

# Respuesta conductual y neurofisiológica al dolor durante la mastitis: eficiencia productiva de rumiantes lecheros, así como su relación con la terapia analgésica, antiinflamatoria y antimicrobiana

Daniel Mota Rojas<sup>1\*</sup>, Marcelo Daniel Ghezzi<sup>2</sup>, Ismael Hernández Avalos<sup>3</sup>, Adolfo Álvarez Macías<sup>1</sup>, Adriana Domínguez Oliva<sup>1</sup>, Fabio Napolitano<sup>4</sup>, Pamela Anahí Lendez<sup>2</sup> y Agustín Orihuela<sup>5</sup>

**Resumen.** *La mastitis en rumiantes lecheros es un proceso derivado de la colonización de agentes bacterianos en el tejido mamario. Implica dolor asociado a la lesión tisular, evento que genera afectaciones en el desempeño productivo de los animales y cambios de comportamiento como la reducción de la rumia y del nivel de actividad. Así mismo, se ha sugerido que las vacas con mastitis clínica presentan cambios en la expresión facial, lo cual, en conjunto a los indicadores conductuales, puede ayudar a reconocer el padecimiento de dolor agudo. Sin embargo, no es claro si estos indicadores puedan relacionarse con el nivel de dolor que percibe el animal y el grado de severidad de la mastitis. El uso de analgésicos es uno de los tratamientos sugeridos para controlar el dolor de los animales. Su uso en conjunto con antibióticos ayuda a reducir el tiempo de evolución de la enfermedad. Por tal motivo, el objetivo del presente artículo es analizar el efecto que el dolor por mastitis provoca en la respuesta conductual y la eficiencia productiva de rumiantes lecheros, así como su relación con la terapia analgésica, desinflamatoria y antimicrobiana.*

<sup>1</sup> Departamento de Producción Agrícola y Animal. Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco. Ciudad de México. México.

<sup>2</sup> Facultad de Medicina Veterinaria. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA), Campus Universitario. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas CIVETAN, UNCPBA-CICPBA-CONICET. Argentina.

<sup>3</sup> Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. FESC. UNAM. Estado de México. México.

<sup>4</sup> Scuola di Scienze Agrarie, Forestali, Alimentari ed Ambientali, Università degli Studi della Basilicata, 85100 Potenza, Italia.

<sup>5</sup> Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México.

\* Autor de Correspondencia. e-mail: dmota@correo.xoc.uam.mx

**Palabras clave:** Dolor, Mastitis, Bienestar, Analgésicos, Comportamiento.

**Abstract.** Mastitis in dairy ruminants is the result of the colonization of bacterial agents in the mammary tissue. It involves pain associated with tissue injury, an event that affects the productive performance of the animals, and behavioral changes such as a reduction in rumination and activity levels. Likewise, it has been suggested that cows with clinical mastitis may have changes in facial expression, which, together with behavioral indicators, may help recognize acute pain. However, it is not clear whether these indicators can be related to the level of pain perceived and the severity of mastitis. The use of analgesics is suggested to manage the pain that animals perceive. Its use in conjunction with antibiotics helps reduce the evolution time of the disease. For this reason, the objective of this article is to analyze the effect that mastitis pain has on the behavioral response and productive efficiency of dairy ruminants, as well as its relationship with analgesic, anti-inflammatory, and antimicrobial therapy.

**Keywords:** Pain, Mastitis, Animal welfare, Analgesics, Pain-related animal behavior.

## INTRODUCCIÓN

La mastitis es un proceso infeccioso e inflamatorio del tejido mamario comúnmente reportado en rumiantes debido a la colonización de agentes bacterianos (e.g., *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*) (Pyorala and Taponen, 2009). En China se reporta una incidencia de mastitis clínica bovina de 21–23%, la cual genera pérdidas económicas de 15–45 billones de dólares al año desde 1982 al 2022 (Mota-Rojas *et al.*, 2019; Chen *et al.*, 2023). En los Estados Unidos, un estudio evaluando la prevalencia de mastitis del 2003 al 2014, en vacas mantenidas en 305 días de lactancia, se reporta una incidencia de 9.1 al 15% de mastitis clínica en ovinos, generando pérdidas por 193 millones de dólares (McDougall *et al.*, 2002; Puerto *et al.*, 2021). De manera general, los efectos que el dolor por mastitis generan en los rumiantes se enfocan a estudiar su influencia en la salud de los animales y en la calidad de la leche; sin embargo, el proceso inflamatorio también repercute en términos productivos, así como en el comportamiento y estado mental de los rumiantes (Short, 1998; Raja *et al.*, 2020).

Entre los cambios conductuales asociados a dolor por mastitis se menciona el descenso de la actividad física y del tiempo de rumia debido al incremento del dolor localizado en el tejido mamario (Herskin *et al.*, 2020; Mainau *et al.*, 2022). Cambios en la expresión facial también han sido asociados al dolor agudo (Gleerup *et al.*, 2015). Además, entre las repercusiones a nivel productivo se ha reportado un descenso en la vida productiva de vacas con mastitis clínica y reducción en la producción láctea cuando los episodios de mastitis son repetidos (Heravi Moussavi *et al.*, 2012). Estos cambios pueden

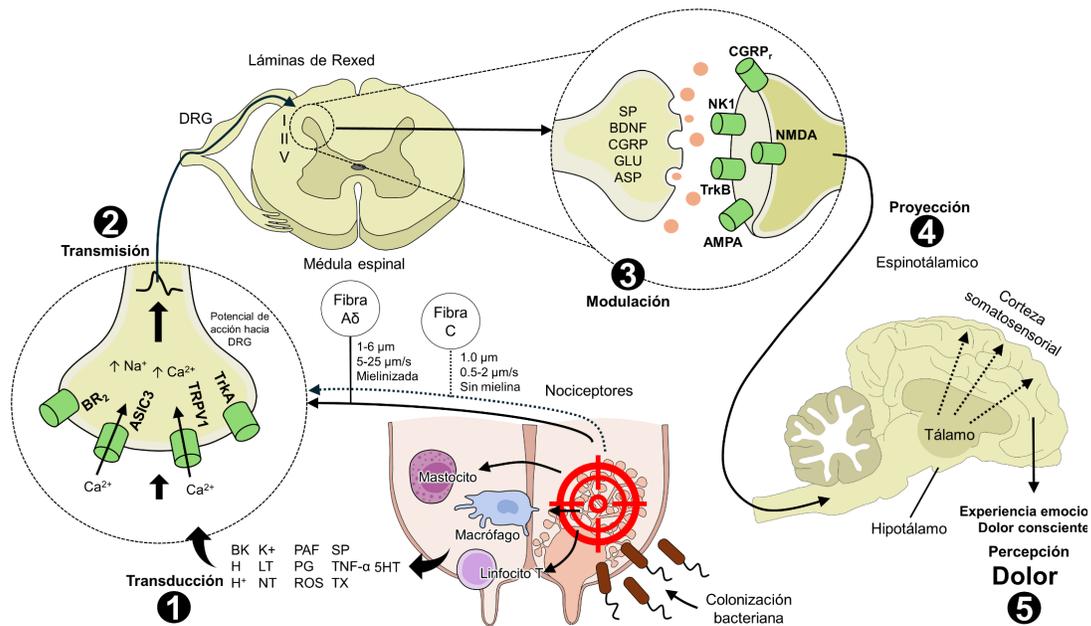
servir como indicadores para reconocer la presencia de un proceso inflamatorio en el tejido mamario. No obstante, la asociación entre estos indicadores y la severidad del proceso clínico de mastitis o el nivel de sensibilidad del dolor en rumiantes no se ha establecido por completo (Steagall *et al.*, 2021).

La percepción de dolor agudo en animales que transcurren bajo un proceso de mastitis debe ser controlada con analgésicos que permitan reducir el estímulo nocivo (Mota-Rojas *et al.*, 2022). Sin embargo, el uso de estos fármacos y su efecto sobre los cambios conductuales, indicadores productivos y salud de los animales aún se encuentra bajo estudio. Por tanto, el objetivo del presente artículo es analizar el efecto que el dolor por mastitis tiene en la respuesta conductual y la eficiencia productiva de rumiantes lecheros, así como su relación con la terapia analgésica, desinflamatoria y antimicrobiana.

## Neurobiología del dolor y su relación con la respuesta conductual

Existe una relación entre el dolor provocado por la mastitis y los cambios fisiológicos, endocrinos y conductuales asociados a mastitis. La figura 1 esquematiza el arco nociceptivo que consiste en cinco eventos: transducción, transmisión, modulación, proyección y percepción (Lamont *et al.*, 2000; Mota-Rojas *et al.*, 2016; Bell, 2018; Hernández-Avalos *et al.*, 2019; Mota-Rojas *et al.*, 2022). Desde una perspectiva anatómica, la inervación de la glándula mamaria en rumiantes proviene de los nervios lumbares y sacros para posteriormente ingresar como una fibra preganglionar a la porción blanca de la T12–L5 (Linzell, 1959). Durante el proceso inflamatorio de mastitis, la percepción de los mediadores inflamatorios secretados puede activar el arco nociceptivo.

**Figura 1.** Neurobiología del dolor durante un evento de mastitis



La colonización bacteriana y la liberación de mediadores proinflamatorios activan y sensibilizan nociceptores: las fibras A $\delta$  y C. Estos nociceptores son los encargados de transducir el estímulo doloroso a una señal eléctrica que es transmitida a la asta dorsal de la médula espinal. A nivel espinal, la modulación del estímulo nociceptivo se lleva a cabo con la participación de neurotransmisores excitatorios e inhibitorios. Los neurotransmisores excitatorios se encargan de proyectar la señal eléctrica hacia el tálamo, a través de la vía espinotalámica. A nivel cerebral, el tálamo y sus conexiones con la corteza somatosensorial son necesarias para la percepción consciente del dolor y los cambios fisiológicos y de comportamiento. AMPA: ácido  $\alpha$ -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazol propiónico; AP: potencial de acción; ASIC3: canal iónico 3 sensible a los ácidos; ASP: aspartato; BDNF: factor neurotrófico derivado del cerebro; BK: bradisinina; BR2: receptor 2 de bradisinina; CGRP: péptido relacionado con el gen de la calcitonina; CGRP: receptor peptídico relacionado con el gen de la calcitonina; GRD: ganglio del asta dorsal; GLU: glutamato; H<sup>+</sup>: iones de hidrógeno; H: histamina; IL: interleucinas; LT: leucotrienos; NK1: receptor de neuroquinina 1; NMDA: N-metil-D-aspartato; NT: neurotrofinas; PAF: factor activador de plaquetas; PG: prostaglandinas; ROS: radicales libres; SP: sustancia P; TNF: factor de necrosis tumoral; TrkA: receptor quinasa A de tropomiosina; TrkB: quinasa B relacionada con el receptor de tropomiosina; TRPV1: potencial transitorio del receptor vanilloide tipo 1; TX: tromboxanos; 5HT: serotonina.

