

Con luz propia

XII

Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina

Oviedo 25 y 26 de mayo de 2007


Con luz propia

Índice

7 *Currículums*

Ponencias

31 **Current status of endoscopy in cattle.**
Baumgartner, W., Franz, S.

35 **Nuevas tendencias en alimentación del ganado vacuno lechero.**
Vicente Jimeno Vinatea y Teresa Castro Madrigal

57 **To cut or not to cut – decision-making in cows with disturbed intestinal passage.**
Harald Kümper

65 **Manejo del postparto para el control de las enfermedades metabólicas.**
Adrian González Garrido.

77 **Cirugía menos frecuentes.**
Antonio González Cantalapiedra.

91 **La alimentación del vacuno lechero en la era de los Biocarburantes.**
Alex Bach

101 **Intervención veterinaria en podología.**
Adrian Gonzalez Sagüés

113 **Selección embrionaria mediante diagnóstico Preimplantacional, posibilidades en las granjas del futuro.**
A. Gutierrez-Adan

121 **Traumatic reticuloperitonitis – a view from inside the cow.**
Harald Kümper

125 **Johne's Control Programs in the USA**
Robert Whitlock

133 **ELISA.**
Robert Whitlock

143 **"Sala de ordeño: como prevenir problemas de forma sencilla".**
D. Antonio Palomino

149 **Pregnancy Losses: Prevalence, Timing and Associated Causes.**
José Eduardo P. Santos

163 **Paratuberculosis in Austria - a notifiable disease.**
Baumgartner, W., Khol, J.l.

171 **Impact of nutrition on dairy cattle reproduction.**
José Eduardo P. Santos

191 **Pruebas diagnósticas cuantitativas: Índices de validez y valores predictivos. Aplicación a la paratuberculosois**
José M. Doménech Massons, Susana Astiz Blanco, Laura Elvira Partida

211 **Gestión de recursos humanos en explotaciones de vacuno lechero.**
Manuel V. Morales Gamazo.

221 ***Mycobacterium avium* subespecie paratuberculosis. Paratuberculosis, interferencias con las pruebas de Tuberculosis en españa.**
Julio Álvarez, Lucía de Juan, Beatriz Romero, Elena Castellanos, Javier Bezos, Sabrina Rodriguez, Alicia Aranaz, Ana Mateos y Lucas Domínguez.

227 **Pasado, presente y futuro de los programas de calidad de leche.**
D. Luis Miguel Jimenez


Con luz propia

Currículums



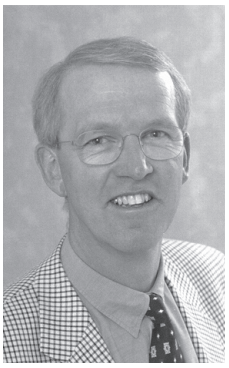
DR. ALEX BACH

Alex Bach, licenciado en veterinaria por la Universidad Autónoma de Barcelona, en 1994. Posteriormente realiza un Master y un PhD (doctorado) en nutrición del vacuno lechero en la Universidad de Minnesota (1994 a 1999). Regresa a España incorporándose en el departamento de investigación de una empresa multinacional, confeccionando programas nutricionales y aportando servicio técnico a varios países de Europa, y liderando la confección de modelos nutricionales para rumiantes de leche para implementar en Estados Unidos, Europa, Corea y Sudamérica.

Alex ha participado como ponente en más de 50 ocasiones en distintos congresos, es autor o coautor de 50 publicaciones (nacionales e internacionales), y a participado en la elaboración de 2 libros sobre nutrición de rumiantes, uno sobre Calidad de la soja, y 2 sobre el bienestar del vacuno lechero.

Como reconocimiento a su actividad investigadora, Alex Bach recibió premio al mejor doctorado en rumiantes por la American Association of Animal Science en 1999, además fue nombrado mejor estudiante de doctorado del departamento de Animal Science de la Universidad de Minnesota en 1998. En España recibió el premio FEDNA al joven investigador en 1998.

En la actualidad, dirige la Unidad de Rumiantes del IRTA (Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentaries) dedicada al estudio de los sistemas de producción de los rumiantes (nutrición, manejo, gestión.) y es Profesor de Investigación de ICREA (Institut Catalán de Recerca i Estudis Avançats), una institución integrada por investigadores de alto prestigio a nivel internacional cuya misión es estimular la investigación en Cataluña



DR. WALTER BAUMGATNER

DATOS PERSONALES
Univ.Prof.Dr. Walter BAUMGARTNER,
Dirección: Veterinärplatz 1
A-1210 Wien, Österreich
Teléfono: +43/1/250 77- 5200
Fax: ++43-1-25077-5290
E-mail: walter.baumgartner@vu-wien.ac.at

FORMACIÓN ACADÉMICA:
1972. Doctor en Veterinaria, Facultad de Veterinaria de la Universidad de Viena
1978. Venia docendi en Medicina Interna e Infecciosa de los Rumiantes, Facultad de Veterinaria de la Universidad de Viena
1981. Profesor de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Viena
1995. Especialista en Diagnóstico Laboratorial
1996. Especialista en Vacuno
2003. Diplomado en el Colegio Europeo de Especialistas en Medicina Bovina (ECBHM)

OTROS MÉRITOS:
2004. Miembro Honorífico de la Sociedad Italiana de Buiatría
2005. Científico Honorífico de la Administración de Desarrollo Rural de Corea
2006. Miembro Honorífico de la Asociación Portuguesa de Buiatría

MIEMBRO Y FUNCIONES EN ASOCIACIONES CIENTÍFICAS NACIONALES E INTERNACIONALES
1992-Actualidad: Presidente de la Asociación Austriaca de Buiatría
2000-Actualidad: Presidente de la Asociación Mundial de Buiatría
2006-Actualidad: Presidente de la Sociedad Austriaca de Veterinaria

FUNCIONES UNIVERSITARIAS
1991-Actualidad: Director de la Clínica de Rumiantes de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Viena

PUBLICACIONES
Más de 190 publicaciones en Revistas Nacionales e Internacionales
Más de 380 presentaciones y pósters en Congresos Nacionales e Internacionales

ACTUALES PROYECTOS CIENTÍFICOS
2004-2007. Proyecto de Endoscopia y Laparoscopia
2005-2008. Proyecto de Paratuberculosis en Rumiantes
2007-2009. Proyecto de Infecciones por Pestivirus en Pequeños Rumiantes



DR. JOSE M. DOMENECH

e-Mail: JosepMaria.Domenech@uab.cat

José María Doménech Massons es actualmente Catedrático numerario de Metodología en la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB).

Ha sido responsable de la "Unidad de Bioestadística" del Centro de Cálculo de la Universidad Politécnica de Cataluña y en la actualidad dirige el "Laboratori d'Estadística Aplicada i de Modelització" de la UAB. Asimismo es el director de la Diplomatura y del Master de Postgrado "Metodología de la investigación: Diseño y Estadística en Ciencias de la Salud", de ámbito nacional, que forman parte de los estudios propios de la UAB.

Es autor de muchas publicaciones sobre metodología estadística en Ciencias de la Salud y ha impartido numerosos cursos de postgrado y de doctorado en Universidades y organizaciones sanitarias de toda España sobre Estadística y Metodología de la Investigación.



Lucas Domínguez Rodríguez

Licenciado en Veterinaria (1977) y Doctor en Veterinaria (1983) por la Universidad Complutense de Madrid, con un trabajo en el que se revisó y actualizó la metodología que para el aislamiento y detección de Listeria monocytogenes existía en ese momento. Desde 1989 es Catedrático de Universidad, adscrito al Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria (UCM), donde

ejerció como director de departamento durante 13 años (1989-2001). En la actualidad, dirige el grupo de investigación VISAVET (Laboratorio de Vigilancia Sanitaria) de la UCM formado por más de 35 investigadores, y es coordinador del grupo investigador de I+D de la Comunidad de Madrid "Vigilancia Sanitaria" que incluye más de 60 investigadores de cinco instituciones de la Comunidad de Madrid que trabajan en distintos aspectos de la Seguridad Alimentaria. En esta área se abarca desde la producción primaria hasta la transformación y distribución de alimentos, y en la vigilancia de los principales agentes zoonóticos y toxinas que pueden ser vehiculadas por el alimento con la consiguiente implicación en el área de la Salud Pública.

Las principales líneas de investigación de estos grupos van desde la Investigación Básica hasta el Diseño y Desarrollo, acumulando una amplia experiencia en el diagnóstico, epidemiología, prevención, erradicación y control de enfermedades, tanto en las principales especies de animales de abasto (porcino, aves, bovino, peces, etc.) como en animales de especies cinegéticas, de vida libre y exóticos. En todos los casos se aplica el concepto que para obtener alimentos seguros es imprescindible obtenerlos a partir de animales sanos, criados de forma respetuosa con el medio, con el menor impacto ambiental posible y haciéndolo todo ello económicamente viable.

• El grupo cuenta así mismo con importantes expertos en **detección y análisis de riesgos** tanto de las enfermedades existentes en nuestro país, como sobre aquellos debidos a enfermedades exóticas que puedan ser introducidos en nuestro país tanto de forma natural como intencionada (Bioterrorismo).

Se han desarrollado así mismo programas para la **vigilancia de resistencias a antimicrobianos**, fundando la Red Española de Vigilancia de Resistencias (Red VAV) y diseñando programas para la búsqueda de alternativas a la utilización de antibióticos en la producción animal en los que el desarrollo de nuevas vacunas y desinfectantes, además de la aplicación de otras medidas de bioseguridad, son parte fundamental.

Para la realización de este trabajo se utilizan todas las nuevas herramientas desarrolladas para la detección, identificación y clasificación de patógenos, epidemiología, diagnóstico molecular (habiéndose descrito 16 nuevos especies bacterianas patógenas) e inmunológico así como las últimas aportaciones en el tratamiento de la información.

En este grupo se incluyen o colaboran varios laboratorios de referencia españoles y europeos, lo que permite a este grupo de investigación actuar como **asesores para las administraciones con responsabilidades en Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria** (Ministerios de Agricultura y Sanidad, Consejerías de las Comunidades Autónomas y OPIs de pendientes de ellos) de los principales programas que se están llevando para el control y erradicación de enfermedades.

Como resultado de su actividad investigadora el Profesor Lucas Domínguez ha realizado más de 151 publicaciones en revistas internacionales de alto impacto y 88 en revistas nacionales, así como más de 170 contribuciones a congresos y ponencias nacionales e internacionales.

En su trayectoria investigadora se incluyen la dirección de 17 tesis doctorales (cinco de ellas distinguidas con premio extraordinario a la mejor tesis doctoral, además, de otros galardones) así como la participación en 98 proyectos de investigación (de los cuales 15 son de ámbito internacional) tanto de financiación pública como en colaboración con empresas privadas.

De su actividad docente e investigadora se deriva la realización de 11 patentes, habiendo participado en numerosos comités de asesoramiento científico tanto a nivel nacional como internacional. Entre estas actividades destacan:

Miembro del Subcomité Internacional para Taxonomía de Listeria, Errysipelothyx y Brochothrix.

Representante español en la International Dairy Federación (IDF) para el grupo de contaminantes orgánicos.

Miembro de la **Comisión Regional de Tuberculosis** de la Consejería de Sanidad de la Comunidad Autónoma de Madrid.

Miembro del **Comité de Evaluación de Medicamentos Veterinarios de la Agencia Española del Medicamento.**

Miembro de la **Comisión Nacional de Bioseguridad del Ministerio de Medio Ambiente.**

Miembro de la **Comisión Regional de Seguridad Alimentaría** de la Consejería de Sanidad y Servicios Sociales de la Comunidad Autónoma de Madrid.

Miembro de **Task Force europea para el control de la Tuberculosis.**

Miembro de la **Comisión Nacional Sandach** del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

Coordinador de la **Red Europea de Coordinadores de Laboratorios de Micobacterias** (Red VENoMYC), que incluye los principales Laboratorios Europeos involucrados en este área, desde 1999 hasta 2009.

Coordinador de la UCM en la **Red de Excelencia Europea MED-VET-NET** (Red Médicos Veterianarios para la Vigilancia de Zoonosis), que incluye 16 Instituciones de 10 países con más de 300 investigadores. Del 2004 al 2009.

Asesor Científico del Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación en el

Programa de erradicación de Tuberculosis y en el de vigilancia y control de agentes zoonósicos y de resistencia a antimicrobianos. Fundador de la Red de Vigilancia Veterinaria de Resistencia a Antimicrobianos en España (Red VAV).

• **Director del Programa de Investigación de la Universidad Complutense de Madrid** "Alternativa al uso de Antimicrobianos en el control de las enfermedades bacterianas en producción Animal" que asesora a las principales empresas de producción de los sectores porcino, avícola y piscícola.

En el ámbito de la gestión I+D destaca su experiencia de más de 25 años en el asesoramiento científico y técnico a las:

importantes **empresas y sociedades**, tanto españolas como multinacionales en el área **farmacéutica**, de la **producción animal y producción de alimentos**

instituciones públicas o privadas tales como Facultades de Veterinaria, Parques Zoológicos, Espacios Protegidos, Hospitales de Medicina Humana, Centros Veterinarios, etc.



DR. ANTONIO GONZALEZ CANTALAPIEDRA

Nacido en Valladolid el 15 de junio de 1965

Licenciado en Veterinaria en la Facultad de Veterinaria de Lugo (1984-89)

Doctor en Veterinaria por la Universidad de Santiago de Compostela (1994)

Profesor Hospitalario Asociado de Ciencias de la Salud en el Hospital Veterinario Rof Codina (1996-2000)

Profesor Titular de Patología Quirúrgica y Cirugía en la Facultad de Veterinaria de Lugo (desde marzo 2000)

Responsable del Servicio de Anestesia del Hospital Veterinario Rof Codina

Estancias de formación en:

School of Veterinary Medicine of Davis (California)

Royal Veterinary College (Londres)

Publicaciones nacionales e internacionales en el ámbito de la anestesiología y cirugía veterinaria.

D. ADRIAN GONZALEZ GARRIDO

1.- DATOS PERSONALES:

Dirección: C/ Antonio Toledano Nº 25 2º A, 28028 MADRID

Teléfono : (91) 504 60 24

Fecha de Nacimiento: 5 de agosto de 1967

Estado civil: Casado y con 4 hijos.

D.N.I.: 809.533-W

Profesión: Veterinario (Especialidad en Nutrición de Rumiantes)

2.- HISTORIAL ACADÉMICO:

* Obtención del Certificado de Escolaridad en la Institución San Isidoro de Madrid en el año 1981.

* Obtención del Título de Bachiller en el Colegio Nuestra Señora del Pilar de Madrid en 1984.

* Realización del Curso de Orientación Universitaria (C.O.U) durante el año académico 1984/85 en el colegio Nuestra Señora del Pilar de Madrid.

* Superación de la prueba de ingreso en la Universidad (Selectividad) en julio del mismo año.

* Ingreso en la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense de Madrid en septiembre de 1985, finalizando los estudios en junio de 1990

* Master en "Asesoría y Gestión de explotaciones de vacuno lechero" por la Universidad Autónoma de Bellaterra en el año 2005

3.- FORMACIÓN CONTINUADA:

* Curso de especialización en alimentación de vacuno lechero de D.Bienvenido Martín - Vaquero basado en el sistema americano NRC

* Estudio del sistema de alimentación de rumiantes del I.N.R.A. (Francia)

* Especialización en alimentación de rumiantes durante el mes de Septiembre de 1991 en Arizona (EE.UU) con la empresa Dairy Nutrition Services, seguido de una experiencia práctica de un año desarrollando el sistema de alimentación y manejo norteamericanos en once ganaderías españolas.

* Asistencia a numerosos congresos y reuniones técnicas (EXPOAVIGA, ANEMBE, FEDNA, ANAPORC, etc).

* Obtención del segundo premio para Jovenes Veterinarios organizado por la asociación ANEMBE en el año 1992 por el trabajo titulado: "Estudio de la degradabilidad in vitro e in sacco de la metionina combinada con grasa protegida (jabones cálcicos) y su efecto sobre la producción y calidad de leche en ganado vacuno".

* Cursos de formación en ventas del Dr. Carlos Buxadé Carbó.

* Preparación y publicación de dos artículos de investigación en la revista Frisona Española sobre el empleo de grasa by-pass + metionina by-pass en vacuno lechero (Noviembre - Diciembre de 1992) y sobre la utilización de minerales quelados (metioninatos de zinc) en vacas de leche (Enero - Febrero de 1995).

* Formación Comercial durante 1995 a través del programa de la empresa Gustav Käser Training International.

* Colaboración como ponente en el V Congreso Internacional de Medicina Bovina de Anembe celebrado del 29 de abril al 3 de mayo de 1998 en Sitges, con una ponencia en el Congreso ("Apuntes después de dos años haciendo nutrición en México") y dos conferencias en los seminarios previos ("Ingestión de materia seca. Manejo en el periodo de transición" y "Sistemas prácticos de organización de grupos de producción en granjas lecheras").

* Colaboración como ponente en el VIII Congreso Internacional de Medicina Bovina de Anembe celebrado en Oviedo en 2001 con una ponencia en el seminario de reproducción sobre "Efectos de la alimentación sobre la reproducción".

* Realización del curso "The International Business Week; introduction to finance" del Dr. Hoda Bissada, en junio de 2003 en Crans Montana, Suiza, a través del grupo Provimi.

* Colaboración como ponente en dos Congresos consecutivos en la universidad de Cuenca, en Ecuador, los años 2004 y 2005.

* Colaboración como ponente en tres congresos IVSA sobre manejo y alimentación de vacuno lechero entre los años 2002 y 2006.

* Colaboración como nutricionista responsable de las raciones en el proyecto de investigación ligado al IMADE y realizado en TAUSTE GANADERA SA sobre "Efecto de la semilla de lino sobre la producción, calidad de leche y reproducción en vacas de leche de alta producción" en 2004.

4.- DESARROLLO PROFESIONAL.

* Julio - Agosto de 1990: trabajo como veterinario clínico en la Granja Escuela Prado Luengo del Término Municipal de Almorox (Toledo).

* Noviembre de 1990 a Junio de 1995: desarrollo profesional en la empresa NOREL S.A. (dedicada a la fabricación y comercialización de productos lácteos, grasas by-pass y aditivos para alimentación animal) dentro del Departamento Técnico, como Product Manager de Rumiantes con especial dedicación en el desarrollo técnico-comercial de las grasas by-pass.(MAGNAPAC). El desarrollo del puesto consiste fundamentalmente en los siguientes puntos:

- Desarrollo Técnico-Comercial de productos especiales: diseño, elaboración de documentación técnica, realización de pruebas de campo y promoción de ventas, tanto a través de las delegaciones de la empresa como en asistencia directa a clientes.

- Apoyo de ventas a la red comercial nacional de la empresa (10 delegaciones) en aquellos clientes que por su categoría requerían una asistencia técnica especializada (grandes fábricas de pienso, ganaderías, Centros Veterinarios, etc).

- Intervención en la expansión internacional de la empresa promocionando los productos en numerosos paises (Venezuela, Colombia, Brasil, Uruguay, Argentina, Chile, Estados Unidos, Italia, Hungria, Grecia, Rusia, Arabia Saudí,Israel, etc).

- Asesoramiento veterinario a clientes en el campo de la nutrición de rumiantes (formulación de raciones completas para ganado o de piensos compuestos para fabricantes).

* Junio 1995 a Noviembre 1996 : Trabajo como Gerente y Nutricionista de vacuno lechero de alta producción en Torreón , estado de Coahuila, MEXICO, con la empresa Dairy Nutrition Services of Mexico SA de CV. La empresa es una filial de la compañía matriz localizada en la ciudad de Phoenix, Arizona, en EE.UU. El trabajo consistía en:

- Organización, desarrollo y supervisión del trabajo en la empresa.

- Asistencia integral en nutrición y manejo de la alimentación en un total de 30 establos con un promedio de 1500 vacas por establo (mínimo de 500 vacas y máximo de 5000).

- Diseño de correctores a medida para cada establo y para cada fase de producción (secas, preparto, post-parto, etc); fabricados en Arizona por la propia empresa e importados a México para cada establo; el corrector se cambiaba cada vez que se modificaban las raciones.

- Distribución de productos especiales para alimentación de vacuno lechero (grasas by-pass, proteínas by-pass, etc)

- Formación continuada en EE.UU con visitas cada dos meses a la central de la compañía en Arizona.

* Noviembre 1996 - Marzo 1998: Director Técnico de la empresa NOREL S.A.

* Marzo 1998 – Febrero 1999: Integrado en el Servicio de Asistencia Técnica de la empresa Química Farmaceútica Bayer S.A., cubriendo las provincias de Madrid, Ciudad Real, Toledo y Extremadura.

* Febrero 1999 – Actualidad : Formo parte del Servicio Técnico de Rumiantes de la empresa NUTRAL S.A de Colmenar Viejo, Madrid, dedicada a la fabricación y comercialización de suplementos minerales y concentrados alimenticios para rumiantes. NUTRAL S.A. es una empresa perteneciente a la multinacional Provimi formada por más de 40 empresas repartidas por todo el mundo.

El trabajo consiste en la asistencia técnica a ganaderos y fabricantes de piensos compuestos en temas de manejo y alimentación.

Actualmente formo parte del grupo de trabajo de desarrollo de rumiantes del grupo Provimi (Ruminants Projet Team) con cuatro reuniones anuales en Holanda en colaboración con otros seis especialistas en rumiantes del grupo.

* Enero de 2006: Creación de la empresa Diagnosis Animal SL dedicada al análisis serológico de diferentes parámetros metabólicos para el diagnóstico de enfermedades relacionadas con la nutrición.

DR. ADRIAN GONZALEZ SAGÜES

Veterinario

Director tércnico del grupo ANKA, Cuidados de pezuñas, Formación, Asesoría

Diplomado en Direccion de Empresa

Lector en el MHC de la Univ de Gnv Florida USA

Ponente invitado en Simposios internacionales de Cojeras de Rumiantes.

Consultor internacional en bienestar vacuno y salud podal en Mexico, USA, Arabia Saudita

Ex vocal de podología en la junta de ANEMBE



DR. ALFONSO GUTIERREZ ADAN

Alfonso Gutiérrez-Adán
Dpto Reproducción Animal, INIA
Investigador
Ctra de la Coruña Km 5,9, Madrid 28040, Spain
agutierr@inia.es
Pho: 91347 3768
Fax: 91347 4014

Doctor en Ciencias Biológicas por la Universidad de Oviedo en 1993.

Actividad posdoctoral en el Departamento de Animal Sciences, Davis, California (1994-1997) con el Profesor Gary Anderson.

Desde el año 1997 soy Jefe del Laboratorio de Embriología Molecular del Dpto de Reproducción Animal, INIA

Líneas de investigación: Desarrollo embrionario, transgénesis y células troncales

Autor de más de 80 publicaciones científicas, editor y revisor de varias publicaciones internacionales. Miembro de la Asociación Española de Reproducción Animal (AERA), del Consejo de Administración de la European Embryo Transfer Society (AETE), de la Society of the Study of Reproduction, y de la International Embryo Transfer Society (IETS).



D. LUIS MIGUEL JIMENEZ GALAN

Licenciado en veterinaria y director técnico de SERVET TALAVERA SL, empresa especializada en el área de Control de Mamitis y Calidad de Leche, con sede en Talavera de La Reina (Toledo). Lleva realizando Programas de Control de Mamitis y Calidad de Leche desde 1994. Desarrolla la actividad profesional en España y Portugal.

Es miembro del equipo de consulta de la página web especializada en Calidad de Leche solomamitis.com

Organiza anualmente las Jornadas Técnicas de Vacuno de Leche de Talavera de la Reina e imparte conferencias en distintos foros de Calidad de Leche.

Forma parte de la Junta Directiva de ANEMBE, encargándose de la vocalía de Calidad de Leche.

Es miembro del Project Group Milking Time de la IDF.



DR. VICENTE JIMENO VINATEA

Vicente Jimeno Vinatea es Doctor Veterinario, licenciado de Grado en Veterinaria por la Universidad Complutense de Madrid (UCM) e Ingeniero T. Agrícola por la Universidad Politécnica de Madrid (UPM). Diplomado en Gerencia de Empresas Agrarias por la Comunidad Autónoma de Madrid.

Profesor Titular en la Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Agrícola de la UPM, adscrito al Departamento de Producción Animal. Imparte clases de Producción Animal en tres de las cuatro titulaciones de Ingeniería Técnica Agrícola y en quinto curso de la especialidad de Zootecnia en la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. Participa igualmente, como profesor del Master en Gestión de la Calidad Alimentaria, Título Propio de la UPM.

Es investigador responsable y miembro del Grupo de Ingeniería de la Calidad Alimentaria, grupo de investigación reconocido por la UPM. En la actualidad, es uno de los investigadores principales de un Proyecto entre TRAGSEGA (MAPYA) y la UPM sobre el análisis de riesgos de transmisión de salmonelosis zoonóticas en el pienso de los animales y otros aspectos relacionados con la seguridad alimentaria. Asimismo, ha colaborado en varios proyectos de I+D+i financiados por programas competitivos nacionales y programas propios de la UPM y en convenios con el Ministerio de Agricultura.

Ha publicado artículos científicos sobre el efecto de la alimentación en la calidad de la canal de corderos y la calidad de la leche en ganado ovino. Es autor de numerosos artículos de divulgación en el área de la Producción Animal, especialmente relacionados con la producción de leche y carne de rumiantes. También ha impartido conferencias, en cursos de doctorado y especialización, sobre la alimentación de ganado vacuno, ovino y caprino y el diseño de alojamientos para dichas especies ganaderas.

El profesor Jimeno, es responsable de formación y asesor científico de varias empresas del sector agroalimentario y de la sanidad animal.

Su actividad profesional fuera de la Universidad ha abarcado distintos campos: labores de gerencia y asesoría en cooperativas ganaderas, técnico de empresas de fabricación de piensos y realización de proyectos de explotaciones de vacuno de leche y cebo de terneros.

e-mail: vicente.jimeno@upm.es



DR. HARALD KÜMPER

Nombre Dr. Harald Kümper.

Nacido en 1954

Estudió Medicina Veterinaria en el Justus-Liebig-University Giessen, Alemania de 1975 a 1981.

Ayudante en prácticas desde 1981 hasta 1984 en una granja animal en Westfalia, Alemania.

Desde 1984 empleado en la Clínica para Rumianntes (medicina Interna y cirugía) del Justus-Liebig-University Giessen, Alemania.

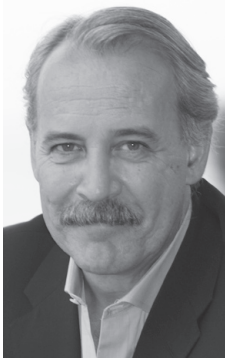
1987 Doctorado.

1989 Veterinario profesional de ganado bovino

2006 Dipl. ECBHM, Especialista Europeo en Dirección de Salud Bovina.

Actividades especiales:

- Clínica Propedeutica.
- Servicio de Salud Pública.
- Cirugía Abdominal en vacas.
- Tratamiento y prevención de enfermedades ortopédicas



D. JUAN MATEO

Presidente y Socio fundador de TRAINING LAB.

•Licenciado en Ciencias Económicas y Empresariales (UCM-CEU)

•Master en Gestión Financiera por la EEM. Además

•Diplomado por The Wharton School

(Universidad de Philadelphia)

"Advanced Banking Program for Overseas Bankers"

Ha ocupado puestos directivos en empresas consultoras de primer nivel desde 1978 (Arthur Andersen, Coopers & Lybrand y Ernst & Young)y tiene más de 24 años de experiencia en el terreno de la consultoría de formación y ventas a nivel mundial.

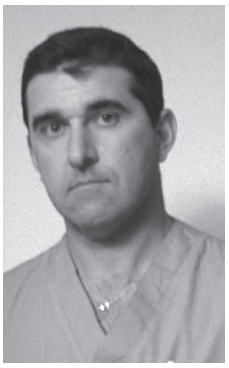
Fue Consejero Delegado y Fundador de makeateam, S.L.

En la actualidad, es además Director de The Golf University y ha sido Co-director de diversos cursos sobre Gestión Empresarial en Columbia University, Disney University y Co-director del Curso de Negociación junto a Roger Fisher en el Real Colegio Complutense de Harvard.

Es co-autor junto con Jorge Valdano del libro "Liderazgo" (El País Aguilar, 1999).

Dirigió y es co-autor del volumen de cuentos cortos "Relatos del Deporte" (Editorial Conocimiento, 2001).

En 2003 publicó con Juan Manuel Lillo "Liderar en tiempos difíciles" (McGraw-Hill) y es autor del libro "Cuentos que mi jefe nunca me contó" (Editorial LID enero 2006). Ha escrito numerosos artículos sobre "management" en publicaciones nacionales e internacionales.



D. MANUEL VICENTE MORALES

Manuel Vicente Morales Gamazo

C/ La Granja, 3- 2º B, Manganeses de la Lampreana, 49130.-ZAMORA.

Teléfono particular (980) 589116, Teléfono de empresa: 980 670300,

teléfono móvil 696 484678

Fax:980 511479

e-mail: oceva.m@colvet,es

Datos académicos:

Licenciado en veterinaria por la facultad de León con fecha 19 de julio de 1988.

Titulo de especialista en reproducción e inseminación ganadera otorgado por la Consejería de Agricultura y Ganadería de la Junta de Castilla y León con fecha 21 de diciembre de 1990.

Titulo de profesor de la escuela de salud de la Fundación Científica de Caja Rural de Zamora desde 1998.

Socio nº 305 de ANEMBE y asistente asiduo a Jornadas y Congresos organizados por esta Asociación.

Titulo de especialista en Transplante de embriones otorgado por la Junta de Castilla y León con fecha 31 de Octubre de 2000.

"Master en Asesoría y gestión de Explotaciones de bovino lechero" en la Universidad Autónoma de Barcelona. Año 2005.

Historial laboral

1989-1990 Trabajo de clínica libre en Reinosa (Santander).

1991-207. Fundador, Presidente y especialista en vacuno del equipo veterinario OCEVA S.C., equipo compuesto por tres socios, dos veterinarios contratado y servicio administrativo..

Nuestro equipo atiende unas 8000 vacas, 5000 cerdas y 30.000 ovejas.

He desarrollado principalmente mi trabajo en el campo de control y gestión de la Reproducción y clínica en granjas de tamaño medio- grande (por encima de 100 animales).

Desde el año 1997, empiezo a desarrollar otras funciones, principalmente como asesor de las explotaciones más grandes, gestionando el control de alimentación (incluidas compras y ventas), control de calidad y venta de leche, gestión de residuos, proyecto de instalaciones y gestión integral de las granjas.

Técnico asesor de la Asociación de Frisona Zamorana ("AFRIZA"), colaborando en la toma de decisiones, publicación de datos, y formación de los ganaderos.

Veterinario titular de la Agrupación de Defensa Sanitaria "ADESFI" con nº ZA-003-V, con un censo de 7892 animales que suponen un total de 6405 UGM.

Soy el responsable del equipo móvil de recogida y transferencia embrionaria ESP 017-02-ET.

He realizado diferentes publicaciones:

FRISONA ESPAÑOLA (Sept-Oct 2001): Indices Reproductivos e Instalaciones.

PRODUCCIÓN ANIMAL (Marzo 2001): Control Reproductivo en vacuno lechero.

D. ANTONIO PALOMINO

Antonio Palomino Bazaga, licenciado en Veterinaria por la Universidad Complutense de Madrid en el año 1990.

En estos 17 años he trabajado en tres etapas diferentes, todas ellas asociadas a la vaca de leche y que han permitido especializarme en asesoria sobre la calidad de la leche y especialmente en sistemas de ordeño.

Una primera etapa dedicada a la clínica libre (patología, reproducción, cirugia,...) hasta el año 1997, compaginada desde el año 1994 con el trabajo en calidad de leche dando el paso definitivo hacia la especialización a partir del año 1997 con la incorporación a la Asociación Frisona Andaluza , etapa que me permitira alcanzar experiencia en el sector y que durara hasta el año 2004.

Por último la etapa actual como técnico privado en calidad de la leche, trabajando con explotaciones de vacuno, caprino y ovino lechero en Andalucía.

Durante estos años he realizado numerosos curso relacionados con el manejo, mantenimiento y diseño de salas de ordeño.



