairy Science*, 95(9): 4939-4949.
- Young, I. R. *et al.* (2011). "The comparative physiology of parturition in mammals: hormones and parturition in mammals" (pp. 95-116). En: Norris, D.O., Lopez, K.H. (comp.). *Hormones and Reproduction of Vertebrates*. 1. ed. USA: Academic Press.
- Zaborski, D. *et al.* (2009). Factors affecting dystocia in cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(3): 540-551.