En la glándula mamaria se ha reportado la existencia de canales de potencial transitorio o TRP (TRPV1, TRPC5 y TRPC7). Asimismo, estudios histológicos del epitelio de la glándula mamaria han encontrado receptores TRPV4, TRPV5 y TRPV6 (VanHouten and Wysolmerski, 2007). Los receptores incrementan su nivel de expresión durante la lactancia para mediar la entrada de  $Ca^{+2}$  y permitir la transducción de señales mecánicas, térmicas y osmóticas en diferentes tejidos (Gao *et al.*, 2003; Islam *et al.*, 2020; Liu *et al.*, 2022). Durante los procesos de mastitis, algunos estudios han mostrado un incremento en la actividad de los TRPV (Rasmussen *et al.*, 2011). De manera local se produce la liberación secundaria de mediadores inflamatorios como prostaglandinas, interleucinas, citocinas, lípidos y productos de lipooxigenasa (Larson *et al.*, 2019). Estas sustancias inducen cambios bioquímicos que reducen el potencial de acción en las neuronas periféricas y facilitan la transmisión de los estímulos dolorosos que llevan así a los fenómenos de hiperalgesia (Bell, 2018; Kania and Bracha, 2020). Por tanto, la transducción y transmisión de los estímulos nocivos desde la glándula mamaria hacia la médula espinal dan origen a la percepción de dolor durante el proceso de mastitis.

Por otra parte, el procesamiento central del estímulo nociceptivo involucra la integración, procesamiento y reconocimiento de la actividad neuronal en distintas regiones del cerebro (Wiese and Yaksh, 2009). Las sinapsis que parten desde el tálamo a la región basolateral de la amígdala y hacia la corteza somatosensorial son las responsables de los cambios afectivos que involucran alteraciones en el comportamiento o postura corporal (Brooks and Tracey, 2005; Garland, 2012; Corder *et al.*, 2019; Larson *et al.*, 2019).

La explicación fisiológica de la respuesta conductual también está relacionada con la activación de regiones como el sistema reticular activador, el cual permite la transferencia de información desde el tálamo e hipotálamo, además de transferir información a la corteza cerebral. Proyecciones hacia el hipocampo, sistema límbico y *locus coeruleus*, generan las respuestas emocionales y conductuales (Muir, 2009). Aunque se sugiere que la respuesta conductual puede variar en función de la severidad de la condición clínica de la mastitis y según el tipo de patógeno que pueda dar origen a una respuesta con mayor intensidad o mayor duración (Huzzey *et al.*, 2007; González *et al.*, 2008).

Por consiguiente, la conformación neuronal y sensitiva de la glándula mamaria facilita la producción de la sensación dolorosa en el animal que sufre mastitis en los rumiantes. De igual manera, debido a la participación de regiones como la corteza cerebral, sistema límbico, tálamo, hipotálamo y amígdala es posible la generación de una respuesta motora o conductual para preservar la integridad del organismo del animal que percibe dolor agudo debido a esta condición patológica.

## Respuesta conductual durante el dolor agudo ocasionado por mastitis

La mastitis es provocada por la colonización del tejido mamario por agentes bacterianos como *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* (Abebe *et al.*, 2016; Ndahetuye *et al.*, 2019; Singha *et al.*, 2021) los cuales inician una respuesta inmune local que desencadena un evento inflamatorio (Gomes *et al.*, 2016; Filor *et al.*, 2022). Esta respuesta induce dolor agudo y, con ello, reacciones posturales que podrían servir como indicadores de la percepción del dolor animal (Hernández-Avalos *et al.*, 2019; Herskin *et al.*, 2020; Gul *et al.*, 2022; Mainau *et al.*, 2022). En este sentido, Glerup (2017) menciona que el dolor es un mecanismo de protección ante la lesión de un tejido. Un ejemplo de esto se observa en animales con laminitis, donde los animales recargan su peso en la extremidad no afectada para evitar la estimulación nociceptiva en la pezuña con inflamación (Olechnowicz and Jaskowski, 2011). En el caso de mastitis en bovinos, el descenso de la actividad y el aislamiento social son cambios de comportamiento que podrían cumplir con esta función debido a que el animal evita la estimulación del tejido mamario por fuerzas físicas o mecánicas. Por tanto, estos indicadores pueden ser usados para el reconocimiento del dolor en esta especie, además de que dichos cambios reflejarían la incomodidad debida al proceso inflamatorio que se sucede en el tejido mamario (Fogsgaard *et al.*, 2015).

Estudios del comportamiento de vacas con mastitis clínica inducida con lipopolisacárido de *E. coli* han sido realizadas por Cycles *et al.* (2012) en 21 vacas lecheras. Los resultados mostraron que, dos días después de la inducción de mastitis, las vacas pasaron menos tiempo descansando (633.3 min/día vs. 707 min/día), sin reportar relaciones entre la disminución del comportamiento con el cuarto afectado. La reducción en el tiempo de descanso refleja la incomodidad generada por mastitis y puede conllevar un efecto negativo en la recuperación de los animales debido a que el descanso es un comportamiento fundamental en esta especie (Coria-Avila *et al.*, 2022).

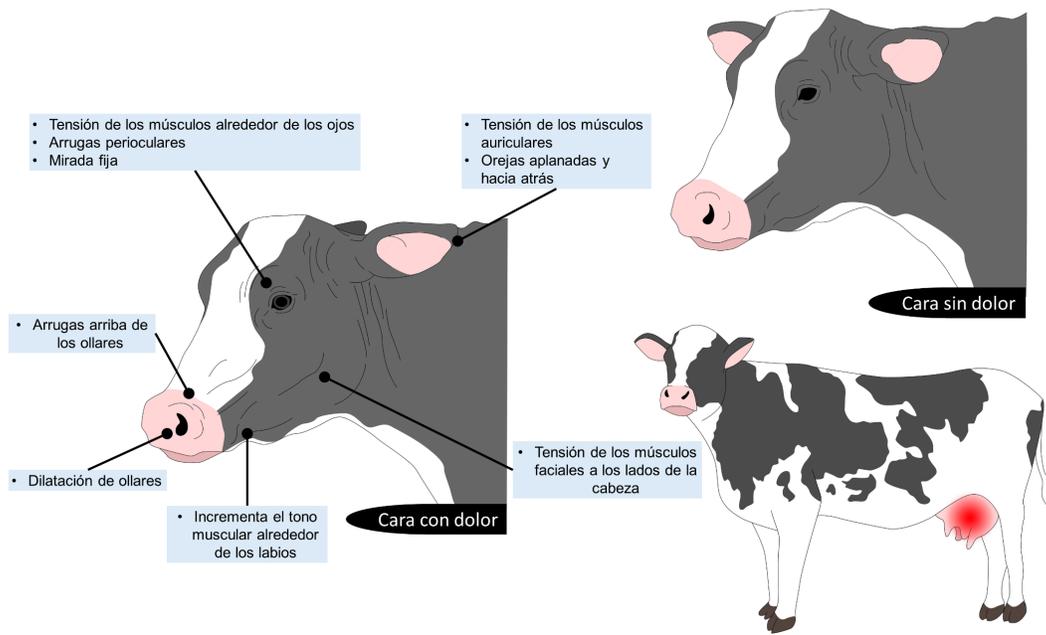
De manera similar, de Boyer des Roches *et al.* (2017) reportaron una disminución significativa en la frecuencia de descanso en seis vacas Holstein-Friesian inoculadas con *E. coli* por vía intramamaria. La reducción en el descanso tuvo asociación con incrementos de cortisol y concentraciones de haptoglobina. Por otra parte, Medrano-Galarza *et al.* (2012) evaluaron los cambios de comportamiento en vacas lecheras con mastitis clínica (n= 14) y sanas (n= 28) recibiendo infusión intramamaria de antibióticos. Aunque el uso de una terapia antibacteriana no influyó en la alteración conductual de los bovinos, se observó que los animales con mastitis pasaron menos tiempo recostados registraron un menor número de pasos y mayor frecuencia de patadas por minuto en comparación con el grupo control. De esta forma, la evaluación del comportamiento permite no sólo identificar alteraciones asociadas al dolor, sino que estos indicadores podrían servir como una forma indirecta de evaluar la efectividad de una terapia farmacológica.

De igual manera, de acuerdo con lo señalado por Antanaitis *et al.* (2022) 10 cows with subclinical mastitis (SCM en 650 vacas lecheras, el tiempo de rumia puede disminuir hasta un 60.9%, así como el consumo de agua y el bolo ruminal (48.4% y 8.6%, respectivamente). A partir de estos hallazgos se puede inferir que al disminuir el tiempo de descanso se afectan otros comportamientos como el alimenticio, lo que generaría un efecto negativo en la productividad.

Los cambios en indicadores de comportamiento derivado de la mastitis sugieren que es posible reconocer el dolor agudo en bovinos. No obstante, a la fecha, no existe una escala de dolor como se ha desarrollado durante otros procesos de dolor como intervenciones quirúrgicas. En este sentido, Tomacheuski *et al.* (2021) realizaron una revisión sistemática sobre el uso de escalas de clasificación del dolor en animales de granja y la construcción de escalas de evaluación del dolor agudo como la UNESP-Botucatu Unidimensional Composite Pain Scale (UCAPS) y la escala de dolor en bovinos. Al evaluar el dolor por orquiectomía en 10 bovinos Nelore y Angus, se encontró una correlación fuerte entre la UCAPS, la escala de dolor bovina, la escala numérica, y la escala visual análoga (0.76–0.78), obteniendo una especificidad y sensibilidad de 81% y 82%, respectivamente (Tomacheuski *et al.*, 2023). Debido a estas observaciones, además de las características de sensibilidad y especificidad se han logrado reproducir en otros experimentos que han llevado a la validación de la UCAPS en bovinos (de Oliveira *et al.*, 2014; della Rocca *et al.*, 2017). Este tipo de escalas también integra cambios en la postura (e.g., posición de la cabeza o la espalda), así como el nivel de alerta de los animales y la expresión facial (Figura 2) (Gleerup *et al.*, 2015; Peters *et al.*, 2015; Ginger *et al.*, 2023). Sin embargo, hasta el momento sólo se han evaluado procesos quirúrgicos y, por tanto, su uso para reconocer el dolor durante eventos de mastitis necesita ser estudiado.