DR. JOSE EDUARDO P. SANTOS

DATOS PERSONALES

Dirección: Veterinary Medicine Teaching and Research Center

Department of Population Health and Reproduction

School of Veterinary Medicine

University of California - Davis

Teléfono: +1 559 688 1731

E-mail: jsantos@vmtrc.ucdavis.edu

FORMACIÓN ACADÉMICA/PROFESIONAL:

1992. Licenciado en Veterinaria por la Universidad Estatal de São Paulo (Brasil)

1993. Clínica privada en vacuno lechero (Brasil)

1995. Tesina en Nutrición de Rumiantes en la Universidad de Arizona (EEUU)

1997. Doctorado en Nutrición de Rumiantes en la Universidad de Arizona (EEUU)

2000. Residencia en Medicina de Vacuno Lechero en la Universidad de Davis, California (EEUU)

2000. Profesor ayudante en la Universidad de Davis, California (EEUU)

2004. Profesor asociado en la Universidad de Davis, California (EEUU)

OTROS MÉRITOS:

1992. Graduado en iniciación a la investigación de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Estatal de São Paulo, Brasil

1999. Alumno interno del Dr. Donald E. Jasper de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Davis, California

2005. Premio nutrición bovina a jóvenes científicos de la Asociación Americana de Vacuno Lechero

EXPERIENCIA PROFESIONAL E INVESTIGADORA:

1993. Clínica privada en vacuno lechero

1994. Co-Asistente investigador del Dpto de Ciencia Animal de la Universidad de Arizona

1998. Residencia, Facultad de Veterinaria de Davis de la Universidad de California

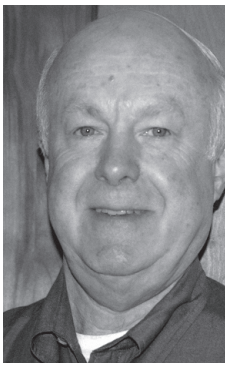
2000. Profesor ayudante, Facultad de Veterinaria de Davis de la Universidad de California

2004. Profesor Asociado de la Facultad de Veterinaria de Davis de la Universidad de California

Publicaciones científicas: 58 artículos (5 enviados)

Presentaciones y Publicaciones a Congresos: 88

Capítulos de libros: 2



DR. ROBERT WHITLOCK

Dirección: Department of Clinical Studies
New Bolton Center
School of Veterinary Medicine
University of Pennsylvania
382 West Street Road
Kennett Square, Pennsylvania
19348-1692
Teléfono: 1-610-925-6321
Fax: 1-610-925-8107
E-mail: rhw@vet.upenn.edu

FORMACIÓN ACADÉMICA:

1959 -1961. Pre-Veterinaria- Universidad de Mansfield University – Pre-veterinary
1965. Licenciado en Veterinaria por la Universidad de Cornell
1970. Doctor en Veterinaria por la Universidad de Cornell

LÍNEAS PRINCIPALES DE INVESTIGACIÓN:

Botulismo en équidos y bóvidos
Paratuberculosis (Enfermedad de Johne)

MIEMBRO DE LOS SIGUIENTES COLEGIOS:

1975. American College of Veterinary Medicine(Colegio Americano de Veterinaria)
American College of Veterinary Pathology (Colegio Americano de Anatomía Patológica Veterinaria)

EXPERIENCIA PROFESIONAL UNIVERSITARIA:

1978-1984. Profesor Asociado de la Facultad de Medicina de la Universidad de Penn

CONFERENCIAS:

Más de 200 presentaciones en conferencias regionales, estatales, nacionales e internacionales

OTROS MÉRITOS:

1978 Miembro honorífico de Arts, Universidad de Pennsylvania
1986 Academia Nacional de Medicina Veterinaria

MIEMBRO DE LAS ASOCIACIONES PROFESIONALES:

1965-Actualidad: Asociación Americana de Veterinarios

1967-Actualidad: Asociación Americana de Veterinarios de Vacuno

1976-Actualidad: Asociación Americana de Veterinarios Especialistas en Medicina Interna

1984-Actualidad Asociación De Veterinarios Especialistas en Diagnóstico Laboratorial

1986-Actualidad: Coordinador del Comité de Agricultura de la Asociación de Veterinarios de Pensilvania

1986 – 1990: Asesor Científico de la Fundación Morris de Investigación Animal

1990-1993: Copresidente del Comité de Enfermedades infecciosas Bovinas del Instituto de Conservación de la Ganadería

1990-1996: Presidente del Comité de Enfermedad de Johne

1980-Actualidad: Asociación Americana de Salud Animal

1995-Actualidad: Copresidente del Grupo de trabajo de Enfermedad de Johne

LICENCIAS ESTATALES:

Pensilvania--#3255 Nueva York--#VM002640 Georgia--#1944

COMITÉ CIENTÍFICO/ASESOR:

1972–1988. Comisión editorial Veterinaria de Cornell

1979–1980. Asesor Editorial. Gastroenterologia Veterinaria

1992. Editor asociado de la 2ªed. Gastroenterologia Veterinaria

1981. Asesor. Current Therapy in Food Animal Practice

1986. Asesor. Current Therapy in Food Animal 2ªed.

1982. Editor parcial. Current Therapy in Equine Practice

1981-1986. Editor sección grandes animales del Compendium on Continuing Education

1987-1988. Editor sección equino del Compendium on Continuing Education

1984-1989: American Journal Veterinary Research

PUBLICACIONES:19

COMUNICACIONES A CONGRESOS: 25


Con luz propia

Ponencias

CURRENT STATUS OF ENDOSCOPY IN CATTLE

BAUMGARTNER, W., FRANZ, S.
Clinic for Ruminants, Department for Farm Animals and Herd Management, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria

Rhinotracheobronchoscopy

Endoscopy of the respiratory tract in cattle comprises inspection of the nasal and pharyngeal cavities, the larynx, the trachea, the origin of the tracheal bronchus, the bifurcation as well as the first part of the principal bronchi. The advantage of endoscopy to other diagnostic examination techniques is the direct visualisation of the mucous membrane of the upper airway.

Indications of rhinotracheobronchoscopy are patients with clinical symptoms like stridor, nasal discharge, difficulties in swallowing as well as salivation, swellings in the throat and pathological findings upon auscultation and percussion of the lungs. The collection of bronchoalveolar lavage fluid in patients with bronchopneumonia or bronchitis for bacteriologic, virologic, fungal or cytologic examination as well as the monitoring of therapy in cases of previously confirmed respiratory disease constitute further indications (FISCHER, 1984; 1992; KAHL et al., 1985a, b, c; SCHOLZ et al., 1987).

The instruments used are the same as described for oesophagoscopy. Pathological findings that can be seen by endoscopy are different signs of inflammation such as reddening of the mucosa, secretion in different amount and consistency, swelling of lymph follicles in the pharynx, neoplasm and foreigns bodies in the nasal meatus, as well as perforation. Despite antimicrobial therapy in patients with chronic bronchopneumonia still bacterial pathogens can be isolated by means of endoscopically performed bronchoalveolar lavage.

Urethrocystoscopy

In cattle diagnostic methods of urinary tract diseases consist of anamnesis, physical examination, urinalysis and blood analysis. In large animals, also the rectal palpation of the kidneys is of great importance. Nevertheless, in some cases the latter methods are not satisfactory in order to receive an exact diagnosis and to provide a correct prognosis.

A rigid 70° optic with 40 cm in length and 4 mm in diameter is used for cystoscopy. The corresponding cystoscope/urethroscope shaft comprises a working channel. The cows are restrained in stocks for examination. No sedation is necessary and no epidural anaesthesia is used. Following thorough cleaning and disinfection of the anogenital region, the cystoscope is inserted into the bladder in the same manner as a urinary catheter. To allow for examination of the mucosa of the bladder in its entirety, the bladder has to be as empty as possible. In order to provoke urination, the bladder is rinsed with sterile saline solution and then insufflated with a small amount of air.

Clinical signs such as haematuria, tenesmus vesicae or pollakisuria represent indication for cystoscopic examination. Cystoscopy allows for assessment of the lumen and mucosa of the urethra and bladder and the inspection of the ureteral openings (HEJNY, 1995).

Upon cystoscopy, alterations in the physiologic condition of the bladder`s mucosa easily are recognized (FRANZ et al., 2004). This method of direct examination clearly reveales any changes in colour, accumulations of pus or fibrin, or mucosal lesions of varying severity.

Theloscopy

Disorders in milk flow are caused predominantly by covered teat injuries. Severe mastitis, foreign bodies in the teat itself and other congenital disorders are further causes and indication for theloscopy.

Teat endoscopy is performed with a rigid endoscope via teat canal or by lateral access. The milk flow has to be ceased by application of a clamp at the teat base, and the teat has to be dilated by air insufflation. The surface of the tissue of the teat canal and the teat cistern is inspected. Lateral theloscopy can only be done by infiltration anaesthesia in the area of the Fürstenberg venous ring. The teat skin is opened laterally (0.5 cm) using a scalpel. The muscular connecting tissue and the mucosa of the teat cistern are opened by a trocar. The endoscope is introduced through the sheath into the teat cistern. Lateral endoscopy enables an exact inspection of the Fürstenberg rosette and the teat cistern as well and is mainly used for surgical intervention in cases of covered teat injuries (HOSPES and SEEH, 1998; MEDL et al., 1984; SEEH et al., 1998).

Inflammation becomes manifest in reddening of the mucosa, increased vessel injection and mucosal proliferation. By means of endoscopy the presence of neoplasm like papillomas or even free foreign bodies in the teat cistern such as milk stones or broken teat pins also can be identified as other causes of milk flow disorders.

References

FISCHER, W. (1984): Beitrag zur endoskopischen Diagnostik raumfordernder Prozesse im Tracheobronchialbereich des Rindes (klinischer Bericht). Tierärztl. Umsch. 39, 520-525.

FISCHER, W. (1992): Erfahrungsbericht zur Laryngoskopie beim Rind. Tierärztl. Umsch. 47, 357-360.

FRANZ, S., KÖNIG, M., GASTEINER, J., BAUMGARTNER, W. (2000): Laparoskopie beim Rind. 3. Mitteilung: Indikationen und pathologische Befunde. Wien. Tierärztl. Mschr. 87, 163-172.

FRANZ, S., BAUMGARTNER, W. (2002): A retrospective study of oesophageal endoscopy in cattle – esophagoscopy for diagnosis of mucosal disease. Vet. J. 163, 205-210.

FRANZ, S., WINTER, P., SCHILCHER, F., BAUMGARTNER, W. (2002): Möglichkeiten der diagnostischen Laparoskopie beim Wiederkäuer – Lymphatische Leukose beim Kalb. Ein Fallbericht. Tierärztl. Prax. 30, 69-137.

FRANZ, S., WINTER, P., BAUMGARTNER, W. (2004): Cystoscopy in cattle – a valuable additional tool for clinical examination. A. Vet. Hung. 52, 423-438.

FRANZ, S., MÖSTL, K., BENETKA, V., HOFER, J., BAUMGARTNER, W. (2006):Oesophagoscopy and detection of viral nucleic acids in oesophageal biopsies – a contribution to BVDV diagnosis. J. Vet. Med. B 53, 11-16.

GONZALES, J.L., RODRIGUEZ, A., PEREZ, P.J., FUENTES, O. (1980): Visualisation and puncture of the liver of cattle by means of laparoscopy. Rev. Salud. Anim. 2, 15-19.

HEJNY, K. (1995): Einsatz der Zystoskopie beim Wiederkäuer. Diss., Vet. Med. Univ. Wien.
HOSPES, R., SEEH, CH. (1998): Behebung von Milchabflußstörungen unter endoskopischer Kontrolle; Die Theloresektoskopie in der Zitze des Rindes. Tierärztl. Umschau 53, 674-678.
JANOWITZ, H. (1998): Laparoskopische Reposition und Fixation des nach links verlagerten Labmagens beim Rind. Tierärztl. Prax. 26, 308-313.
KAHL, D., HOFMANN, W. (1985a): Bronchoskopie beim Rind. 1. Mitteilung: Zur Methodik bronchoskopischer Untersuchungen beim Rind. Tierärztl. Umsch. 40, 339-343.
KAHL, D., HOFMANN, W. (1985b): Bronchoskopie beim Rind. 2. Mitteilung: Zur Methodik bronchoskopischer Untersuchungen beim Rind. Tierärztl. Umsch. 40, 589-592.
KAHL, D., HOFMANN, W. (1985c): Bronchoskopie beim Rind. 3. Mitteilung: Zur Methodik bronchoskopischer Untersuchungen beim Rind. Tierärztl. Umsch. 40, 666-675.
KLEIN, C., FRANZ, S., LEBER, A., BAUMGARTNER, W. (2002): Methodik der Darmbioptatentnahme unter laparoskopischer Kontrolle bei Kalb und Schaf. Wien. Tierärztl. Mschr. 89, 291-301.
KÖNIG, M., FRANZ, S., GASTEINER, J., BAUMGARTNER, W. (2000a): Laparoskopie beim Rind. 1. Mitteilung: Laparoskopie in der Fossa paralumbalis sinistra. Wien. Tierärztl. Mschr. 87, 70-76.

KÖNIG, M., FRANZ, S., GASTEINER, J., BAUMGARTNER, W. (2000b): Laparoskopie beim Rind. 2. Mitteilung: Laparoskopie in der Fossa paralumbalis dextra. Wien. Tierärztl. Mschr. 87, 105-110.
KRAFT, W. (1993): Tierärztliche Endoskopie, Schattauer, Stuttgart.
MEDL, M., QUERENGÄSSER, K., WAGNER, C., PAARMANN, S., RÜSCH, P. (1994): Zur Abklärung und Behandlung von Zitzenstenosen mittels Endoskopie. Tierärztl. Prax. 22, 532-537.
NAOI, M., KOKUE, E., TAKAHASHI, Y., KIDO, Y. (1985): Laparoscopic assisted serial biopsy of the bovine kidney. Am. J. Vet. Res. 46, 699-702.
ROMUSSI, S., GUALTIERI, H., TRENTI, F. (1994): Laparoscopic diagnosis in 13 cases of left abomasal displacement in cows. Proc. 18th World Buiatrics Congress. Bologna, p. 1231-1234.
SCHOLZ, H., CURRLE, M., FISCHER, W. (1987): Untersuchungen zur Bronchopneumonie des Rindes. 2. Mitteilung: Endoskopische, Tracheobronchialsekret- und Blutgasuntersuchungen. Tierärztl. Umsch. 42, 371-378.
SEEH, CH., MELLE. T., MEDL, M., HOSPES, R. (1998): Systematische Einteilung der Milchabflußstörungen des Rindes anhand endoskopischer Befunde unter besonderer Berücksichtigung der gedeckten Zitzenverletzungen. Tierärztl. Prax. 26, 174-186.

NUEVAS TENDENCIAS EN ALIMENTACIÓN DEL GANADO VACUNO LECHERO

Vicente Jimeno Vinatea[1] y Teresa Castro Madrigal[2]
1- Departamento de Producción Animal
E.U.I.T. Agrícola (U.P.M.)
2- Departamento de Producción Animal
Facultad de Veterinaria (U.C.M.)

ÍNDICE

1.- Introducción.
2.- Materias primas y aditivos.
3.- Proteína.
4.- Fibra química y física.
5.- Fósforo.
6.- Vitaminas.
7.- Nutrición e inmunidad.
8.- Efecto de la alimentación sobre el perfil de ácidos grasos (AG) en la leche
9.- Bibliografía.

1. Introducción.

La producción de leche en los EEUU aumentó constantemente a lo largo del siglo pasado, y en concreto durante los últimos 25 años, en los que ha mantenido un ritmo de crecimiento de un 2 % anual (VandeHaar y St-Pierre, 2006). Aunque la materia seca ingerida (MSI) por vaca también ha aumentado, el incremento en los requerimientos energéticos ha sido más rápido que el de la MSI, lo que ha conducido a la formulación de dietas con mayor densidad en nutrientes (Eastridge, 2006).

En la actualidad, las vacas alcanzan producciones de leche tan elevadas que sus necesidades energéticas diarias totales equivalen entre 4 y 7 veces a sus necesidades energéticas de mantenimiento. En consecuencia, las raciones con las que se alimenta a las vacas del siglo XXI son muy ricas en concentrados, y difieren sustancialmente de las que recibían hace 100 años, basadas principalmente en forrajes. Cada vez, es más común encontrar rebaños, con producciones medias de leche por lactación próximas a 12.500 kg y consumos de materia seca (MS) entre 25 y 27 kg/día.

Durante los últimos 25 años, la densidad energética de las raciones (DER) han aumentado desde 1,23-1,36 Mcal de ENl/kg MS hasta valores actuales superiores a 1,60 Mcal/kg MS, y la eficacia de alimentación (expresada como FCM 4%/kg MSI) desde 0,91 hasta 1,20, siendo el objetivo 1,50. Igualmente, se ha mejorado mucho en lo referente a la relación nutrición-salud de los animales, cuidando y mejorando la calidad de los alimentos y la eficacia de las fermentaciones ruminales.

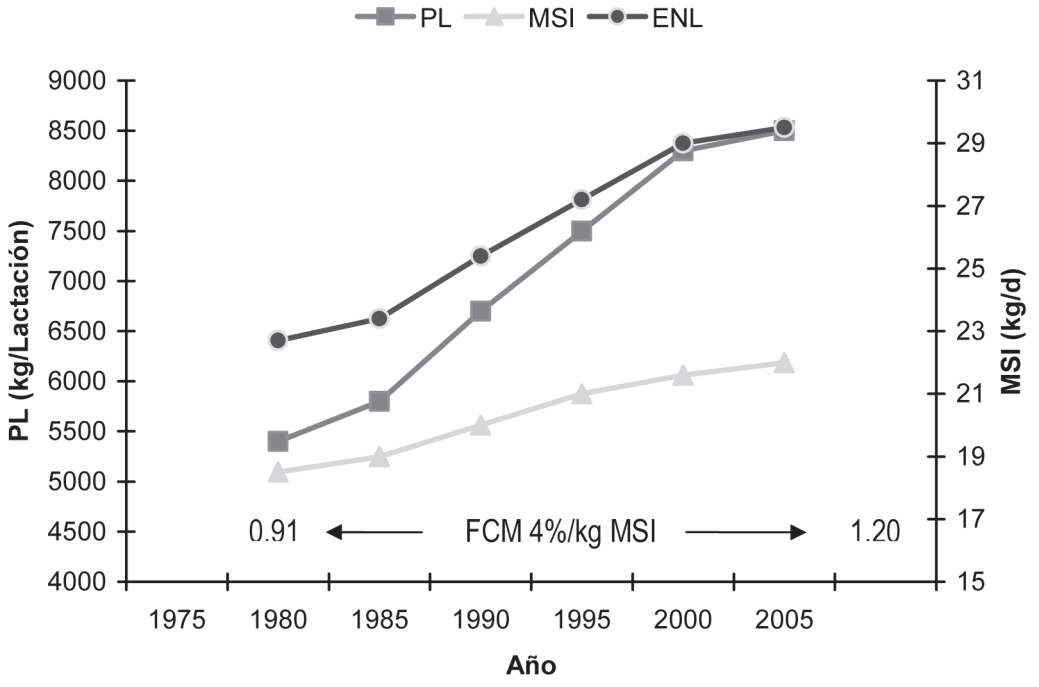


Figura 1. Evolución en la producción de leche, MSI, necesidades energéticas y eficacia de la ración en EEUU (Eastridge, 2006).

Los avances conseguidos en el campo de la investigación científica, han proporcionado importante información y conocimientos, tanto a veterinarios como a nutricionistas, que han hecho posible el desarrollo de nuevos y más adecuados programas de alimentación y de manejo, contribuyendo a la mejora de la rentabilidad de las explotaciones y la salud de los animales. La distribución relativa de los trabajos de investigación publicados sobre ganado vacuno lechero en el J*ournal of Dairy Science* (JDS) desde el año 1981 hasta 2004 quedan reflejados en la figura 2 (Eastridge, M.L., 2006).

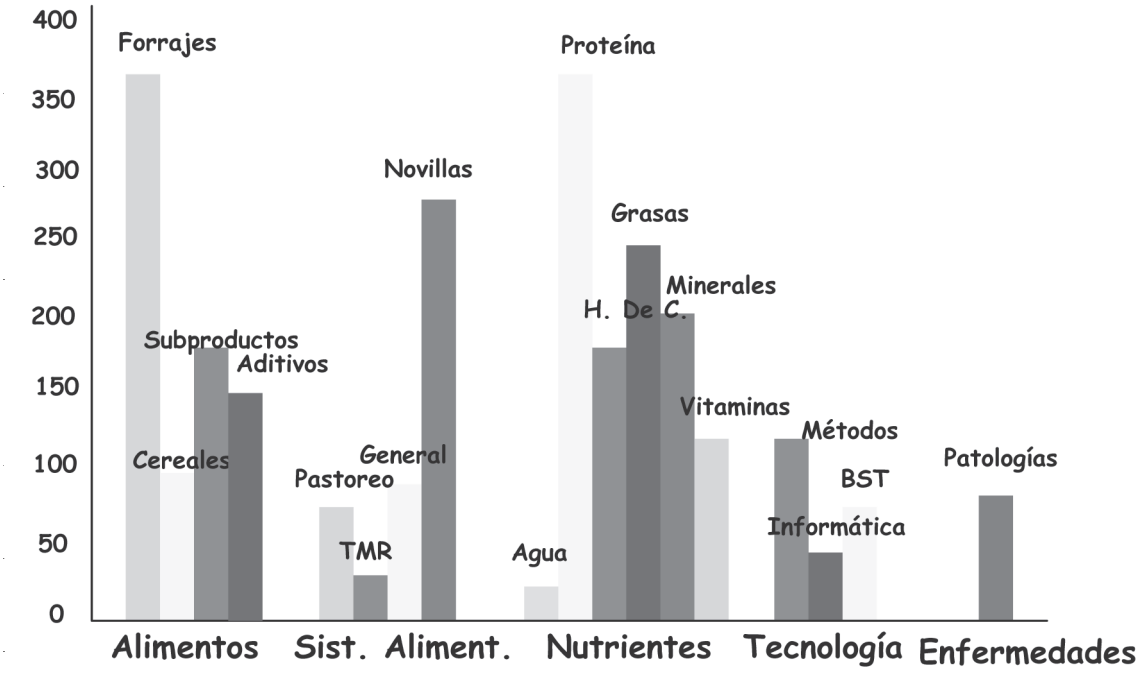


Figura 2. Distribución relativa del número de trabajos de investigación sobre ganado vacuno lechero aparecidos en el JDS, desde 1981 hasta 2004.

2. Materias primas y aditivos.

En las dietas de ganado vacuno lechero, los forrajes constituyen una parte importante de las mismas, tanto por su efecto sobre la salud ruminal como por su repercusión sobre los costes de alimentación. Las materias primas a las que se les ha dedicado un mayor porcentaje de trabajos de investigación, han sido maíz forrajero, alfalfa, sorgo y hierba.

En cuanto a los trabajos llevados a cabo con el ensilado de maíz, se han centrado en la altura y longitud de corte, el procesado de la planta o del grano y el empleo de diferentes híbridos. En este sentido, recientes ensayos de investigación han reportado interacciones entre la eficacia del procesado del grano en el ensilado de maíz, con la altura de corte y la variedad cultivada. Weiss y Wyatt (2002) observaron que mediante el procesado o acondicionado del grano, el ensilado de maíz mejoró la digestibilidad aparente del almidón en el tracto digestivo, y aplicando una mayor altura de corte a la planta de maíz hubo una mayor eficacia en la digestibilidad de la FND. El efecto del procesado del grano fue más pronunciado con las variedades convencionales, que con los híbridos ricos en aceite (mayor digestibilidad del almidón).

El cosechado de la planta de maíz para ensilado, empleando un procesador o acondicionador de grano, puede resultar de gran interés en estados avanzados de madurez del grano.

Los diferentes híbridos de planta de maíz para ensilado que presentan una elevada digestibilidad de la FND, son variedades ricas en aceite e híbridos *brown-midrib* (*BMR o bm3*). Existe una considerable variación entre la digestibilidad de la FND de los diferentes híbridos de maíz, siendo aconsejable el empleo de aquellas variedades de mayor digestibilidad en FND en raciones diseñadas para vacas de alta producción. En estos casos se aconseja trabajar con niveles de FND altos en la dieta, para mejorar la productividad y mantener la tasa butírica (TB) o concentración de grasa en la leche (Oba y Allen, 2000).

Las variedades de maíz *BMR* contienen bajas concentraciones de lignina, y en consecuencia presentan valores de digestibilidad *in vitro* de la FND más elevados.

Ebling y Kung (2004), estudiaron el efecto del procesado del grano de maíz y el tipo de híbrido sobre el valor nutritivo del ensilado de maíz en vacas lecheras. Observaron que las vacas que consumieron la ración con un híbrido de maíz procesado, tuvieron una mayor MSI y produjeron más leche que las que consumieron una variedad convencional, también con procesado del grano (Cuadro 1). Cuando el ensilado de maíz fue procesado, independientemente de la variedad o híbrido, en vacas alimentadas con raciones *unifeed* o TMR, se observo una reducción en los rechazos.

Cuadro 1. Rendimientos en vacas lecheras de variedades convencionales e híbridos de maíz para ensilado, con procesado del grano o sin procesar (Ebling y Kung, 2004).

Item	Maíz convencional procesado	Híbrido BMR procesado	Híbrido BMR sin procesar	EEM
MSI, kg/d	23,4^{b}	25,9^{a}	24,5^{ab}	0,60
Leche, kg/d	41,4^{b}	44,3^{a}	42,5^{ab}	0,80
TB %	3,16	2,94	3,17	0,13
Grasa, kg/d	1,29	1,32	1,34	0,04
TP %	2,79	2,76	2,75	0,03
Proteína kg/d	1,15	1,22	1,17	0,03
FCM (3,5%) kg/d	38,8^{d}	40,8^{c}	40,0^{cd}	0,80
FCM/MSI, kg/d	1,78	1,74	1,75	0,04

a,b,c,d: Para una misma fila, medias con superíndices distintos difieren significativamente (*P<0,05*)

La digestibilidad de la materia orgánica (MO), proteína bruta (PB) y almidón fue siempre mayor para los ensilados de maíz en los que el grano fue procesado, frente a las variedades sin procesar (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características fecales y digestibilidad aparente *in vivo* en vacas alimentadas con variedades convencionales e híbridos de maíz para ensilado, con procesado del grano o sin procesar (Ebling y Kung, 2004).

Item	Maíz convencional procesado	Híbrido BMR procesado		Híbrido BMR sin procesar	EEM
pH fecal	6,92[a]	6,97[a]		6,81[b]	0,15
Granos enteros/250 g heces	4[b]	3[b]		20[a]	3,00
MO	64,2[a]	66,0[a]	% MS	56,5[b]	1,1
MS	61,7[a]	63,8[a]		54,0[b]	1,1
PB	64,2[a]	65,7[a]		58,2[b]	1,4
FAD	32,8[b]	39,6[a]		32,1[b]	2,4
FND	34,1[b]	42,1[a]		30,0[b]	1,9
Almidón	99,0[a]	98,7[a]		88,5[b]	0,7

a,b: Para una misma fila, medias con superíndices distintos difieren significativamente (*P<0,05*)

Cuando la altura de corte de la planta de maíz para ensilado pasa de 15 cm a 40 cm, disminuye el contenido en FND, aumenta la digestibilidad *in vitro* de la FND y mejora la densidad energética del ensilado. El tratamiento con álcalis o amoniaco de aquellos forrajes de baja calidad, mejora la digestibilidad de los mismos.

Algunos granos de cereales como maíz y sorgo, empleados habitualmente en la alimentación de vacas lecheras de alta producción, cuando son tratados por presión, humedad y temperatura se observa una mejora en la eficacia de utilización de la energía neta para la lactación. Este efecto se debe a un aumento en la degradabilidad ruminal del almidón y a una mayor digestibilidad de la pequeña fracción de mismo que alcanza el intestino delgado, aumentando en consecuencia, la digestibilidad total del almidón en el tracto digestivo. Esta mejoría en la digestibilidad, se produce por la ruptura de la matriz proteica que envuelve los gránulos de almidón que se encuentran en el endospermo del grano, y por la desorganización del propio gránulo de almidón (gelatinización).

Los principales sistemas de procesados de granos son: copos tratados el vapor, granos aplastados tratados al vapor, tostado del grano, aplastado en seco y molienda. No todos tienen el mismo efecto sobre la digestibilidad del almidón, siendo los más efectivos copos y aplastado, con tratamiento previo del grano en cámara de vapor. La técnica de aplastado en seco es más común en granos de cebada, sorgo y trigo, con una densidad final del producto entre 450-644 g/l. El procesado mediante copos tratados al vapor se aplica más a los granos de maíz, y se consiguen densidades del copo entre 309-386 g/l (Theurer *et al*., 1999). Los mejores resultados sobre la producción de leche y proteína se consiguen con copos tratados al vapor.

El maíz aplastado tratado al vapor permanece menos tiempo en la cámara de vapor y recibe menos presión, que cuando también se procesa mediante aplicación de vapor pero en forma de copos. En consecuencia, el aplastado del grano presenta una digestibilidad del almidón en el tracto digestivo, significativamente menor que en el procesado en forma de copos (Cuadro 3).

Cuadro 3. Efecto del procesado del grano de maíz en copos o aplastado al vapor sobre la digestibilidad del almidón y los rendimientos productivos en vacas lecheras alimentadas con raciones *unifeed,* en las que el forraje base fue el heno de alfalfa (Theurer *et al*., 1999).

Items	Aplastado vapor	Copos vapor	EEM
MSI, kg/d	26,5	26,5	0,40
FCM (3,5%), kg/d	33,6	34,6	0,30
P. Leche, kg/d	35,8[a]	38,0[b]	0,40
TP %	2,99	3,06	0,02
Proteína, kg/d	1,07[a]	1,16[b]	0,01
TB %	3,11[b]	2,98[a]	0,03
Grasa, kg/d	1,12	1,13	0,01
Digestibilidad total Almidón	87,4[a]	95,7[b]	2,00

a,b: Para una misma fila, medias con superíndices distintos difieren significativamente (*P<0,05*)

Igualmente, los resultados sobre la digestibilidad total del almidón en el tracto digestivo y los resultados productivos en la lactación de vacas lecheras mejoran de forma significativa, para el procesado del grano en forma de copos al vapor frente al aplastado en seco (Cuadro 4).

Cuadro 4. Efecto del procesado del grano de sorgo en copos o aplastado en seco sobre la digestibilidad del almidón y los rendimientos productivos en vacas lecheras alimentadas con raciones *unifeed,* en las que el forraje base fue el heno de alfalfa (Theurer *et al*., 1999).

Items	Aplastado vapor	Copos vapor	EEM
MSI, kg/d	25,6	25,1	0,20
P. Leche, kg/d	35,6[a]	37,4[b]	0,30
TP %	2,95[a]	3,02[b]	0,01
Proteína, kg/d	1,06[a]	1,14[b]	0,01
TB %	3,20[b]	3,03[a]	0,02
Grasa, kg/d	1,14	1,14	0,01
Digestibilidad total Almidón	83,7[a]	97,1[b]	1,00

a,b: Para una misma fila, medias con superíndices distintos difieren significativamente (*P<0,05*)

Estas diferencias en los resultados productivos, entre el tipo de procesado del grano, se explican por el aumento en la utilización digestiva del almidón, lo que provoca una mejoría en el reciclado del nitrógeno ureico en el tracto digestivo, una mayor absorción de aminoácidos (AAs) y otros nutrientes hacia la glándula mamaria (Theurer *et al.*, 1999).

Los aditivos a los que más trabajos de investigación se han dedicado en los últimos años son las sustancias tampón o *buffer*, ionóforos y cultivos de levaduras. En la UE está prohibido el uso de ionóforos-antibióticos en la alimentación de ganado vacuno, no siendo así en los EEUU donde la monensina y el lasalocid se emplean como aditivos en la producción láctea.

Los resultados obtenidos con el empleo de cultivos de levaduras y levaduras, en la producción de leche en vacas, son muy variables, aunque su relativo bajo coste (0,4-0,7 /vaca/día) y potencial beneficio sobre la digestión de la fibra (potencia la población de bacterias fibrolíticas) ha hecho que su uso en las dietas de ganado vacuno se haya extendido. Probablemente estos aditivos microbianos tengan un mayor efecto en condiciones de desequilibrio en la población microbiana del tracto digestivo, por ejemplo, en animales que presenten alguna alteración patológica. En condiciones normales, puede resultar recomendable su uso en preparto, inicio de lactación y en casos de pérdida de apetito y estrés (Hutjens, 2005).

El uso de sustancias tampón y agentes alcalinizantes en las raciones de vacas lecheras de alta producción, que ingieren elevadas cantidades de concentrados, pueden ayudar a mejorar las condiciones ambientales del rumen y mantener estable el pH ruminal. Staples y Lough (1989) observaron que en dietas de vacas lecheras en las que el forraje base fue el ensilado de maíz, la suplementación con bicarbonato sódico, mejoró la producción de leche en 0,8 kg/d y la TB un 0,22 %. Con raciones en las que la relación forraje/concentrado (F/C) fue 50/50, no encontraron evidencias suficientes de que la combinación de óxido de magnesio con bicarbonato sódico mejorara los rendimientos productivos más allá de lo que puede hacer sólo el bicarbonato. Igualmente, Meschy *et al.* (2004) reportaron que con la incorporación de sustancias tampón, cada punto porcentual de incorporación sobre MS de la dieta, provocó un aumento significativo de la ingestión (+ 0,51 kg MS/d), la producción de leche (+ 0,52 kg/d), la TB (+ 0,15 %) y del pH ruminal (+ 0,07 puntos).

Hu y Murphy (2005) comprobaron que adicionando bicarbonato sódico en dietas de inicio de lactación, a dosis entre 0,7 y 1 % de la MS de la ración, cuando el forraje base fue el ensilado de maíz, hubo un aumento en la producción de leche y en la TB. Sin embargo, cuando el forraje principal de la dieta fue el heno de alfalfa, no observaron efecto alguno.

El óxido de magnesio es una sustancia alcalinizante (aumenta el pH del rumen), que además mejora la eficiencia en el empleo de nutrientes plasmáticos para la síntesis de grasa en la glándula mamaria. Es recomendable su uso junto a sustancias tampón basadas en sodio, cuando se combina con bicarbonato sódico se obtienen buenos resultados en relaciones de 2-3 partes de bicarbonato y 1 de óxido de magnesio (Hutjens, 2005).

La respuesta a la suplementación de la dieta con sustancias tampón depende del tipo de forraje y de su estructura física. También, probablemente se obtengan mayores beneficios cuando su empleo se aplique a dietas con escasa concentración en fibra efectiva (Krause y Oetzel, 2006).

Otros aditivos antimicrobianos, como los aceites esenciales, han despertado un gran interés en la alimentación de vacas lecheras como alternativa a los antibióticos, para mejorar la eficacia de la alimentación en rumiantes. Los aceites esenciales son componentes naturales de las plantas y otros compuestos volátiles que pueden ser extraídos mediante métodos de destilación. Su efecto antimicrobiano se centra frente a bacterias Gram negativas y positivas. Recientemente, se han publicado numerosos trabajos sobre los efectos de los aceites esenciales en la flora y fauna ruminal y su metabolismo (aumento de la relación acetato/propionato e inhibición de la desaminación). La mayor parte consisten en incubaciones i*n vitro* o *in situ*, pero muy pocos han sido realizados *in vivo* para evaluar los efectos de los aceites esenciales sobre el rendimiento de las fermentaciones ruminales.

En dos experimentos realizados *in vivo* (Benchaar *et al.*, 2006 y 2007) con un aceite esencial a una concentración de 2 g/d, y una mezcla de aceites esenciales en vacas lecheras en inicio de lactación, encontraron efectos muy limitados sobre la digestión, fermentación ruminal, producción de leche y composición de la misma. Aunque de los trabajos *in vitro* se desprenden resultados favorables de estos agentes antimicrobianos para alterar las fermentaciones ruminales cuando se emplean a dosis muy altas, se precisan más trabajos *in vivo* para validar su eficacia a dosis normales de alimentación, y en consecuencia su inclusión en las dietas ha de ser valorada.

3. Proteína.

La respuesta a un aumento en los aportes de proteína en la ración sobre la producción de leche, se rige por la ley de máximos decrecientes, y probablemente el punto de máxima rentabilidad, corresponda a una concentración de proteína bruta (PB) en la dieta por debajo de las necesidades para una máxima producción de leche.

En vacas de leche, la eficacia de conversión del nitrógeno (N) alimenticio en N lácteo raramente excede el 30 %. Esta baja eficacia de conversión, limita seriamente la capacidad de la PB de la dieta para modificar la tasa proteica (TP) de la leche (Jenkins y McGuire, 2006).

El consumo de energía es generalmente más limitante en la producción de leche, que el de proteína. Puede que de forma habitual, los márgenes de seguridad en el contenido en PB de la raciones sean excesivos, lo que estaría provocando una sobrealimentación proteica. Este exceso de proteína puede disminuir ligeramente la eficiencia energética, pero el riesgo de una subalimentación proteica (reducción en la producción de leche y en la eficiencia energética) lleva asociado un coste económico mucho mayor, por lo que a corto o medio plazo nuestras vacas seguirán consumiendo más proteína que la que realmente necesitan. Si fuésemos capaces de mantener los niveles de producción de leche reduciendo el aporte de proteína, reduciríamos las pérdidas de N urinario y el impacto ambiental de las emisiones de gas amoniaco a la atmósfera (VandeHaar y St-Pierre, 2006).
En un trabajo llevado a cabo por Wu y Satter (2000b), en vacas *Holstein* de alta producción (11.000 kg/308 d) durante una lactación completa, con dietas que contenían diferentes concentraciones en PB y en las que los forrajes base fueron el ensilado de alfalfa y de maíz, observaron que el contenido mínimo en PB en inicio de lactación debería ser de 17,5 %/MS, pudiendo reducir esta concentración al 16 % a partir de la semana 30 de lactación, siempre y cuando a lo largo de toda la lactación el nivel de proteína no degradable en rumen (RUP) estuviese próxima al 50 %. Estas concentraciones de PB permiten el máximo beneficio y producen una excreción moderada de nitrógeno al ambiente (Cuadro 5).

Cuadro 5. Producción de leche, consumo de N, N en leche y N en heces de vacas alimentadas con contenidos variables en PB durante 308 días de lactación (Wu y Satter, 2000b).

	Tratamientos				
Items	15,4-16,0 (n=15)	17,4-16,0 (n=15)	17,4-17,9 (n=14)	19,3-17,9 (n=14)	EEM
Producción leche, kg	10.056[c]	10.832[b]	11.095[a]	11.132[a]	349
FCM (3,5 %), kg	10,690[b]	11.628[a]	11.804[a]	11.559[a]	368
N consumido, kg	177,8[c]	189,1[b]	213,7[a]	214,2[a]	4,0
N en leche, kg	51,2	48,9[b]	51,5	53,0[a]	1,6
N en heces, kg	126,6[c]	140,2[b]	162,2[a]	161,2[a]	3,8

a,b,c: Para una misma fila, medias con superíndices distintos difieren significativamente (*P<0,05*)

Los tratamientos varían en el contenido en PB: 15,4-16,0 = 15,4 % de PB durante las 16 primeras semanas de lactación y 16,0 % de la 17 a la 44 semana de lactación, igual para 17,4-16,0; 17,4-17,9 y 19,3-17,9.

Olmos Colmenero y Broderick (2006) valoraron el efecto de cinco niveles de PB en la dieta (13,5; 15,0; 16,5; 17,9 y 19,4 %/MS) para vacas lecheras de alta producción en inicio-alta producción, y muestran que las raciones con una concentración en PB del 16,5 %/MS, soportan las producciones de leche más altas, con una mínima excreción de nitrógeno al ambiente. Eastridge (2006) señala que en raciones de preparto la concentración en PB de la ración debería ser del 14-15 %, siendo mínima la respuesta al incremento en el contenido en proteína no degradable en rumen.

La concentración de nitrógeno ureico en leche (MUN) y en sangre (BUN) está relacionada con la eficacia de uso del N de la dieta para sintetizar N en la leche. Cuando el contenido en PB y proteína degradable de la dieta son elevados, se observa un incremento en el MUN y BUN. Numerosos trabajos han evaluado el efecto negativo del MUN sobre la fertilidad en vacas de leche, para valores de MUN superiores a 19 mg/dl la tasa de gestación o concepción disminuye. El MUN y el BUN están muy correlacionados y estrechamente relacionados con la concentración de PB en la ración (Melendez *et al.*, 2000).

Se han realizado trabajos con extractos de Yucca, para medir su efecto sobra la mejora en la eficacia de uso del N alimentario en rumiantes. Parece ser que el extracto glucídico de la Yucca presenta una buena capacidad para ligar N amoniacal, por lo que reduciría el BUN y MUN, cuando se incorpora en la dieta a dosis entre 0,8-9 gramos/día, aunque su empleo en dietas comerciales debe ser valorado (Hutjens, 2005).

En la figura 3 puede observarse un resumen de los datos publicados en los últimos años sobre la variación de la TP en leche, en función de la concentración y tipo de PB en la ración de vacas lecheras. La TP experimentó una variación desde el 2,85 % al 3,27 %, cuando el contenido en la PB de la dieta evolucionó desde el 15,0 al 19,5 %, incluyendo una amplia variedad de fuentes proteicas (Jenkins y McGuire, 2006).

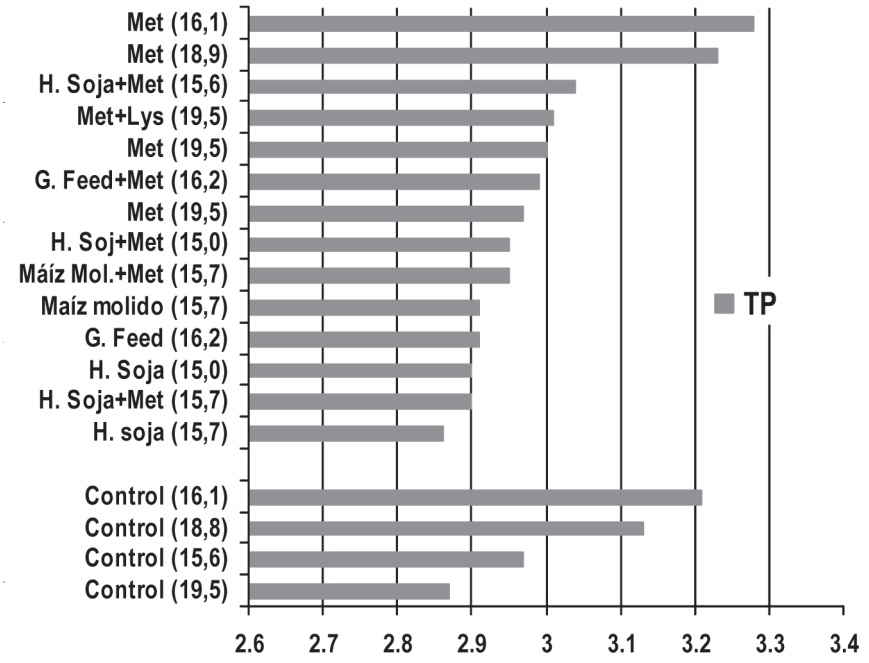


Figura 3. Metanálisis que recoge las variaciones de TP en la leche según la concentración y tipo de PB en la dieta (Jenkins y McGuire, 2006).

4. Fibra: Química y física.

Las vacas lecheras de alta producción necesitan ingerir elevadas cantidades de MS cada día, principalmente MS proveniente de los concentrados, lo que aumenta el riesgo de aparición de determinadas patologías como la acidosis ruminal subaguda (ARSA). Por ello, en las dietas destinadas a vacas de alto potencial productivo, resulta del máximo interés conocer y predecir con precisión las características cuantitativas y cualitativas de la fibra.

La fuente de fibra, el tamaño de partícula de la misma y el tipo de procesado que hayan podido sufrir los cereales que componen el concentrado, ejercen un efecto altamente significativo sobre el correcto funcionamiento del sistema *buffer* o tampón del rumen, y en consecuencia, sobre la salud de la flora y fauna ruminal (Krause y Oetzel, 2006).

Las estrategias de alimentación adoptadas en rebaños de vacas lechera para controlar el riesgo de aparición de acidosis ruminal subaguda, deberán orientarse hacia acciones que permitan mantener un adecuado equilibrio entre el sistema tampón del animal y la producción de ácidos grasos volátiles (AGV), generados a partir de la fermentación ruminal de los hidratos de carbono procedentes de la dieta. En consecuencia, habrá que prestar especial atención a los aportes de fibra en la ración, y al tamaño de partícula de la misma. Los datos disponibles en la literatura científica, señalan que los niveles óptimos en fibra para maximizar el consumo de energía, están comprendidos entre el 25 y 30 % de FND/kg MS.

Oba y Allen (2000) mostraron que en raciones basadas en ensilado de maíz, la digestibilidad de la FND y el contenido de ésta en la dieta, afectó de forma significativa a la MSI y a la producción de leche. Los tratamientos consistieron en cuatro dietas, con dos concentraciones de FND (29 y 38 %) y dos ensilados de maíz, uno normal y otro un híbrido *bm3* (menor contenido en lignina y FND más digestible). Tanto el nivel bajo de FND (29 %) como el híbrido *bm3* de ensilado de maíz, produjeron un incremento significativo en

la producción de leche y la MSI. Además, el efecto beneficioso del híbrido *bm3* sobre la productividad de las vacas fue mayor en las vacas que consumieron la dieta con mayor concentración en FND (cuadro 6).

Cuadro 6. Efectos de un híbrido *bm3* de ensilado de maíz y el contenido de FND de la dieta, sobre la producción de leche y la MSI, en vacas en mitad de lactación.

	29 % FND		38 % FND		*P*	
	bm3	Control	*bm3*	Control	FND[1]	SM[2]
Consumo						
MSI (kg/d)	24.7	23.9	22.9	21.5	0.001	0.02
ENl (Mcal/d)	37.0	36.5	33.9	32.6	0.01	0.36
Producción (kg/d)						
Leche	36.9	33.5	33.7	30.4	0.01	0.01
FCM (3,5 %)	35.6	34.3	35.8	32.6	0.51	0.06
Grasa % o TB	3.28	3.67	3.86	3.90	0.001	0.02

[1]FND: Efecto del contenido de la dieta en FND

[2]SM: Efecto del ensilado de maíz

Las principales causas relacionadas con la alimentación que influyen sobre la incidencia de ARSA en vacas lecheras, son la falta de fibra en la dieta y/o de fibra físicamente efectiva, el inadecuado funcionamiento del sistema tampón del rumen, y el excesivo consumo de hidratos de carbono rápidamente fermentables.

El sistema tampón del rumen depende de un conjunto de características ligadas a los ingredientes, a la ración y al *status* energético de los microorganismos ruminales, que permiten mantener el pH ruminal dentro de su rango fisiológico. Estas características son la acidogenicidad o poder tampón de los alimentos y de las raciones, la fibrosidad (fibra química y física) de la dieta y el equilibrio entre la producción de ácidos y el reciclaje de tampones en el rumen.

Para valorar o estimar el reciclaje de tampones se acepta que en un litro de saliva hay 11,35 g de bicarbonato, y que con un índice de masticación normal de 40 min/kg MSI, se producen unos 12 litros de saliva/kg MSI, es decir, 136 g de bicarbonato/kg de MSI, valor mucho más importante que el aportado mediante la suplementación de bicarbonatos en la dieta (Sauvant *et al*., 2006).

Jacques *et al*. (1989) sugirieron que el flujo de saliva y líquido que alcanza el duodeno se encuentran estrechamente relacionados, y en consecuencia, el flujo de líquido que llega al duodeno puede ser considerado como una estimación por exceso del flujo salivar.

Sauvant *et al*. (1999) estudiaron la relación entre el índice de masticación y los criterios de fibrosidad de la dieta, y observaron una estrecha relación que asocia al pH del retículo-rumen con el flujo de líquido que alcanza el duodeno. Esta relación muestra que para la zona del pH ruminal fisiológico, corresponde un flujo de líquidos de 15 a 17 l/kg MSI (figura 4).

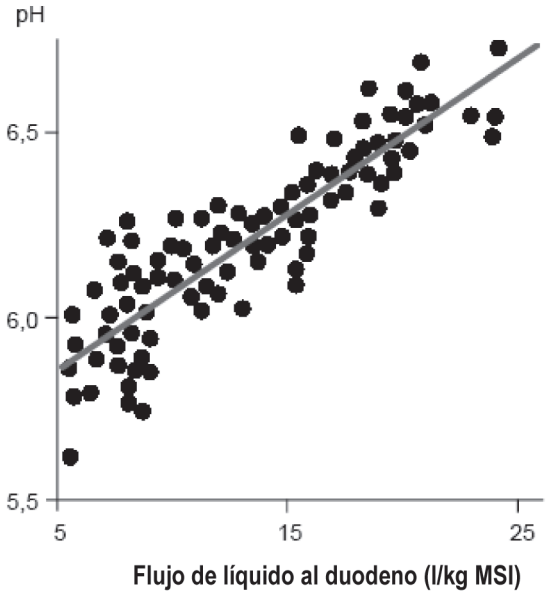


Figura 4. Relación entre pH ruminal y flujo de líquido ruminal al duodeno (Sauvant et al., 1999).

Esta influencia del flujo de líquidos al duodeno sobre el pH, puede deberse no únicamente al reciclaje de tampones, si no también al flujo de ácidos grasos volátiles (AGV) que abandonan el rumen hacía el duodeno. Por lo tanto, en la práctica es importante prestar más atención a los criterios de masticación y fibrosidad de la dieta.

Incrementando el contenido en fibra y el tamaño de partícula del forraje en la dieta, se produce un aumento en la actividad de masticación, en la secreción de saliva, pH ruminal, relación acetato/propiónico y niveles de grasa en leche (Beauchemin *et al*., 1997). Sin embargo, un tamaño de partícula del forraje excesivamente largo y grosero, limita el consumo y digestibilidad del forraje, afectando al balance energético del animal (Allen, 1997).

Zebeli *et al*. (2006) mostraron que cuando la fibra neutro detergente físicamente efectiva en rumen (peFND), fue medida como $peFND_{>1,8mm}$, hubo una elevada correlación con el valor del pH ruminal (R^2 = 0,67) y la digestibilidad de la FND (R^2 = 0,56). Es decir, la $peFND_{>1,8mm}$ explicó el 67 % de la variación en el pH ruminal. Sin embargo, la peFND se encuentra mal correlacionada con la actividad de masticación y rumia. Este trabajo se realizó con vacas lecheras de alta producción con 85 días en leche (DEL), que consumían raciones *unifeed.*

Cuando consideramos la peFND en la formulación de raciones para vacas lecheras, valores próximos al 19 % peFND /MS pueden resultar adecuados para mantener el pH ruminal en torno a 6,0 (Kononoff *et al*., 2003; Zebeli *et al*., 2006).

Los alimentos fibrosos no forrajeros o subproductos ricos en fibra, pueden reducir la eficacia de utilización de la energía bruta (menor actividad de masticación). Sin embargo, contribuyen a reducir o controlar los costes de la alimentación. Cuando estos ingredientes se incluyen en la dieta para sustituir forrajes, es importante controlar el tamaño de partícula de la fibra para evitar un descenso en la digestibilidad de la fibra, y resulta adecuado aumentar el contenido en FND de la ración.

5. Fósforo.

Diversos trabajos realizados en granjas de vacas de leche en los EEUU, muestran que la suplementación con fósforo (P) en las raciones exceden entre el 15-20 % a las recomendaciones del NRC-2001. La suplementación de las dietas destinadas a vacas lecheras con P inorgánico resulta costosa, siendo además éste elemento un mineral potencialmente contaminante para el medioambiente, por lo que habrá que prestar atención a los aportes de P. Wu *et al*. (2000a), señalan que eliminando el exceso de P en las raciones, podría reducirse entre un 25-30 % el contenido en P de las heces y ahorrar entre 10-15 $ por vaca y año, en los costes de suplementación en P.

Lopez *et al*. (2004a), en un experimento llevado a cabo con vacas durante los 165 primeros días de lactación, observaron que alimentando con un exceso en P, por encima del 0,37 %/MS, cantidad recomendada por el NRC (2001), no hay efecto significativo alguno sobre la producción y composición de la leche o sobre la salud de los animales (Cuadro 7).

Cuadro 7. Efecto de la concentración en P de la dieta sobre la producción y composición de la leche, cuando las vacas reciben entre un 0,37 o un 0,57 % de P sobre MS (Lopez *et al*., 2004a).

1os 165 días de lactación	Contenido en P de la dieta (% MS)				*P*
	0,37		0,57		
	Media	EEM	Media	EEM	
N	123		124		
Producción leche (kg/d)	35.1	0.52	34.9	0.52	0.81
FCM 3,5% (kg/d)	36.8	0.65	36.9	0.64	0.87
TB (%)	3.92	0.04	3.98	0.04	0.32
TP (%)	2.90	0.02	2.91	0.02	0.82
RCS (10^3/ml)	319	39.3	366	39.1	0.39

El suministro de raciones con un exceso de P (0,57 % MS) no mejora el rendimiento productivo de vacas lecheras, cuando se compara con vacas que consumieron una ración con el contenido en P recomendado por el NRC-2001 (0,37 %). Un exceso de P en la dieta, por encima del nivel recomendado, no representa mejoría alguna sobre los resultados reproductivos (Lopez *et al*., 2004b) (Figura 4).

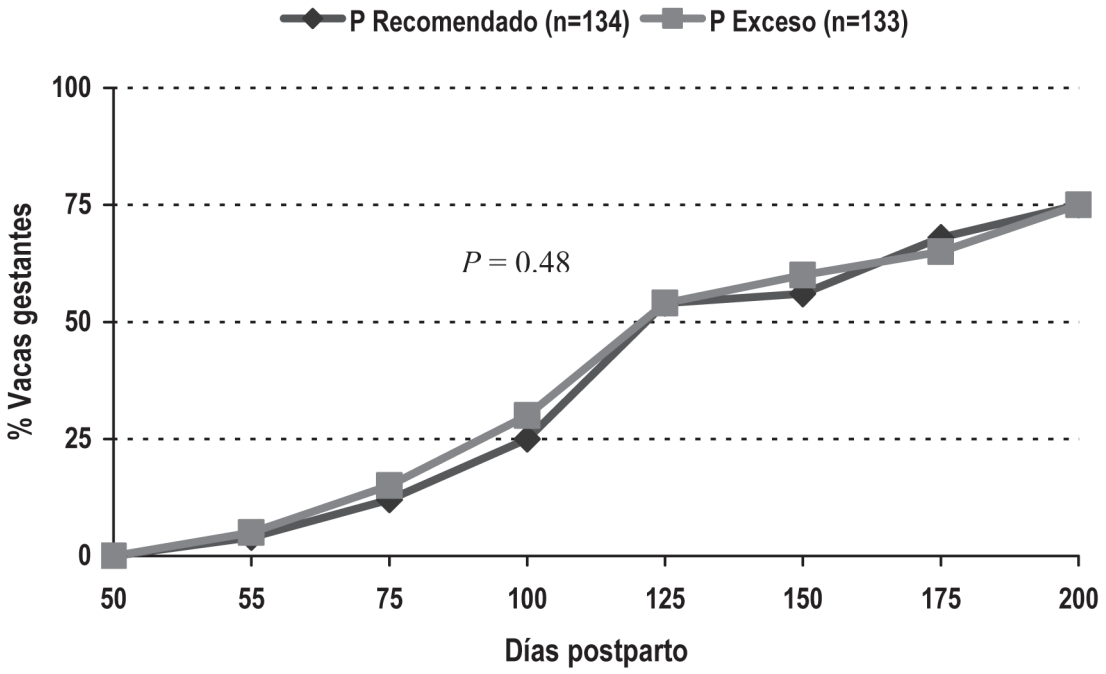


Figura 4.

Efecto del contenido en P de la dieta, 0,37 % recomendado o 0,57 % exceso, sobre la tasa de gestación o concepción entre los 50 y 200 DEL (Lopez *et al*., 2004b).

En consecuencia, desde el punto de vista nutricional, no parece recomendable trabajar con raciones que contengan concentraciones en P superior al 0,37 % sobre MS, puesto que no mejora el *status* de la vaca, ni las condiciones medioambientales. La clave de cara al futuro estará en minimizar los suplementos de P en las raciones, teniendo en cuenta que la mayor parte de las dietas no necesitan aportes minerales de P para mantener concentraciones adecuadas, que cubran las necesidades del animal (Dou *et al*., 2003).

6. Vitaminas.

En rumiantes, raramente una deficiencia en vitaminas aparece de forma inmediata, puede transcurrir mucho tiempo, más de un año, hasta que los animales presentan signos clínicos que hagan patente la deficiencia, normalmente relacionados con la eficacia reproductiva y el estado inmunitario.

La vitamina que más atención ha recibido en los últimos años por parte de la comunidad científica ha sido la vitamina E. Se ha estudiado sobre todo su sinergismo con el Selenio (Se) y su relación sobre su efecto preventivo frente a mamitis.

Hogan *et al*. (1992) y Politis *et al*. (1996), observaron que al suplementar la dieta de vacas en preparto y en lactación con vitamina E, hubo una consistente mejoría en la función de los neutrófilos. Comprobaron que los neutrófilos de las vacas que recibieron un suplemento en vitamina E, incrementaron su capacidad destructiva frente a bacterias patógenas en comparación con las vacas que no fueron suplementadas en esta vitamina.

Cuadro 8. Prevalencia de nuevas infecciones intramamarias (IMI) y mamitis clínicas tras el parto en vacas alimentadas con diferentes cantidades de vitamina E[1] (Weiss, *et al*., 1997).

Status bacteriológico	Primíparas			Multíparas		
	100 UI	1.000 UI	4.000 UI	100 UI	1.000 UI	4.000 UI
IMI %	56,2[a]	57,2[a]	20,9[b]	17,9[a]	14,9[a]	10,0[b]
Mamitis Clínicas %	37,4[a]	14,2[b]	0[c]	17,9[a]	17,9[a]	3,8[b]

a,b,c: Para una misma fila, medias con superíndices distintos difieren significativamente (*P<0,05*)

1: 100 UI = suplemento con 100 UI/d de vitamina E en preparto e inicio de lactación. 1.000 UI = suplemento con 1.000 UI/d en preparto y 500 UI/d en inicio de lactación. 4.000 UI = suplemento con 1.000 UI/d entre 60 y 14 días antes del parto, 4.000 UI/d 14 días antes del parto y 2.000 UI/d en inicio de lactación.

En vacas lecheras alimentadas con dietas suplementadas en 0,1 ppm de Se y cantidades variables, pero elevadas en vitamina E, se observó una reducción en la prevalencia de mamitis clínicas durante la primera semana de lactación. Las vacas que recibieron una suplementación en vitamina E de 1.000 UI/d presentaron un 30 % menos de mamitis clínicas que la que recibieron 100 UI/d. Dicha reducción fue de un 88 % cuando las vacas consumieron 4.000 UI/d durante las dos últimas semanas de preparto (Cuadro 8). Estos datos sugieren que la concentración plasmática de α-tocoferol al parto y durante la primera semana posparto debería ser, al menos, de 3 µg/ml (Weiss *et al*., 1997).
La Biotina es una vitamina necesaria para los rumiantes, que puede ser sintetizada por las bacterias ruminales. Cuando las raciones incorporan grandes cantidades de concentrado, la síntesis de Biotina en rumen puede ser reducida, como consecuencia de la acidificación ruminal y del cambio experimentado en la población microbiana. Diversos trabajos, muestran a la Biotina como una vitamina que ejerce un efecto beneficioso sobre la salud de las patas, la producción de leche y en la tasa de gestación en ganado vacuno de leche.

El nivel recomendado en la suplementación de Biotina va desde 10 a 20 mg por día, a partir de los 15 meses de edad para novillas. En vacas adultas, 20 mg/d a lo largo de la lactación y 10 mg/d para el periodo de secado. Su uso es recomendable en granjas con problemas de patas crónicos, teniendo en cuenta que su efecto-respuesta no es instantáneo y requiere por lo tanto ser administrado con suficiente antelación para observar su efecto.

Otra vitamina del grupo B es la Colina, aunque no responde bien al papel tradicional de una vitamina. Sus principales funciones son las de minimizar la formación de esteatósis hepáticas (cetosis), mejorar la neurotransmisión y actuar como dador de grupos metilo. En condiciones normales la Colina es muy degradable (85-95 %) en rumen, y su protección ruminal es complicada debido a su elevada higroscopicidad.

Las fuentes de Colina protegida son mediante encapsulación y revestimiento con grasa. Su empleo en las dietas va desde niveles de 15 a 30 g/día, dos semanas antes del parto hasta la octava semana de lactación, aunque su uso es todavía muy experimental y son necesarios más trabajos de investigación para ser utilizada de manera rutinaria.

La Niacina, ácido Nicotínico o vitamina B_3 actúa mejorando el balance energético de inicio de lactación, ayuda a controlar la cetosis y estimula el crecimiento y desarrollo de los protozoos ruminales. Su empleo puede ser recomendable en casos específicos, con vacas muy gordas al secado, propensas a padecer cetosis. El nivel de dosificación va desde 6 g/vaca/d (preventivo) hasta 12 g/vaca/d (curativo).

7. Nutrición e inmunidad.

La malnutrición influye claramente sobre la capacidad de respuesta del sistema inmune, y en consecuencia afecta sobre la incidencia de enfermedades infecciosas y de origen metabólico en ganado vacuno lechero.

Según datos del Sistema Nacional de Seguimiento de Sanidad Animal (NAHMS) de los EEUU, la mamitis o mastitis es la principal patología de los rebaños lecheros, seguida de las laminitis y las retenciones de placenta (Goff, 2006).

Cuadro 9. Incidencia de los principales problemas sanitarios en rebaños de vacas lecheras en 1996 y 2001, expresada como porcentaje del número total de vacas y terneras presentes.

Patologías	Animales afectados (%)	
	1996	2001
Mamitis	13,4	14,7
Laminitis	10,5	11,6
Retenciones de placenta	7,8	7,8
Hipocalcemias posparto	5,9	5,2
Desplazamientos de abomaso	2,8	3,5
Bajas en terneras al destete	10,8	8,7

Con relación a los datos del año 1996, en el 2001 hubo un incremento del 25 % en las incidencias de desplazamiento de abomaso, y una reducción en el número de hipocalcemias posparto y bajas en terneras al destete.

Durante el periodo del periparto, las vacas se encuentran en un balance de calcio y energía negativo, lo que origina una fuerte supresión de su sistema inmunitario y una mayor vulnerabilidad para padecer enfermedades infecciosas, como la mamitis.

Los cambios metabólicos experimentados por las vacas en preparto y comienzo de la lactación perjudican la función de determinadas células del sistema inmune, como puede ser la función de los linfocitos y neutrófilos. Diversos trabajos han demostrado que una baja acción de los neutrófilos, aumenta el riesgo de incidencias de retención de placenta y mamitis posparto, que pueden ser controladas mediante aportes adecuados de vitamina E y selenio (Goff, 2006).

Otro nutriente que también mejora la capacidad del sistema inmune es el cobre (Cu), seguramente por el efecto positivo sobre el *status* antioxidante de las vacas, que contribuye a potenciar su sistema inmune. Scaletti *et al*. (2003) llevaron a cabo un trabajo con novillas de primer parto, 60 días antes del parto hasta los 42 DEL, para valorar el efecto del Cu sobre el control de una mamitis ambiental provocada por *Escherichia coli*. Observaron que los animales que recibieron una dieta suplementada en Cu (20 ppm) presentaron una menor tasa bacteriana, recuento de células somáticas (RCS) y un menor pico de temperatura rectal que las vacas que consumieron la dieta control (6,5 ppm de Cu), aunque no hubo efecto sobre la duración de la infección intramamaria.

Según el NAHMS, la fiebre vitularia o hipocalcemia posparto es una enfermedad que presenta una incidencia decreciente en los últimos años, probablemente como consecuencia de un mejor conocimiento de su etiología, aunque todavía más del 5 % de las vacas se ven afectadas por esta patología. La estrategia de alimentación desarrollada durante la década de los 80 del siglo pasado, consistente en formular dietas de preparto con bajos contenidos en calcio (< 20 g/d), para controlar la fiebre vitularia resulta de muy difícil aplicación en la práctica. Sólo cuando se suplementa la ración con aluminosilicatos de sodio (0,7 kg de zeolita pura/día), y debido a su elevado poder para ligar calcio, se consiguen niveles de calcio disponible suficientemente bajos como para estimular de forma eficaz la secreción de la hormona partiroidea (PTH) (Thilsing-Hansen *et al.*, 2002).

Lean *et a*l. (2006) señalan que el riesgo de padecer fiebre vitularia aumenta con elevadas concentraciones de calcio en la dieta de preparto (1,35 % Ca/MS). Sin embargo, niveles altos de magnesio en la ración de preparto y la valoración de la nutrición macromineral a través de la diferencia anión catión de la dieta (DCAD), resultan determinantes en la reducción de esta patología.

El principal mecanismo homeostático del metabolismo de la glucosa en inicio de lactación, es un aumento de la gluconeogénesis hepática junto a una disminución en la oxidación de la glucosa en los tejidos periféricos, para así aumentar el flujo de glucosa hacia la glándula mamaria. El ácido propiónico procedente del rumen, es el principal sustrato para la gluconeogénesis hepática durante la fase de transición, pudiendo llegar a representar entre el 50-60 % de la totalidad de glucosa liberada por el hígado (Reynolds et al., 2003).

En consecuencia, un aspecto nutritivo importante relacionado con el *status* inmunitario durante el periparto es el aporte energético en la ración. Overton y Waldron (2004) observaron que tanto el metabolismo como el funcionamiento en general de las vacas en periodo de transición, son muy sensibles al aporte total de energía suministrado por los hidrato de carbono (CNF), más que por el tipo de hidrato de carbono *per se* (cuadro 10).

Cuadro 10. Efecto de la concentración de los carbohidratos no fibrosos (CNF) en las dietas de preparto sobre el metabolismo y el rendimiento productivo.

Experimento	CNF, %/MS		Efecto de la alta CNF
	Baja	Alta	
Grum et al., 1996	18	28	↑ pre-MSI; ↑ pre-insulina
Minor et al., 1998	24	44	↑ pre-MSI; ↑ Prod. Leche
Mashek y Beede, 2000	35	38	↓ pre-βHBA: ↑ pre-insulina; ↑ Prod. Leche
Keady el al., 2001	13	28	↑ pre-MSI
Holcomb et al., 2001	25	30	↑ pre-MSI; ↓ peri-AGNE
Doepel et al., 2002	24	30	↑ pos-MSI; ↓ peri-AGNE; ↓ TG Hepáticos
Rabelo et al., 2003	38	45	↑ pre-MSI; ↑ pos-MSI (días 1 al 20)

pre = preparto; peri = periparto; pos = posparto.

La mayor parte de los trabajos reportan un aumento en el consumo de MSI en el preparto, cuando se incrementa la concentración de CNF, lo que favorece un adecuado crecimiento y desarrollo de las papilas

ruminales, y redunda en una óptima absorción de los AGV (propiónico) durante la fermentación ruminal, ayudando así a un mejor control del balance energético negativo de inicio de lactación.

8. Efecto de la alimentación sobre el perfil de ácidos grasos (AG) en la leche.

Desde hace bastantes años ha existido un gran interés en el mundo de la ciencia, sobre la manipulación en la composición de la leche, para mejorar el procesado de la misma, la fabricación de productos lácteos, su valor nutritivo y utilizar la leche como una fuente de productos funcionales que sean beneficiosos para el consumidor.

De todos los componentes de la leche, la grasa y su perfil de ácidos grasos es la más susceptible a ser modificada a través de la dieta. La proteína presenta una mayor respuesta a la ración que la lactosa, aunque bastante menos que la grasa.

La leche de vaca es un producto animal rico en grasa (28 %/MS) claramente saturada (66 % AGS). En EEUU y en Inglaterra, la leche y los productos lácteos representan más del 12 % del total de grasa consumida por las personas y en torno al 23 % de la grasa saturada consumida (Jenkins y McGuire 2006). Los diferentes organismos estatales de los países desarrollados, con responsabilidad sobre la salud de la población, insisten en la recomendación de reducir el consumo de grasas en general, y en grasas saturadas y colesterol en particular.

El control nutricional sobre el perfil de AG en la leche, ha recibido una considerable atención en los últimos años. El objetivo se ha centrado en modificar la relación ácidos grasos saturados (AGS)/ácidos grasos insaturados (AGI) a favor de los insaturados, y en concreto hacía los AGI con un efecto más saludable para el consumidor. Por lo tanto, el interés a nivel práctico en la formulación de raciones para vacas lecheras, se ha centrado en dejar un poco de lado el contenido en grasa de la leche y mejorar la concentración en AGI.

Cuando se incluye una elevada proporción de cereales grano en la ración, puede haber una reducción en el contenido en grasa de la leche (TB), aunque en el perfil de AG se observa un aumento en la concentración de AGI de más de 18 carbonos (C18) y una reducción en los AGS de cadena corta y media (C6-C16). Actualmente, la teoría que recobra más importancia sobre el efecto depresor de una dieta rica en cereales en la TB, es el sustancial incremento en la leche del isómero *trans*-10, *cis*-12 ácido linoleico conjugado (CLA) que está asociado con una fuerte reducción en el contenido de la grasa láctea.

Debido a la limitada capacidad que tienen los aceites vegetales sin proteger de la acción ruminal, para modificar el perfil de AG de la grasa láctea, se ha trabajado intensamente para encontrar formas de protección de los AGI frente a la biohidrogenación ruminal, para mejorar su absorción y disponibilidad para la glándula mamaria.

Las figuras 5 y 6 muestran ejemplos de cambios en la concentración de la grasa láctea de ácido oleico ($C_{18:1}$) y linoleico ($C_{18:2}$), en función del tipo de protección de las grasa incluidas en la dieta (Jenkins y McGuire, 2006).

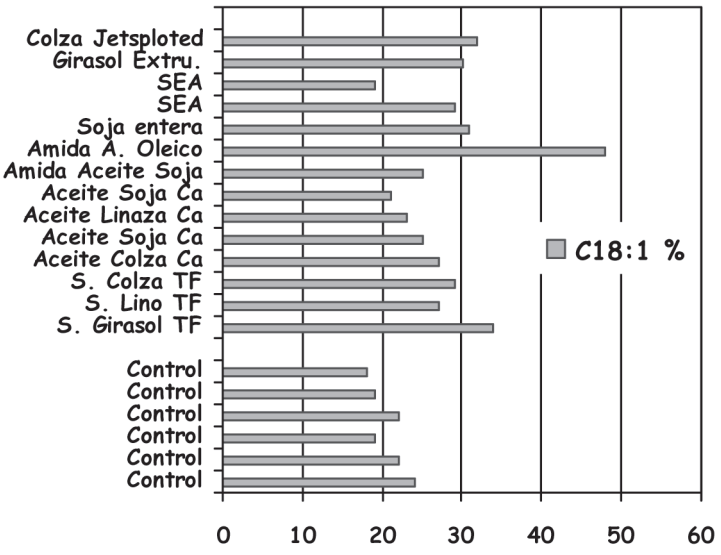


Figura 5. Ejemplo de trabajos publicados mostrando la variación del ácido oleico en el contenido de la grasa láctea, en vacas que consumieron dietas control y dietas con grasas protegidas. TF = grasas tratadas con formaldehído.