En resumen, la mastitis en el bovino induce cambios en el comportamiento, principalmente en el tiempo de descanso y movilidad. Asimismo, el tiempo de rumia y consumo de alimento suele reducirse a causa de la incomodidad de esta patología. Entonces, es posible reconocer y posiblemente evaluar el grado de dolor que percibe este tipo de animal y las alteraciones que pueden suponer a nivel productivo.

**Figura 2.** Expresión facial de bovinos con dolor



El estudio del dolor y la asociación de unidades de acción facial ha hecho posible identificar cambios particulares en la expresión facial de los bovinos que experimentan dolor, los cuales se esquematizan en el rostro de la izquierda.

## Afectación de la producción de rumiantes lecheros por mastitis

La mastitis y el dolor inherente en este evento modifica el comportamiento de rumiantes e incide en algunos parámetros productivos develando sus efectos en la reducción de la producción total de leche o de la vida productiva de las hembras, como lo reporta Heravi Moussavi *et al.* (2012) en bovinos Holstein con episodios repetidos de mastitis.

En vacas primíparas con mastitis, Puerto *et al.* (2021) reportó pérdidas acumulativas de producción láctea de entre 382 y 989 kg por lactancia, lo que representa pérdidas monetarias aproximadas de 228–722 dólares. Shuster *et al.* (1991) menciona que esto se debe al efecto de las endotoxinas que

generan hipogalactia y suprimen la eyección láctea en un promedio de  $33 \pm 5\%$  durante la primera lactancia, y de  $17 \pm 3\%$  durante la segunda lactancia. Además, el contenido de grasa y lactosa se redujo en un  $27 \pm 8\%$  y  $21 \pm 5\%$ , respectivamente. De manera similar, se han reportado correlaciones negativas entre el grado de inflamación de la ubre y la producción láctea de vacas lactantes ( $r = -0.59$ ) (Wahyu Harjanti and Sambodho, 2020).

La reducción en la producción láctea también depende del agente etiológico. En este sentido, reducciones de hasta 4.9 kg diarios se han encontrado en casos de mastitis por *Streptococcus* sp., *S. aureus*, *E. coli* y *Klebsiella* (Wilson *et al.*, 2008). De manera similar, en cabras Baladi se detectó que casos de mastitis crónica causadas por *S. aureus*, *Corynebacterium pyogenes*, *Salmonella* spp., y *E. coli* suprimen por completo la eyección de leche en los cuartos afectados. Además, el 30% de los casos no respondieron a tratamientos con antibiótico sistémico e intramamario debido a granulomatosis supurativa en el tejido mamario (Ahmed *et al.*, 2020). En la misma especie (cabras israelitas), casos de mastitis subclínica redujeron significativamente la cantidad de leche producida por ordeño (0.69 kg) en comparación con animales sanos (0.98 kg/ordeña) (Leitner *et al.*, 2004).

La presentación de mastitis clínica también tiene efectos negativos en otros parámetros como las tasas de gestación. Un estudio que evaluó el desempeño reproductivo de vacas con y sin mastitis, encontrando que sólo el 42% y 38% de vacas con mastitis generada por *E. coli* y *Streptococcus* sp., respectivamente, quedaron gestantes. En contraste, el 78% de los animales sin la patología lograron parir (Wilson *et al.*, 2008).

Además, estudios recientes han determinado una asociación entre la predisposición de las hembras a sufrir mastitis cuando provienen de un conteo mensual de células somáticas superior a 800,000 (Sadeghi *et al.*, 2023). Por lo tanto, la identificación y control de mastitis en rumiantes lecheros es relevante no sólo para la salud de las hembras y la afectación de sus parámetros productivos, sino también porque implica repercusiones en la progenie de éstas.

## Evaluación del dolor a través de la expresión facial

El estudio del reconocimiento del dolor en animales ha considerado la caracterización de las unidades de acción facial como un indicador relevante (Dawkins and Krebs, 1978; Waller and Micheletta, 2013; Waller *et al.*, 2020). Estas modificaciones yacen de entender que estas especies a menudo no expresan cambios evidentes en el comportamiento (Gleerup *et al.*, 2015; Lezama-García *et al.*, 2019; Mota-Rojas *et al.*, 2020)

La explicación fisiológica del origen de la expresión facial asociada al dolor en los rumiantes surge por la participación de la amígdala, el sistema límbico y mediadores como las catecolaminas y cortisol, los cuales son secretados durante estados aversivos como el dolor, miedo y ansiedad (Salguero-Galland

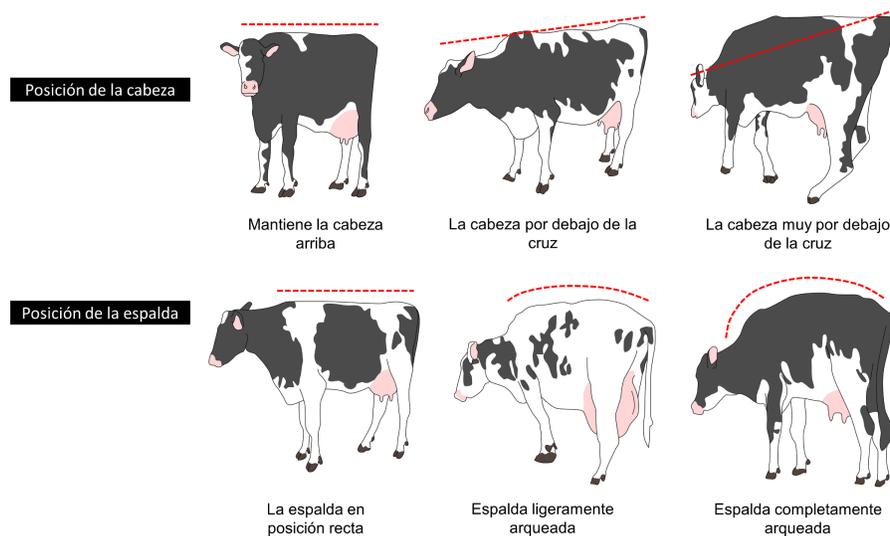
and Panduro, 2001; Afifi and Bergman, 2006). De hecho, la amígdala recibe tanto señales somatosensoriales, auditivas y visuales en el complejo núcleo medial, mismo que responde por las vías aferentes como la estría medial y la vía amígdalo-fungal ventral que tiene conexiones con estructuras como el hipocampo, bulbo olfatorio, hipotálamo, corteza y neocorteza (Purves *et al.*, 2001; Afifi and Bergman, 2006; Xing *et al.*, 2021).

Por ello, la amígdala y sus proyecciones hacia el núcleo accumbens (Berridge and Kringelbach, 2008), gris periacueductual (Jhang *et al.*, 2018), corteza orbitofrontal (Rudebeck and Rich, 2018) y corteza cingulada anterior son indispensables para generar cambios en la expresión facial (Bian *et al.*, 2019). Adicionalmente, las conexiones de la amígdala con las zonas motoras corticales (corteza motora primaria, corteza ventro-lateral premotora y área motora suplementaria) son las encargadas de regular la actividad de los músculos faciales conocidos como músculos miméticos, un subgrupo inervado por el nervio facial identificado como VII par craneal (Morecraft *et al.*, 2001, 2007; Lezama-García *et al.*, 2019). Cabe mencionar que la corteza motora primaria se encarga del control de los músculos faciales inferiores, mientras la corteza motora suplementaria controla la actividad de los músculos faciales superiores mediante el nervio facial (Gothard, 2014). Los cambios faciales autónomos están controlados por el núcleo facial, mientras que los voluntarios están mediados por la corteza motora (Hoffman *et al.*, 2007).

El entendimiento del origen neurobiológico de la expresión facial ha llevado a sugerir que el reconocimiento de estos movimientos puede ser usado como indicadores del dolor agudo en animales como los bovinos (Gleerup, 2017). De acuerdo con lo reportado por Müller *et al.* (Müller *et al.*, 2019) los rumiantes pueden generar diferentes movimientos faciales, denominados unidades de acción facial (AU), tales como movimiento de orejas hacia atrás, dilatación de narinas, apertura de la boca, y levantamiento de cejas (también conocido como tensión orbital).

En el bovino se ha demostrado que estos cambios en la expresión facial pueden ayudar a reconocer el dolor agudo durante prácticas dolorosas como la castración (Gleerup *et al.*, 2015) (Figura 3); sin embargo, no se han detectado estudios que lo hayan empleado en casos de mastitis. En pequeños rumiantes, McLennan *et al.* (2019) estandarizaron una escala de expresión facial en ovinos con mastitis y pioderma, describiendo que los animales enfermos presentaron más cambios en la expresión facial, lo cual se redujo con la administración de analgésicos. Con base a estas observaciones se ha sugerido que posiblemente dichos cambios pueden ayudar a reconocer condiciones como poliartritis o mastitis (Tschoner, 2021). Asimismo, un estudio realizado por Müller *et al.* (2019) evaluó las AU específicas en 35 bovinos de carne Nellore antes y durante el marcado con hierro caliente. Estos autores encontraron que las AU que se presentaron con mayor frecuencia en el bovino con dolor fueron las fosas nasales dilatadas, boca abierta, y tensión orbital, reafirmando la idea de que es posible observar cambios en la expresión facial de bovinos.

**Figura 3.** Cambios en la postura corporal asociados a dolor en bovinos lecheros



Eventos que generen activación nociceptiva (p. ej., cojeras) generan cambios en la postura que, en conjunto con la expresión facial y el estudio del comportamiento, ayudan a categorizar el nivel de dolor. Entre estos cambios, la posición de la cabeza con respecto al cuerpo y el arqueamiento de la espalda son dos signos comúnmente empleados para el reconocimiento del dolor.

Otros autores como Glerup *et al.* (2015) han desarrollado la escala de dolor de bovinos *Cow Pain Scale*, en la que se consideran seis comportamientos como la posición de la cabeza, posición de orejas, expresión facial, respuesta al acercamiento y la posición del dorso. Al aplicar esta escala en 150 vacas lecheras Holstein con diferentes condiciones dolorosas, con y sin tratamiento analgésico, se encontró que la puntuación de la escala fue tres puntos más elevada que en aquellos animales sin dolor. Además, observó que esta escala presentó una sensibilidad y especificidad del 75%. Un resultado similar se ha documentado por de Oliveira *et al.* (2014), quienes construyeron la Escala multidimensional de dolor de la universidad, la cual fue aplicada en 40 bovinos sujetos a castración quirúrgica. Esta escala considera aspectos como la expresión facial, parámetros fisiológicos y misceláneos. Los resultados mostraron que la puntuación obtenida tuvo una fuerte correlación positiva con la puntuación obtenida en la Escala análoga visual ( $r= 0.84$ ), la Escala descriptiva ( $r= 0.83$ ) y la numérica ( $r= 0.85$ ). Adicional-

mente se encontró que los puntajes en la escala disminuyeron con el tratamiento analgésico. De esta forma, dicha evidencia muestra que el reconocimiento de las expresiones faciales durante eventos de dolor agudo ayuda a incrementar la sensibilidad de las escalas de evaluación e, incluso, se ha llegado a sugerir el uso de esta herramienta en conjunto con tecnologías de reconocimiento artificial (McLennan and Mahmoud, 2019). Actualmente, tecnologías de inteligencia artificial están siendo empleadas para reconocer de manera automatizada los cambios en la expresión facial asociada al dolor (Neethirajan, 2021). Ejemplo de esto son los estudios realizados por Lencioni *et al.* (2021) en caballos después de la castración y en ovejas con mastitis y laminitis (McLennan y Mahmoud, 2021).