La concentración de ácido oleico en la grasa láctea varió desde el 18 al 24 % del total de AG, cuando las vacas consumieron las raciones control sin grasa añadida. En las dietas que incluían alguna forma de grasa protegida, el contenido en $C_{18:1}$ evolucionó desde el 18 % hasta el 48 %.

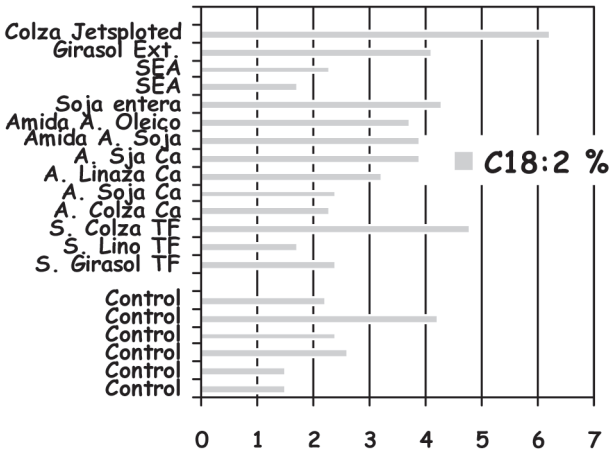


Figura 6. Ejemplo de trabajos publicados mostrando la variación del ácido linoleico en el contenido de la grasa láctea, en vacas que consumieron dietas control y dietas con grasas protegidas. TF = grasas tratadas con formaldehído.

La concentración normal de $C_{18:2}$ en la grasa láctea va desde el 1,5 al 4 % del total de AG, cuando las vacas consumen las raciones control sin grasa añadida. En las dietas que incluían alguna forma de grasa protegida, el contenido en $C_{18:2}$ alcanzó valores próximos al 6,5 %.

Especial atención está recibiendo el *cis*-9, *trans*-11 ácido octadecadienoico, principal isómero del CLA, que puede llegar a representar más del 82 % de la totalidad de isómeros CLA en los productos lácteos. El *cis*-9, *trans*-11 CLA es un producto intermediario de la biohidrogenación ruminal del $C_{18:2}$, producido por las bacterias ruminales *Butyrivibrio fibrisolvens*. El consumo de CLA por parte de las personas puede ser

incrementado, aumentando el consumo de productos procedente de rumiantes, carne y leche.

Se han demostrado las propiedades anticarcinogénicas del CLA. El contenido medio en CLA en la leche varía entre 3 y 5,5 mg/g de grasa, aunque se puede llegar a alcanzar valores de 17,7 mg/g y superiores manipulando los ingredientes de la dieta (Jiang *et al.*, 1996).

El contenido de CLA en la leche y carne de rumiantes puede ser incrementado a través de la manipulación de la dieta, bien mediante el pastoreo o la alimentación con fuentes ricas en linoleico (aceite de soja) y linolénico (aceite de lino) o con aceite de pescado. Bu *et al.* (2007) señalan que suplementando la dieta con aceites ricos en linoleico (4 %/MS) hubo una mayor eficacia en la mejora del contenido y producción de CLA que cuando se usa ácido linolénico (4 %/MS), en raciones de vacas lecheras con elevada relación forrajes/concentrado (59/41).

9. Bibliografía.

Allen, M.S. (1997). Relationships between fermentations acid production in the rumen and the requirement for physically effective fiber. J. Dairy Sci. 80: 1447-1462.

Beauchemin, K.A., Rode, L.M., y Eliason, M.J. (1997). Chewing activities and milk production of dairy cows fed alfalfa as hay, silage, or dried cubes of hay or silage. J. Dairy Sci. 80:324-333.

Benchaar, C., Petit, H.V., Berthiaume, R., Whyte, T.D. y Chouinard, P.Y. (2006). Effects of addition of essential oils and monensin premix on digestion, ruminal fermentation, milk production, and milk composition in dairy cows. J. Dairy Sci. 89: 4352-4364.

Benchaar, C., petit, H.V., Berthiaume, R., Ouellet, D.R., Chiquette, J. y Chouinard, P.Y. (2007). Effects of essential oils on digestion, ruminal fermentation, rumen microbial population, milk production, and milk composition in dairy cows fed alfalfa silage or corn silage. J. Dairy Sci. 90: 886-897.

Bu, D.P., Wang, J.Q., Dhiman, T.R. y Liu, S.J. (2007). Effectiveness of oils rich in linoleico and linolenic acids to enhance conjugated linoleico acid in milk from dairy cows. J. Dairy Sci. 90: 998-1007.

Dou, Z., Ferguson,J.D., Fiorini, J., Toth, J.D., Alexander, S.M., Chase, L.E., Ryan, C.M., Knowlton, K.F., Kohn, R.A., Peterson, A.B., Sims, J.T. y Wu, Z. (2003). Phosphorus feeding levels and critical control points on dairy farms. J. Dairy Sci. 86: 3787-3795.

Eastridge, M.L. (2006). Major advances in applied dairy cattle nutrition. J. Dairy Sci. 89: 1311-1323.

Ebling, T.L. y Kung, Jr.L. (2004). A comparison of processed conventional corn silage to unprocessed and processed Brown Midrib corn silage on intake, digestion, and milk production by dairy cows. J. Dairy Sci. 87: 2519-2527.

Goff, J.P. (2006). Major advances in our understanding of nutricional influences on bovine health. J. Dairy Sci. 89: 1292-1301.

Hanigan, M.D., Cant, J.P., Weakley, D.C. y Beckett, J.L. (1998). An evaluation of postabsorptive protein and amino acid metabolism in the lactating dairy cow. J. Dairy Sci. 81: 3385-3401.

Hogan, J.S., Weiss, W.P., Todhunter, D.A., Smith, K.L. y Schoenberger, P.S. (1992). Bovine neutrophil responses to parental vitamin E. J. Dairy Sci. 75: 399-405.

Hu, W. y Murphy, M.R. (2005). Statiscal evaluation of early and mid-lactation dairy cow responses to dietary sodium bicarbonate addition. Anim. Feed Sci. and Tech. 119:43-54.

Hutjens, M.F. (2005). Managing variation in feed additives. Proc. Southwest Nutr. Conf.: 32-42.

Jacques, K., Harmon, D.L. Croom, W.J.Jr y Hagler, W.M.Jr. (1989). Estimating salivary flow and ruminal water balance of intake, diet, feeding pattern, and slaframine. J. Dairy Sci. 72: 443-452.

Jenkins, T.C. y McGuire, M.A. (2006). Major advances in nutrition: impact on milk composition. J.Dairy Sci. 89: 1302-1310.

Jiang, J., Bjoerck, L., Fonden, R y Emanuelson, M. 1996. Occurrence of conjugated cis-9 trans-11 octadecadienoic acid in bovine milk: effects of feed and dietary regimen. J. Dairy Sci. 79: 438-445.

Kononoff, P.J., Heinrichs, A.J. y Buckmaster, D.R. (2003). modification of the penn state forage and total mixed ration particle separator and the effects of moisture content on its measurements. J. Dairy Sci. 86:1858-1863.

Krause, K.M. y OetzeL, G.R. (2006). Understanding and preventing subacute ruminal acidosis in dairy herds: A review. Anim. Feed Sci. and Tech. 126: 215-236.

Lean, I.J., DeGaris, P.J., McNeil, D.M. y Block, E. (2006). Hypocalcemia in dairy cows: meta-analysis and dietary cation anion difference theory revisited. J. Dairy Sci. 89: 669-684.
Lopez, H., Kanitz, F.D., Moreira, V.R., Wiltbank, M.C. y Satter, L.D. (2004a). Effect of dairy phosphorus on performance of lactating dairy cows: milk production and cow health. J. Dairy Sci. 87: 139-146.
Lopez, H., Kanitz, F.D., Moreira, V.R., Satter, L.D. y Wiltbank, M.C. (2004b). Reproductive performance of dairy cows fed two concentrations of phosphorus. J. Dairy Sci. 87: 146-157.
Melendez, P., Donovan, A. y Hernandez, J. (2000). Milk urea nitrogen and infertility in Florida holstein cows. J. Dairy Sci. 83:459-463.
Meschy, F., Bravo, D. y Sauvant, D. (2004). Analyse quantitative des réponses des vaches laitières à l´apport de substances tampon. Prod. Amin. 17(1): 11-18.
Oba, M. y Allen, M.S. (2000). Effects of brown midrib mutation in corn silage on productivity of dairy cows fed two concentrations of dairy neutral detergent fiber: 1. feeding behaviour and nutrient utilization. J. Dairy Sci. 83: 1333-1341.
Olmos Colmenero, J.J. y Broderick, G.A. (2006). Effect of dietary crude protein concentration on milk production and nitrogen utilization in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 89: 1704-1712.
Overton, T.R. y Waldron, M.R. (2004). Nutritional management of transition dairy cows: strategies to optimize metabolic health. J. Dairy Sci. 87(E. Suppl.): E105-E119.
Politis, I., Hidiroglou, M., White, J.H.Gilmore, J.A., Williams, S.L.,Scherf, H. y Frigg, M. (1996). Effect of vitamin E on mammary and blood leukocyte function, with emphasis on chemotaxis in periparturient dairy cows. An. J. Vet. Res. 57: 468-471.
Reynolds, C.K., Aikman, P.C., Lupoli, B., Humphries, D.J. y Beever, D.E. (2003). Splanchnic metabolism of dairy cows during the transition from late gestation through early lactation. J. Dairy Sci. 86: 1201-1217.
Sauvant, D., Meschy, F. y Mertens, D. (1999). Les composantes de l´acidose et les effets acidogènes des rations. Prod. Anim. 12. 49-60.
Sauvant, D., Giger-Reverdin, S. y Meschy, F. (2006). Le contróle de l´acidose ruminale latente. Prod. Amin. 19: 69-78.
Scaletti, R.W., Trammell, D.S., Smith, B.A. y Harmon, R.J. (2003). Role of dietary copper in enhancing resistance to Escherichia coli mastitis. J. Dairy Sci. 86: 1240-1249.
Staples, C.R. y Lough, D.S. (1989). Efficacy of supplemental dietary neutralizing agents for lactating dairy cows. A review. Anim. Feed Sci. and Tech. 23: 277-303.
Theurer, C.B., Huber, J.T., Delgado-Elorduy, A. y Wanderley, R. (1999). Invited review: summary of steam-flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 82: 1950-1959.
Thilsing-Hansen, T., Jorgensen, R.J. y Enemark, J.M.D. (2002). The effect of zeolite A supplementation inthe dry period on periparturient calcium, phosphorus and magnesium homeostasis. J. Dairy Sci. 85: 1855-1862.
Tyrrell, H.F. y Moe, W. (1975). Effect of intake on digestive efficiency. J. Dairy Sci. 58: 1151-1163.
Vandehaar, M.J. y St-Pierre, N. (2006). Major advances in nutrition: Relevance to the sustainability of the dairy industry. J. Dairy Sci. 89: 1280-1291.
Weiss, W.P., Hogan, J.S., Todhunter, D.A. y Smith, K.L. (1997). Effect of vitamin E supplementation in diets with a low concentration of selenium on mammary gland health of dairy cows. J. Dairy Sci. 80: 1728-1737.
Weiss, W.P. y Wyatt, D.J. (2002). Effects of feeding diets based on silage from corn hybrids that differed in concentration and in vitro digestibility of neutral detergent fiber to dairy cows. J. Dairy Sci. 85: 3462-3469.
Wu, Z., Satter, L.D. y Sojo, R. (2000a). Milk production, reproductive performance, and fecal excretion oh phosphorus by dairy cows fed three amounts of phosphorus. J. Dairy Sci. 83: 1028-1041.
Wu, Z. y Satter, L.D. (2000b). Milk production during the complete lactation of dairy cows fed diets containing different amounts of protein. J. Dairy Sci. 83: 1042-1051.
Zebeli, Q., Tafaj, M., Steingass, H., Metzler, B. y Drochner, W. (2006). Effects of physically effective fiber on digestive processes and milk fat content in early lactating dairy cows fed total mixed rations. J. Dairy Sci. 89: 651-668.

TO CUT OR NOT TO CUT – DECISION-MAKING IN COWS WITH DISTURBED INTESTINAL PASSAGE

Harald Kümper

Introduction

In field practice sometimes it can be difficult to determine which kind of abdominal diseases in cows must be treated surgically and which diseases that on first view seem to be connected with an ileus have a different origin. In life threatening diseases often there is no time to wait for several hours until the results of a laboratory investigation are available, and the number of quick and helpful field tests is limited. Anyway, there are several abdominal disorders that must be treated surgically and that can be straight forward identified by a thorough clinical examination. And there are prognostic questionable conditions where the decision "intensive therapy or culling?" is made easier by the help of a quick diagnostic laparotomy. But there are some pitfalls, diseases that seem to come from the abdomen, but who will not respond to a surgical intervention.

A) Surgical conditions with symptoms of subileus that can be straight forward diagnosed by clinical examination

A1. Left displaced abomasum (LDA)

Nature of the disease: Reduced outflow of ingesta and water from the displaced abomasum. The degree of displacement and the severity of outflow obstruction may greatly vary from day to day and

from hour to hour. Phases of displacement may change with phases of normal position of the abomasum ("Abomasum pendulans").
Clinical symptoms: Various degree of dehydration, lack of appetite, reduced milk production, secondary ketosis, lipomobilization. Alternating appetite and varying conditions of faeces are indicators for an only temporary displaced abomasum.

The **course of the disease** depends mainly on the degree of the obstruction of water outflow from the abomasum: Acute with severe dehydration in cases with a total obstruction and sub-acute to chronic in cases where the abomasal outflow is disturbed but not totally interrupted (ketosis, weight loss, and insufficient milk production).

Clinical diagnosis: Identification of the displaced abomasum in the left flank: optically (cranial area of fossa paralumbalis convex, caudal area concave), by simultaneous percussion and auscultation ("Ping") or by simultaneous auscultation and ballottement of the left flank (splashing sounds). In cases with a temporarily displaced abomasum repeated examinations may be necessary to catch the abomasum in a phase of displacement.

Laboratory: Hemoconcentration, Hypochloremia and metabolic alkalosis are important indicators for a reduced abomasal outflow. After a spontaneous reposition the abomasum these values remain changed for several hours.

Exclusion LDA: Auscultation of rumen motility on a line from the reticulum to the left paralumbar fossa ("Double auscultation").

Diagnostic pitfalls: Temporary displacements and rare cases (less than 1 % of LDA) where the abomasum is displaced ventral and caudally of the rumen.

Treatment: Left flank laparotomy parallel to the last rib with ventral omentopexy (UTRECHT-method). Right flank laparotomy parallel to the last rib with lateral omentopexy (DIRKSEN`s method). "Roll and suture" with ventral abomasopexy (STERNER and GRYMER). Endoscopic controlled ventral abomasopexy (JANOWITZ, BARISANI, CHRISTIANSEN).

Prognosis: Generally good. Gas in the abdominal cavity and increased tension of the right abdominal wall may be indicators for a peritonitis (i.e. caused by abomaslal ulcers) with possible adhesions between the displaced abomasum and the abdominal wall.

A2. Right displaced abomasums (RDA)

Nature of the disease: Equivalent to the left side displacement. The abomasum is displaced, outflow of ingesta and water are reduced, but there are no disturbances of abomasal blood supply. Phases with right displacement may change with phases of normal position or left side displacement of the abomasum ("Abomasum pendulans"). Within some hours RDA can change into an abomasal volvulus (AV).

Clinical symptoms: Mild dehydration, lack of appetite, reduced milk production, secondary ketosis, lipomobilization. Alternating appetite and varying conditions of faeces are indicators for a temporary displaced abomasum.

Clinical diagnosis: Identification of the displaced abomasum in the rib covered area of the right flank, by simultaneous percussion and auscultation ("Ping") and by simultaneous auscultation and ballottement (splashing sounds). In cases with simple RDA a clearly definable area of ping is present that normally does not exceed beyond the last rib.

Laboratory: Hypochloremia and metabolic alkalosis are the most important indicators for a reduced abomasal outflow.

Diagnostic pitfalls: After a spontaneous reposition of a LDA the congested liquid contents of the abomasum flow in the duodenum and cause splashing sounds and pings in the area of the last rib. During auscultation intensive peristaltic noises are audible. This phase of a "spontaneous healing" can be mixed up with a RDA.

Treatment: No emergency treatment is necessary. Right flank laparotomy parallel to the last rib with lateral omentopexy (DIRKSEN`s method). Endoscopic controlled "two step" ventral abomasopexy (JANOWITZ).

Prognosis: Good, but within some hours RDA can change into an abomasal volvulus (AV). When no immediate surgery is performed the patient must be carefully monitored in order to recognize signs of a beginning AV.

B) Surgical conditions with symptoms of a total Ileus that can be straight forward diagnosed by clinical examination

B1. Abomasal volvulus

Nature of the disease: In an AV the right displaced abomasum has performed an additional rotation around a vertical axis. The duodenum twines around the ostium omaso-abomasicum and compresses nerves and blood vessels in this region. The outflow of ingesta and water is no longer possible. The AV can be further complicated by additional rotations of the omasum or of the omasum and the reticulum.

Clinical symptoms: Rapidly progressing dehydration, total lack of appetite, almost no more milk production. Sometimes slighly bloated rumen.

Clinical diagnosis: In serious cases the displaced abomaum is visible behind the last rib (cranial area of fossa paralumbalis convex, caudal area concave). Loud plashing sounds and pings in a clearly definable area in the region of the rib covered right flank and behind this area. The damping area of the liver is no longer detectable by percussion (tympanitic sound in dorsal area of the last two ribs). Normally an AV can be palpated during rectal exploration. There is one hard, gas filled balloon in the upper right quadrant right behind the last rib. The jejunum is empty.

Laboratory: Not necessary for the diagnosis of this disease. Determination of Ca^{++} concentration in the blood may be helpful to detect an accompanying hypocalcemia.

Exclusion of AV: When the damping area of the liver is detectable by percussion (tympanitic sound in dorsal area of the last two ribs) an AV is highly unlikely.

Diagnostic pitfalls: Disturbed general behaviour, intestinal atony and diarrhoea caused by sporadic hypocalcemia, septic mastitis or merits.

Treatment: Emergency treatment is necessary. Right flank laparotomy parallel to the last rib with lateral omentopexy (DIRKSEN`s method). Additional cardiovascular stabilization, by infusion of large amounts of isotonic saline solution (20 l NaCl 0,9%). Antiphlogistic and antioxydative treatment. Intensive postoperative management.

Prognosis: Depends highly on early recognition and quick surgical intervention. Signs of "intoxication" (congested and faded episcleral vessels), a heart rate > 100 / min, a dilatated abdomen and increased tension of the right abdominal wall are indicators for especially severe or advanced stages of the disease. These cases have a high (about 50%) risk for post operative complications.

B2. Caecal dilatation and torsion

Nature of the disease: Caecal dilatation causes a far caudally situated obstruction of the intestinal passage. The degree of obstruction varies from a mild subileus to a total ileus, often complicated by a haemorrhagic infarction of the displaced parts of the caecum and of the ansa proximalis of the jejunum. Within some days this infarction causes a necrosis of the ceacal wall and peritonitis.

Clinical symptoms: Initially colic. Lack of appetite, almost no more milk production. Quickly decreasing amounts of faeces. In cases with ileus one day after onset of the disease there are no more faeces but only white to yellow mucus detectable in the rectum. Increasing volume of the abdomen, but almost no

signs of dehydration. Fever, intoxication and gas in the abdominal cavity are signs of advanced cases with peritonitic complications.

Clinical diagnosis: Loud plashing and pings all over the right abdominal wall. During rectal exploration the congested tip of the caecum may be reachable, thus confirming the diagnosis. When only the body of the caecum can be reached, the form of the balloon can be mixed up with an AV. But contrary to an AV in cases of caecal torsion the whole intestine is congested. One big tube ("Tyre tube") and several smaller tubes ("Bicycle tubes") are palpable.

Laboratory: Not necessary for the detection of this disease.

Diagnostic pitfalls: Intestinal atony and diarrhoea caused by sporadic hypocalcemia, septic mastitis or metritis.

Treatment: As long as there are faeces passing through the point of obstruction a conservative treatment can be tried (Spasmoanalgetics, laxative agents, exercise). All cases with ileus must be treated surgically: Right flank laparotomy in the middle of the right paralumbar fossa. The tip of the caecum must be brought out of the laparotomy wound. Incision of the tip and emptying of ceacum, ansa prox. coli and parts of the jejunum by massage. In cases with infarction partial or total amputation of the caecum is possible.

Prognosis: Depends on early recognition and quick surgical intervention. When there are no more faeces but only mucus in the rectum, immediate surgery is recommended. Signs of "intoxication" (congested and faded episcleral vessels), a heart rate > 100 / min and tension of the abdominal wall are indicators for peritonitic complications.

C) Surgical conditions with symptoms of a total ileus that are not always exactly to specify by clinical examination

There are several clinical indicators for a disturbed intestinal passage. The further cranially the obstructions happen, the more impressive and rapidly are the changes in the water- und electrolyte balance. Increasing hematocrit, metabolic alkalosis and hypochloremia are common indicators for a cranial (proximal) ileus. In many cases the best way to specify the exact cause of the ileus is to perform a diagnostic laparotomy.

C1. Obstruction of the flexura portalis of the duodenum

Nature of the disease: On its way up from the abomasum and adjacent to the liver the duodenum of ruminants forms a curve, called flexura portalis. This flexion who reminds one of the u-shaped siphon of a washbasin can be the starting point for an obstruction of the duodenal ingesta-passage. A disturbed passage in this area may be caused by obstruction with gravel, by a volvulus of the flexura, by strangulations or by scars. Affected cows suffer mainly from progressive dehydration. Clinical symptoms: No colic, no "intoxication", normal shape of the abdomen. But deep lying bulbi and progressive dehydration. No more milk, no appetite.

Clinical diagnosis: Splashing sounds and pings in the area of the last rib. The damping area of the liver is sometimes present, in other cases absent. Progressive dehydration.

Laboratory: Hemoconcentration (HK up to 50 l/l), metabolic alcalosis, massive hypochloremia, often hypocalcemia.

Treatment: In advanced cases with severe dehydration emergency treatment is necessary: Cardiovascular stabilization by infusion of large amounts of isotonic saline solution (20 l NaCl 0.9 %). Right flank laparotomy parallel to the last rib. Causal treatment depends on the local findings.

Prognosis: Depends on early recognition, quick surgical intervention and of the local alterations. Most cases have a good prognosis.

C2. Strangulations of the jejunum caused by the obliterated umbilical vein

Nature of the disease: The obliterated umbilical vein can cross the abdominal cavity from the navel to the liver in a shape that looks like a thin tread. Parts of the jejunum twine around this thread and become strangulated. This results in a mechanical ileus. Affected cows suffer mainly from progressive dehydration.

Clinical symptoms: No colic, no "intoxication", normal shape of the abdomen. But deep lying bulbi and progressive dehydration. No more milk, no appetite.

Clinical diagnosis: Normally the area of strangulation is out of reach during rectal exploration. Slashing and pings in the area of the last rib and progressive dehydration are reasons enough to perform a diagnostic laparotomy.

Laboratory: Hemoconcentration (HK up to 50 l/l), metabolic alcalosis, massive hypochloremia, often hypocalceamia.

Treatment: Right flank laparotomy in the middle of the paralumbar fossa. Treatment is very simple: the strangulating thread can just be cut. Prognosis: Generally good, but depends on early recognition and quick surgical intervention.

C3. Jejunal ileus caused by coagulated blood – haemorrhagic bowel syndrome

Nature of the disease: Hemorrhagic bowel syndrome (HBS) is a sporadic, acute intestinal disease of milking cows. HBS also is known as 'bloody gut' and 'jejunal hemorrhage syndrome,' and is characterized by large blood clots in the intestine that result in an obstruction and a severe enlargement of the bowel. An involvement of Cl. perfringens Type A is discussed.

Clinical symptoms associated with HBS include: clotted blood in faeces; abdominal distension; profound depression; acute decline in milk production; dehydration; loss of appetite; extreme weakness; and death.

Clinical diagnosis: Ileus symptoms, combined with anaemia, clotted blood in the faeces. No signs of "intoxication". Splashing and pings in the right flank caused by congested intestinal contents. Constipated parts of the jejunum may be in reach during rectal exploration.

Laboratory: Anaemia, hemoconcentration, raised levels of urea and creatinine, hypocalcemia.

Treatment: In spite of a generally poor prognosis a treatment can be tried by laparotomy in the middle of the right flank. No enterotomy should be performed. A better way to run the blockade is to squash the blood clots through the intestinal wall and to move its rests caudally by careful massage.

Pitfalls: In patients with anaemia plus dhydration the hematocrit may look normally – check for shock symptoms and for urea concentration in blood.

C4. Volvulus mesenterials jejuni

Nature of the disease: Parts of the jejunal mesenterium may rotate and twist, causing an ileus and a hemorrhagic infarction of the affected parts of the jejunum.

Clinical symptoms: In the beginning of the disease intense colic, later on progressive "intoxication", due to the infarction. Transsudation of bloody liquid in the abdominal cavity. Reduced defecation combined with distension of the abdomen. No more milk, no appetite.

Clinical diagnosis: Rectal exploration may reveal twisted parts of the mesenterium that are highly painful when palpated. A partially congested and partially empty jejeunum is palpable.

Laboratory: Hemoconcentration (HK up to 50 l/l), metabolic alcalosis, massive hypochloremia, often hypocalcemia.

Treatment: A volvulus mesenterialis is, beside the abomasal volvulus, the most important reason for emergency surgical treatment. The success of a surgical treatment depends mainly on the duration of the

volvulus. Fresh cases can be treated by untwining of the volvulus. Within 24 hours, the tissue damage at the site of torsion may be so severe, that only a resection of the infarced parts of the intestine can help. This kind of surgery is highly painful. It should only be performed with the animal lying on its left side, surely fixated to an operating table, if possible with general anaesthesia. In the field no surgical approach should be tried when the animal is sick for more than 2 days and "intoxicated".

C5. Invagination of the jejunum

Nature of the disease: An Invagination initially causes a subileus and progresses within one day to a total ileus. Affected cows suffer mainly from progressive dehydration and from congestion of the proximal parts of the jejunum.

Clinical symptoms: In the beginning of the disease mild colic, no "intoxication", progressive reduced defecation combined with distension of the abdomen. Deep lying bulbi and dehydration. No more milk, no appetite.

Clinical diagnosis: Rectal exploration reveals a partially congested and partially empty jejeunum. The diagnosis can be confirmed when the snail house shaped area of invagination is in reach.

Laboratory: Hemoconcentration (HK up to 50 l/l), metabolic alcalosis, massive hypochloremia, often hypocalcemia.

Treatment: The appropriate therapy is the resection of the invagination and the performance of an end-to-end anastomosis by a laparotomy in the middle of the right paralumbar fossa. This kind of surgery is hard to perform in the field. Even in the clinic it is, due to anatomic conditions, not always possible to pull the area of invagination out of the abdominal cavity. Alternative to surgical treatment an immediate slaughter could be advisable.

D) Diagnostic pitfalls

Cows with symptoms of ileus are always considered to be emergency patients. But surgical treatment should be performed well thought-out and well planned and the patients must always be completely examined.

One of the most important aids to distinguish between a functional and a mechanical ileus is the internal body temperature. Generally all early stages of the previously mentioned ileus-diseases are not connected with fever.

Septic diseases like phlegmonous mastitis ("mastitis gravis") may cause massive disturbance in general behaviour, diarrhoea and a total atony ob the intestine. These patients are very sick. They can even die from this disease. They have a distended abdomen, and they have pings and plashing sounds created by liquid faeces and gas bubbles in the atonic guts.

But these patients normally have fever, they have still detectable amounts of faeces in the rectum, and they have a detectable severe inflammation of the udder.

Special problems are cows with a sporadic hypocalcaemia that is not connected with parturition. About 1% of our cow-patients suffer from this kind of disease. The lack of Ca^{++} ions causes a complete atony of the rumen and the intestine, and defecation stops. In these cases it is very helpful, when measuring of Ca^{++} concentration in the blood is possible. We are using a quite expensive blood-gas analyser that is not common in the field praxis. But for field use there are some semi-quantitative tests available (Ca-Test Linhart or Gräub).

If there is any doubt, a "diagnostic therapy" with a calcium-infusion under heart control can be tried. If the cow responds to the infusion, starts eating and defecating, no surgery is necessary. When she stays sick, the hypocalcemia may have been the result of a mechanical ileus with highly reduced Ca^{++} resorp-

tion in the intestine.

"Colic" symptoms like restlessness and kicking to the abdomen i.e. can also be caused by intense pruritus (lice, mite).

Last but not least: Tenesmus should not be estimated as a sign of ileus. Tenesmus is brought up by irritations in the pelvic area like birth trauma, proctitis or painful urination (urolithiasis in bulls).

The problem of reduced intestinal passage caused by diseases of the reticulum (traumatic reticuloperitonitis) is discussed in a special chapter.

E) Diagnostic laparotomy in questionable cases

In very sick animals a quick diagnostic laparotomy or endoscopy – sometimes is the fastest way to determine whether an intensive (and expensive) therapy can be helpful. Cases where no therapy is possible like an acute peritonitis due to a perforated abomasal ulcer, or a rupture of the uterus can be proved beyond doubt and with reasonable costs within one hour.

A diagnostic laparotomy is also an appropriate way to identify subacute disturbances of intestinal passage caused by chronic peritonitic adhesions, necrosis of fatty tissue or tumors.

Correspondence

Dr. Harald Kümper
Fachtierarzt für Rinder, Dipl. ECBHM
Clinic for Ruminants and Swine (Internal Diseases and Surgery)
Justus-Liebig-University Giessen
Frankfurter Str. 110, D-35392 Giessen, Germany
Email: Harald.Kuemper@vetmed.uni-giessen.de

MANEJO DEL POSTPARTO PARA EL CONTROL DE LAS ENFERMEDADES METABÓLICAS.

Adrian González Garrido. Servicio Técnico de Rumiantes. NUTRAL S.A.

INTRODUCCION

El postparto es una fase del ciclo productivo de la vaca de leche muy conocida pero no exactamente definida; ningún trabajo experimental establece el tiempo concreto en días postparto que engloba este periodo debido a que hace referencia a un periodo de tiempo durante el cual la vaca recien parida sufre una serie de cambios anatómicos, fisiológicos y metabólicos cuya duración y magnitud dependen de cada animal y es por tanto imposible definir cuantos días cada animal debe permanecer en este grupo.

El grupo de postparto en las explotaciones de vacuno lechero se creó como consecuencia de la gran cantidad de problemas que aparecían en los animales después del parto y como sistema para establecer pautas especiales de vigilancia y manejo que permitieran reducir al máximo posible la incidencia de patologías. Los autores Socha, Tomlinson y Ward, en la Conferencia de Nutrición de Tenesse de 2006, prsentaron una ponencia donde relacionaron el coste de las patologías postparto más frecuentes (del Dr. Chuck Guard, universidad de Cornell) y el porcentaje de incidencia de las mismas en los establos de Estados Unidos (Duffield et al.1998; National Animal Health Monitoring Systems, 2002).

Tabla 1. Coste por caso de las enfermedades metabólicas postparto más comunes

ENFERMEDAD	COSTE POR CASO	% INCIDENCIA EN USA
Cetosis	145 $	13
Mamitis clínica	190 $	14.7
Retención de placenta	285 $	7.8
Fiebre de leche	334 $	5.2
Desplazamiento abomaso	340 $	3.5
Laminitis	346 $	11.6

En 1997 Goff y Horst publicaron un trabajo que todavía hoy es una referencia al tratar este tema y en el que afirman que la mayoría de las enfermedades metabólicas de las vacas de leche se producen dentro de las dos primeras semanas de lactación e incluso que la inmensa mayoría de las enfermedades infecciosas (mamitis, paratuberculosis, metritis, salmonelosis,...) comienzan a ser clínicamente aparentes durante las dos primeras semanas de lactación de la vaca. Tal vez a raiz a de este artículo de referencia se estableció como norma general considerar los primeros quince días de lactación como el periodo de postparto en el ciclo productivo del vacuno lechero. Sin embargo, es muy importante resaltar que es un tiempo medio, y que la individualidad de cada animal permitirá que dentro del grupo de postparto de nuestras explotaciones haya animales que puedan salir a un parque de alta producción con 10 días en leche, mientras que otros deban permanecer 20 días o más. Desde el punto de vista del nutricionista, una vaca debe ser considerada en fase de postparto hasta que se encuentre metabolicamente sana y estable.

Una de las primeras dificultades que nos encontramos cuando hablamos del control de las enfermedades metabólicas del postparto es el elevado número de patologías a que nos referimos y que dificultan su estudio, comprensión y el establecimiento de pautas de control. Por eso me gustaría tratar de agruparlas en función del órgano o sistema sobre el que interactúan; así, nos encontramos con enfermedades que afectan al hígado (cetosis, hígado graso), al aparato digestivo (acidosis ruminal, desplazamiento de abomaso), al útero (metritis, retención de placenta), a la glándula mamaria (mamitis, edema de ubre), a las patas (laminitis) e incluso al sistema muscular en relación con los niveles de calcio en sangre (hipocalcemia). Puesto que son demasiados frentes sobre los que actuar de una vez, propongo hacer un listado con todas estas patologías y buscar aquellas que son causas primarias de enfermedad y diferenciar aquellas otras que aparecen como consecuencia de las primeras (patologías secundarias), de tal modo que solucionando unas prevenimos otras. Una vez localizadas las enfermedades primarias, el objetivo es definir donde debemos actuar para evitar que éstas aparezcan. Cuando hacemos este ejercicio nos llevamos una grata sorpresa al poner en evidencia que trabajando sobre pautas muy concretas de alimentación y manejo podemos prevenir muy eficazmente todas las patologías postparto. El objetivo es sencillo: hacer fácil lo que parece imposible.

ENFERMEDADES METABÓLICAS

PATOLOGÍA	CAUSA	SOLUCIÓN
A)Acidosis ruminal	1 ª	Nutrición/Manejo
B) Desplaz. Cuajar	2º a A o (D+E)	
C) Laminitis	2 ª a A o B	
D) Sindrome Hig-graso	1 ª	Nutrición/Manejo
E) Cetosis	2 ª a todo	
F) Hipocalcemia	1 ª	Nutrición
G) Mamitis	1 ª y 2ª a F + J	
H) Edema de ubre	2 ª a F	
I)Retención de placenta	2 ª a F + J	
J)Stress	1 ª	Manejo
K)Metritis	1 ª y 2 ª a F + I + J	

Trataré de convencerles de que el mayor problema de la vaca en el postparto es un inadecuado manejo del aporte de energía a la vaca de leche como consecuencia fundamentalmente de un insuficiente aporte , consecuencia a su vez de una reducción de la ingesta debido a graves errores en el manejo del programa nutricional y graves errores en el manejo de la vaca en el ciclo de lactación previo al nuevo parto y durante las semanas previas al mismo.

EXPOSICIÓN:

El postparto es la fase del ciclo productivo de la vaca donde el desequilibrio energético (balance entre lo que ingresa de energía y lo que se consume) es más acusado debido a la rápida demanda de nutrientes de la glándula mamaria acompañado de la reducida capacidad de ingesta de materia seca de los animales (BEN o Balance Energético Negativo). La vaca de leche obtiene la energía necesaria de dos caminos fundamentales: a partir de la ración diaria (de los ácidos grasos volátiles tras la fermentación de los alimentos en el rumen, especialmente ácido propiónico que es transformado en glucosa) y a partir de las reservas corporales cuando el ingreso de nutrientes no es suficiente (especialmente de la grasa corporal almacenada). En ambos casos el metabolismo de los productos intermedios (propiónico y ácidos grasos) para obtener energía finalmente aprovechable se realiza en el hígado; luego si existe un órgano esencial para asegurar el aporte energético en la vaca de leche es el higado. Basta con entender dos citas de dos investigadores de referencia en este campo para darnos cuenta de la importancia del hígado. Drackley escribió en 2001 que "el hígado es el cruce de caminos del metabolismo y juega un papel decisivo en la coordinación del flujo de nutrientes que intervienen en el sostenimiento de la producción y la reproducción" mientras que Overton , de la universidad de Cornell, afirma que "El hígado representa sólo del 1,5 al 2,5 % del peso corporal, pero es responsable de alrededor del 25 % de la actividad metabólica". Luego una premisa esencial para evitar enfermedades metabólicas en el postparto es asegurar la funcionalidad hepática.

Datos de Piepenbrink y Overton en 2001 demuestran que los niveles de glucosa en sangre de las vacas en postparto estan por debajo de sus necesidades lo que obliga al animal a movilizar siempre una cantidad variable de grasa corporal como fuente alternativa de energía. La cantidad de grasa movilizada dependerá de la magnitud del BEN, lo cual esta ligado directamente a la demanda total de energía (nivel de producción de la vaca) y a la cantidad de energía que puede ser consumida (kg de materia seca ingerida y nivel energético de la ración). El balance energético puede ser medido muy eficazmente en sangre analizando los niveles de Acidos Grasos No Esterificados (NEFA en inglés), puesto que a mayor BEN , mayor cantidad de NEFA habrá circulando en sangre. Este extremo lo puso muy claramente de manifiesto el profesor Grummer en 1993 cuando comparó la evolución de NEFA en sangre durante 20 días antes del parto y 20 días después del parto junto a la ingesta de materia seca en el mismo periodo de tiempo, y observó cómo las curvas eran inversas.

Al contrario de lo que pueda parecer, un elevado nivel de NEFA en sangre no indica en si mismo un problema, sino que pone sólo de manifiesto que nos encontramos ante un animal con un acusado BEN (por las razones que debemos investigar) que esta moviendo grasa para intentar mantener la producción láctea que persigue su propia genética.

Ahora bien, lo cierto e importante es que todos los NEFA circulantes llegan al hígado. En el hígado, los NEFA pueden seguir dos caminos diferentes:

1.- son oxidados o "quemados" para asegurar el aporte de energía a los tejidos; la oxidación de los NEFA en el hígado tiene dos pasos metabólicos diferenciables; el primero es su conversión a acylCoA; el segundo es la reacción del acylCoA con el oxalacetato para producir CO2 y una importante cantidad de energía. El oxalacetato es, por tanto, esencial para obtener energía a partir de la grasa en el hígado, pero el oxalacetato procede a su vez del metabolismo del ácido propiónico procedente del rumen o bien directamente de la glucosa almacenada en el hígado. Cuando ambas vías de suministro son insuficientes (BEN en postparto) el hígado reacciona desviando el acylCoA a un camino alternativo, oxidándolo a cuerpos cetónicos como el B-hidroxibutirato, que es empleado por los tejidos como fuente alternativa de energía; cuando la cantidad de cuerpos cetónicos es muy elevada por el exceso de oxidación incompleta de los NEFA hepáticos, se acumulan en sangre dando lugar a la enfermedad por todos conocida como **cetosis.**

2.- son esterificados (lipogénesis) dentro de los hepatocitos formando triglicéridos. Los triglicéridos pueden a su vez tomar dos rutas diferentes:

b1) son almacenados en el hígado

b2) son devueltos a la circulación sanguínea como lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL en inglés)

Aquí nos encontramos con un serio problema: el ritmo de oxidación de NEFA es lento, luego ante la llegada masiva de NEFA la tendencia natural del hígado es esterificar y almacenar para su posterior oxidación; sin embargo, el hígado de los rumiantes carece de cantidades apreciables de enzimas que hidrolizan la grasa, dificultando su movilización desde el hígado y favoreciendo su acumulación; por otro lado, comparado con otras especias, los rumiantes tienen una menor capacidad de segregar grasa desde el hígado como VLDL, lo cual también favorece su acumulación.

Es por esta razón que cuando se juntan las condiciones de una llegada masiva de NEFA al hígado con una carencia de oxalacetato (menor nivel de glucosa disponible) que obliga a desviar a rutas alternativas la oxidación de los NEFA, se incrementa la acumulación de triglicéridos en el hígado (**Síndrome del Hígado**

Graso) y la aparición de cuerpos cetónicos (cetosis). Y estas circunstancias son las que nos encontramos durante el postparto.

El diagnóstico de ambos procesos se puede realizar de una forma répida, sencilla y fiable. El análisis de los cuerpos cetónicos en sangre (b-hidroxibutirato) es el método más fiable para el diagnóstico de la cetosis, mientras que el análisis de diferentes enzimas hepáticas como AST, GGT, Creatin Kinasa, etc ha resultado eficaz en el diagnóstico de diferentes grados de hígado graso en el último trabajo publicado de Sevinc et col. en 2001, perfilándose como una muy buena alternativa para el diagnóstico de este síndrome, aparte de la biopsia hepática, más exacta pero poco práctica en condiciones de campo y grandes poblaciones.

Conocido el problema y la forma de diagnosticarlo, lo más importante es marcar las pautas para evitar su aparición. Como siempre en vacuno lechero, y especialmente en grandes explotaciones, lo importante es prevenir.

Siguiendo el mismo razonamiento que explica el proceso de aparición del "problema hepático" podemos establecer las medidas a adoptar para su prevención:

1.- Aportar suficiente energía en forma de AGV (y especialmente propiónico) para reducir el BEN, la movilización de NEFA y aportar suficiente oxalacetato. Si aseguramos un buen aporte energético a las vacas reduciendo el BEN, la movilización de grasa y los niveles de NEFA circulantes serán lo suficientemente tolerables como para que el hígado no sufra transtornos y la vaca consiga en pocos días alcanzar su status de "vaca metabolicamente estable" Para ello establecemos tres caminos:

1.a) Formular raciones adecuadas = Nutrición

1.b) Incrementar la ingesta de materia seca = Manejo

1.c) Emplear aditivos glucogénicos = propilenglicol, propionatos = Industria

2.- Facilitar un eficaz metabolismo hepático. Si el higado puede trabajar al 100 % de rendimiento, la vaca tendrá más capacidad de tolerar un exceso de NEFA circulante en caso de haber fallado levemente en el punto 1; digamos que nuestro margen de seguridad aumenta.

2.a) Prevenir el exceso de grasa corporal al parto = Nutricion / Manejo

2.b) Prevenir la llegada de agentes tóxicos al hígado antes del parto = Manejo

2.c) Emplear aditivos que favorezcan la oxidación de la grasa = Industria

3.- Facilitar la rápida eliminación de la grasa almacenada. Es el camino más novedoso y menos empleado, pero quizás uno de los más interesantes para ayudar a las vacas ante sistemas de nutrición y manejo muy defectuosos.

3.a) Empleando aditivos específicos = Industria

Una vez más me gustaría simplificar el proceso de explicación de las acciones que debemos ejecutar para prevenir la aparición de enfermedades metabólicas postparto. Analizando el último esquema podemos resumir las acciones en tres parcelas muy concretas: el control nutricional, el manejo en la granja y la ayuda de la industria.

1.- CONTROL DE LA NUTRICIÓN:

La nutrición es uno de los pilares básicos para la prevención. El objetivo del programa nutricional durante el postparto es muy sencillo: asegurar el mayor ingreso posible de energía total al día, de una forma sostenida en el tiempo (todos los días) y asegurando un correcto funcionamiento del aparato digestivo. Para ello debemos:

1.a) Formular raciones adecuadas en nutrientes y sanas para el aparato digestivo.

Tratando de ser lo más práctico posible, lo que pretendemos al formular raciones de postparto es asegurar la fisiología ruminal o salud digestiva aportando la máxima energía posible; pero en este orden, ¿por qué?, para asegurar en cualquier caso que el animal se encuentra en disposición de ingerir alimento. Recordad que lo que interesa es que entre energía en la vaca, y cada kg de materia seca extra que ingiere, supone mucho más avance energético que el mayor incremento en concentración que pudiéramos conseguir. Si buscáramos lo contrario, asegurar primero el aporte de energía, deberíamos recurrir a raciones muy concentradas, dado que los cereales y subproductos proteicos como la harina de soja tienen mucha más energía por unidad fermentada que los forrajes y los subproductos fibrosos.

Si utilizamos raciones muy concentradas durante el postparto (con almidón elevado, FAD y FND reducidas, y poca estructura fibrosa –baja relación forraje/concentrado-) provocamos una mayor producción de ácido láctico y un menor nivel de rumia y salivación de la vaca, lo que impide la llegada de sustancias tampón que evitarían la acidificación del medio. Si a esto añadimos que la mucosa ruminal de las vacas de postparto no esta preparada para absorber con eficacia los ácidos grasos volátiles producidos, aumenta su acumulación ruminal, el medio se acidifica y aparece la acidosis ruminal.

La **acidosis ruminal** provoca disbiosis con destrucción de microorganismos y aumento de la permeabilidad de la pared del rumen. La destrucción microbiana genera liberación de endotoxinas e histamina, que al pasar a la circulación sanguínea y llegar a diferentes tejidos podrían explicar los cuadros inflamatorios inespecíficos y no infecciosos que encontramos en la glándula mamaria **(mamitis no infecciosa)** y en las pezuñas **(laminitis)** de las vacas tras sufrir procesos de disbiosis ruminal (Lischer y Ossent, 2002). Esta teoría de la adaptación del rumen a la dieta de postparto ha sido expuesta con mucha claridad por Goff y Horst en su artículo de 1997, y hacen especial mención a la adaptación de la población bacteriana ruminal y al desarrollo de las papilas ruminales durante la fase de preparto para prevenir problemas digestivos con las raciones de postparto.

Estas patologías postparto estan directamente relacionadas con la formulación de las raciones de preparto y postparto, lo que requiere la actuación de un especialista en nutrición de vacuno lechero. Debemos ajustar los consumos de materia seca de cada lote, mantener el equilibrio entre los carbohidratos fibrosos y no fibrosos (FND/CNF) para asegurar un crecimiento compensado de toda la población bacteriana (fibrolítica/amilolítica) y reducir la acumulación de ácido láctico (el más acidótico para el rumen); es todavía más importante asegurar una adecuada fibrosidad física de las raciones de preparto y postparto para mantener una rumia activa que estabilice el pH en niveles fisiológicos y que asegure un llenado ruminal antes y después del parto que prevenga el desplazamiento de abomaso.

1.b) **Asegurar un aporte continuado de la ración** (que coman siempre que quieran), correctamente elaborada (que se ajuste a la ración elaborada por el nutricionista), con la presencia física óptima (para evitar procesos de selección) y con alimentos de calidad. Recordad que el objetivo es que coman para que entre energía y podamos reducir el BEN; la consecución de este segundo punto (1.b) sólo es posible si el primero esta conseguido (1.a) puesto que una vaca con transtornos digestivos o mamitis/laminitis postparto, simplemente no come aunque la ración fuera apetecible.

Mención especial: la necesidad de prevenir los problemas digestivos postparto (acidosis ruminal, desplazamiento de abomaso) adaptando el rumen de las vacas a las futuras dietas postparto, la obsesión de ganaderos y veterinarios por incrementar el aporte energético por kg de materia seca en las dietas postparto, la posible reducción del tiempo de periodo seco de las vacas de 60 a 30 días (para ganar 30 días más ordeño por ciclo de lactación aumentando la eficacia productiva global por vaca presente) y la complicación de separar animales en diferentes lotes (secas + preparto + postparto) ha planteado la posibilidad de utilizar la dieta de preparto durante todo el periodo seco en lugar de sólo durante las dos o tres últimas semanas de gestación.

Socha, Tomlinson y Ward hacen una interesante reflexión a este respecto que merece la pena divulgar. En un trabajo de Contreras y al. en 2004 se pone de manifiesto que las vacas alimentadas con la dieta de preparto durante los 60 días antes del parto comparado con aquellas que la recibieron sólo los 21 días previos al parto, tuvieron menor producción de leche y mayor incidencia de enfermedades metabólicas. Hay dos teorías que pueden explicar este hecho:

A) La captación de glucosa por los tejidos periféricos (adiposo, muscular) es dependiente de insulina, mientras que la captación de glucosa por la glándula mamaria y la masa fetal parece ser independiente a la insulina; durante el final de la gestación y el arranque de la lactación los tejidos periféricos podrían ver limitada su capacidad de respuesta ante la insulina y por tanto tienen reducida su capacidad para captar la glucosa circulante en sangre, dando de este modo prioridad a la glándula mamaria para la captación de la glucosa circulante. En compensación, y de forma fisiológica, las vacas incrementarían la movilización de NEFA como fuente alternativa de energía para los tejidos periféricos (Smith, 2004). Es posible que las vacas que genéticamente tienen una mayor capacidad para producir leche tengan también una mayor resistencia a la captación de glucosa por los tehidos periféricos y, por tanto, movilicen más NEFA, estando más predispuestas a sufrir desórdenes metabólicos relacionados con el hígado.

   Según Drackley, 2005, cuando las vacas son expuestas a dietas altas en almidón durante periodos prolongados de tiempo desarrollan cierta resistencia a la insulina para captar la glucosa circulante en sangre. Esto explicaría los resultados del trabajo de Contreras y al. y los buenos rendimientos de vacas que son alimentadas con dietas de vacas secas con niveles bajos de energía.

B) Vacas con alimentación ad libitum durante todo el periodo seco redujo la capacidad oxidativa de ácidos grasos en el hígado después del parto frente a un grupo de vacas con alimentación restringida durante el periodo seco (Murondoti, 2003). Parece que el nivel de alimentación antes del parto tiene relación con la actividad de las enzimas hepáticas que intervienen en la oxidación de los NEFA.

2.- MANEJO EN LA GRANJA:

El manejo incluye todo lo que rodea a la vaca en el establo y que tiene influencia positiva o negativa sobre ella; manejo son todas las actividades que se realizan en la granja y tienen alguna relación, directa o indirecta, con las vacas (ordeño, limpieza de parques, sistema de alimentación, sistema de lotificación y

movimiento de animales, ...), son las instalaciones que las rodean, las condiciones medioambientales, etc. Es un concepto amplísimo que engloba cualquier evento que suceda en la granja o circunstancias que ya existan y que influyen en el comportamiento de los animales. El manejo debe ser acotado en parcelas para poder ser interpretado.

En el caso del postparto hay dos situaciones determinantes para el correcto arranque en lactación de la vaca, y ambas dependen del manejo que hagamos de los animales en su vida productiva.

2.a) Estado corporal de la vaca en el momento del parto: es universalmente admitido y la experiencia general asi lo pone de manifiesto que vacas que llegan al parto con una condición corporal elevada (vacas gordas) tienen más problemas al parto y una mayor incidencia de enfermedades metabólicas que aquellas que llegan al parto más delgadas. En la práctica podemos considerar vacas gordas al parto aquellas con una condición corporal de 3,75 o superior mientras que vacas delgadas son las que se encuentran por debajo de 3,25.

Teniendo en cuenta los actuales niveles de producción de las vacas y la enorme pérdida de peso (condición corporal) que se produce durante los primeros 60 días de lactación como consecuencia del balance energético negativo, es prácticamente imposible que las vacas que completan un ciclo de lactación normalizado (305 – 335 días) se presenten con sobrecondición corporal al parto. Las vacas que llegan al parto "gordas" son aquellas que han sufrido mala fertilidad, tienen días abiertos por encima de 150 y permanecen mucho tiempo en fase de lactación; es bien conocido que las vacas en cola de lactación tienen mayor tendencia a engordar que en cualquier otro periodo de su ciclo productivo, y en la mayoría de los establos lecheros hay una sola ración de lactación con alta densidad energética que provoca un rápido engrasamiento de los animales. Es por ello que la mala fertilidad durante el ciclo de lactación precedente es predisponente a graves enfermedades metabólicas en el postparto del siguiente ciclo.

Este punto es especialmente importante puesto que obliga a los nutricionistas a vigilar el rendimiento reproductivo de los establos en que trabajan si quieren prevenir las enfermedades postparto, y a proponer corrales de baja producción con raciones con baja densidad energética cuando se incorporen al trabajo en explotaciones con mala fertilidad.

2.b) Asegurar el confort animal de las vacas durante el postparto para reducir los niveles de stress y asegurar una máxima ingestión de materia seca. Como escribió James A. Barmore en febrero de 2001, "siempre que una vaca no está cómoda, come menos"; sólo por este motivo, y dada la importancia que hemos visto que tiene el aporte de energía al hígado en el postparto, merece la pena invertir todo lo necesario en este punto. Varios autores han trabajado en el estudio del comportamiento animal frente a diversos factores de manejo (Grant y Albright, Cook and Norlund) y todos ponen de manifiesto que cuando las vacas sufren stress reducen la ingestión de materia seca, tienen menor producción y aumenta la tendencia a sufrir enfermedades metabólicas.

Las vacas que sufren stress también incrementan sus problemas metabólicos postparto debido al incremento de cortisol circulante. Es bien conocido el efecto inmunosupresor de los glucocorticoides y su capacidad de movilización de grasa, y ambos factores son especialmente nocivos para el metabolismo de las vacas recién paridas. Refiriéndome al mismo trabajo que me servía de introducción, ya en 1997 Goff y Horst ponían de manifiesto la posible relación de la inmunosupresión al parto con la retención placentaria y la aparición

de metritis debido a la pérdida de funcionalidad de los neutrófilos; la inmunosupresión hace que las vacas sean más susceptibles a sufrir enfermedades infecciosas postparto como mamitis o metritis, las cuales son generalmente acompañadas de fiebre y falta de apetito, disminuyendo una vez más la ingesta de materia seca.

3.- AYUDA DE LA INDUSTRIA.

Quiero referirme en este punto al empleo de numerosos productos que tienen un efecto muy positivo en la prevención de las enfermedades metabólicas postparto y cuya fabricación y/o comercialización es responsabilidad de la industria ligada a la nutrición animal. El conocimiento de su modo de acción es importante para decidir en cada caso cual de ellos es más interesante emplear; son productos que tradicionalmente se empleaban como curativos pero que ante la importancia económica de las enfermedades postparto, se vienen empleando hace pocos años como productos preventivos con buenos resultados. Los más importantes son:

a) Sales de ácido propiónico y propilenglicol: aportan directamente los precursores de oxalacetato (ácido propiónico) que las vacas están reclamando para producir energía y, de esta manera, se evita la movilización de grasa. Actualmente se recomienda el aporte de las sales de ácido propiónico (propionato cálcico) a la ración de vacas en preparto y arranque de lactación y de otros productos que actúan de forma similar, como el propilenglicol.

b) **El ácido nicotínico y la nicotinamida** son dos formas comunes de aportar niacina en las raciones de vacas; la suplementación con cualquiera de las dos formas eleva los niveles de ácido nicotínico en sangre dado que la nicotinamida es rapidamente transformada en ácido nicotínico por las bacterias ruminales. La incorporación de niacina en la dieta de vacas de alta producción esta recomendado por la reducción de los NEFA plasmáticos y cuerpos cetónicos debido a su propia capacidad antilipolítica; se asocian a su empleo incrementos de producción láctea y de porcentaje de proteína en leche. Estos efectos explican las recomendaciones actuales para incorporarlo en las raciones de periparto y prevenir el síndrome de hígado graso.

c) Carnitina : es una sustancia fundamental para introducir los NEFA en la ruta metabólica de oxidación; de una forma imaginaria, la carnitina es el vehículo de entrada de la grasa al "horno" para obtención de energía. La carnitina es sintetizada en las vacas a partir de los aminoácidos metionina y lisina, o bien, puede aportarse directamente como aditivo. Su elevado precio desaconseja en ocasiones su incorporación

d) **Metionina y Cloruro de Colina:** dado que la fosfatidilcolina es sintetizada a partir de colina o metionina, la manera más eficaz de asegurar una correcta liberación de grasa hepática a través de la formación de VLDL es aportar en la dieta ambos productos. Un aspecto muy importante, y poco tenido en cuenta por muchos nutricionistas a la hora de diseñar protectores hepáticos, es que tanto la metionina como el cloruro de colina son productos altamente degradables en rumen, por lo que deben ser aportados en forma protegida o by-pass.Otro dato muy interesante es que el aporte simultaneo de cloruro de colina y metionina by-pass permite la síntesis de fosfatidilcolina a partir de la colina, liberando a la metionina de esta "obligación" y permitiendo que sea desviada a la síntesis de carnitina (la cual ya no sería

necesaria), incrementando la oxidación de la grasa. Ambos productos, por tanto, inciden de manera directa en evitar la aparación del síndrome del hígado graso.

e) **Levaduras y cultivos de levadura:** incluye este grupo de productos todos aquellos que como probióticos o cómo prebióticos ayudan a mantener la estabilidad de las fermentaciones ruminales y a incrementar el consumo de materia seca. Existen actualmente en el mercado incluso productos comerciales que son una combinación de ambos buscando su efecto sinérgico

f) **Minerales quelados:** diferentes microminerales intervienen como cofactores en diferentes enzimas ligadas a complejos procesos metabólicos. La reducción de ingesta durante el periodo de transición y el incremento de la actividad metabólica en este periodo requiere un aporte seguro de zinc, manganeso, cobre, cobalto, selenio. Diversas experiencias demuestran los beneficios del empleo de minerales quelados como aporte seguro de estos minerales a las raciones y sus beneficios en la ayuda preventiva de mamitis, laminitis y como refuerzo del sistema inmunitario. Es interesante la revisión que sobre este tema realizaron Kellog y al. en 2003.

g) **Adsorbentes de micotoxinas**: dado que mantener la funcionalidad hepática es una premisa indispensable en los programas de postparto y que cada vez esta más demostrada la presencia de diferentes micotoxinas en los alimentos que consumen las vacas de leche, me parece indicado incorporar este tipo de productos en el lote de sustancias que deben ser tenidas en cuenta para incorporar en el periodo de transición.

CONCLUSIONES

Un buen manejo del periodo de postparto en las vacas lecheras de alta producción evita la aparición de enfermedades metabólicas. El aspecto más importante en este periodo es asegurar un buen nivel de ingesta de materia seca que asegure un correcto aporte de energía al hígado para mantener en niveles fisiológicos la movilización de grasa corporal –NEFA- (evitando la acumulación de grasa en hígado que origina el síndrome del hígado graso) y su correcta oxidación hepática, (limitando la presencia de cuerpos cetónicos en sangre que podría inducir a cetosis). Es muy importante asegurar que el hígado se encuentra en condiciones óptimas para afrontar el desafío metabólico del postparto, por lo que debemos prevenir el exceso de condición corporal de las vacas al parto y evitar la llegada de toxinas a través de los alimentos. Existen además numerosos aditivos que ayudan al hígado por diferentes caminos: evitando una gran movilización de grasa corporal, permitiendo su correcta oxidación o ayudando en la eliminación de la grasa que ha podido quedar almacenada.

Conseguir una ingesta de materia seca adecuada durante el postparto depende de un correcto programa nutricional (que asegure el consumo de raciones bien diseñadas que eviten la aparición de problemas digestivos cómo acidosis ruminal y/o desplazamiento de abomaso, asi como el desarrollo de la hipocalcemia) y del mantenimiento del confort animal durante este periodo para reducir el efecto inmunosupresor del Stress que predispone a nuevas infecciones como mamitis o metritis y que reduce el cosumo de materia seca, provocando los problemas hepáticos antes referidos.

BIBLIOGRAFÍA:

1.- M.T. Socha, D.J. Tomlinson y T.L.Ward. Manejo y nutricion en vacas secas. Conferencia de nutrición en Tenesse. 2006.

2.- J.P.Goff y R.L.Horst. Cambios fisiológios al parto y su relación con los desórdenes metabólicos. JDS 80:1260 – 1268. 1997

3.- Thomas R. Overton. Usted puede manejar el metabolismo de sus vacas recién paridas. Hoard´s Dairyman en español. Julio de 2001.

4.- Piepenbrink M.S. y T.R.Overton. Metabolismo hepático y producción de vacas alimentadas con cantidades crecientes de colina protegida ruminalmente durante el periodo del periparto. JDS 86:1722 – 1733. 2003.

5.-Ric R. Grummer. Impacto de los cambios en el metabolismo de nutrientes sobre la alimentación de la vaca en transición. JAS, 73:2820 – 2833. 1995

6.- M.Sevinc, A.Basoglu, FM. Birdane y M. Boydak. Función hepatica en vacas lecheras con hígado graso. Revue Med. Vet. 2001, 152.4 297 – 300.

7.- Lisher, C.J. y P. Ossent. Patogénesis de las lesions podales atribuidas a laminitis en vacas. 12 Congreso internacional de laminitis en rumiantes, Orlando, Florida. Pag. 82-89 en los resúmenes. 2002.

8.- Contreras L.L:, C.M. Ryan y T.R. Overton. Efectos de la estrategia de agrupamiento de vacas secas y estado corporal de las vacas en preparto sobre el rendimiento y salud de las vacas de leche en transición. JDS, 87: 517-523.

9.- Smith K.L: Efectos de la fuente de carbohidratos en el preparto y la suplementación de cromo en vacas de leche durante el periodo periparto. Tesis de la Universidad de Cornell. Ithaca, NY. 2004.

10.- Dackley J.K. Dietas bajas en energía para vacas secas. Conferencias de nutrición y manejo en vacuno lechero en Dubuque, IA. 15 – 16 de junio de 2005. Pag. 85-93 en los resúmenes.

11.- A. Murondoti, R.Jorritsma, A.C. Beynen, T. Wensing y M.J.H. Huelen. La ingesta de alimento a libre disposición durante el periodo de secado perjudica la oxidación y la síntesis de ácidos grasos en el hígado de vacas lecheras durante el postparto. JDS, 87:672-679. 2004

12.- James A. Barmore. Revise lo básico en el cuidado de las vacas en transición. Hoard´s Dairyman en español. Febrero de 2001.

13.- R.J. Grant y J.L. Albright. Comportamiento alimentario y factores de manejo durante el periodo de transición en vacas de leche. JAS, 1995 73:2791-2803

14.- Cook N.B. y K.V. Norlund. Comportamiento de la vaca en transición y consideraciones sobre la necesidad en el diseño de instalaciones específicas. Vet. Clin. Food Anim. 20: 495-520. 2004.

15.- Kellog D.W., M.T.Socha, D.J. Tomlinson y A.B.Johnson. Efecto de a alimentación combinada de glucoheptonato de cobalto y complejos específicos de aminoácidos de zinc, manganeso y cobre sobre el rendimiento en lactación y reproducción en vacas de leche. Resumen de ocho pruebas. Prof. Animal Scientist 19:1.

CIRUGIA MENOS FRECUENTES

Antonio González Cantalapiedra. Hospital Clínico Veterinario Rof Codina. Facultad de Veterinaria de Lugo. Universidad de Santiago. España.

ANESTESIA GENERAL EN BOVINOS

Consideraciones específicas relativas al manejo anestésico de los bovinos

1. La gran talla de los adultos dificulta su manejo y les predispone a la aparición de miopatías y neuroparías por decúbito.

2. Peligro de aspiración de saliva y contenido ruminal regurgitado. Para minimizar esto: Ayuno de agua de al menos 12-24 horas, ayuno de comida de 24-48 horas, cuando el animal está en decúbito lateral se coloca el occipital más alto que el resto del cuerpo y la cabeza hacia abajo de forma que la saliva y el material regurgitado pueda salir libremente de la boca. Sondaje esofágico o sondaje traqueal.

3. Compromiso mecánico de la función pulmonar (tamaño del rumen, timpanismo, posición corporal).

4. Residuos de los fármacos en los animales de abasto.

5. Coste del procedimiento

Farmacos utilizadas para obtener la inmovilización química y anestesia general

1. Fenotiacinas (Acepromacina)

Su bloqueo alfa-1 da lugar a vasodilatación y posibilidad de hipotensión arterial.

Pueden incrementar el riesgo de regurgitación durante la inducción de la anestesia.

Se utiliza para sedar vacas adultas antes de la anestesia regional o local.

Acepromacina 0.01-0.04 mg/kg, IV.

2. Benzodiacepinas (Diazepám)

Poca depresión cardiovascular.

Se puede usar en combinación con la ketamina (efecto variable)

Diazepam 0.02-0.05 mg/kg, IV.

Zolazepam.- se utiliza en combinación con la tiletamina (ZOLETIL)

3. Agonistas alfa-2 adrenérgicos

Potentes propiedades sedantes y analgésicas

Depresores cardiovasculares (inicialmente hipertensores y luego hipotensores).

Depresores respiratorios

Hiperglucemiantes

Disminuyen la motilidad intestinal

Incrementan la diuresis

Efecto oxitócico

La dosis IM es el doble de la dosis IV para provocar el mismo efecto

Xilacina 0.05-0.3 mg/kg (0.05-0.1 sujeción de pie; 0.2-0.3 derribo) IV

Medetomidina 2.5-10 µg/kg IV.

Romifidina 10-20 µg/kg IV.

Detomidina 5-15 µg/kg IV.

A dosis equipotentes los rumiantes tranquilizados con romifidina y detomidina se mantienen mejor de pie que con xilacina.

4. Opiáceos

Sus efectos son una potente analgesia y sedación

Pueden provocar depresión respiratoria

Disminuyen la motilidad intestinal y ruminal

Su acción se puede revertir con la Naloxona (5-10 µg/kg)

Se suelen utilizar en combinación con los agonistas alfa-2 adrenérgicos para procedimientos quirúrgicos de pie.

Meperidina (0.5-1 mg/kg,IV)

Butorfanol (0.1-0.2 mg\kg, IV)

Buprenorfina (0.01 mg/kg IV)

5. Agentes disociativos

Tras su administración permanecen presentes el reflejo oral y de deglución, se mantienen los reflejos oculares (palpebral, corneal, lagrimeo).

No producen relajación muscular.

Poca depresión cardiovascular (se utilizan en animales muy enfermos)

Habitualmente se utilizan en combinación con otras drogas como agonistas alfa-2 adrenérgicos, guaifenesina, diazepam.

Ketamina (1-4 mg/kg, IV- 10 mg/kg, IM)

Tiletamina (ZOLETIL)

6. Relajantes musculares de acción central

Actúan a nivel de cerebro y médula provocando relajación muscular. (NO CONFUNDIR CON BLOQUEANTES NEUROMUSCULARES)

Poca depresión cardiopulmonar.

Se utilizan en combinación con otras drogas como ketamina o tiopental.

Se administran en infusión IV a una concentración del 5-10 % en suero glucosalino al 5%.

Guaifenesina (80-100 mg/kg, IV) DOSIS EFECTO.

7. Barbitúricos

Son poco analgésicos, la magnitud de la analgesia es proporcional a la profundidad de la anestesia.

La inyección perivascular provoca necrosis alcalina local de los tejidos (Tiopental pH 14).

Poco margen de seguridad en animales muy enfermos.

Tiopental (5-10 mg/kg, IV) Se utiliza a una concentración del 5-10% en animales adultos (2-4% en jóvenes).

Terneros menores de 3 meses

Pauta 1.-

Inducción:

Xilacina.- 0.05-0.1 mg/kg IV + Ketamina 5-10 mg/kg IV

Mantenimiento:

Suplementar ketamina a dosis de 2-5 mg/kg en emboladas IV.

Terneros mayores de 3 meses

Pauta 1.-

Inducción:

1 litro de gliceril guayacol eter al 5 % + 1 mg/ml de ketamina + 0.1 mg/ml de xilacina IV

Mantenimiento:

1.5-2.2 ml/kg/hora de la mezcla IV

Pauta 2.-

Inducción:

1 litro de gliceril guayacol eter al 5 % + 2 gramos de tiopental + 0.1 mg/ml de xilacina IV

Mantenimiento:

2-3 ml/kg/hora de la mezcla IV

La sedación inducida por la xilacina, detomidina, medetomidina y romifidina puede ser revertida mediante la administración IV de un antagonista específico, el Atipamezol, a dosis de 20-60 µg/kg.

DILATACION-TORSION DE CIEGO EN TERNEROS LACTANTES

La dilatación o dilatación-torsión de ciego es una patología relativamente frecuente en vacas gestantes a término o recién paridas, cuyo origen parece residir en las alteraciones anatómicas que provoca el útero grávido y en una menor motilidad del ciego debida al acúmulo de ácidos grasos volátiles. El momento de presentación de esta patología suele ser, en el 57% de los casos, dentro de los dos meses posparto y en el 46%, dentro de las cuatro primeras semanas posparto. Su diagnóstico siempre se ha realizado por palpación rectal, identificando el ciego distendido en la cavidad pelviana o en el cuadrante posterior derecho de la cavidad abdominal. Cuando existe torsión, el apex del ciego se dirige cranealmente. El tratamiento puede ser llevado a cabo mediante abordaje por el ijar derecho con el animal en pié o bajo anestesia general en decúbito lateral izquierdo.

En las vacas adultas los parámetros que hay que tener en cuenta para determinar cuándo es necesario el tratamiento quirúrgico son el ritmo cardiaco, el dolor abdominal, las características de las heces y el examen rectal. Los animales con taquicardia moderada, dolor abdominal medio, ausencia de heces y palpación rectal del apex del ciego dirigido cranealmente en la fosa paralumbar media son candidatos para la cirugía.

Los signos clínicos y laboratoriales asociados a esta patología son anorexia, disminución de la producción láctea, taquicardia, dolor abdominal, ausencia o escasez de heces y alcalosis metabólica (hipocloremia e hipocalemia). La gasometría venosa y la concentración sérica de electrolitos no han sido eficaces a la hora de diferenciar entre dilatación y torsión de ciego.