Por tanto, aunque no existen estudios evaluando el efecto del dolor por mastitis en la expresión facial de bovinos, la activación el arco nociceptivo y la participación de la amígdala y zonas corticales sugieren que la expresión facial puede ser útil para reconocer el dolor.

## Terapéutica de la mastitis

La mastitis clínica o subclínica es transmitida por vía transversal (contacto de vaca a vaca en fomites) durante el ordeño (Royster and Wagner, 2015). Las bacterias coliformes son los principales agentes involucrados en la mastitis (incidencia del 24%), mientras que los estreptococos no agalactiae y los estafilococos coagulasa negativos representan incidencias de 14% y 9%, respectivamente (Schukken *et al.*, 2011, 2013). Dado que la colonización de bacterias puede ser el agente primario, el tratamiento oportuno con antibióticos es parte clave del plan de manejo para la mastitis (Roberson, 2012).

## Antibioterapia

Los antibióticos reducen o eliminan el crecimiento de los agentes infecciosos (Hossain *et al.*, 2017; Ruegg, 2022). De acuerdo con Tomazi *et al.* (2020)(b, la incidencia del uso de antimicrobianos en casos de mastitis bovina es de 21.9 dosis diaria definida (DDD) por cada 1,000 días en lactancia. Los fármacos intramamarios más empleados fueron los aminoglucósidos (11.7 DDD), seguido del uso en conjunto de la tetraciclina, aminoglucósidos y polipéptidos (10.3 DDD). Por otra parte, los fármacos sistémicos más empleados fueron: fluoroquinolonas (6.1 DDD), penicilina (3.9 DDD) y la combinación de sulfonamida y piridimina (3.6 DDD). El cuadro 1 muestra la tasa de curación de diferentes antibióticos usados.

**Cuadro 1.** Evidencia de la tasa del ritmo de curación de antibióticos usados en bovinos con mastitis clínica

Antibiótico	Dosis	Vía de administración	Agente patógeno	Tasa Curación (%)	Referencia
Amoxicilina Eritromicina Cloxacilina Pirmilicina	-	IM	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	82 76 73 44	(Wilson <i>et al.</i> , 1999)
Cloxacilina	200 mg/kg/48 h	IMm	<i>Staphylococcus aureus</i>	6.2–80.6	(McDougall <i>et al.</i> , 2022)000 cells/mL
Enrofloxacin	5 mg/ kg dos veces	IV	<i>Escherichia coli</i>	46.7–57.1	(Suojala <i>et al.</i> , 2010)
Enrofloxacin clo- rhidrato-dihidrato Ceftiofur HCl	-	IMm	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Streptococcus uberis</i> <i>Corynebacterium bovis</i>	65–100	(Alfonseca-Silva <i>et al.</i> , 2021)
Ceftiofur	125 mg/kg	IMm	<i>Staphylococcus aureus</i>	42–87	(Truchetti <i>et al.</i> , 2014)
Pirlimicina	50 mg/kg	IMm	<i>Streptococcus spp.</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	44.4–95	(Gillespie <i>et al.</i> , 2002)
Cefazolina Enrofloxacin Orbofloxacin	5 mg/ kg	IM, IV	<i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Escherichia coli</i>	52.8–86	(Sugiyama <i>et al.</i> , 2022)
Lactoferrina bovina Penicilina G	1.5 g 100, 000 UI	IMm	<i>Staphylococcus aureus</i>	45.5	(Petitclerc <i>et al.</i> , 2007)

IM: intramuscular; IV: intravenoso; IMm: intramamaria; UI: unidades internacionales.

La elección de la vía de administración (sistémica o intramamaria) depende de la severidad del cuadro de mastitis (mastitis clínica no complicada o complicada requiere tratamiento sistémico) (Roberson, 2012). La efectividad de la terapia sistémica depende de la concentración plasmática de los fármacos para traspasar la barrera sangre-leche. Por ejemplo, si el agente es sensible a la penicilina, se recomiendan dosis de 16,500 UI/kg, o 10 mg/ kg IV de oxitetraciclina, eritromicina a 12.5 mg/kg. Sin embargo, factores como el número de cuartos afectados, el historial de mastitis, el recuento de células somáticas, el aislamiento bacteriano y la sensibilidad *in vitro* e *in vivo* pueden limitar la efectividad de la terapia sistémica (MacDiarmid, 1978; Degen *et al.*, 2015).

Al comparar la efectividad de la administración IM de hidioduro de penetamato y la administración por intramamaria de ampicilina/cloxacilina en bovinos lactantes con diagnóstico de mastitis

clínica, Sérieys *et al.* (2005) reportó que la administración sistémica redujo el conteo de células somáticas a menos de 250,000 células/mL en comparación con el tratamiento local. De igual forma, Pyörälä y Pyörälä (1998) evaluaron la eficacia de la administración parenteral de penicilina G, espiramicina o enrofloxacin en 487 bovinos con mastitis. Ellos encontraron que la tasa de curación para *S. aureus*, estafilococos coagulasa negativo y estreptococos fue del 34%, 76% y 65%, respectivamente. Además, se observó que la mastitis causada por *E. coli* presentó una tasa de curación del 74% en animales tratados con penicilina G, mientras que en los no tratados fue del 71%. A pesar de estos resultados, se muestra de forma clara que la administración de antibióticos contribuye al tratamiento de la mastitis pero que es importante considerar el agente causal, el cuadro clínico e incluso las estrategias preventivas adoptadas en las unidades de producción.

Por consiguiente, el uso de antibióticos es parte fundamental para el control del crecimiento bacteriano en el tejido mamario afectado durante el proceso de mastitis clínica. Aunque el uso de estos fármacos promueve la curación, un tratamiento integral debería considerar la adición de fármacos que permitan reducir y manejar el dolor con el fin de aumentar la efectividad del tratamiento.

## Analgésicos no esteroideos (NSAID)

Estos fármacos se consideran claves dentro del tratamiento de la mastitis debido a que el crecimiento bacteriano y la presencia de sustancias inflamatorias como el lipopolisacárido generan una reacción inflamatoria local debido a la quimiotaxis de células inmunes como los neutrófilos que liberan citocinas, interleucina (IL)-1, IL-10, factor de necrosis tumoral- $\alpha$  y prostaglandinas (Pyörälä, 2003; McDougall *et al.*, 2015). El uso de este tipo de analgésicos también busca prevenir la sensibilización periférica y central en el arco nociceptivo (Hernández-Avalos *et al.*, 2020).

Al respecto de su uso, Shock *et al.* (2018) evaluaron el efecto de la administración de una dosis única de meloxicam oral sobre el nivel productivo y el estado de salud en 1,009 vacas. Se identificó que los animales tratados produjeron 0.64 kg más leche al día en comparación con los animales control. También se reportó que la probabilidad de tener mastitis clínica fue 0.75 veces menor en comparación con el grupo control. En otro estudio similar, Fitzpatrick *et al.* (2013) evaluaron el efecto del meloxicam sobre la sensibilidad al dolor y el tiempo de rumia en 12 vacas lecheras con mastitis clínica inducida con lipopolisacáridos (LPS) de *E. coli*. Estos investigadores observaron que el tiempo de rumia no presentó cambios en los animales. No obstante, el meloxicam redujo el edema de la ubre y la temperatura corporal posterior a la infusión del LPS en comparación con los animales control. Esto indicaría de forma clara que estos analgésicos permiten controlar la respuesta inflamatoria local, además del dolor y los efectos clínicos de este signo, lo cual ayuda a modular e incluso a disminuir los cambios de comportamiento, lo que representa una mayor ventaja en comparación con el uso de antibióticos.

McDougall *et al.* (2016) evaluaron el efecto de la adición del meloxicam a la terapia antimicrobiana (cefalexina y kanamicina) en 509 bovinos lecheros con mastitis clínica. Observaron que la tasa de curación bacteriológica fue mayor en los animales que recibieron meloxicam, aunque no se observó efecto en el conteo de células somáticas o la proporción de glándulas de las que no se aislaron bacterias. Asimismo, en un estudio adicional realizado por este mismo grupo de investigación se observó que la adición de meloxicam redujo el número de animales enfermos al combinar una terapia antibacteriana con analgésicos (+meloxicam= 16.4% vs. control= 28.2%) así como el número de células somáticas en el cuarto afectado (+meloxicam=  $550 \pm 48$  vs. control=  $711 \pm 62$ ) (McDougall *et al.*, 2009).

Otros analgésicos no esteroideos (NSAID) que se han empleado y se sugieren con un efecto similar al meloxicam son la flunixin meglumina. Este analgésico ha mostrado reducir el proceso inflamatorio provocado por la infusión intramamaria de LPS y, además, incrementa el tiempo de rumia en los animales (Chapinal *et al.*, 2014). De igual forma, al comparar las temperaturas superficiales de los cuartos afectados con mastitis, se encontró que los animales que recibieron flunixin meglumina tuvieron temperaturas de la ubre bajas en comparación con los animales control (Anderson *et al.*, 1986) evaluando el efecto antipirético y antiinflamatorio del flunixin meglumina en 16 bovinos Holstein con mastitis clínica inducida con coliformes, determinó un incremento en el potencial antioxidante y el tratamiento no redujo los niveles de especies reactivas de oxígeno, aunque se aminoraron los niveles de algunos subproductos como el 5-isoprostano- $2\alpha$  y 8-isoprostano- $2\alpha$ , indicativos de una mejora del estado oxidativo. Por ello, implementar el uso de flunixin meglumina en el tratamiento de rumiantes con mastitis requiere investigaciones futuras (Wagner *et al.*, 2021).