La frecuencia de presentación de este proceso en terneros menores de seis meses es muy inferior, siendo la causa posible de su presentación los cambios en la alimentación y en el manejo ya que, de 19 casos descritos, el 84% eran animales que estaban siendo engordados para su sacrificio y el resto animales para recría.

CUADRO CLINICO Y DIAGNÓSTICO

La sintomatología asociada a la dilatación-torsión de ciego en terneros es:

- El animal no defeca.
- Ausencia de heces en ampolla rectal.
- Dolor cólico.
- Distensión abdominal, con resonancia gaseosa en ijar derecho.
- Dependiendo de la antigüedad de la lesión los animales presentan apetito normal o anorexia.
- Ligera leucocitosis.
- Hemoconcentración.
- Alcalosis metabólica con hipocloremia e hipopotasemia.

Radiología:

Radiografías simples laterales y ventrodorsales en las que se observa la presencia de abundante gas a nivel de colon y ciego, y la ausencia de heces en recto.

Radiografías en las mismas proyecciones tras la aplicación de un enema de bario, en las que se suele apreciar la presencia de un asa distendida (el ciego) que envuelve el colón estenosándolo.

TRATAMIENTO

Fluidoterapia con el objeto de corregir la hipovolemia y alcalosis metabólica:

Suero salino ClNa 0,9% (10 ml/kg/h).

Antibioterapia (Gentamicina, 2 mg/kg + Amoxicilina 10 mg/kg cada 8 h).

Medicación preanestésica: Xilazina (Rompun®, 0,05 mg/kg) IV.

Inducción anestésica: Ketamina (Imalgene® 1000, 5 mg/kg) IV.

Una vez intubado realizamos el mantenimiento de la anestesia mediante un circuito circular de pequeños animales con Halotano (1-1,5 %) o Isoflurano (1.5-2 %) en un flujo de oxígeno de 2 l/min. De no disponer de equipo de anestesia inhalatoria, el mantenimiento se puede realizar mediante la administración de emboladas de ketamina (1 mg/kg).

Se le coloca el ternero en decúbito lateral izquierdo, realizando el abordaje quirúrgico por el flanco derecho. Una vez dentro de la cavidad abdominal localizamos el ciego torsionado que envuelve y estrangula el colon. Corregimos la torsión de ciego, realizando una tiflectomía parcial conservando la válvula ileocecal y eliminamos la porción de colon estrangulada y necrosada practicando posteriormente una anastomosis intestinal.

Como tratamiento postoperatorio administramos Gentamicina, 2 mg/kg + Amoxicilina 10 mg/kg cada 8 h durante 5 días y Flunixin meglumine (1,5 mg/kg/12 h durante 3 días).

El éxito de la cirugía se pone de manifiesto cuando el ternero tras recuperarse de la anestesia defeca con normalidad.

DISCUSION

La dilatación-torsión de ciego en terneros lactantes es una patología infrecuentemente descrita debido, en gran medida, a que su diagnóstico es complicado y a que el valor económico de los animales impide muchas veces la realización de las pruebas diagnósticas que estarían indicadas. Pensamos que la radiología simple y la radiología con contraste positivo (enema de bario) pueden ser de gran ayuda para llegar a un diagnóstico definitivo, al combinarlas con la anamnesis, analítica sanguínea y exploración física del paciente.

La resolución quirúrgica de este proceso dependerá en gran medida de la antigüedad de la torsión, que determinará la gravedad de las lesiones vasculares que vamos a encontrar tanto en el ciego como en el colon. Igual que en las vacas adultas, el tratamiento quirúrgico abarcará desde una simple tiflotomía, para descomprimir y recolocar el ciego, hasta una tiflectomía total o parcial junto con la resección o no de la porción de colon comprimida.

DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DE LA AGENESIA DE COLON

La agenesia de colon es una patología congénita relativamente frecuente en el ganado vacuno. Los animales afectados no defecan desde el momento de nacer, aunque presentan un ano normal. Son animales que comen con normalidad durante las primeras 24-72 horas de vida, y que luego progresivamente comienzan a timpanizarse, a perder el apetito y a deprimirse.

A la exploración los animales presentan el esfínter anal normal, ausencia de heces en ampolla rectal y timpanismo generalizado. El diagnóstico se puede realizar radiográficamente aplicando un enema de bario o mediante laparotomía exploratoria por el ijar derecho.

El tratamiento suele es paliativoán mediante tiflostomía permanente bajo anestesia general o mediante anestesia paravertebral.

En ocasiones estos problemas obstructivos intestinales pueden estar asociados a onfaloflebitis que comprimen asas intestinales.

TRATAMIENTO QUIRURGICO DE LOS PROCESOS OBSTRUCTIVOS DE LA URETRA

En los bovinos los procesos obstructivos de la uretra más frecuentes suelen estar asociados cálculos o traumatismos peneanos.

En ocasiones las obstrucciones uretrales provocadas por cálculos pueden dar lugar a roturas de vejiga.

La forma más sencilla de abordar este tipo de problemas obstructivos es mediante la realización de una uretrostomia perineal. Esta cirugía se puede realizar con el animal tumbado en decúbito supino o con el animal de pie.

Se realiza una incisión de unos 10 cm de longitud en la línea media del periné entre los muslos previa palpación del pene. Se realiza disección roma de celular subcutáneo y fascia superficial hasta acceder al pene. Se localizan los músculos retractores del pene (estan por la cara ventral del pene) y entre ambos se realiza una incisión sobre la uretra. Posteriormene se sutura la pared de la uretra a la piel con puntos sueltos de nylon de 2-0.

RESOLUCION DE FRACTURAS FEMORALES EN TERNEROS NEONATOS

Debido al alto valor genético potencial de los individuos y a la utilización cada vez más extendida del equipamiento ortopédico, un número cada vez más elevado de patologías ortopédicas bovinas son susceptibles de tratamiento quirúrgico.

En terneros, las fracturas femorales suelen estar asociadas a extracciones forzadas durante el parto, o a traumatismos o aplastamientos provocados por la madre. Las fracturas femorales conllevan la aparición de una inflamación muy intensa, la formación de un hematoma y la presencia de crepitación en la porción proximal de la extremidad posterior. El diagnóstico definitivo de las fracturas femorales se realiza mediante radiología con proyecciones mediolateral y craneocaudal de la extremidad afectada.

Las fracturas femorales más comunes son las oblicuas o las espiroidales de la porción diafisaria media a distal, o las transversas u oblicuas de las metáfisis distal o proximal.

La resolución quirúrgica de fracturas femorales en terneros neonatos es un reto para el cirujano veterinario debido a que la baja densidad de su hueso y la delgadez de sus corticales dan lugar a una fijación y soporte de los sistemas de osteosíntesis muy inestable. Otras complicaciones asociadas a la fijación interna de estas fracturas es la presencia de un canal medular grande y asimétrico, el desplazamiento de los fragmentos, la presencia de extensa hemorragia y la lesión periostal.

Para la resolución de estas fracturas se han utilizado placas de osteosíntesis, fijadores externos, clavos centromedulares y clavos acerrojados, combinados con alambre de cerclaje y/o tornillos de osteosíntesis.

La complicación más frecuente asociada a la estabilización mediante placa de osteosíntesis ha sido la pérdida de agarre de los tornillos que conlleva el fallo en la estabilización y la recurrencia de la fractura. Para tratar de evitar esto se ha recomendado la utilización de arandelas que prevengan la pérdida de los tornillos.

Los fijadores externos tienen como principales inconvenientes que provocan una inadecuada estabilización frente a la angulación en el foco de fractura debido fundamentalmente a la pérdida de agarre de las agujas sobre las corticales, lo que se previene combinándolos con agujas centromedulares, y la necesidad de un

mayor control postoperatorio del paciente para prevenir la infección.

La utilización de clavos acerrojados para la resolución de estas fracturas está poco investigado y presenta como inconvenientes la dificultad en su implantación, la posibilidad de fracturar el hueso durante su aplicación y la pérdida de agarre de los tornillos.

Se han obtenido resultados satisfactorios en un 83% de las fracturas femorales diafisarias tratadas mediante enclavijamiento centromedular en terneros neonatos. Las complicaciones más frecuentes asociadas a este tipo de estabilización han sido la migración distal o proximal de los clavos y la impactación de los fragmentos.

En este trabajo describimos los resultados que hemos obtenido en la resolución de fracturas femorales en terneros neonatos mediante enclavijamiento centromedular combinado con alambre de cerclaje o tornillos de cortical.

CUADRO CLINICO Y DIAGNÓSTICO

Los animales se encuentran postrados, presentando dolor, inflamación y crepitación de la extremidad afectada. Para confirmar el diagnóstico se les realizan radiografías mediolaterales y craneocaudales del fémur de la extremidad afectada. La mayor parte de las fracturas son oblicuas o espiroidales localizadas en la diáfisis media o distal.

Manejo anestésico: Premedicación con xilacina IV (0.02 mg/kg) y buprenorfina IV (0.01 mg/kg); inducción con ketamina IV (2-5 mg/kg); mantenimiento empleando un circuito circular de pequeños animales con un flujo de oxígeno de 2 l/min. y Halotano (1-1,5 %) o Isoflurano (1.5-2 %). De no disponer de equipo de anestesia inhalatoria, el mantenimiento se puede realizar mediante la administración de emboladas de ketamina (1 mg/kg).

Procedimiento quirúrgico: Se coloca al ternero en decúbito lateral con la extremidad afectada hacia arriba. Se practica un abordaje quirúrgico al fémur entre el Tensor de la fascia lata y el biceps femoral, realizando cuando es necesario mejorar la exposición de la diáfisis una desinserción parcial del Vasto lateral.

Una vez localizados los fragmentos introducimos retrógradamente (es decir hacia que salgan por la fosa intertrocantérica) los clavos centromedulares (clavos de Steinmann de 3.5 a 5.5 mm de diámetro) a través del fragmento proximal, reducimos la fractura y avanzamos los clavos hasta su impactación en la epífisis distal. Posteriormente colocamos cerclajes o tornillos de cortical con el fin de mejorar la reducción de la fractura y dar mayor estabilidad a la fijación interna. Antes de realizar el cierre por planos del abordaje comprobamos la correcta colocación de los clavos centromedulares mediante una radiografía.

Postoperatorio: Como tratamiento postoperatorio administramos durante cinco días Penicilina G potásica (10.000 UI/kg cada 8 horas IV) y sulfato de gentamicina (2.2 mg/kg cada 8 horas IV).

Durante diez días se les administra fenilbutazona (6 mg/kg cada 24 horas PO).

A los 30, 45 y 60 días de la cirugía se les realizan radiografías de control.

Los clavos centromedulares se extraen cuando radiográficamente se aprecia la formación de callo calcificado.

DISCUSION

El porcentaje de éxito en la resolución de fracturas femorales en terneros neonatos dependerá de una exhaustiva selección de los casos. Las principales causas de fracaso en este tipo de procedimiento son:

- Animales que presentan otras patologías concomitantes como problemas digestivos (diarreas) o respiratorios (neumonía) o se encuentren inmunodeprimidos por no haber accedido al calostro.

- Fracturas femorales antiguas (más de dos días) en las que la viabilidad del periostio está seriamente comprometida.
- Fracturas femorales en las que se haya producido un arrancamiento o pérdida extensa del periostio.
- Animales que presenten otras fracturas u otros traumatismos que limiten su actividad.
- Fracturas femorales cuya complejidad dificulte enormemente su reducción.

Una de las principales complicaciones asociada a la resolución de fracturas mediante enclavijamiento centromedular es la migración de los clavos centromedulares, que provoca una angulación del foco de fractura y una impactación de los fragmentos. Los clavos centromedulares proporcionan rigidez frente a las fuerzas angulares, pero no estabilizan frente a las fuerzas de compresión axial. En este sentido convendría combinar, siempre que fuese posible, el enclavijamiento centromedular con un fijador externo. Las principales complicaciones que presentan los fijadores externos en los terneros neonatos son:

- Aparición de tractos fistulosos asociados a las agujas (mucha masa muscular).
- Presentación de osteomielitis (limpieza y desinfección exhaustiva).
- Pérdida de agarre de las agujas a nivel de las corticales (agujas roscadas).

En un trabajo sobre resolución de fracturas femorales en terneros se observó como todas las fracturas en las que se había aplicado un fijador externo presentaron no unión con malalineamiento y osteomielitis a los 42 días postimplantación.

RESOLUCION DE FRACTURAS EN TERNEROS NEONATOS: metacarpo/metatarso, radio, tibia, falanges.

METODOS DE COAPTACION EXTERNA

La utilización de técnicas de coaptación externa (férulas y escayolas) para la resolución de fracturas en huesos distintos al fémur y húmero, en terneros y bovinos adultos, es una práctica ampliamente descrita y efectiva. Para la correcta resolución de las fracturas mediante esta técnica, independientemente del hueso afectado, es conveniente tener en cuenta una serie de consideraciones:

- Realizar una radiografía del miembro afectado para localizar y caracterizar la fractura.
- Sedar o mejor anestesiar al paciente con el fin de reducir lo más anatómicamente posible la fractura mientras aplicamos el vendaje.
- Realizar dos orificios en la pezuña para pasar un alambre y poder realizar tracción sobre el miembro con el objeto de reducir la fractura.
- Lo ideal sería que la escayola abarcara desde la cresta tibial/extremo proximal del radio hasta la pezuña, independientemente del hueso fracturado.
- Almohadillar el miembro con una capa delgada de venda de poliéster hidrófobo.
- Incorporar un alambre de descorne (sierra de Gigli) por la cara lateral y otro por la cara medial en toda la longitud de la férula para poder cortarla.
- Aplicar la venda de fibra de vidrio. Primero colocar unas bandas longitudinales afectando a toda la longitud del miembro por la cara dorsal y palmar/plantar. Posteriormente enrollar 2-6 vueltas de fibra de vidrio englobando las dos bandas longitudinales. Debemos reforzar la escayola sobre el menudillo, carpo y corvejón debido a que son las áreas más susceptibles de romper. Un último rollo de fibra de vidrio debe emplearse en vendar la pezuña, aplicando posteriormente una pieza de cemento acrílico sobre la suela para prevenir la rotura de la escayola y evitar que el animal se resbale.

- Aplicar externamente un vendaje adhesivo comenzando proximalmente a la escayola con el objeto de prevenir la entrada de suciedad.
- Mantener a los animales estabulados en un recinto limpio y muy acolchado.

Número aproximado de rollos de fibra de vidrio (12.5 cm de ancho y 3.5 metros de longitud) necesarios para construir una escayola de todo el miembro en función del tamaño del animal.

< 70 kg	4-5 rollos
70-225 kg	6-7 rollos
225-460 kg	8-9 rollos
460-675 kg	10-11 rollos
>675 kg	12-16 rollos

Tiempo de revisión de la escayola y de curación

Terneros de menos de 1 mes.- Revisar cada 3 semanas. La curación normal se produce entre 3-6 semanas.

Terneros entre 1 y 6 meses.- Reevaluar cada 4 semanas. Tiempo de curación entre 6-12 semanas.

Animales adultos.- Suelen tolerar la escayola entre 6-8 semanas. Evidencia de curación entre 12-16 semanas.

Tras eliminar la escayola se mantiene a los animales estabulados (4-8 semanas), protegiendo la extremidad afectada con un vendaje algodonoso (Robert Jones) durante 2-4 semanas.

FIJADORES EXTERNOS

La inmovilización de fracturas mediante escayolas o férulas es la técnica más extendida en rumiantes por las limitaciones económicas. Sin embargo, cuando la inmovilización con escayola no es apropiada o no consigue un manejo óptimo de la fractura, se deben considerar otras posibilidades. Las escayolas no se deben utilizar para inmovilizar fracturas que afecten al radio o la tibia proximal, fracturas abiertas o en las que exista gran lesión de tejidos blandos. La utilización de fijadores externos es muy útil para la resolución de fracturas que afectan al metacarpo/metatarso.

Técnica de implantación de los fijadores externos

Anestesia general del paciente.

Preparación aséptica de la zona sobre la que vamos a trabajar (rasurado y desinfección).

Precolocación de agujas de inyección (agujas de cono rosa) con el fin de delimitar las corticales del hueso.

Incisión cutánea de 1 cm de longitud sobre la zona donde vamos a insertar la aguja del fijador externo.

Iniciar la implantación de la aguja con el motor eléctrico o neumático, irrigando constantemente el punto de entrada de la aguja con suero fisiológico frío para prevenir el sobrecalentamiento del hueso. En ocasiones es conveniente realizar un taladro previo, con una broca de un diámetro 0.4 mm inferior al diámetro de las agujas que vamos a implantar, del trayecto donde va a ser implantada la aguja del fijador externo con el objeto de reducir el calor que se genera. Implantar como mínimo dos agujas por encima y dos agujas por debajo del foco de fractura. La configuración del fijador externo que más estabilidad confiere es la bilateral (es decir atravesamos el hueso de lado a lado y colocamos una barra estabilizadora en ambos extremos de las agujas). Normalmente se colocan en primer lugar las agujas más distales al foco de fractura, una en el fragmento proximal y otra en el distal, ya que nos van a permitir conseguir una mejor alineación del foco de fractura.

Una vez que tenemos implantadas todas las agujas colocamos la barra estabilizadora. Normalmente en rumiantes se utilizan tubos de material plástico de diámetro variable (en función del peso del animal) rellenos de un cemento de metilmetacrilato. Otra veces resulta mejor colocar una escayola de fibra de vidrio, incluyendo las agujas del fijador, a modo de barra estabilizadora.

Posteriormente colocamos una pomada antibiótica en los puntos de entrada y salida de las agujas y realizamos un vendaje algodonoso de todo el fijador externo para evitar la suciedad y que el animal se pueda lesionar.

Como tratamiento postoperatorio administramos durante cinco días Penicilina G potásica (10.000 UI/kg cada 8 horas IV) y sulfato de gentamicina (2.2 mg/kg cada 8 horas IV). Realizar periódicamente cambio del vendaje del fijador externo y aprovechar para limpiar los puntos de entrada y salida de las agujas y aplicar una pomada antibiótica.

El fijador externo se retirará cuando radiográficamente observemos que existe callo óseo.

Diámetro recomendado de las agujas del fijador externo, de las barras estabilizadoras y espesor de la escayola de fibra devidrio en función del peso del animal.

Peso (kg)	Diámetro de aguja (mm)	Barra estabilizadora (mm)	Espesor escayola (mm)
< 100	2.4-3.2	25.4	6.4
100-300	3.2-4.8	38.1	12.7
300-600	4.8-6.4	50.8-63.5	25.4
> 600	6.4	No recomendado	38.1

RETRACCION CONGENITA DE LOS TENDONES FLEXORES

La contractura de los tendones flexores es una alteración relativamente frecuente en los terneros que afecta a numerosas razas. Su etiología se ha relacionado con factores hereditarios, malposicionamientos uterinos y excesivo tamaño fetal con respecto al tamaño de la madre. La contractura de los tendones flexores puede aparecer asociada a otras anormalidades congénitas, como paladar hendido o artrogriposis, por lo que sería necesario realizar un exhaustivo examen físico de los animales antes de iniciar su tratamiento.

La mayoría de las contracturas tendinosas en los terneros se observan en los primeros días después del nacimiento. Las deformidades flexoras generalmente afectan a la articulación del carpo y del menudillo y se clasifican en:

Ligeras: cuando los terneros son capaces de caminar sobre sus pezuñas pero los talones no contactan con el suelo.

Moderadas: cuando el aspecto dorsal de las pezuñas forma un ángulo recto con respecto al suelo.

Severas: si los animales afectados caminan sobre la cara dorsal de las falanges, menudillo o carpo.

A menudo, la ingestión de nutrientes y calostro no es suficiente debido a la incapacidad de los animales para caminar, siendo necesario en estos casos administrar calostro por vía oral o plasma intravenoso. Además se tienden a producir rápidamente abrasiones cutáneas por traumatismos repetidos si no se protege la zona con un vendaje adecuado o se toman medidas preventivas como colocar una cama abundante.

El éxito del tratamiento de las contracturas de los tendones flexores va a depender de la localización y severidad de la deformidad y de la instauración de un adecuado tratamiento médico o quirúrgico. El tratamiento debe iniciarse tan pronto como se diagnostica el problema, siendo la severidad del problema lo

que nos va a indicar qué tipo de tratamiento tenemos que aplicar. A medida que el animal crece, los tejidos contracturados se vuelven menos distensibles.

Las deformidades flexoras leves a moderadas normalmente responden a la terapia física mediante estiramiento manual de los tendones y ejercicio. Normalmente se les coloca un sobrepié ortopédico, construido con una pieza delgada de madera y metilmetacrilato acrílico, para incrementar la tracción sobre los tendones contracturados durante el ejercicio.

Las lesiones moderadas se tratan mediante la aplicación de vendajes, férulas o escayolas y promoviendo analgesia mediante la administración de AINES (antiinflamatorios no esteroideos). Los AINES provocan analgesia al ternero y esto decrece el dolor asociado al estiramiento de los tejidos blandos contracturados que se produce por el apoyo de la extremidad, el ejercicio pasivo, las férulas y escayolas.

El vendaje firme de las extremidades produce relajación de las estremidades del ternero debido al efecto protector y al soporte del vendaje sobre los músculos, tendones y ligamentos. Los vendajes deberían colocarse sobre el miembro entero, con el ternero sedado colocado en decúbito lateral. Las pezuñas deben dejarse sin vendar para permitir el apoyo y de este modo conseguir el estiramiento de los tendones.

Esta relajación también se puede acompañar de tensión o estiramiento constante mediante férulas o escayolas en terneros con lesiones moderadas a severas.

En la extremidad anterior, la férula debe extenderse desde el talón hasta el codo. En la extremidad posterior, la férula se coloca desde el pié hasta el corvejón. La férula se debe colocar en la cara palmar o plantar del miembro. La férula puede obtenerse a partir de un tubo de PVC cortado de forma semitubular y realizando previamente un buen acolchado para prevenir erosiones sobre tejidos blandos.

La escayola de fibra de vidrio daría más soporte y estaría más indicada en terneros con deformidades flexoras del carpo. Con el animal sedado y en decúbito lateral, se aplica una venda de fibra de vidrio mientras otra persona reduce el miembro contracturado a una posición lo más normal posible. Se debe permitir el apoyo sobre las pezuñas. La escayola se retira a la semana examinándose el miembro, y si fuese necesario se podría reutilizar la escayola a modo de férula bivalva.

El tratamiento quirúrgico consiste en la realización de una tenectomía del tendón flexor digital superficial (a veces también es necesario realizarla del tendón digital profundo) en su recorrido a mitad de longitud del matacarpiano/metatarsiano.

Manejo anestésico: Premedicación con xilacina IV (0.02 mg/kg) y buprenorfina IV (0.01 mg/kg); inducción con ketamina IV (2-5 mg/kg); mantenimiento empleando un circuito circular de pequeños animales con un flujo de oxígeno de 2 l/min. y Halotano (1-1,5 %) o Isoflurano (1.5-2 %). De no disponer de equipo de anestesia inhalatoria, el mantenimiento se puede realizar mediante la administración de emboladas de ketamina (1 mg/kg).

Técnica quirúrgica: Incisión cutánea de 5 cm de longitud en la cara palmar/plantar del metacarpiano/metatarsiano, disección roma del flexor digital superficial y sección de una pieza de 2 cm. Si aún así no se consigue corregir la deformidad flexora se realiza tenectomía del flexor digital profundo.

Postoperatorio: Como tratamiento postoperatorio administramos durante cinco días Penicilina G potásica (10.000 UI/kg cada 8 horas IV). Flunixin meglumine (1,5 mg/kg/12 h durante 3 días).

Vendaje de la extremidad: En la extremidad anterior, la férula debe extenderse desde el talón hasta el codo. En la extremidad posterior, la férula se coloca desde el pié hasta el corvejón. La férula se debe colocar en la cara palmar o plantar del miembro.

HERNIAS UMBILICALES

Las hernias umbilicales por lo general son congénitas, causadas por una embriogénesis defectuosa. Los vasos umbilicales, el conducto vitelino y el pedúnculo del alantoides pasan a través del anillo umbilical en el feto, pero esta abertura se cierra al nacimiento dejando una cicatriz umbilical. Si la abertura no logra contraerse o es demasiado grande o está formada en el modo incorrecto, el resultado será una hernia.

Tratamiento

El protocolo de anestesia dependerá de la edad del ternero y de la duración de la cirugía.

Para las hernias umbilicales palpar el anillo herniario, reducir los contenidos abdominales en lo posible e incidir la piel sobre el ombligo. Si la hernia contiene solo grasa u omento, ligar el cuello herniario y escindir el saco y sus contenidos. Como alternativa, si no hay adherencias, invertir el saco y sus contenidos dentro de la cavidad abdominal. No desbridar los márgenes lesionados. Suturar los brodes del defecto con material sintético, reabsorbible (Safil, Vycril o PDS) o no reabsorbible (Nylon) en un patrón interrumpido de puntos de Mayo. Si los contenidos herniarios no pueden ser reducidos, hacer una incisión elíptica alrededor de la tumefacción para prevenir el daño de aquellos. Incidir el saco herniario y recolocar los contenidos dentro de la cavidad abdominal. Si los contenidos son irreductibles o se presenta estrangulación intestinal, extender el defecto abdominal sobre la línea media. Explorar el abdomen antes de cerrar el defecto e inspeccionar el intestino por viabilidad.

Como tratamiento postoperatorio administramos durante cinco días Penicilina G potásica (10.000 UI/kg cada 8 horas IV).

PERSISTENCIA DEL URACO

El uraco persistente es una permanencia después del nacimiento de una estructura tubular que conecta la vejiga y el ombligo. El uraco drena la vejiga en el alantoides durante la gestación. En el momento del nacimiento, con la ruptura del cordón umbilical el uraco debe cerrarse, y la orina debe drenar por la uretra. Los terneros con uraco persistenta pueden drenar orina por el ombligo sólo durante la micción o simplemente presentar el ombligo constantemente mojado. Conviene hacer un diagnóstico diferencial de onfaloflebitis.

Tratamiento

El tratamiento consiste en el manejo médico de la infección y la cauterización del uraco mediante aplicación de yodo, nitrato de plata o fenol en animales menores de 5 días. El persistente goteo de orina a través del ombligo o la inflamación de la zona a los 2-3 días de la cauterización son indicativos de la necesidad de cirugía.

Anestesia general del paciente.

Se coloca un clamp intestinal sobre el orificio prepucial para impedir la contaminación por orina.

Para prevenir la contaminación del campo operatorio por el uraco se realiza una ligadura en bolsa de tabaco del extremo.

Se realiza una incisión elíptica alrededor del ombligo que se extiende caudalmente en dirección paralela al prepicio. Laparotomía abdominal en línea media. Disección roma del uraco hasta alcanzar su inserción en la vejiga. Colocación de clamps intestinales entre uraco y vejiga, sección del uraco y sutura de la vejiga mediante dos suturas no penetrantes de reimbersión con material de sutura reabsorbible sintético o nylon.

Como tratamiento postoperatorio administramos durante cinco días Penicilina G potásica (10.000 UI/kg

cada 8 horas IV) y sulfato de gentamicina (2.2 mg/kg cada 8 horas IV).

BIBLIOGRAFIA

1- Steffey, EP and Booth, NH: Local anesthetics in Veterinary Pharmacology and Therapeutics, HR Adams (ed), Iowa State Press, Ames, 1995, pp. 358-371.

2- Benson, GJ and Thurmon, JC: Regional analgesia in Current Veterinary Therapy 3: Food Animal Practice, JL Howard (ed), WB Saunders Co, Philadelphia, 1995, pp. 77-88.

3- St. Jean G, Skarda, RT, Muir, WW and Hoffsis, GF: Caudal epidural analgesia induced by xylazine administration in cows. Am. J. Vet. Res. 51:1232-1236, 1990.

4- Caron, JP and LeBlac, PH: Caudal epidural analgesia in cattle using xylazine. Can. J. Vet. Res. 53:486-489,1989.

5- Dirksen, G, Doll, K. Ileus and subileus in the young bovine animal. Bovine Pract. 21:33-40, 1986.

6- Fubini, SL; Erb, HN et al. Cecal dilatation and volvulus in dairy cows: 84 cases (1977-1983). J. Am. Vet. Med. Assoc. 189:96-98, 1986.

7- Muller, W. Cecal dilatation and torsion in cattle. Schweizwer Archiv fur Tierheilkunde. 112(3):117-24, 1970.

8- Svendsen, P; Kristensen, B. Cecal dilatation in cattle. Nord. Vet. Med. 22:578-583, 1970.

9- Whitlock, RH. Cecal volvulus in dairy cattle. Int. Congr. Dis. Cattle. 1:69-73, 1976.

10- Crawford, WH; Fretz, PB (1985) Long bone fractures in large animals. Vet. Surg. 14:295-302.

11- Ferguson, JG; Dehghani, S; Petrali, EH (1990) Fractures of the femur in newborn calves. Can. Vet. J. 31:289-291.

12- St-Jean, G; DeBowes, RM; Hull, BL. (1992) Intramedullary pinning of femoral diaphyseal fractures in neonatal calves:12 cases (1980-1990). J. Am. Vet. Med. Assoc. 200:1372.

13- St-Jean, G; DeBowes, RM; Rashmir, AM. (1992) Repair a proximal femoral fracture in a calf using intramedullary pinning, cerclage wire and external fixation. J. Am. Vet. Med. Assoc. 200:1701.

14- Trostle, SS; Markel, MD. (1996) Fractures of the femur. Veterinary Clinics of North America: Food animal practice. 12(1): 169-180.

15- Adams, SB; Fessler, JF. (1996) Treatment of fractures of the tibial and radius-ulna by external coaptation. Veterinary Clinics of North America: Food animal practice. 12(1):181-197.

16- Anderson, DE, Jean, G. (1996) External skeletal fixation in ruminants. Veterinary Clinics of North America: Food animal practice. 12(1):117-152.

17- Tulleners, EP. (1996) Metacarpal and metatarsal fractures in cattle. Veterinary Clinics of North America: Food animal practice. 12(1):199-209.

18- Thurmon, JC; Tranquilli, WJ; Benson, GJ. (1996) Veterinary Anesthesia. Willians and Wilkins.

19- Smith, BP. (1996) Large Animal Internal Medicine. Mosby.

20- Skarda, TR. (1996) Local and regional anesthesia in ruminants and swine. Veterinary Clinics of North America: Food animal practice. 12(3):579-626.

21- Carrol, GL; Hartsfield, SM. (1996) General anesthetic techniques in ruminants. Veterinary Clinics of North America: Food animal practice. 12(3):627-661.

22- Jennings, PB. (1989) Cirugía de los grandes animales. Salvat.

LA ALIMENTACIÓN DEL VACUNO LECHERO EN LA ERA DE LOS BIOCARBURANTES

Àlex Bach
IRTA-Unidad de Rumiantes

Introducción

Rudolf Diesel, en 1912, dijo: "El uso de aceites vegetales como combustible de motores puede parecer insignificante hoy en día, pero será importante cuando el carbón y el petróleo escaseen". No han transcurrido ni 100 años, y ya desde hace algún tiempo, algunos países han ido promoviendo, con mayor o menor celeridad, el uso de biocombustibles como alternativa al petróleo. Recientemente, tanto la UE como los Estados Unidos han impulsado programas drásticos para promover el uso de biocombustibles. De este modo, algunos miembros de la UE y los EEUU proporcionan subvenciones a los productores de biocombustibles, a los productores de la materia prima (agricultores), y a los usuarios finales. El objetivo marcado por la UE es que para el 2010 el 5.75% del combustible consumido sea en forma de bioetanol o biodiesel. Esta producción de bioetanol requerirá unos 30 millones de toneladas de cereales. Esta cifra aumenta al 10% para el 2020, aunque este último objetivo no es alcanzable con la tierra dedicada en la actualidad a la agricultura en la UE.

Este impulso de la bioenergía viene justificado básicamente por 3 motivos:

1. Altos precios del crudo.

2. Preocupación por la seguridad de la energía: por un lado el potencial uso del dinero generado por el petróleo para financiar el terrorismo internacional, y por otro la inestabilidad política de muchos de los

países productores de petróleo.

3. Preocupación por el calentamiento global (Kyoto) y las emisiones de CO_2.

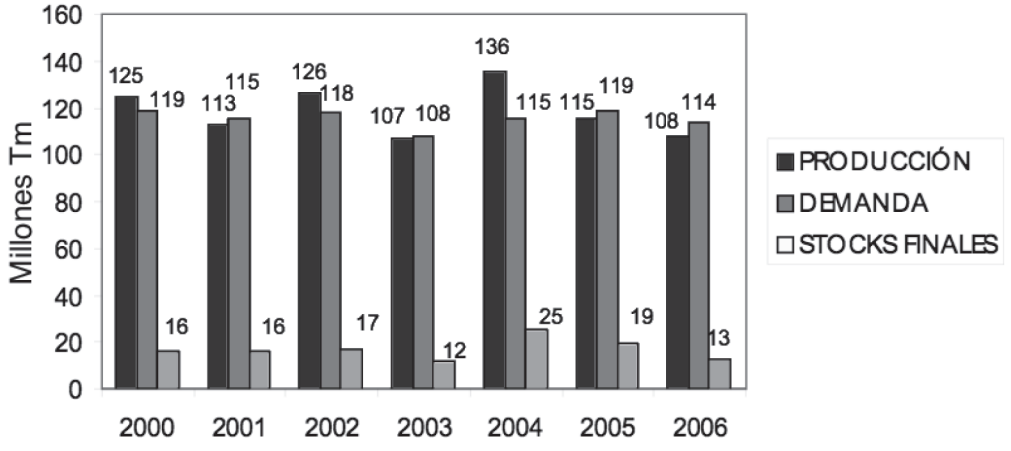
Este último argumento parece ser el más débil, pues realmente la cantidad de dióxido de carbono asociada a la producción y uso de los biocombustibles es equiparable a la del uso directo del petróleo. Por ejemplo, aunque el uso del biodiesel generado a partir de aceite de palma genere menos CO_2 que el uso de gasóleo (3 toneladas menos de CO_2 por cada tonelada quemada), la evacuación hídrica de pantanos de Indonesia para destinar la tierra a la producción de aceite de palma genera 33 toneladas de CO_2 por cada tonelada de aceite de palma producida. Por este motivo, el gobierno Holandés se disculpó ante sus ciudadanos por haber promovido el uso de biodiesel de palma argumentando un descenso de las emisiones de CO_2. Los países con mayor conciencia ecológica, como Alemania, han promovido actuaciones mucho más eficaces en la reducción de las emisiones de CO_2, como por ejemplo el hecho de asegurar un precio mínimo del kw generado con energía solar durante los próximos 20 años de 0.57€ (mientras que el precio del kw generado con carbón o petróleo es de 0.05€).

Los dos biocombustibles por excelencia son el bioetanol (producido a partir de la fermentación de azúcares o almidones) y el biodiesel (extraído a partir de aceites vegetales y grasas animales). Este artículo revisará los subproductos derivados de estos dos procesos y sus características nutricionales para el vacuno lechero.

La evolución de los precios de las materias primas

La capacidad de producción de bioetanol en la UE es de 1.75 millones de toneladas, que consumen unos 6 millones de toneladas de cereales. La alimentación animal en España consume unos 12 millones de toneladas de cereales. El stock de cereales (maíz, cebada, y trigo) en España a finales de la campaña 2005-2006 era de 1.8 millones de toneladas, mientras que el stock a finales de la campaña 2006-2007 fue de 1.2 millones de toneladas. En este mismo periodo, el stock de cereales en la UE también ha disminuido más de un 20%. Algunos podrían pensar que este descenso de las reservas es consecuencia de un aumento de la demanda (en parte inducida por la producción de bioetanol), sin embargo, este descenso es resultado de un descenso en la producción (por debajo de la media de años anteriores) y un ligero aumento en la demanda (Figura 1). Esta reducción ha resultado en un aumento del precio de los cereales (Figura 2), también promovido en gran parte por la gran dedicación de maíz a la producción de bioetanol por parte de EEUU.

Figura 1. Evolución mundial de la producción, demanda, y reservas de cereales (Adaptado de USDA).



El sector lácteo, el de los cereales, y el de las oleaginosas están altamente globalizados y por tanto cambios en su estructura de costes deben evaluarse desde una perspectiva global y nunca local. El principal país productor de maíz es EEUU. En los 2 últimos años, la cantidad de maíz exportado por EEUU ha descendido en casi un 40% consecuencia directa de un aumento drástico del uso de este maíz para la producción de etanol. Este descenso de la exportación de maíz, no ha afectado directamente a la UE (que no era compradora de maíz americano por la prohibición de importar maíz genéticamente modificado), sin embargo, sí que la afectado indirectamente, pues ha tenido que competir por almidón (maíz) con otros países que antes compraban maíz americano y ahora compran el mismo que España (que es deficitaria en cereales y debe importar). De hecho, las reservas mundiales de cereales han disminuido en un 25% en esta última campaña, y este hecho ha repercutido en los precios. China es el segundo productor de maíz del mundo (20%) y en los últimos años ha ido aumento progresivamente el consumo interno de maíz y disminuyendo las exportaciones. De hecho, el crecimiento de China ha sido espectacular y en lo referente a la fabricación de piensos ha crecido un 60% desde 1998, mientras que la UE sólo ha crecido un 2% (Figura 3).

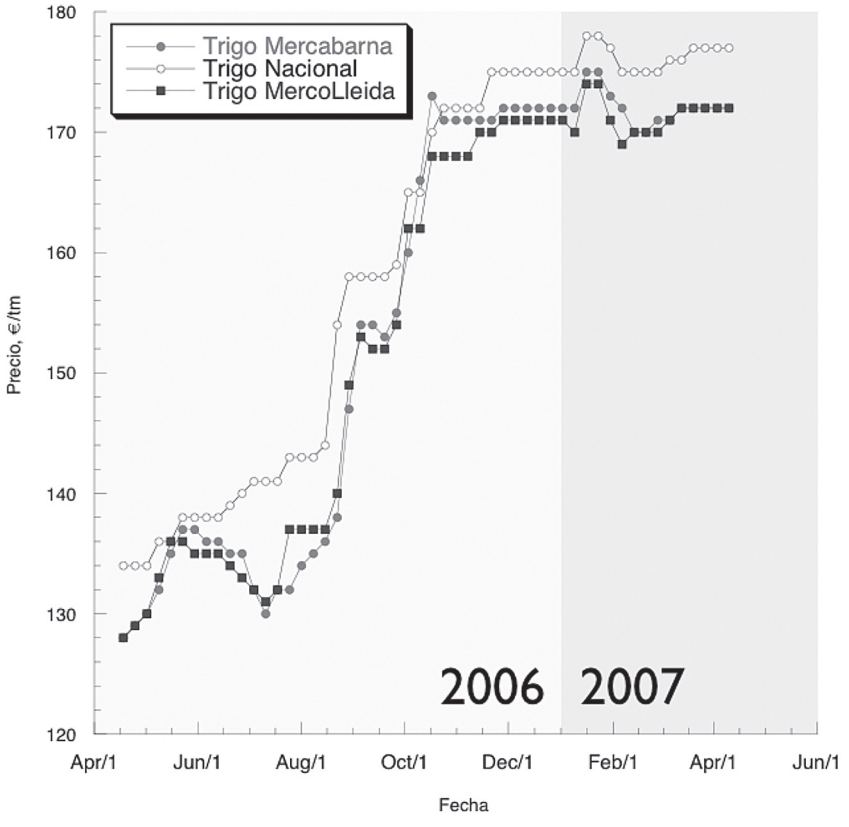
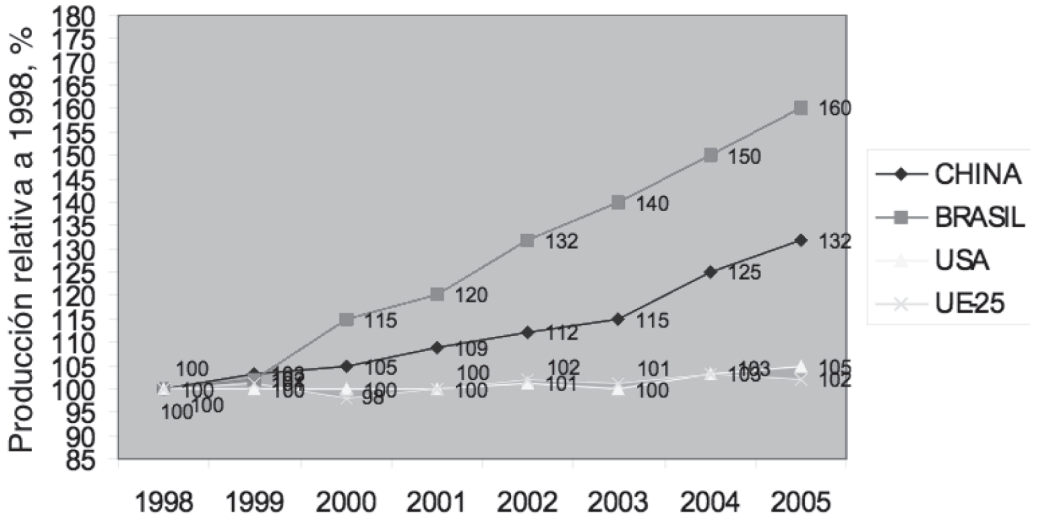


Figura 2. Evolución del precio del trigo en España.

Por otro lado, la demanda de oleaginosas sigue una tendencia al alza promovida por un aumento del uso de aceites vegetales en detrimento de las grasas animales en la alimentación humana. Además, el uso de oleaginosas para la producción de biodiesel también sigue una tendencia a la alza, aunque algunos países y ecologistas han expresado preocupación por el medio ambiente. En España, el Plan de Energías renovables establece que unas 400.000 ha de terreno agrícola se destinen al cultivo de oleaginosas para la producción

de biodiesel. Pero además, se están construyendo en estos momentos, plantas con capacidad de producir 2.3 millones de tm de biodiesel (que necesitarán unas 600 ha adicionales de cultivos de oleaginosas). Este aumento de la demanda ha resultado en un aumento del precio del aceite vegetal en los últimos 8 meses del alrededor de 110 €/tm y se espera que hasta que la producción de cultivos no aumente este precio de mantenga o incluso suba ligeramente. En cualquier caso, el incremento de la demanda de aceites (unos 30 millones de toneladas a nivel mundial) no supone una interferencia directa con la alimentación del vacuno lechero, donde el uso de aceites y grasas es mínimo. Al contrario, los dos subproductos del biodiesel (harinas de oleaginosas y glicerina) pueden convertirse en una posible alternativa para la alimentación del vacuno lechero. Sin embargo, un efecto indirecto del aumento de la producción de biodiesel sería el desplazamiento de hectáreas dedicadas a la producción de cereales hacia la producción de oleaginosas (especialmente en la UE a base de colza).

Figura 3. Evolución mundial de la producción de piensos compuestos (Adaptado de FECAC).



Tanto la producción de biodiesel a partir de oleaginosas como la de bioetanol generan un subproducto con una elevada densidad proteica. Por ello, sería de esperar que el precio de la proteína para la alimentación animal o bien se mantenga estable o incluso pueda llegar a disminuir levemente, a no ser que la producción de maíz canivalice parte de la superficie agrícola actualmente destinada a la producción de soja. Por otro lado, es de esperar que el precio de los cereales siga al alza, al igual que aquellos ingredientes ricos en almidón (i.e. mandioca y subproductos de los cereales).

Alternativas futuras

Estados unidos produce unas 15 millones de tm de etanol (la producción mundial es de 40 millones de tm). Esta cantidad es mayor que la producción de etanol de Brasil (casi toda a base de caña de azúcar), y aún así EEUU ha importado un 3% de su producción total. En el futuro a corto plazo se espera que EEUU siga aumentando exponencialmente el consumo de etanol. Por otro lado, el Plan de Energías Renovables de España prevee que será necesario destinar 1.5 millones de hectáreas de terreno cultivable adicional (al actual) a la producción de cereales para la producción de etanol. En cualquier caso, si el ritmo de crecimiento de la población y la demanda energética se mantuvieran como hoy, y además se quisiera,

realmente, conseguir el objetivo de la UE de un 10% de biocarburante en el 2020, el escenario final podría ser un déficit de 25-30 millones de toneladas de cereales a nivel mundial (manteniendo el consumo para piensos constante) y una disponibilidad alrededor de los 10 millones de toneladas de granos de destilería y 5 millones de tonelada de harina de colza. Por este motivo (entre otros) se están dedicando grandes esfuerzos de investigación para utilizar masa forestal altamente lignificada (con bajo valor nutritivo) como sustrato para la producción bioetanol.

En cualquier caso, probablemente la alimentación del vacuno lechero deberá basarse en la inclusión de proporciones crecientes de los subproductos de la producción de biocarburantes. El uso de estos subproductos vendrá determinado por el coste, salubridad, disponibilidad, palatabilidad, manejo, y sus repercusiones sobre el rendimiento (crecimiento, producción de leche) y la calidad del producto final (composición de la leche).

Subproductos del bioetanol

El bioetanol en la UE y EEUU se produce partir de cereales lo que genera los llamados granos de destilería (DDG). La mayor parte de información nutricional referente a los DDG procede de EEUU. Los DDG americanos son procedentes del maíz y sus composición es muy distinta a los DDGs europeos o españoles que proceden en su mayoría del trigo y la cebada. Además, en EEUU una gran proporción de los DDG se ofrece a los animales en freso, mientras que en Europa se secan (la proporción de solubles que se añade al producto suele ser también menor). Por tanto, la extrapolación de resultados obtenidos en estudios americanos a nuestra situación puede generar respuestas inesperadas. La composición de los distintos DDGs nacionales, junto con la composición de las tres principales oleaginosas usadas en la alimentación del vacuno lechero se muestran en la Tabla 1.

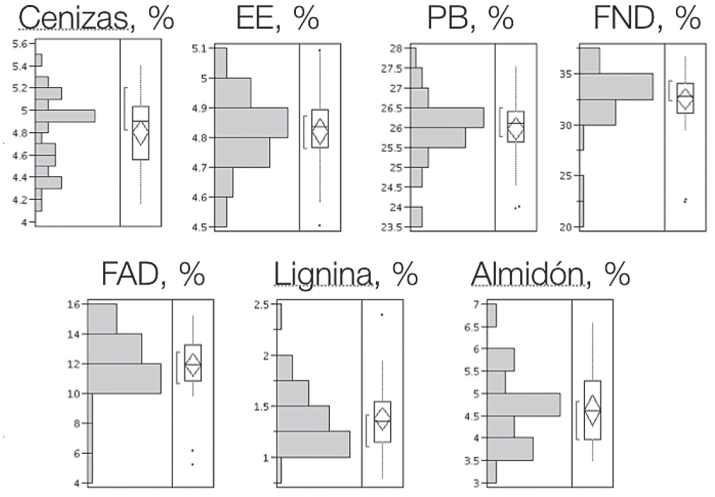


Figura 4. Composición nutricional de los granos de destilería procedentes de la cebada.

En general, la variabilidad en la calidad del DDG intra-planta es muy baja, por tanto, dentro de un mismo proveedor la calidad de un DDG debería ser consistente en el tiempo. En general, los DDG de trigo son de mejor calidad que los DDG de cebada (Figuras 4 y 5).

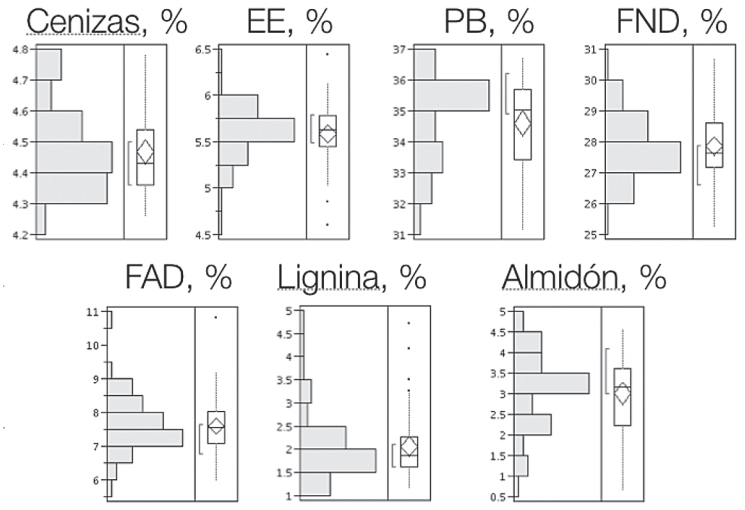


Figura 5. Composición nutricional de los granos de destilería procedentes del trigo.

Uno de los factores que mayor influencia ejerce sobre la variabilidad y composición nutricional de los DDGs es su distribución del tamaño de partículas. Akayezu et al. (1998) evaluaron el tamaño de partícula de los DDGs de maíz y concluyeron que el 65% de sus partículas eran inferiores a los 500 µm. Además observaron que el contenido de proteína bruta (PB) de las partículas inferiores a 500 µm era del 38%, mientras en las mayores era del 25%, y el contenido de fibra neutro detergente (FND) seguía una distribución inversa, siendo mayor (68%) en las partículas de más de 500 µm que en las pequeñas (43%). En cualquier caso, cuanto menor es el tamaño de partícula del DDG mayor es su digestibilidad. Es importante, por tanto, vigilar la proporción de las distintas partículas de los DDGs, pues variarán en función del transporte y manejo y afectarán su valor nutricional.

Durante el proceso de fabricación de los DDGs los cereales sufren varios periodos con temperaturas elevadas que pueden alterar la calidad del producto. Al principio del proceso el cereal se calienta para gelatinizar el almidón, y luego, sobretodo en la UE, se vuelve a calentar para eliminar la humedad residual y peletizar. Los cereales son pobres en Lys, pero los DDG mejoran la proporción de Lys gracias a los aportes de aminoácidos de los residuos de levaduras que forman parte del producto (hasta un 4%). Sin embargo, la disponibilidad de la Lys de los DDGs como la de sus residuos de levaduras puede estar comprometida por las reacciones de Mallard que ocurren durante las elevadas temperaturas en el proceso de fabricación de bioetanol.

El color de los DDG ha sido propuesto como un índice de calidad, sobretodo en los monogástricos. Sin embargo, en rumiantes, sólo cuando la proporción de N ligada a la ADF (ADIN) es superior al 13% se observa una relación (r = 0.80) entre el color y la digestibilidad de la proteína de los DDGs. En muestras con menos de un 15% de ADIN, la relación entre el color y la digestibilidad de la proteína es inferior al 3% (Cromwell et al., 1993). Por tanto, en rumiantes, el color de los DDGs no parece ser un buen indicador de su calidad proteica y es preferible usar el ADIN.

	Colza	DDGs Trigo	DDGs Cebada	DDGs Maíz	Soja 44	Girasol
PB, %	37.9	34.6	25.9	24.5	44.0	30.5
RUP, % PB	32	40	35	52.0	35	25
Grasa, %	2.2	5.6	4.8	9.9	1.7	2.4
FND, %	27.3	27.8	32.5	36.9	12.5	38.3
FAD, %	17.6	7.6	11.9	12.5	7.0	30.0
LAD, %	6.5	2.0	1.4	3.0	0.3	7.5
Almidón	0.0	3.0	4.6	8.7	0.5	2.0
Ca, %	0.7	0.15	0.11	0.14	0.29	0.35
P, %	1.20	0.88	0.95	0.75	0.61	1.0
Na, %	0.07	0.25	0.25	0.12	0.02	0.03
K, %	1.27	0.85	0.80	1.0	1.95	1.10
Cu, ppm	7	13	18	35	19	30

Tabla 1. Composición nutricional de varias fuentes de granos de destilería y otros subproductos proteicos (Datos de FEDNA, María Hermida –Mouriscade–, y Joan Bolet –Abengoa–).

El valor energético de los DDGs está subestimado por el NRC (2001). Birkelo et al. (2004) asignaron un valor a los DDGs de 2.26 Mcal/kg de NEl. Sin embargo, el valor energético de los DDGs americanos no es directamente extrapolable a los DDGs de cebada y trigo. Los DDGs nacionales, en especial los procedentes de la cebada, son ricos en ß-glucanos (seguidos de los de trigo y maíz). Esta fibra es muy fermentable y eficaz en promover el crecimiento microbiano en el rumen, sin contribuir a la acidosis ruminal (raramente fermenta a ácido láctico).

En general, los DDGs son palatables y los rumiantes aceptan raciones con niveles tan altos como un 25%. A partir de un 30-40% la ingestión de materia seca disminuye (posiblemente consecuencia de un desequilibrio nutricional o de aminoácidos). Con niveles de inclusión superiores al 10% es recomendable vigilar los aportes de Lys, Met, e His al intestino delgado.

Subproductos del biodiesel

La producción de biodiesel se basa en la formación de 3 metilésteres a partir de un triglicérido mediante la ayuda de un catalizador (hidróxido de sodio o potasio) y 3 moles de metanol. De esta reacción se obtiene biodiesel (metiléster) y glicerina como principal subproducto.

La glicerina puede ser usada tal cual (80% de glicerol) o bien destilada para uso farmacéutico (99% glicerol). La composición media de la glicerina se muestra en la Tabla 2. Los componentes más importantes a determinar en la glicerina (a parte del glicerol) son el metanol, restos de dietilen glicol (**DEG**), y el contenido total de sal (del 9 al 12%). Estos últimos compuestos pueden ejercer un efecto negativo sobre el metabolismo, ingestión, y producción del animal. El metanol y DEG son potentes tóxicos tisulares (que se convierten a formaldehído, pero en condiciones normales, las archaebacterias ruminales deberían transformarlo en metano. Sin embargo, en situaciones de acidosis ruminal, la población de archaebacterias (bacterias metanogénicas) disminuye sensiblemente, y entonces la protección frente la toxicidad del metanol desaparecería. Por otro lado, un alto contenido en sal puede ejercer un efecto negativo sobre la ingestión y por tanto la producción.

Tabla 2. Composición media de la glicerina.

Componente	%
Glicerol	65-85
EE	0.5-0.7
P	1.1-2.4
K	2.2-2.4
Na	0.1
Metanol	0.5-2.6

La fracción de glicerina que escapa la fermentación ruminal, en teoría, se convierte directamente a glucosa a nivel hepático vía la triosa fosfatasa (por tanto no compite por el enzima limitante piruvato carboxilasa o la fosfoenol piruvato kinasa). La fracción de la glicerina que es fermentada en el rumen, lo hace mayoritariamente convirtiéndose en propiónico (Kristensen et al., 2002), que luego será convertido en glucosa por parte del hígado. Por tanto, la glicerina podría considerarse como una fuente de glucosa para el rumiante. De hecho, la glicerina ha sido propuesta como una posible alternativa al propilenglicol y el propionato sódico para el tratamiento de la cetosis. Los primeros estudios sugerían que el glicerol era más efectivo que el propilenglicol y el propionato sódico en la prevención y tratamiento de la cetosis. Fisher (1973) observó que la administración de 375 g/d de glicerol disminuía la pérdida de peso postparto en vacas en comparación con la administración de 175 g/d de glicerol o de propilenglicol.

En ovino (Schröder and Südekum, 1999) administraron de 48 a 184 g/d de glicerol en ovejas y no observaron cambios en la digestibilidad de la fibra, almidón, y materia orgánica en raciones ricas en concentrado, pero la digestibilidad de la fibra disminuyó cuando las raciones eran ricas en concentrado. A nivel ruminal, la suplementación de glicerina disminuyó la relación acético/propiónico. En todos los casos, la suplementación de glicerina aumentó el consumo de agua (posiblemente consecuencia del contenido en sal de este subproducto). Lamentablemente, existen sólo 2 estudios de los efectos de la glicerina en el vacuno lechero. Ogborn (2006) describió un descenso marcado de la ingestión de materia seca, con un consecuente descenso de la producción al suplementar vacas con un 5 y 3.3% de glicerina durante los 21 días pre-parto hasta los 63 días posparto, respectivamente. Defrain et al. (2004) administraron 430 y 830 g/d de glicerol y lo compararon con una ración control. Al igual que el estudio de Ogborn (2006) también observaron un descenso de la ingestión de materia seca y de la producción de leche. Por lo tanto, a pesar del potencial como subproducto gluconeogénico, en la actualidad, hacen falta más estudios para describir la cantidad y modo de empleo de la glicerina para uso en las raciones del vacuno lechero.

Alimentación del vacuno lechero si las tendencias se mantienen

En una explotación de vacuno lechero media, el 50% de la alimentación procede del exterior de la explotación. Argumentos asociados con la defensa de los productos locales (muy fuertes en Francia), denominaciones de origen, etc... pueden llegar a verse afectados por argumentos medioambientales y de economía energética. Por ejemplo, en Inglaterra existen movimientos fuertes en contra de la producción de cordero argumentado que resulta energéticamente más económico (por tanto más sostenible y mejor para el ambiente global) producir cordero en Nueva Zelanda y enviarlo por avión a Inglaterra que producirlo en Inglaterra. Es probable que estos argumentos no se expandan por el resto de Europa con mucha fuerza, pero en cualquier caso sí que son un buen indicador que en un futuro la producción animal sufrirá la

consecuencias del "hambre energética" de la Tierra y que por tanto debemos, en la medida de lo posible, anticiparnos y mejorar la eficiencia de utilización de la energía en la producción de leche.

En España, la producción de bioetanol puede llegar a competir y afectar de manera más o menos importante la disponibilidad de materias primas ricas en almidón y azúcares. Este hecho, en combinación con la decisión de la la UE de retirar el certificado de calidad del corn gluten feed (CGF) y DDGs de procedencia americana por no poder garantizar el bloqueo de la entrada de organismos genéticamente modificados no autorizados desde EEUU puede limitar la disponibilidad de materias primas ricas en carbohidratos y dificultar la elaboración de las raciones para el vacuno lechero. Por tanto, en un escenario con poco CGF, y una demanda al alza por productos y subproductos ricos en almidón conseguir raciones del vacuno lechero con un nivel de carbohidratos no fibrosos (CNF) por encima del 38% puede ser difícil. Por otro lado, la disponibilidad de proteína no debería suponer un problema con la disponibilidad de DDGs nacionales (de mejor calidad que los americanos) y subproductos de la colza procedentes de la producción de colza.

Para suplir la necesidad de almidón y carbohidratos de las raciones del vacuno lechero se podría recurrir a una optimización del uso de la tierra y remplazar el ryegrass por cereales de invierno para conseguir generar los máximos CHO en la propia explotación. Los cereales de invierno bien gestionados (usando técnicas de siembra directa y dos cosechas anuales) podrían aportar una densidad energética y nivel de CHO adecuado para sostener buenas producciones lecheras. Es posible que los forrajes mixtos de grano se valoren mucho más que los forrajes que aporten sólo fibra como la alfalfa o el ryegrass. Otra alternativa, aún por estudiar y optimizar, será el uso de la glicerina como fuente de glucosa para el rumiante. Este subproducto, que se generará en grandes cantidades en Europa, puede aliviar las necesidades de sustratos glucogénicos para el rumiante, pero antes se deberán vencer obstáculos tecnológicos (inclusión en piensos y mezclas) y de conocimiento de su metabolismo por parte de la vaca.

Bibliografía

Akayezu, J. M. J. G. Linn, S. R. Harty, and J. M. Cassady. 1998. Use of distillers grains and co-products in ruminant diets. Minnsota Nutrition Conference. Rochester, MN.

Cromwell, G. L., K. L. Herkelman, and T. S. Stahly. 1993. Physical, chemical, and nutritional characteristics of distillers dried grains with solubles for chicks and pigs. J. Anim. Sci. 71:679

National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, DC.

FEDNA. Fundación Española para el desarollo de la nutrición animal. http://www.etsia.upm.es/fedna/mainpageok.htm

Birkelo, C.P., M. J. Brouk, and D. J. Schingoethe. 2004. The energy content of wet corn distillers grains for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 87: 1815-1819.

Fisher, L. J., J. D. Erfle, G. A. Lodge, and F. D. Sauer. 1973. Effects of propylene glycol or glycerol supplementation of diet of dairy cows on feed intake, milk yield and composition, and incidence of ketotis. Can. J. Anim. Sci. 53:289-296.

Schröder, A., and K. H. Südekum. 1999. Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets for ruminants. Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress.

Ogborn, K. L. 2006. Effects of method of delivery of glycerol on performance and metabolism of dairy cows during the transition period. MS Thesis. University of Cornell.

DeFrain, J. M., A. R. Hippen, K. F. Kalscheur, and P. W. Jardon. 2004. Feeding glycerol to transition dairy cows: Effects on blood metabolites and lactation performance. J. Dairy Sci. 87:4195-4206.

INTERVENCIÓN VETERINARIA EN PODOLOGIA

Adrian Gonzalez Sagüés
Veterinario, Diplomado en Dirección de Empresa
ANKA Cuidados de pezuñas, formación, asesoría

Con el paso de los años las cojeras se mantienen como una de las patologías más prevalentes en los establos lecheros y con importantes repercusiones económicas. Las actuaciones tanto a nivel individual como de rebaño son por tanto una necesidad continuada en la práctica veterinaria.

En este trabajo vamos a presentar algunas de las oportunidades que se le presentan al veterinario de explotación para implicarse en la salud podal.

INTRODUCCION

Los problemas de cojeras son de etiología multifactorial. La nutrición el confort de la vaca y la higiene son las causas primarias de la enfermedad. Las cojeras son un importante problema sanitario del que el veterinario de establo no debe desentenderse. El uso de la epidemiología como herramienta para analizar los factores de riesgo es una herramienta necesaria para obtener mejoras en la salud podal del rebaño. Los veterinarios clínicos deben tener un conocimiento básico del diagnóstico de las diferentes enfermedades que causan cojeras.

El recorte de pezuñas es el método más preciso para saber exactamente que ocurre a nivel de las pezuñas. El recorte de pezuñas requiere de una cierta habilidad. El veterinario debería estar capacitado para hacer el seguimiento de la calidad del trabajo del recortador profesional.

El registro de datos y su posterior análisis puede ser una ayuda importante para la comprensión de los problemas, la adopción de medidas correctoras y la evaluación de las mejoras introducidas.

EVOLUCION DE LOS PROBLEMAS DE COJERAS

Si ya en los años 70 se comenzó en Holanda a ser consciente del problema de las cojeras con una visión de rebaño, desde entonces, con la intensificación productiva, los problemas podales no han hecho sino aumentar.

La red de bienestar animal europeo indica que en los establos lecheros europeos hasta un 55% de las vacas pueden sufrir problemas de cojeras. http://www.welfarequality.net/everyone/34600

En un reciente estudios en establos de Minessota se encontrón una prevalencia media de de cojeras de un 24,6%, 3 veces mayor de la estimada por el ganadero.

La realidad española no es una excepción, por estimaciones de nuestro servicio, una incidencia de un 30% de cojeras no parece disparatada.

COSTES ECONOMICOS.

Muchos son los estudios respecto al coste de las cojeras. El tipo de cojera y la celeridad en su tratamiento tendrán una importancia fundamental en las pérdidas provocadas.

Guard estima incluyendo los costes por fallo reproductivo, pérdida de leche, incremento de reposición y tratamiento en 280 € de promedio por caso.

Si estimamos una incidencia de un 20% de cojeras anual en la cabaña española el coste global de las cojeras en España puede rondar los 50_1 € anuales (Aplicando la estimación de Guard)

Ante la magnitud del problema creo que la profesión veterinaria no debe darle la espalda sino que se presenta una oportunidad de ser necesarios al ganadero para enfocar el tema. Como problema multifactorial requiere de un enfoque global y requiere de unas habilidades básicas de tipo diagnóstico, analítico y finalmente ejecutivo, siendo el veterinario el agente idóneo para conducir la prevención.

DIAGNOSTICO DE COJERAS INDIVIDUAL Y DE REBAÑO

Es importante que el profesional pueda distinguir las vacas cojas para poder evaluar la severidad del problema en un rebaño dado. En los últimos años se han desarrollado diferentes sistemas de evaluación de cojeras con el objetivo de no solo distinguir las vacas cojas sino intentar adelantarse al problema diagnosticando las vacas subclínicas.

Existen métodos de calificación de la salud podal. A grandes rasgos se puede actuar de dos modos. calificando las vacas en pie y calificando las vacas en movimiento.

Calificación de las vacas en pie.

Lo más común es la calificación de la postura de las patas posteriores. Se valora la rotación externa de la pezuña respecto a la línea de la columna vertebral. Esta angulación de la pezuña se corresponde generalmente con corvejones cerrados. La vaca angula la pezuña como manea de aliviar peso en la pezuña lateral y enviarlo así a la pezuña medial. Cuanto mayor es el desequilibrio mayor es la sensación de incomodidad y por tanto mayor el ángulo. Se califica de acuerdo a la apreciación visual en tres categorías:

Posición 1: angulación nula o leve, el ángulo es inferior a 17º se correlaciona con pezuñas equilibradas de talones

Posición 2: angulación moderada, el ángulo se encuentra entre 17º y 24º , se correlaciona con pezuñas con cojera subclínica por ejemplo focos primarios de dermatitis interdigital, o vacas con laminitis crónica moderada.

Posición 3: angulación severa, la rotación marca un ángulo superior a 24º se correlaciona con subclínica severa o incluso cojera clínica por posible dermatitis interdigital crónica, importante erosión de talones, tilomas interdigitales y/o laminitis crónica.

Este método permite una apreciación global rápida del estado del rebaño aprovechando el momento en que las vacas están atrapadas en el comedero incluso a la vez que se hace el control reproductivo.

Nuestra experiencia es que a nivel individual de vaca la información no siempre es consistente sin embargo a nivel de rebaño da una rápida información que puede servir para comparar los diferentes rebaños que atiende el veterinario

Así mismo la fiabilidad de este método como diagnostico de subclínica a nivel de rebaño es bastante precisa cuando de dermatitis se trata, perdiendo eficacia como herramienta diagnóstica en problemas de tipo metabólico subagudos.

Finalmente aquellas vacas que rotan una pata mucho más que la otra expresan con bastante fiabilidad un problema clínico de cojera moderada.

Calificación de la locomoción

Existen diferentes sistemas de calificar la locomoción de las vacas para establecer categorías. El método actualmente más en boga es la "Locomotion scoring de Sprecher", basado en una puntuación de 5 categorías. Mide la longitud del paso y el arqueamiento del lomo tanto en la estación como en movimiento. Dentro de los métodos de califcación de locmoción diferentes estudios muestran que este es el que muestra mayor correlación con la presencia de lesiones dolorosas a nivel del pie.

Categoría 1 - La vaca parada presenta el lomo plano. La vaca en marcha da pasos largos y el lomo sigue plano

Categoría 2 – La vaca parada presenta el lomo plano. En marcha los pasos son algo más cortos y el lomo se arquea

Categoría 3 – la vaca tiene el lomo arqueado tanto parada como en marcha. Los pasos son cortos

Categoría 4 – la vaca muestra cojera manifiesta

Categoría 5 – cojera severa la vaca trata de permanecer tumbada

Este método presenta en el campo problemas evidentes para poder trabajar a nivel de rebaño. Especialmente difícil es la diferenciación de las categorías 2 y 3 ya que estos animales deben ser observados tanto en la estación como caminando. Las vacas deberían ser observadas al acudir o a la vuelta del ordeño y de nuevo cuando están paradas. Realmente supone un trabajo importante. El Dr. Guard de Cornell Univ nos comenta que la consistencia de los datos es dudosa y es muy difícil garantizar que un mismo observador en un mismo rebaño en días diferentes realice evaluaciones similares.

Mis observaciones personales me conducen a pensar que existe una correlación importante entre longitud del paso y arqueamiento del lomo. Sin embargo múltiples pueden ser las causas por las que una vaca anda con pasos cortos, en general es el temor lo que les hace acortar la marcha. Suelos muy resbaladizos o suelos muy abrasivos inducen en la vaca marchas cortas forzadas y consiguiente

arqueamiento del lomo sin que tenga porque existir ningún problema subclínico a nivel de pezuña.

El Dr. Cook de Madison Wisconsin ha desarrollado un método que observa simplemente la forma de andar calificando a las vacas en 4 categorías, 2 categorías de vacas sanas, y otras dos de vacas cojas. El disminuir las categorías aumenta la fiabilidad del método, eliminando parte de la indefinición del método anteriormente comentado

Metodo binario

Únicamente se califica si la vaca está coja o no, posteriormente se plantea un diagnóstico etiológico individual de la cojera para su registro. Es el método que yo uso por su simplicidad y porque minimiza las apreciaciones subjetivas. Este método es complementario con un posterior diagnóstico, registro, análisis de datos y planteamiento de plan de acción

Las investigaciones del proyecto "Welfare Quality®" de University of Kassel (Germany) y University of Natural Resources and Applied Life Sciences (Austria) auditaron el sistema de evaluación de Sprecher de 5 puntos con resultados altamente inconsistentes especialmente entre vacas no cojas. La fiabilidad aumenta al disminuir el numero de categorías siendo máxima en el método binario.

Personalmente hemos probado el uso de todos los métodos citados que nos resultan en exceso complicados a nivel de campo optando por el sistema binario considerando vacas cojas o no cojas. A nivel de diagnóstico individual no existe desde mi punto de vista ninguno mejor que la observación combinada del animal, su posición parada, su marcha, el aspecto de su pezuña…El mero hecho de observar ayuda a desarrollar habilidades, el entrenamiento visual desarrolla el ojo clínico, parece antiguo pero es lo que hay.