El carprofeno es otro analgésico que se ha sugerido para el tratamiento de mastitis. Krömker *et al.* (2011) evaluaron la eficacia del uso combinado de carprofeno y un antibiótico local en 69 vacas de 3 hatos lecheros con diagnóstico de mastitis clínica. Observaron que el uso de carprofeno causó 3% menos casos de reinfecciones. Además, se constató que la producción de leche fue significativamente mayor con el uso del analgésico. De manera similar, Vangroenweghe *et al.* (2005) observaron que el tratamiento con carprofeno disminuyó la producción de prostaglandina E2 y tromboxano B2 en leche, lo cual se asocia a la inhibición del COX-2 para interrumpir la cascada inflamatoria.

Con el ketoprofeno, Latosinski *et al.* (2020) evaluaron su eficacia como tratamiento para la mastitis clínica en tres hatos de vacas Holstein. El cociente de curación clínica fue del 83.08%, mientras que el porcentaje de recaída y recurrencia de mastitis clínica fue de 19.23% y 17.21%, respectivamente, sin reportar diferencias significativas en el recuento de célula somáticas. En cambio Shpigel *et al.* (1994) informaron que la adición de 2 g de ketoprofeno con 20 g de sulfadiazina y 4 g de trimetoprim incrementó la tasa de recuperación en un 11% en comparación con el grupo placebo. Debido a ello, los autores sugieren que el ketoprofeno mejora la recuperación de la mastitis clínica en bovinos. Cabe resaltar que los resultados contrastantes en la tasa de recuperación podrían explicarse por factores que afectan la eficacia del fármaco como la dosis y la selectividad hacia el COX-2. De forma similar, en una investigación se

comparó la eficacia de la fenilbutazona y la dipirona como tratamiento para mastitis aguda, resultando que la tasa de recuperación fue similar en ambos tratamientos, apareciendo los dos como una terapia analgésica eficaz en animales con mastitis (Shpigel *et al.*, 1996). Sin embargo, se ha revelado que el rango terapéutico y la presencia de efectos tóxicos es común en el bovino con mastitis clínica (Dascanio *et al.*, 1995). En consecuencia, este hecho reafirma la necesidad de determinar el rango terapéutico y la eficacia clínica de los analgésicos como tratamiento de la mastitis clínica en bovinos lecheros.

Mansion-de Vries *et al.* (2015) sostienen que una terapia efectiva contra la mastitis clínica debe considerar además de antibióticos, el uso de NSAID, con la finalidad de controlar el proceso inflamatorio local y el dolor agudo que provoca la presencia de citocinas proinflamatorias (p.ej., interleucinas o prostaglandinas) (Hillerton and Semmens, 1999; Pyörälä, 2003; Ruegg, 2018). No obstante, el uso de analgésicos en bovinos lecheros es limitado (Thomsen *et al.*, 2012), tal como lo menciona Browne *et al.* (2022) en una encuesta aplicada a 116 veterinarios ganaderos. En dicha encuesta se encontró que el uso de analgésicos asociado a patologías como la mastitis fue bajo, lo cual puede ser una de las limitaciones sobre el uso de los analgésicos. Entre los factores identificados en el estudio destacó la falta de capacitación acerca del uso de analgésicos y el costo de los fármacos.

Finalmente, es necesario poner de relieve que la nanotecnología se ha sugerido como un método para mejorar la eficacia tanto del tratamiento analgésico como antibiótico. Por ejemplo, Jyothi *et al.* (2022) han propuesto el uso de nanopartículas lipídicas en hidrogel de meloxicam para mejorar la penetración y la vida media del fármaco. De igual forma, El-Aziz *et al.* (2021) informaron que el uso de un antibiofilm de aceite de canela y de nanopartículas de plata tiene un alto potencial antimicrobiano contra *Staphylococcus agalactiae*, uno de los principales agente involucrados en mastitis.

Por consiguiente, los NSAID's son fármacos que han demostrado ser efectivos en controlar el dolor agudo e inflamación provocado por la mastitis. No obstante, se ha cuestionado la efectividad de los diferentes NSAID debido al nivel de selectividad sobre la sustancia que debe ser considerada para la elección del tratamiento.

## Perspectivas

Los estudios sobre mastitis en bovinos lecheros han mostrado que esta afección induce dolor agudo; sin embargo, aún existen vacíos importantes en la investigación que deben ser atendidos como la relación entre los cambios de comportamiento y posturales que pueden ayudar a diagnosticar el nivel de dolor para seleccionar una acción terapéutica. Debido a ello, es necesario el desarrollo de escalas clínicas que permitan categorizar el nivel de dolor agudo que perciban este tipo de animales con la finalidad de determinar el punto de intervención analgésica como se ha observado en otras especies (Hernández-Avalos *et al.*, 2019).

La expresión facial es otra variable que no se ha evaluado suficientemente en bovinos (Gleerup *et al.*, 2015; Gleerup, 2017). Aunque se han reconocido cambios en la expresión facial de rumiantes, su asociación con mastitis y otros procesos inflamatorios requiere de estudios en el futuro. Adicionalmente, la evaluación del dolor en animales de granja requiere el reconocimiento del mismo por personal capacitado. Diversos estudios han mostrado que el reconocimiento del dolor depende de la experiencia del evaluador, de su conocimiento sobre la especie, e inclusive del sexo del trabajador (p. ej., las mujeres suelen otorgar mayores puntajes en las escalas de dolor) (Kielland *et al.*, 2009; Shi *et al.*, 2022). Por ello, ofrecer asesorías a los médicos veterinarios encargados de bovinos lecheros podría ser una herramienta que ayude a mejorar la identificación de cambios de comportamientos o fisiológicos asociados a mastitis.

En cuanto al tratamiento, el uso de antibióticos junto con analgésicos mejora la efectividad de ambos (Hossain *et al.*, 2017; McDougall *et al.*, 2022). Sin embargo, es necesario realizar investigación enfocada en el uso de esta combinación que puedan ayudar a reducir el dolor agudo, además de controlar el proceso infeccioso, lo que podría reducir el tiempo de recuperación clínica e infecciosa en comparación con el uso individual de los diferentes fármacos.

## CONCLUSIONES

La mastitis es un evento clínico que debido a la fisiopatología de la enfermedad y a las características neuro-anatómicas de la glándula mamaria, involucra la percepción de dolor agudo. La expresión clínica de este signo en rumiantes se puede reconocer mediante los cambios de comportamiento, como se ha documentado en este trabajo, con la reducción del interés por el entorno aunado a una menor actividad física, apetito, rumia y tiempo de descanso que deriva en menor ganancia de peso. Entre otros cambios observados, destaca la modificación de postura, presencia de cojeras y pelo áspero en conjunto con taquipnea y rechino de dientes. Todos estos signos en conjunto pueden ser usados como indicadores específicos de la percepción de dolor durante la mastitis. El uso conjunto de estos indicadores con la expresión facial asociada al dolor agudo podría incrementar la posibilidad de reconocerlo de forma más oportuna.

Por otro lado, la terapia de la mastitis está enfocada al uso de antibióticos que reducen el crecimiento bacteriano; sin embargo, es necesario reconocer que estos fármacos solo ayudarán a controlar el proceso infeccioso, pero no a mitigar el dolor. Por ello es necesario considerar el uso de analgésicos como los NSAID que permiten tanto reducir el proceso inflamatorio como controlar el dolor severo, contribuyendo a disminuir el tiempo de recuperación e incrementar la posibilidad de cura clínica en los animales afectados.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abd El-Aziz, N. K., Ammar, A. M., El-Naenaey, E. Y. M., El Damaty, H. M., Elazazy, A. A., Hefny, A. A., *et al.*, 2021, “Antimicrobial and antibiofilm potentials of cinnamon oil and silver nanoparticles against *Streptococcus agalactiae* isolated from bovine mastitis: new avenues for countering resistance”, *BMC Veterinary Research*, 17:136. doi: 10.1186/s12917-021-02842-9.
- Abebe, R., Hatiya, H., Abera, M., Megersa, B., y Asmare, K. 2016, “Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia”, *BMC Veterinary Research*, 12:270. doi: 10.1186/s12917-016-0905-3.
- Affi, A., y Bergman, R., 2006, *Functional Neuroanatomy*, McGrawHill, USA.
- Ahmed, Y., Ezzo, O. H., y Mansour, S., 2020, “Some Udder Problems associated with productivity in Goats”, *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*, 51:1–9. doi: 10.21608/ejvs.2019.13869.1087.
- Alfonseca-Silva, E., Cruz-Villa, J. C., Gutiérrez, L., and Sumano, H., 2021, “Successful treatment of recurrent subclinical mastitis in cows caused by enrofloxacin resistant bacteria by means of the sequential intramammary infusion of enrofloxacin HCl-2H<sub>2</sub>O and ceftiofur HCl: a clinical trial”, *Journal of Veterinary Science*, 22:e78. doi: 10.4142/jvs.2021.22.e78.
- Anderson, K. L., Smith, A. R., Shanks, R. D., Davis, L. E., y Gustafsson, B. K., 1986, “Efficacy of flunixin meglumine for the treatment of endotoxin-induced bovine mastitis”, *American Journal of Veterinary Research*, 47:1366–1372.
- Antanaitis, R., Juozaitienė, V., Malašauskienė, D., Televičius, M., Urbutis, M., Rutkauskas, A., *et al.*, 2022, “Identification of Changes in Rumination Behavior Registered with an Online Sensor System in Cows with Subclinical Mastitis”, *Veterinary Sciences*, 9:454. doi: 10.3390/vetsci9090454.
- Bell, A., 2018, “The neurobiology of acute pain”, *The Veterinary Journal* 237:55–62.
- Berridge, K., y Kringelbach, M., 2008, “Affective neuroscience of pleasure: Reward in humans and animals”, *Psychopharmacology*, 199:457–480.
- Bian, X., Qin, C., Cai, C., y Zhou, Y., 2019, “Anterior cingulate cortex to ventral hippocampus circuit mediates contextual fear generalization”, *Journal of Neuroscience*, 39:5728–5739.
- Brooks, J., y Tracey, I., 2005, “REVIEW: From nociception to pain perception: imaging the spinal and supraspinal pathways”, *Journal of Anatomy*, 207:19–33. doi: 10.1111/j.1469-7580.2005.00428.x.
- Browne, N., Conneely, M., y Hudson, C., 2022, “Use of Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs and Attitudes to Pain in Pasture-Based Dairy Cows: A Comparative Study of Farmers and Veterinarians”, *Frontiers in Veterinary Science*, 9:912564. doi: 10.3389/fvets.2022.912564.
- Chapinal, N., Fitzpatrick, C. E., Leslie, K. E., y Wagner, S. A., 2014, “Short Communication: Automated assessment of the effect of flunixin meglumine on rumination in dairy cows with endotoxin-induced mastitis”, *Canadian Journal of Animal Science*, 94:21–25. doi: 10.4141/cjas2013-071.

- Chen, S., Zhang, H., Zhai, J., Wang, H., Chen, X., y Qi, Y., 2023, “Prevalence of clinical mastitis and its associated risk factors among dairy cattle in mainland China during 1982–2022: a systematic review and meta-analysis”, *Frontiers in Veterinary Science*, 10:1185995. doi: 10.3389/fvets.2023.1185995.
- Corder, G., Ahanonu, B., Grewe, B. F., Wang, D., Schnitzer, M. J., y Scherrer, G., 2019, “An amygdalar neural ensemble that encodes the unpleasantness of pain”, *Science*, 363:276–281. doi: 10.1126/science.aap8586.
- Coria-Avila, G. A., Pfaus, J. G., Orihuela, A., Domínguez-Oliva, A., José-Pérez, N., Hernández, L. A., *et al.*, 2022, “The Neurobiology of Behavior and Its Applicability for Animal Welfare: A Review”, *Animals*, 12:928. doi: 10.3390/ani12070928.
- Cyples, J. A., Fitzpatrick, C. E., Leslie, K. E., DeVries, T. J., Haley, D. B., y Chapinal, N., 2012, “Short communication: The effects of experimentally induced *Escherichia coli* clinical mastitis on lying behavior of dairy cows”, *Journal of Dairy Science*, 95:2571–2575. doi: 10.3168/jds.2011-5135.
- Dascanio, J. J., Mechor, G. D., Gröhn, Y. T., Kenney, D. G., Booker, C. A., Thompson, P., *et al.*, 1995, “Effect of phenylbutazone and flunixin meglumine on acute toxic mastitis in dairy cows”, *American Journal of Veterinary Research*, 56:1213–8.
- Dawkins, R., y Krebs, J. R., 1978, “Animal signals: information or manipulation?,” en Krebs, J. R., y Davies, N. B., (eds.), *Behavioural Ecology: An Evolutionary Approach*, Blackwell Scientific Publications, Londres, 282–309.
- de Boyer des Roches, A., Faure, M., Lussert, A., Herry, V., Rainard, P., Durand, D., *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*, 100:8385–8397. doi: 10.3168/jds.2017-12796.
- de Oliveira, F. A., Luna, S. P. L., do Amaral, J. B., Rodrigues, K. A., Sant’Anna, A. C., Daolio, M., *et al.*, 2014, “Validation of the UNESP-Botucatu unidimensional composite pain scale for assessing postoperative pain in cattle”, *BMC Veterinary Research*, 10:200. doi: 10.1186/s12917-014-0200-0.
- Degen, S., Paduch, J.-H., Hoedemaker, M., y Krömker, V., 2015, “Einflussfaktoren auf die bakteriologische Heilung boviner Mastitiden”, *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere / Nutztiere*, 43:222–227. doi: 10.15653/TPG-141082.
- della Rocca, G., Brondani, J. T., de Oliveira, F. A., Crociati, M., Sylla, L., Elad Ngonput, A., *et al.*, 2017, “Validation of the Italian version of the UNESP–Botucatu unidimensional composite pain scale for the assessment of postoperative pain in cattle”, *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 44:1253–1261. doi: 10.1016/j.vaa.2016.11.008.

- Filor, V., Seeger, B., de Buhr, N., von Köckritz-Blickwede, M., Kietzmann, M., Oltmanns, H., *et al.*, 2022), “Investigation of the pathophysiology of bacterial mastitis using precision-cut bovine udder slices”, *Journal of Dairy Science*, 105:7705–7718. doi: 10.3168/jds.2021-21533.
- Fitzpatrick, C. E., Chapinal, N., Petersson-Wolfe, C. S., DeVries, T. J., Kelton, D. F., Duffield, T. F., *et al.*, 2013, “The effect of meloxicam on pain sensitivity, rumination time, and clinical signs in dairy cows with endotoxin-induced clinical mastitis”, *Journal of Dairy Science*, 96:2847–2856. doi: 10.3168/jds.2012-5855.
- Fogsgaard, K. K., Bennedsgaard, T. W., y Herskin, M. S., 2015, “Behavioral changes in freestall-housed dairy cows with naturally occurring clinical mastitis”, *Journal of Dairy Science*, 98:1730–1738. doi: 10.3168/jds.2014-8347.
- Gao, X., Wu, L., y O’Neil, R. G., 2003, “Temperature-modulated Diversity of TRPV4 Channel Gating”, *Journal of Biological Chemistry*, 278:27129–27137. doi: 10.1074/jbc.M302517200.
- Garland, E. L., 2012, “Pain Processing in the Human Nervous System”, *Primary Care: Clinics in Office Practice*, 39:561–571. doi: 10.1016/j.pop.2012.06.013.
- Gillespie, B. E., Moorehead, H., Lunn, P., Dowlen, H. H., Johnson, D. L., Lamar, K. C., *et al.*, 2002, “Efficacy of extended pirlimycin hydrochloride therapy for treatment of environmental *Streptococcus* spp and *Staphylococcus aureus* intramammary infections in lactating dairy cows”, *Veterinary Therapeutics*, 3:373–80.
- Ginger, L., Aubé, L., Ledoux, D., Borot, M., David, C., Bouchon, M., *et al.*, 2023, “A six-step process to explore facial expressions performances to detect pain in dairy cows with lipopolysaccharide-induced clinical mastitis”, *Applied Animal Behaviour Science*, 264:105951. doi: 10.1016/j.applanim.2023.105951.
- Gleerup, K. B., 2017, “Identifying Pain Behaviors in Dairy Cattle Functions and Effects of Pain”, *Advances in Dairy Technologies*, 29:231–239.
- Gleerup, K. B., Andersen, P. H., Munksgaard, L., y Forkman, B., 2015, “Pain evaluation in dairy cattle”, *Applied Animal Behaviour Science*, 171:25–32. doi: 10.1016/j.applanim.2015.08.023.
- Gomes, F., Saavedra, M. J., y Henriques, M., 2016, “Bovine mastitis disease/pathogenicity: evidence of the potential role of microbial biofilms”, *Pathogens and Disease*, 74:ftw006. doi: 10.1093/femspd/ftw006.
- González, L. A., Tolkamp, B. J., Coffey, M. P., Ferret, A., y Kyriazakis, I., 2008, “Changes in Feeding Behavior as Possible Indicators for the Automatic Monitoring of Health Disorders in Dairy Cows”, *Journal of Dairy Science*, 91:1017–1028. doi: 10.3168/jds.2007-0530.
- Gothard, K. M., 2014, “The amygdalo-motor pathways and the control of facial expressions”, *Frontiers in Neuroscience*, 8:43. doi: 10.3389/fnins.2014.00043.
- Gul, R. A., Abbas, F., Jawad, H., Anjum, H., Ijaz, M., Waseem, M., *et al.*, 2022, “Effect of Mastitis on Behavioral Changes of Dairy Cows, its Treatment and Control”, *Acta Scientific Veterinary Sciences*, 10:33–38. doi: 10.31080/ASVS.2022.04.0405.

- Heravi Moussavi, A., Danesh Mesgaran, M., y Gilbert, R. O., 2012, "Effect of mastitis during the first lactation on production and reproduction performance of Holstein cows", *Tropical Animal Health and Production*, 44:1567–1573. doi: 10.1007/s11250-012-0107-3.
- Hernández-Avalos, I., Mota-Rojas, D., Mora-Medina, P., Martínez-Burnes, J., Casas Alvarado, A., Verduzco-Mendoza, A., *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*, 7:43–54. doi: 10.1080/23144599.2019.1680044.
- Hernández-Avalos, I., Valverde, A., Ibancovich-Camarillo, J. A., Sánchez-Aparicio, P., Recillas-Morales, S., Osorio-Avalos, J., *et al.*, 2020, "Clinical evaluation of postoperative analgesia, cardiorespiratory parameters and changes in liver and renal function tests of paracetamol compared to meloxicam and carprofen in dogs undergoing ovariohysterectomy", *PLOS ONE*, 15:e0223697. doi: 10.1371/journal.pone.0223697.
- Herskin, M. S., Fogsgaard, K. K., Thomsen, P. T., Houe, H., Forkman, B., y Jensen, M. B., 2020, "Dairy cows with mild-moderate mastitis change lying behavior in hospital pens", *Translational Animal Science*, 4:1247–1251. doi: 10.1093/tas/txaa038.
- Hillerton, J. E., y Semmens, J. E., 1999, "Comparison of Treatment of Mastitis by Oxytocin or Antibiotics Following Detection According to Changes in Milk Electrical Conductivity Prior to Visible Signs", *Journal of Dairy Science*, 82:93–98. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75213-6.
- Hoffman, K., Gothard, K., aynd Schmid, M., 2007, "Facial-Expression and gaze-selective responses in the monkey amygdale", *Current Biology*, 17:766–72.
- Hossain, M. K., Paul, S., Hossain, N. M., Islam, M. R., y Alam, M. G. S., 2017, "Bovine Mastitis and Its Therapeutic Strategy Doing Antibiotic Sensitivity Test", *Austin Journal of Veterinary Science & Animal Husbandry*, 4:1–12. doi: 10.26420/austinjvetscianimhusb.2017.1030.
- Huzzey, J. M., Veira, D. M., Weary, D. M., y von Keyserlingk, M. A. G., 2007, "Prepartum Behavior and Dry Matter Intake Identify Dairy Cows at Risk for Metritis", *Journal of Dairy Science*, 90:3220–3233. doi: 10.3168/jds.2006-807.
- Islam, M. A., Mizusawa, M., Sharmin, M. M., Hayashi, S., y Yonekura, S., 2020, "TRPV4 Increases the Expression of Tight Junction Protein-Encoding Genes via XBP1 in Mammary Epithelial Cells", *Animals*, 10:1174. doi: 10.3390/ani10071174.
- Jhang, J., Lee, H. H. H.-S., Kang, M. M. S., Lee, H. H. H.-S., Park, H., y Han, J.-H., 2018, "Anterior cingulate cortex and its input to the basolateral amygdala control innate fear response", *Nature Communication*, 9:2744. doi: 10.1038/s41467-018-05090-y.
- Jyothi, V. S. S. S., Babu, C., Kumar, R., Singh, P., Khatri, D., Singh, S., *et al.*, 2022, "Meloxicam in combating clinical mastitis: Nanotechnology-driven hope and opportunities", *Journal of Pharmacy And Bioallied Sciences*, 14:121. doi: 10.4103/jpbs.jpbs\_649\_21.

- Kania, B. F., y Bracha, U., 2020, “The Neuropathic Pain in Animals”, *Journal of Animal Husbandry and Dairy Science*, 4:4–10.
- Kielland, C., Skjerve, E., y Zanella, A. J., 2009, “Attitudes of veterinary students to pain in cattle”, *Veterinary Record*, 165:254–258. doi: 10.1136/vr.165.9.254.
- Krömker, V., Paduch, J.-H., Abograra, I., Zinke, C., y Friedrich, J., 2011, “Effects of an additional nonsteroidal anti-inflammatory therapy with carprofen (Rimadyl Rind) in cases of severe mastitis of high yielding cows”, *Berliner und Munchener tierärztliche Wochenschrift*, 124:161–7.
- Lamont, L. A., Tranquilli, W. J., y Grimm, K. A., 2000, “Physiology of Pain”, *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 30:703–728. doi: 10.1016/S0195-5616(08)70003-2.
- Larson, C. M., Wilcox, G. L., y Fairbanks, C. A., 2019, “The Study of Pain in Rats and Mice”, *Comparative Medicine*, 69:555–570. doi: 10.30802/AALAS-CM-19-000062.
- Latosinski, G. S., Amzalak, M. J., y Pantoja, J. C. F., 2020, “Efficacy of ketoprofen for treatment of spontaneous, culture-negative, mild cases of clinical mastitis: A randomized, controlled superiority trial”, *Journal of Dairy Science*, 103:2624–2635. doi: 10.3168/jds.2019-17504.
- Leitner, G., Merin, U., y Silanikove, N., 2004, “Changes in Milk Composition as Affected by Sub-clinical Mastitis in Goats”, *Journal of Dairy Science*, 87:1719–1726. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(04)73325-1.
- Lencioni, G. C., de Sousa, R. V., de Souza, S. E. J., Romero, C. R., Zanella, A. J., 2021, “Pain assessment in horse using automatic facial expression ecognition through deep learning-based modeling”, *PLoS ONE*, 16:e0258672. doi: 10.1371/journal.pone.0258672.
- , Lezama-García, K., Orihuela, A., Olmos-Hernández, A., Reyes-Long, S., y Mota-Rojas, D., 2019, “Facial expressions and emotions in domestic animals”, *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 14:1–12. doi: 10.1079/PAVS-NNR.201914028.
- Linzell, J. L., 1959, “The Innervation of the Mammary Glands in the Sheep and Goat With Some Observations on the Lumbosacral Autonomic Nerves”, *Quarterly Journal of Experimental Physiology and Cognate Medical Sciences*, 44:160–176. doi: 10.1113/expphysiol.1959.sp001382.
- Liu, Y., Lyu, Y., y Wang, H., 2022, “TRP Channels as Molecular Targets to Relieve Endocrine-Related Diseases”, *Frontiers in Molecular Biosciences*, 9:895814. doi: 10.3389/fmolb.2022.895814.
- MacDiarmid, S. C., 1978, “Antibacterial drugs used against mastitis in cattle by the systemic route”, *New Zealand Veterinary Journal*, 26:290–295. doi: 10.1080/00480169.1978.34574.
- Mainau, E., Llonch, P., Temple, D., Goby, L., y Manteca, X., 2022, “Alteration in Activity Patterns of Cows as a Result of Pain Due to Health Conditions”, *Animals*, 12:176. doi: 10.3390/ani12020176.
- Mansion-de Vries, E. M., Hoedemaker, M., y Krömker, V., 2015, “Aspekte einer evidenzbasierten Therapie klinischer Mastitiden”, *Tierärztliche Praxis Ausgabe G: Großtiere / Nutztiere*, 43:287–295. doi: 10.15653/TPG-150227.

- McDougall, S., Abbeloos, E., Piepers, S., Rao, A., Astiz, S., y Werven, T. V., 2015, "Addition of Metacam (Meloxicam) to the treatment of clinical mastitis improves subsequent reproductive performance", *British Mastitis Conference*, 15:61–63.
- McDougall, S., Abbeloos, E., Piepers, S., Rao, A. S., Astiz, S., van Werven, T., *et al.*, 2016, "Addition of meloxicam to the treatment of clinical mastitis improves subsequent reproductive performance", *Journal of Dairy Science*, 99:2026–2042. doi: 10.3168/jds.2015-9615.
- McDougall, S., Bryan, M. A., y Tiddy, R. M., 2009, "Effect of treatment with the nonsteroidal anti-inflammatory meloxicam on milk production, somatic cell count, probability of re-treatment, and culling of dairy cows with mild clinical mastitis", *Journal of Dairy Science*, 92:4421–4431. doi: 10.3168/jds.2009-2284.
- McDougall, S., Clausen, L. M., Hussein, H. M., y Compton, C. W. R., 2022, "Therapy of Subclinical Mastitis during Lactation", *Antibiotics*, 11:209. doi: 10.3390/antibiotics11020209.
- McDougall, S., Pankey, W., Delaney, C., Barlow, J., Murdough, P. A., y Scruton, D., 2002, "Prevalence and incidence of subclinical mastitis in goats and dairy ewes in Vermont, USA", *Small Ruminant Research*, 46:115–121. doi: 10.1016/S0921-4488(02)00191-8.
- McLennan, K., y Mahmoud, M., 2019, "Development of an Automated Pain Facial Expression Detection System for Sheep (*Ovis Aries*)", *Animals*, 9:196. doi: 10.3390/ani9040196.
- Medrano-Galarza, C., Gibbons, J., Wagner, S., de Passillé, A. M., y Rushen, J., 2012, "Behavioral changes in dairy cows with mastitis", *Journal of Dairy Science*, 95:6994–7002. doi: 10.3168/jds.2011-5247.
- Morecraft, R. J., Louie, J. L., Herrick, J. L., y Stilwell-Morecraft, K. S., 2001, "Cortical innervation of the facial nucleus in the non-human primate", *Brain*, 124:176–208. doi: 10.1093/brain/124.1.176.
- Morecraft, R., McNeal, D., y Stilwell-Morecraft, K., 2007, "Amygdala Interconnections with the cingulate motor cortex in the rhesus monkey", *Journal of Computational Neurology*, 500:134–165.
- Mota-Rojas, D., Ceballos, M. C., y Orihuela, A., 2016, "Prácticas dolorosas en animales de granja," *Bienestar animal, una visión global en Iberoamérica*, 3ra. ed., Elsevier, Barcelona, España, 137–154.
- Mota-Rojas, D., Olmos-Hernández, A., Verduzco-Mendoza, A., Hernández, E., Martínez-Burnes, J., anyd Whittaker, A. L., 2020, "The utility of grimace scales for practical pain assessment in laboratory animals", *Animals*, 10:1838. doi: 10.3390/ani10101838.
- Mota-Rojas, D., Rosa, G. de, Mora-Medina, P., Braghieri, A., Guerrero-Legarreta, I., y Napolitano, F., 2019, "Dairy buffalo behaviour and welfare from calving to milking", *CABI Reviews*, 14:1–9. doi: 10.1079/PAVSNNR201914035.
- Mota-Rojas, D., Velarde, A., Marcet-Rius, M., Orihuela, A., Bragaglio, A., Hernández-Ávalos, I., *et al.*, 2022, "Analgesia during Parturition in Domestic Animals: Perspectives and Controversies on Its Use", *Animals*, 12:2686. doi: 10.3390/ani12192686.

- Muir, W. W., 2009, “Physiology and pathophysiology of pain,” en Gaynor, J.S., y Muir, W.W. (eds.), *Handbook of Veterinary Pain Management*, Mosby. USA, 13–49.
- Müller, B. R., Soriano, V. S., Bellio, J. C. B., y Molento, C. F. M., 2019, “Facial expression of pain in Nellore and crossbred beef cattle”, *Journal of Veterinary Behavior*, 34:60–65. doi: 10.1016/j.jveb.2019.07.007.
- Ndahetuye, J. B., Persson, Y., Nyman, A.-K., Tukei, M., Ongol, M. P., y Båge, R., 2019, “Aetiology and prevalence of subclinical mastitis in dairy herds in peri-urban areas of Kigali in Rwanda”, *Tropical Animal Health and Production*, 51:2037–2044. doi: 10.1007/s11250-019-01905-2.
- Neethirajan, S., 2021, “The use of artificial intelligence in assessing affective states in livestock”, *Frontiers in Veterinary Science*, 8:715261. doi: 10.3389/fvets.2021.715261
- Olechnowicz, J., y Jaskowski, J. M., 2011, “Behaviour of lame cows: A review”, *Veterinarni Medicina*, 56:581–588. doi: 10.17221/4435-VETMED.
- Peters, M. D. P., Silveira, I. D. B., y Fischer, V., 2015, “Impact of subclinical and clinical mastitis on sensitivity to pain of dairy cows”, *Animal*, 9:2024–2028. doi: 10.1017/S1751731115001391.
- Petitclerc, D., Lauzon, K., Cochu, A., Ster, C., Diarra, M. S., y Lacasse, P., 2007, “Efficacy of a Lactoferrin-Penicillin Combination to Treat  $\beta$ -Lactam-Resistant *Staphylococcus aureus* Mastitis”, *Journal of Dairy Science*, 90:2778–2787. doi: 10.3168/jds.2006-598.
- Puerto, M. A., Shepley, E., Cue, R. I., Warner, D., Dubuc, J., y Vasseur, E., 2021, “The hidden cost of disease: I. Impact of the first incidence of mastitis on production and economic indicators of primiparous dairy cows”, *Journal of Dairy Science*, 104:7932–7943. doi: 10.3168/jds.2020-19584.
- Purves, D., Augustine, G., y Fitzpatrick, D., 2001, *Neuroscience*, Sinauer Associates, USA.
- Pyörälä, S., 2003, “Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis”, *Veterinary Research*, 34:565–578. doi: 10.1051/vetres:2003026.
- Pyörälä, S. H., y Pyörälä, E. O., 1998, “Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989-1995)”, *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 212:407–412.
- Pyoralá, S., y Taponen, S., 2009, “Coagulase-negative staphylococci—Emerging mastitis pathogens”, *Veterinary Microbiology*, 134:3–8. doi: 10.1016/j.vetmic.2008.09.015.
- Raja, S. N., Carr, D. B., Cohen, M., Finnerup, N. B., Flor, H., Gibson, S., *et al.*, 2020, “The revised International Association for the Study of Pain definition of pain: concepts, challenges, and compromises”, *Pain*, 161:1976–1982. doi: 10.1097/j.pain.0000000000001939.
- Rasmussen, D. B., Fogsgaard, K., Røntved, C. M., Klaas, I. C., y Herskin, M. S., 2011, “Changes in thermal nociceptive responses in dairy cows following experimentally induced *Escherichia coli* mastitis”, *Acta Veterinaria Scandinavica*, 53:32. doi: 10.1186/1751-0147-53-32.

- Roberson, J. R., 2012, "Treatment of Clinical Mastitis", *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 28:271–288. doi: 10.1016/j.cvfa.2012.03.011.
- Royster, E., and Wagner, S., 2015, "Treatment of Mastitis in Cattle", *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 31:17–46. doi: 10.1016/j.cvfa.2014.11.010.
- Rudebeck, P. H. P., y Rich, E. L., 2018, "Orbitofrontal cortex", *Current Biology*, 28:R1083–R1088. doi: 10.1016/j.cub.2018.07.018.
- Ruegg, P. L., 2018, "Making Antibiotic Treatment Decisions for Clinical Mastitis", *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 34:413–425. doi: 10.1016/j.cvfa.2018.06.002.
- Ruegg, P. L., 2022, "Realities, Challenges and Benefits of Antimicrobial Stewardship in Dairy Practice in the United States", *Microorganisms*, 10:1626. doi: 10.3390/microorganisms10081626.
- Sadeghi, H., Gharagozlou, F., Vojgani, M., Mobedi, E., Bafandeh, M., y Akbarinejad, V., 2023, "Evidence that elevation of maternal somatic cell count could lead to production of offspring with inferior reproductive and productive performance in dairy cows during the first lactation period", *Theriogenology*, 200:79–85. doi: 10.1016/j.theriogenology.2023.02.002.
- Salguero-Galland, M., y Panduro, C., 2001, "Emociones y genes", *Investigaciones en Salud*, 3:35–40.
- Schukken, Y. H., Bennett, G. J., Zurakowski, M. J., Sharkey, H. L., Rauch, B. J., Thomas, M. J., *et al.*, 2011, "Randomized clinical trial to evaluate the efficacy of a 5-day ceftiofur hydrochloride intramammary treatment on nonsevere gram-negative clinical mastitis", *Journal of Dairy Science*, 94:6203–6215. doi: 10.3168/jds.2011-4290.
- Schukken, Y. H., Zurakowski, M. J., Rauch, B. J., Gross, B., Tikofsky, L. L., y Welcome, F. L., 2013, "Noninferiority trial comparing a first-generation cephalosporin with a third-generation cephalosporin in the treatment of nonsevere clinical mastitis in dairy cows", *Journal of Dairy Science*, 96:6763–6774. doi: 10.3168/jds.2013-6713.
- Sérieys, F., Raguet, Y., Goby, L., Schmidt, H., y Friton, G., 2005, "Comparative Efficacy of Local and Systemic Antibiotic Treatment in Lactating Cows with Clinical Mastitis", *Journal of Dairy Science*, 88:93–99. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72666-7.
- Shi, R., Shu, H., Yu, R., Wang, Y., Zhang, Z., Zhang, J., *et al.*, 2022, "Current Attitudes of Chinese Dairy Practitioners to Pain and Its Management in Intensively Raised Dairy Cattle", *Animals*, 12:3140. doi: 10.3390/ani12223140.
- Shock, D. A., Renaund, D. L., Roche, S. M., Poliquin, R., Thomson, R., y Olson, M. E., 2018, "Correction: Evaluating the impact of meloxicam oral suspension administered at parturition on subsequent production, health, and culling in dairy cows: A randomized clinical field trial", *PLOS ONE*, 13:e0210326. doi: 10.1371/journal.pone.0210326.
- Short, C. E., 1998, "Fundamentals of pain perception in animals", *Applied Animal Behaviour Science*, 59:125–133. doi: 10.1016/S0168-1591(98)00127-0.

- Shpigel, N. Y., Chen, R., Winkler, M., Saran, A., Ziv, G., y Longo, F., 1994, “Anti-inflammatory ketoprofen in the treatment of field cases of bovine mastitis”, *Research in Veterinary Science*, 56:62–68. doi: 10.1016/0034-5288(94)90197-X.
- Shpigel, N. Y., Winkler, M., Saran, A., y Zrv, G., 1996, “The Anti-inflammatory Drugs Phenylbutazone and Dipyron in the Treatment of Field Cases of Bovine Mastitis”, *Journal of Veterinary Medicine Series A*, 43:331–336. doi: 10.1111/j.1439-0442.1996.tb00460.x.
- Shuster, D. E., Harmon, R. J., Jackson, J. A., y Hemken, R. W., 1991, “Suppression of Milk Production During Endotoxin-Induced Mastitis”, *Journal of Dairy Science*, 74:3763–3774. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(91)78568-8.
- Singha, S., Koop, G., Persson, Y., Hossain, D., Scanlon, L., Derks, M., *et al.*, 2021, “Incidence, Etiology, and Risk Factors of Clinical Mastitis in Dairy Cows under Semi-Tropical Circumstances in Chattogram, Bangladesh”, *Animals*, 11:2255. doi: 10.3390/ani11082255.
- Steagall, P. V., Bustamante, H., Johnson, C. B., y Turner, P. V., 2021, “Pain Management in Farm Animals: Focus on Cattle, Sheep and Pigs”, *Animals*, 11:1483. doi: 10.3390/ani11061483.
- Sugiyama, M., Watanabe, M., Sonobe, T., Kibe, R., Koyama, S., y Kataoka, Y., 2022, “Efficacy of antimicrobial therapy for bovine acute *Klebsiella pneumoniae* mastitis”, *The Journal of Veterinary Medical Science*, 84:1023–1028. doi: 10.1292/jvms.21-0617.
- Suojala, L., Simojoki, H., Mustonen, K., Kaartinen, L., y Pyörälä, S., 2010, “Efficacy of enrofloxacin in the treatment of naturally occurring acute clinical *Escherichia coli* mastitis”, *Journal of Dairy Science*, 93:1960–1969. doi: 10.3168/jds.2009-2462.
- Thomsen, P. T., Anneberg, I., y Herskin, M. S., 2012, “Differences in attitudes of farmers and veterinarians towards pain in dairy cows”, *The Veterinary Journal*, 194:94–97. doi: 10.1016/j.tvjl.2012.02.025.
- Tomacheuski, R. M., Monteiro, B. P., Evangelista, M. C., Luna, S. P. L., y Steagall, P. V., 2021, “Measurement properties of pain scoring instruments in farm animals: A systematic review protocol using the COSMIN checklist”, *PLOS ONE*, 16:e0251435. doi: 10.1371/journal.pone.0251435.
- Tomacheuski, R. M., Oliveira, A. R., Trindade, P. H. E., Oliveira, F. A., Candido, C. P., Teixeira Neto, F. J., *et al.*, 2023, “Reliability and validity of UNESP-Botucatu cattle pain scale and cow pain scale in *Bos taurus* and *Bos indicus* bulls to assess postoperative pain of surgical orchiectomy”, *Animals*, 13:364. doi: 10.3390/ani13030364.
- Tomazi, T., y dos Santos, M. V., 2020, “Antimicrobial use for treatment of clinical mastitis in dairy herds from Brazil and its association with herd-level descriptors”, *Preventive Veterinary Medicine*, 176:104937. doi: 10.1016/j.prevetmed.2020.104937.
- Truchetti, G., Bouchard, E., Descôteaux, L., Scholl, D., y Roy, J.-P., 2014, “Efficacy of extended intramammary ceftiofur therapy against mild to moderate clinical mastitis in Holstein dairy cows: a randomized clinical trial”, *Canadian journal of veterinary research*, 78:31–7.

- Tschoner, T., 2021, "Methods for Pain Assessment in Calves and Their Use for the Evaluation of Pain during Different Procedures—A Review", *Animals*, 11:1235. doi: 10.3390/ani11051235.
- Vangroenweghe, F., Duchateau, L., Boutet, P., Lekeux, P., Rainard, P., Paape, M. J., *et al.*, 2005, "Effect of Carprofen Treatment Following Experimentally Induced *Escherichia coli* Mastitis in Primiparous Cows", *Journal of Dairy Science*, 88:2361–2376. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(05)72914-3.
- VanHouten, J. N., y Wysolmerski, J. J., 2007, "Transcellular Calcium Transport in Mammary Epithelial Cells", *Journal of Mammary Gland Biology and Neoplasia*, 12:223–235. doi: 10.1007/s10911-007-9057-1.
- Wagner, B. K., Nixon, E., Robles, I., Baynes, R. E., Coetzee, J. F., y Pairis-Garcia, M. D., 2021, "Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs: Pharmacokinetics and Mitigation of Procedural-Pain in Cattle", *Animals*, 11:282. doi: 10.3390/ani11020282.
- Wahyu Harjanti, D., and Sambodho, P., 2020, "Effects of mastitis on milk production and composition in dairy cows", *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 518:012032. doi: 10.1088/1755-1315/518/1/012032.
- Walker, C. C. F., Brester, J. L., y Sordillo, L. M., 2021, "Flunixin Meglumine Reduces Milk Isoprostane Concentrations in Holstein Dairy Cattle Suffering from Acute Coliform Mastitis", *Antioxidants*, 10:834. doi: 10.3390/antiox10060834.
- Waller, B. B. M., y Micheletta, J., 2013, "Facial expression in nonhuman animals", *Emotion*, 5:54–59. doi: 10.1177/1754073912451503.
- Waller, B. M., Julle-Daniere, E., y Micheletta, J., 2020, "Measuring the evolution of facial 'expression' using multi-species FACS", *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 113:1–11. doi: 10.1016/j.neubiorev.2020.02.031.
- Wiese, A. J., y Yaksh, T. L., 2009, "Nociception and pain mechanism," en Gaynor, J.S., Muir, W.W., (eds.), *Handbook of Veterinary Pain Management*, Elsevier, USA.
- Wilson, D. J., Gonzalez, R. N., Case, K. L., Garrison, L. L., y Groöhn, Y. T., 1999, "Comparison of Seven Antibiotic Treatments with No Treatment for Bacteriological Efficacy Against Bovine Mastitis Pathogens", *Journal of Dairy Science*, 82:1664–1670. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(99)75395-6.
- Wilson, D. J., Grohn, Y. T., Bennett, G. J., González, R. N., Schukken, Y. H., y Spatz, J., 2008, "Milk Production Change Following Clinical Mastitis and Reproductive Performance Compared Among J5 Vaccinated and Control Dairy Cattle", *Journal of Dairy Science*, 91:3869–3879. doi: 10.3168/jds.2008-1405.
- Xing, X., Fu, J., Wang, H., y Zheng, J., 2021, "Contributions of prelimbic cortex, dorsal and ventral hippocampus and basolateral amygdala to fear return induced by elevated platform stress in rats", *Brain Research*, 1761:147398.