MIRAR A LOS PIES

No cabe duda de que el recorte de pezuñas es el método más preciso para saber exactamente que ocurre a nivel de las pezuñas. Si el recorte se realiza a nivel de rebaño y se registran las incidencias podemos obtener un conocimiento muy preciso de las condiciones de salud podal de la granja. También cuando se realiza un trabajo de consultoría veterinaria una de las herramientas convenientes para establecer un diagnostico de rebaño es recortar aleatoriamente pezuñas, desde pies de aspecto normal, no tan normal, hasta pies de vacas clínicamente cojas, de los diferentes lotes. Sin embargo el recorte de pezuñas con ser sencillo requiere de una cierta habilidad y cuanto más precaria es la contención más experiencia se necesita. Si no hay ningún sistema de contención en la granja, potro de recorte, se puede hacer este recorte aleatorio diagnostico con las vacas atrapadas en la auto captura, empujándolas en los cubículos o en la sala de ordeño.. Este trabajo se facilita mucho por medio de una cuerda atada a la pala hidráulica de un tractor con lo que se levanta sin esfuerzo. Es conveniente hacerlo con un nudo corredizo que se suelte fácil en caso de caída del animal. Es muy importante disponer de una legra bien afilada. Las legras del mercado vienen normalmente con un filo muy pobre, el afilado de los cuchillos requiere de un material y una técnica adecuada.

Durante el proceso del recorte es interesante recoger información de la forma de la pezuña, aspecto de los surcos de la pared, comparación de la diferencia de altura de talones, dureza de la sustancia córnea de la suela, aspecto de la línea blanca, separación y soluciones de continuidad de esta, color de la suela, zonas hemorrágicas, lesiones abiertas, dolor a la presión y/o a la percusión.

Recortando pezuñas podemos obtener una idea de la precocidad del diagnóstico y tratamiento en la granja problema. Si vemos lesiones con aspecto antiguo, corion necrótico y tejido de granulación podemos inducir que aunque la incidencia de cojeras en el rebaño no sea alta la prevalencia puede serlo

por la duración de las lesiones y la complicación de estas con lo que la granja tiene un problema de repercusión económica importante. La aparición de alguno o algunos animales con problemas de sepsis digital profunda nos indica por lo general que las vacas han sido tratadas demasiado tarde, o que la vaca no tuvo el tratamiento adecuado, o ambos. La obtención de información de este tipo nos conducirá a revisar el protocolo de tratamiento de la granja. Sin entrar en el análisis de los puntos críticos primarios se pueden obtener importantes mejorías en el rebaño simplemente con intervenir sobre el protocolo de diagnóstico y tratamiento.

También recortando podemos encontrar pezuñas lindas excelentemente balanceado su peso y presencia de de lesiones frescas así como lesiones subclínicas en un importante número de animales. En este caso deberemos empezar a buscar más allá de los pies, revisando factores primarios tales como el cow comfort, nutrición…

Si durante el recorte se pasa el dedo por el espacio interdigital y aparecen leves ulceraciones superficiales acompañadas de olor pútrido y / o lesiones de dermatitis digital y/ o flemones debemos imaginar lo bien que viven las bacterias anaerobias causantes de estas enfermedades de ambiente y habrá que plantearse medidas correctoras de las condiciones higiénicas.

Dependiendo del tipo de trabajo que el clínico realiza es frecuente que el veterinario no pueda personalmente obtener toda esta información. Pero si que puede personalmente atender a la sesión de recorte de pezuñas realizada por el ganadero, un técnico o otro veterinario especialista, discutirlo con el recortador de pezuñas o trabajar en equipo con el veterinario especialista en Podología o técnico podólogo.

El veterinario debería estar capacitado para hacer el seguimiento de la calidad del trabajo del recortador profesional y en su caso para sugerir correcciones a la técnica utilizada.

- OTROS INDICADORES

Otros indicadores interesantes son:

Lesiones en los corvejones que también se pueden graduar de 1 a 4 , además de ser causa directa de cojeras son un importante indicador de la comodidad de la cama y del tiempo de permanencia tumbadas.

La suciedad de las patas y la suciedad general de la vaca las vacas más sucias que la media son las que aceptan mal el cubículo y frecuentemente son animales cojos.

Análisis de indicadores metabólicos pueden ser de ayuda: porcentaje de rumia, densidad de heces, composición física de heces.

Ruminocentesis como medida del pH ruminal. De momento hay poca costumbre de hacerlo en el entorno en que nos movemos por lo que sólo ante situaciones comprometidas o extremas se realiza, Este análisis debe ser meticuloso, cuando lo hacemos seguimos el protocolo marcado por los Dres Oetzel ,y Nordlund de Wisconsin

Desde el punto de vista nutricional y sin entrar al análisis de raciones es importante observar el aspecto físico de la ración , tamaño de la fibra efectiva, cuanta comida separan las vacas, frecuencia de alimentación, cuanto tiempo permanecen los pesebres vacíos, cronometrar en diferentes ocasiones el tiempo de mezcla en el carro..

Como factores generales de confort estudiar el nivel de aceptación de cubículo por medio del porcentaje de vacas tumbadas, diseño general de instalaciones y en concreto del cubículo, cama del cubículo.

REGISTRO DE DATOS

Por los ejemplos antes citados podemos inferir que la solución de problemas de rebaño a nivel de campo es cuando menos complicado. Todavía lo es más si la imagen que tenemos es como mucho de prevalencia en un momento dado o ni siquiera eso. Realmente es poco frecuente encontrar rebaños con datos objetivos de cojeras y menos frecuente aún el que esos datos sean fiables. De nuevo aquí se abre un interesante campo de trabajo para el veterinario, la puesta en marcha de un sistema de recogida y registro de datos fiables relacionado con las cojeras. Para poner en marcha un sistema eficaz de recogida de datos ante todo debe ser tenido muy en cuenta el objetivo que se persigue. Será muy diferente un sistema de recogida de datos orientado a un determinado estudio de investigación que el que hace falta para mejorar las condiciones de manejo de una ganadería industrial. Vamos a centrarnos en este último objetivo. Para que un sistema de recogida de datos funcione ante todo debe ser sencillo. Registrar únicamente los datos que tengan un uso evidente. El estándar que estamos usando actualmente comprende únicamente cuatro categorías: traumatismos, flemones, dermatitis, y lesiones de pezuña. Se podría discutir si este última categoría no debería ser desplegada en alteraciones de línea blanca y úlceras de la suela. Probablemente las úlceras de suela tengan una etiopatogénesis algo diferente que los problemas relacionados con la línea blanca, sin embargo, hasta el momento, en nuestra práctica diaria, no hemos sido capaces de sacar provecho a esta diferenciación a la hora de tomar decisiones de rebaño, por lo que hemos utilizado ambos diagnósticos como una sola unidad a nivel de análisis. A partir de la instauración de sistemas de suelo blando de goma apreciamos el interés de utilizar registros diferentes para las ulceras de suelas y los problemas de línea blanca al tener la ulcera de suela un componente mecánico más importante y una mayor relación con la permanencia en pie.

ANALISIS DE DATOS

Una vez que se dispone de una recogida de datos fiable y por un periodo de tiempo suficiente se pueden empezar a estudiar esos datos y a ser posibles compararlos con los que se obtiene en otros rebaños con condiciones de manejo similares o diferentes. Primeramente se analizan separadamente los datos en relación al tipo de cojera. Los datos relacionados con cojeras de tipo 1 ambiental nos llevarán a estudiar las medidas correctoras que se pueden aplicar a nivel higiénico y el uso de pediluvios así como a objetivizar resultados de diferentes productos y protocolos del uso del pediluvio.

Se pueden agrupar las cojeras por días en leche. Esto es muy interesante de analizar en las cojeras por problemas en la pezuña. Si la media de días en leche de las vacas que se ponen cojas es inferior a 100 se puede pensar en problemas metabólicos relacionados con el periodo de transición. Sin embargo esa fue la primera sorpresa que tuve cuando empecé a recabar datos fiables: es bastante frecuente encontrar rebaños cuya media de días en leche de las cojeras es superior a 200 días y el grupo más numeroso son cojeras de más de 300 DEL Esto contradice a la tradicional descripción de la cojera como problema metabólico muy ligado al periodo de transición y nos lleva a pensar en un posible efecto negativo de la estabulación como factor de mayor peso. Para tener una información fiable de los días en leche es preciso analizar en cada vaca únicamente el primer episodio de la lactación ya que vacas crónicas repetitivas pueden sesgar el resultado.

Si agrupamos las cojeras por edades encontraremos como imagen normal una cantidad moderada de cojeras de pezuña en primeros partos (incidencia anual de 10 -15%) y una concentración importante de casos en vacas de 3 o más partos. Sin embargo se debe ser prudente con esta lectura. Se puede dar

la paradoja de que cuanto mejor es el protocolo de tratamiento de cojeras mayor es la incidencia de casos en el rebaño. Esto puede ocurrir porque gracias a las atenciones dispensadas se consigue alargar la permanencia en el rebaño de vacas mayores muy productoras con laminitis crónica y con frecuentes episodios de cojeras. Por ello a la hora del registro de datos una definición que debe ser tenido en cuenta es el intervalo de tiempo a partir del cual se considera nuevo episodio. En nuestra práctica se ha establecido la convención de nuevo episodio cuando este aparece con un intervalo mínimo de 45 días sobre el episodio anterior (tiempo máximo de duración de un taco ortopédico)

Podemos analizar el efecto del estrés calórico analizando la posible estacionalidad de las cojeras. Se observa como en el 2006 hubo dos picos de calor en España al final de primavera y en septiembre y así se refleja en la curva anual de incidencia de cojeras que presenta dos picos.

PREVENCION DE AMBIENTALES USO DE PEDILUVIOS

Prevención de cojeras ambientales:

El recorte funcional de la pezuñas es, solo una parte en un programa de salud podal.

En vacas sin enfermedad pasa a ser una rutina sin gran influencia en los resultados productivos de la granja.

Sin embargo, la combinación de patología y falta de recorte genera granjas problemáticas.

Un sistema de recorte funcional resulta, por sí solo, una herramienta poco eficaz si ante la presencia de cojeras ambientales no va unido un programa rutinario de baño de pezuñas.

La aplicación en conjunto del recorte y baño, incluso en explotaciones en las que el resto de factores de riesgo no se corrigen, supone una importante disminución de los casos clínicos y de su severidad.

La interacción de la dermatitis interdigital con los problemas de úlceras de suela y enfermedad de línea blanca agrava el pronóstico de las lesiones.

Algunas úlceras de suela son de una etiología mixta en la que la erosión e inflamación del bulbo del talón juegan un importante papel en su etio-patogénesis.

En nuestra experiencia, la aplicación de baños de pezuñas sistemáticos e intensivos ha supuesto un paso importante en el control de las enfermedades pódales.

Nuestro producto de elección es el formol.

La concentración y frecuencia, se adapta a la presencia de enfermedad que se observa en la explotación.

El pediluvio debe ubicarse a la salida de la sala del ordeño, evitando lentificar el paso de las vacas y sus posibles efectos irritantes sobre los ordeñadores.

Utilizamos pediluvios pequeños, independientemente del número de animales.

Sin embargo el formol es un producto con mala prensa, frecuentemente oímos que está prohibido su uso. Según la actual legislación es un producto peligroso y por tanto con restricciones y recomendaciones de uso y transporte que deben ser atendidas. Así mismo se le debe proporcionar al ganadero la correspondiente ficha de seguridad, informarle de los riesgos y de las precauciones para minimizarlos. Puede ser que en un futuro reglamentaciones de salud más estrictas restrinjan más su uso, lo cual puede suponer un problema serio en muchos establecimientos. Los preparados comerciales que hemos tenido oportunidad de probar adolecen de una desfavorable relación coste-efectividad.

PREVENCION MECANICA RECORTE

Hay en la actualidad un interés creciente en la comunidad europea en investigar a fondo el recorte de pezuñas, los estudios recientes aprecian efectos beneficiosos de esta práctica en la salud podal. Los programas de recorte deben ser establecidos de manera individualizad atendiendo a las particulares características de cada explotación.

LAMINITIS, SI PERO POR CAUSAS METABÓLICAS O DE CONFORT?

Para intentar establecer las causas y por consiguiente las posibles mejores en el rebaño el primer dilema que se presenta es ¿Cuál es la causa mayor y más inmediata que conduce a los problemas podales en un rebaño determinado?

La respuesta es en la mayoría de los casos difícil. Siempre nos podemos escudar en el socorrido recurso:
- es un problema multifactorial. Con ser una gran verdad esto es solo el principio de la investigación.

Con los años de práctica, para mí, es de peso la idea de que alimentaciones consistentes en el tiempo y en la calidad conducen a rebaños con buena salud de patas. Sin embargo nunca se debe olvidar que la vaca solo se pone coja cuando está en pie. También es evidente que es más fácil gestionar una buena salud podal en establos con cama caliente que en establos de cubículos (siempre y cuando se obvien los problemas de etiología ambiental como flemones y dermatitis).

Por fin hay un factor climático que difícilmente puede ser catalogado como metabólico o ambiental que es el efecto del estrés calórico. El babeo que se produce y la consiguiente evaporación de saliva tiene una influencia metabólica al disminuir el aporte de saliva para el proceso de la rumia y su beneficioso efecto tampón. La alteración que durante las épocas cálidas se produce en el comportamiento de las vacas genera prácticas alimentarias de riesgo como el slugg feeding y consiguientes alteraciones de pH. Sin embargo resulta difícil diferenciar en el síndrome del estrés calórico las alteraciones del confort de la vaca. Puede ser que la vaca se sienta más fresca en el comedero especialmente si esta artificialmente ventilado con lo que permanezca más tiempo en pie. También puede influir en el incremento de las cojeras veraniegas el aumento de humedad por el uso de aspersores de agua para refrigerar las vacas, con el consiguiente reblandecimiento de la pezuña.

Estudios del Dr Nordlund sin embargo nos previenen en ciertos casos de la tendencia del clínico a negarse a admitir que las causas de cojera pueden ser otras que la acidosis. Por ejemplo se da el caso de un rebaño de vacas en pasto con signos clínicos de acidosis, vacas flacas, diarrea frecuente, baja producción, grasa en leche por debajo del 2,9% y ph ruminales entre 5 y 5'8 y una prevalencia de cojeras por debajo del 3%. Concluye que la acidosis puede tener un efecto mínimo sobre las cojeras en casos de confort excelente.

En otros casos el componente nutricional es evidente, rebaños que en un momento dado presentan un pico de cojeras en que la prevalencia de cojeras se dispara probablemente

- COW COMFORT

Hemos comentado que el tiempo que la vaca permanece tumbada es de capital importancia en el desarrollo de las cojeras. Es importante pues auditar el cubículo. Los primeros factores que influyen en la aceptación del cubículo por parte de la vaca son la mullidez y tracción del suelo. Estudios americanos muestran una superioridad de los cubículos de cama de arena sobre el resto de tipos de camas especialmente en el comportamiento de las vacas cojas En cubículo de arena las vacas cojas permanecen tumbadas por más tiempo que las vacas sanas. En cubículos de colchoneta el tiempo de permanencia tumbadas disminuye en relación al de las vacas sanas. En España son pocos los establos que utilizan

camas de arena. Los sistemas de colchoneta para cubículo tienen cada vez una mayor implantación y van mejorando sus cualidades de confort embargo las vacas cojas muestran diferencias de comportamiento significativas. Sin embargo tenemos experiencias en que las vacas aceptan mejor cierto tipo de colchonetas que cubículos de cama natural con mal mantenimiento. Para conseguir niveles de confort aceptables con camas de colchoneta se debe garantizar un encamado suficiente de serrín o paja sobre el tejido. Con un aporte regular y suficiente de cama sobre la superficie del colchón se pueden alcanzar niveles de confort comparables con los de la cama natural. En los cubículos con cama de colchón cobra mayor importancia el cumplir unas medidas mínimas en el diseño del cubículo. El cubículo debe ser algo más ancho que lo que se acostumbraba hasta ahora y hay que garantizar suficiente espacio libre para que la vaca pueda levantarse sin esfuerzo. Obstáculos tales como la altura de la tabla de pechera, que tiene una importancia relativa en camas naturales, pueden ser limitantes para el confort en el sistema de colchones.

El diseño de la nave también tiene influencia en el posterior desarrollo de cojeras. Naves con altura suficiente y buena ventilación ayudarán a mantener unas mejores condiciones higiénicas y por consiguiente menos problemas de origen ambiental. También la buena ventilación natural ayudará a mitigar las consecuencias del estrés calórico. Las naves con 4 hileras de cubículos y línea central de alimentación presentan ventajas evidentes sobre las naves con 6 hileras. Garantizan mejor ventilación transversal. Minimizan la necesidad de colocar parámetros verticales ya que la primera línea bajo el techo no es cubículo sino pasillo. Permite la colocación de más puntos de agua y supone menor densidad de animales ante la línea de alimentación lo que será de ayuda para minimizar los problemas podales que derivan de fallos metabólicos.

La instalación de suelos blandos de goma puede ser una ayuda más en la minimización del impacto del tiempo en pie de los animales en la mecánica de la pezuña. El numero de estudios que se publican a este respecto va en aumento ya que es una práctica de reciente instauración.

Y QUIEN PAGA TODO ESTO

Pero seamos realistas. Si el veterinario como responsable sanitario del establo tiene ante sí un abanico tan amplio de posibilidades de intervenir sobre la salud podal de las vacas ¿Porqué esa falta general de implicación que encontramos en la mayoría de los veterinarios buiatras?

Una posible explicación es económica. Un trabajo además de ser atractivo por motivos de realización personal, debe ser remunerado, si no más que trabajo lo debemos considerar hobby. Con los sistemas de honorarios que habitualmente utilizan los veterinarios para cobrar sus servicios es difícil conseguir un pago por las intervenciones anteriormente propuestas. Algunos se presentan como consultores y cobran por sus consejos, pero no nos engañemos en el mundo son muchos menos que los que alardean. La mayoría son pagados por trabajos tangibles tales como el control reproductivo o el acto clínico. También es cierto que en ocasiones el prestigio que puede dar un buen consejo puede tener una remuneración indirecta. Creo que este es un importante motivo por el que el progreso en la mejora de los factores primarios que conducen a la cojeras es tan lento.

Últimamente se está viendo un creciente interés entre algunos veterinarios del ámbito universitario de abordar el tema de las cojeras con una óptica de la medicina de la producción. Tal es el caso por ejemplo de los doctores Bergsten de Suecia o de los estadounidenes Dres Cook, Nordlund, Berry, Guard, Shearer…

En los boletines de la AABP cada vez son más frecuentes los artículos relacionados con las cojeras.

Por otro lado también existe un creciente interés por parte de compañías comerciales en desarrollar productos específicos relacionados con las cojeras, esto puede favorecer el aumento de veterinarios especialistas en cojeras que actualmente son tan escasos, (excepto en Italia) o posibilitar trabajos puntuales de cojeras a veterinarios generalistas que ayuden a despertar su interés y ampliar su conocimiento.

CONCLUSIONES

El veterinario debe tener un conocimiento básico al menos para poder hacer un diagnóstico diferencial del tipo de cojeras

En todo caso sería más que recomendable que hubiera seguido un curso de campo de recorte funcional.

La recogida y el análisis de datos relacionados con las cojeras son herramientas fundamentales para hacer funcionar programas de prevención a nivel de establo.

La implicación en el diseño y mejora de los factores de confort de las vacas resultan necesarios para mejorar la salud podal del rebaño

La posibilidad de poder convertir en actividades remuneradas las acciones antes citadas presentan un atractivo añadido para la implicación del veterinario en la salud podal.

Y por fin pero por ello no menos importante nunca olvidar que la clave no es la vaca , la clave es el ganadero. Los veterinarios deben desarrollar aptitudes de comunicación para conseguir que los ganaderos hagan las cosas que deben hacerse. Estoy convencido que muchas veces una parte importantísima del trabajo de medicina de la producción se hace sentado frente al ganadero con un buen trago y una magra. NO ES BUEN TECNICO EL QUE SABE MUCHO SINO EL QUE CONSIGUE RESULTADOS.

BIBILIOGRAFIA

A HIND FEET POSITION SCORING SYSTEM TO MONITIR SUBCLINICAL LAMENESS IN DUTCH HOLSTEIN-FRIESIAN COWS

G. Bulgarelli-Jimenez et al.

Dept of herd health and reproduction. Col Vet Med Utrecht. Univ. The Netherlands

The 9th Intl Symp on Disorders of Ruminant Digit Jesrusalem 1996

A COMPARISON OF DAIRY COWS BEHAVIOR IN SAND AND MATRESSES FREE STALL BARNS IN RELATION TO LAMENESS

Cook N. B. et al

13th Intl .Symp and Conference of lameness in Ruminants

Maribor Slovenia 2004

DIAGNOSIS OF SUBACUTE RUMINAL ACIDOSIS

Dr. Ken Nordlund School of Veterinary Medicine University of Wisconsin-Madison

12 intl lameness Symp Orlando Fla USA 2000

A RECORD KEEPING SYSTEM FOR CAPTURE OF LAMENESS AND FOOT CARE INFORMATION IN CATTLE
J. Shearer et al
The Bovine practitioner Vol 38 N01 February 2004
MANEJO Y PREVENCION DE COJERAS EN VACUNO LECHERO
Adrian Gonzalez Sagüés
Cuadernos de campo Ivomec Merial laboratorios

COW COMFORT
Alex Bach, Jose luis Juaristi, Pedro Rodriguez
Cuadernos de campo Ivomec Merial laboratorios

http://www.welfarequality.net/everyone/34600
PREVALENCE OF LAMENESS IN HIGH-PRODUCING HOLSTEIN COWS HOUSED IN FREESTALL BARNS IN MINNESOTA L. A. Espejo*, M. I. Endres*,1 and J. A. Salfer.
Dairy Sci. 89:3052-3058.

THE BIOMECHANICS OF WEIGHT BEARING , ITS SIGNIFICANCE WITH LAMENESS, THE ROLE OF HOOF TRIMMING Adrian Gonzalez Sagues Proc.14 Itl Symp of Lameness in Ruminanats 2006

QUANTIFICATION AND THE ASSOCIATED COSTS OF LAMENESS ON TODAY'S DAIRIES
Charles Guard AABP proceedings Vol 39

SELECCIÓN EMBRIONARIA MEDIANTE DIAGNOSTICO PREIMPLANTACIONAL, POSIBILIDADES EN LAS GRANJAS DEL FUTURO

A. Gutierrez-Adan
Departamento de Reproducción Animal y Conservación de Recursos Zoogenéticos, INIA, Ctra de la Coruña Km 5.9, Madrid 28040, Spain

Resumen

Los avances de la biología molecular, la biotecnología embrionaria y la información genética de los últimos años, nos permiten utilizar la detección genética en estadios preimplantacionales para seleccionar los embriones con unas características determinadas antes de su transferencia. En esta ponencia presentaremos las distintas metodologías embrionarias utilizadas para la realización de la biopsia, los progresos realizados en biología molecular para la detección genética en biopsias embrionarias, y algunas estrategias para mejorar y simplificar estas metodologías. Además mencionaremos algunos de los diagnósticos genéticos embrionarios que en la actualidad se están realizando o que en breve se podrán utilizar en el ganado bovino.

Introducción

A principios de la década de los 90, el sexaje de los embriones supuso la primera aplicación comercial de la selección preimplantacional de embriones. Esta aplicación fue posible gracias a la invención de la PCR (reacción en cadena de la polimerasa), una herramienta que permite amplificar específicamente una secuencia de DNA [1]. Otra técnica que ha emergido como una herramienta muy poderosa para la detección de alteraciones cromosomitas en células es la FISH (hibridación in situ fluorescente). La

expansión del diagnóstico preimplantacional (PGD) en bovino depende en la actualidad de factores tales como el conocimiento de la información genética bovina y el descubrimiento de marcadores que permitan identificar y seleccionar los individuos de mayor merito genético. Los avances en el proyecto genoma bovino están permitiendo la identificación de marcadores genéticos que pueden ser utilizados para la selección de animales con una genética determinada. La selección asistidas por marcadores (SAM) puede ser aplicada en el estadio del desarrollo embrionario preimplantacional, permitiendo la transferencia de los embriones con las predicciones genéticas que deseemos [2].

Dos sistemas para hacer una biopsia embrionaria en bovino

La metodología empleada en la biopsia embrionaria es clave para asegurar la calidad del embrión manipulado. Las dos técnicas mas utilizadas de manipulación para realizar la biopsia en embriones en estadio preimplantacional, son la aspiración y la microsección. En la técnica de la aspiración se utiliza una micropipeta con la punta roma para sujetar el embrión mediante la ayuda de una presión negativa, entonces los blastómeros se aspiran con ayuda de otro microcapilar de cristal. Ambos capilares se manejan con ayudad de dos micromanipuladores y dos microinyectores para controlar la presión de aspiración. Para la técnica de microsección no se necesitan micromanipuladores, y el embrión se estabiliza bien por el uso de un medio libre de proteína (lo cual produce que el embrión se pegue en el fondo de la placa de cultivo) [3], bien produciendo pequeñas hendiduras en el fondo de la placa de cultivo (el embrión se estabiliza en dichas hendiduras y deja de rotar) [4]. Una vez estabilizado el embrión se realiza una biopsia manual o bien con la ayuda de un micromanipulador. Ambos métodos tienen ventajas e inconvenientes, por ejemplo el método del medio libre de proteína es mas rápido pero en el método de las hendiduras no necesitas cambiar de medio durante la manipulación. Otra ventaja del método de aspiración es que se puede tomar una muestra muy pequeña produciendo un daño mínimo al resto del embrión y de la zona pelúcida, sin embargo, el método es más lento y requiere un entrenamiento con los micromanipuladores. Por estos motivos, el método mas utilizado en la granja es la microsección, con el que puedes microseccionar más de 15 embriones en 30 min. Alternativamente, algunos técnicos utilizan un método mixto, en el que la sujeción es manual pero mediante microcapilares y una vez sujeto el embrión se realiza la microsección manual o con ayuda del macromanipulador. Para evitar la lisis celular después de la microsección se puede utilizar citocalasina B antes de la micromanipulación; de esta forma se ha observado que se aumenta la supervivencia embrionaria.

Después de la biopsia, el porcentaje de preñez de los embriones manipulados varía entre 50-70% [5]. Estos porcentajes son comparables con los obtenidos de transferencia de embriones intactos. Sin embargo, aunque los embriones de buena calidad no sufren mediante la micromanipulación, los embriones de calidad media o baja son mas afectados por la biopsia [5]. También se han utilizados las técnicas de biopsia y congelación produciendo resultado de gestación de 37-64% [5, 6].

Para minimizar el daño al embrión, la biopsia debe de ser lo mas pequeña posible. Para una posterior PCR solo se necesita una célula, pero el uso de una célula tiene varios problemas, como por ejemplo que dicha célula puede que no sea representativa del resto del embrión, ya que se ha descrito que muchas de las células del embrión bovino presentan errores genómicos y cromosómicos [7, 8]. Estas células son posteriormente eliminadas durante el desarrollo embrionario mediante procesos de apoptosis. Para algunas anomalías descritas, como las poliploidías, la PCR todavía puede ser precisa, pero en el caso de mosaicismos entre haploidías/diploidías (pueden suponer el 55% de un embrión bovino [9]) la parte diploide del embrión puede seguir desarrollándose y dar lugar a un individuo adulto, y la biopsia puede ser tomada de la parte haploide del embrión, de tal forma que se pueden producir muchos errores, como por ejemplo identificar un embrión como hembra cuando en realidad es un macho, o homocigotos cuando en realidad son heterocigotos.

Métodos de diagnóstico genético embrionario

Para el diagnóstico genético embrionario existen dos métodos, la técnica de la PCR y los métodos citológicos. Los métodos citológicos se han utilizado tradicionalmente para cariotipar, identificar anormalidades cromosómicas, y determinación del sexo, su utilización es muy importante en el contexto del PGD. Desde 1968 se han utilizado métodos citológicos para sexaje de embriones [10]. Es una metodología muy precisa, pero su utilización en el bovino fue muy ineficiente pues se necesitaban biopsias muy grandes para obtener células en fase metafísica para poder ser analizadas [11]. Sin embargo ofrece algunas ventajas como es el hecho de que simultáneamente al diagnostico del sexo podemos analizar la presencia de anomalías cromosómicas. Sin embargo, la técnica es laboriosa, larga y requiere de equipos especiales por lo que su uso es muy poco demandado en bovino.

Un método alternativo para la detección en cromosomas es la hibridación in situ, en donde se utilizan sondas marcadas de DNA específicas para un gen o un cromosoma y se hibridan con el núcleo celular. Una gran ventaja sobre el método anterior es que las células que se van a analizar no tienen que estar en metafase, y sirve cualquier núcleo en interfase, por lo que se requieren muchas menos células en la biopsia, por lo que el daño celular es mucho menor. Embriones bovinos han sido sexados por hibridación in situ utilizando una sonda específica del cromosoma Y marcado con biotina o radiactivamente. El análisis es muy preciso pero es laborioso y requiere de varios días hasta obtener los resultados. Por este motivo los embriones biopsiados no pueden utilizarse en fresco y tienen que congelarse. La técnica tuvo un avance significativo con la llegada del marcaje de las sondas con fluorocromos (FISH, hibridación in situ fluorescente), ya que se reduciría considerablemente el tiempo requerido para obtener los resultados. Utilizando esta técnica kobayashi et al 1998 [12] fue capaz de sexar embriones bovinos en una hora, lo cual suponía que ya no era necesario congelar los embriones. Las posibilidades de la FISH son muchas, ya que permite la utilización de distintos fluorocromos y análisis digital de la imagen, con lo que se pueden identificar cada cromosoma individualmente [13].

La llegada de la PCR supuso un avance muy significativo en el PGD en bovinos. Es una técnica que amplifica in vitro secuencias específicas de DNA, y consiste en la repetición de ciclos de tres temperaturas: temperatura de desnaturalización, de anillamiento y de extensión. En proceso consiste en primer lugar en separar el material genético de la célula, lo cual se puede hacer por métodos físicos, congelando y descongelando varias veces el embrión; por métodos químicos utilizando compuestos como el quelex que limpia el DNA; o por métodos biológicos utilizando enzimas como la proteinasa K para digerir las proteínas celulares y liberar el DNA. Posteriormente las bandas complementarias del DNA se separan mediante la aplicación de una temperatura alta denominada de desnaturalización (90-95ºC), una vez separadas las cadenas de DNA se hibridan los cebadores específicos de la secuencia que se pretende amplificar (estos cebadores se sintetizan in vitro) utilizando una temperatura denominada de anillamiento de entre 55-60ºC, lo cual permite que cada cebador se una a cada una de las dos cadenas de DNA. Posteriormente se eleva la temperatura hasta 72ºC, la temperatura denominada de elongación, que es la optima para el funcionamiento de las polimerasas resistentes al calor, las cuales, con ayudad de los cebadores, sintetizan las secuencias específicas. Los cebadores están diseñados para que la extensión de cada uno cree un sitio de unión al otro, de tal forma que la amplificación es exponencial, es decir, en cada ciclo de PCR la cantidad de producto se duplica, por lo que en teoría solo se necesitan 30 ciclos para obtener billones de productos. Tradicionalmente el producto de la PCR se separa e identifica mediante electroforesis en geles de agarosa que se tiñen con colorantes específicos del DNA como el bromuro de etidio. A temperaturas inferiores a 50ºC, los cebadores se unen erróneamente a secuencias que no son completamente específicas, resultando en productos de PCR no específicos. King and Wall [14] utilizaron por primera vez esta técnica en embriones bovinos en 1988 para amplificar una secuencia específica del genoma, demostrando que esta técnica tenia un gran potencial para el PGD. Desde entonces esta técnica se utiliza comercialmente para el diagnóstico

del sexo en embriones bovino y para otros PGD de interés comercial.

Para el sexaje de embriones se utiliza normalmente la amplificación de una secuencia del cromosoma Y y de una secuencia presente en un cromosoma no sexual, que actúa como control para confirmar la presencia de DNA en la biopsia realizada y que las condiciones de la PCR eran adecuadas. La eficiencia de la PCR varía considerablemente en función del tamaño de la biopsia, el tipo de extracción del DNA, y el protocolo de PCR utilizado [15-17]. Además de para el diagnóstico del sexo, la PCR se puede utilizar para detectar simples locus que producen un fenotipo, o para identificar enfermedades genéticas. En embriones bovinos también se ha utilizado para detectar la presencia o integración de transgénicos.

Una aplicación de la PCR es su utilización para la detección y cuantificación de mRNA dentro de la célula, lo cual puede indicar la calidad del embrión donde dicho gen se está transcribiendo. La técnica requiere en primer lugar de la transcriptasa inversa que produce cDNA a partir del mRNA y posteriormente la PCR amplifica dicho cDNA (RT-PCR). Esta técnica se ha utilizado para comparar embriones producidos in vivo o in vitro [18-20], y para comparar embriones de buena o mala calidad, lo cual ha permitido identificar genes que se están expresando en los embriones de buena calidad que están ausentes, o se expresan en menor cantidad, en los embriones de mala calidad, por lo que estos marcadores nos permiten identificar embriones de buena calidad [19, 21]. Esta metodología se utiliza para el diseño de nuevos medios de cultivo y de producción in vitro de embriones bovinos, pero su utilización podría extenderse al diagnostico de anormalidades en embriones individuales.

Una vez que se ha obtenido la biopsia, el DNA se puede degradar, por lo que es recomendable mantener las biopsias en hielo para reducir la actividad de las nucleasas.

Debido a que técnica de PCR es muy sensible, cuando se utiliza para el PGD es necesario evitar la contaminación. Para minimizar las contaminaciones se deben tomar varias precauciones, como utilizar distintas habitaciones para los trabajos pre-PCR y post-PCR.

Diagnóstico de múltiples locus

Una de las principales aplicaciones comerciales del PGD en bovino es el análisis de marcadores genéticos para la selección de los embriones con mejores valores genéticos de un determinado cruce. Para la selección asistida por marcadores para caracteres de producción se necesitan analizar al mismo tiempo muchos marcadores en la misma biopsia. Aunque en teoría la PCR se puede utilizar para amplificar en la misma reacción múltiples locus, en la práctica esto es muy complejo, y requiere optimizarse para cada combinación de cebadores. Se puede utilizar también lo que se denomina nested PCR, o segunda amplificación del primer producto; con esta técnica se pueden solucionar algunos de los problemas. Consiste en la utilización de cebadores que amplifican en una segunda PCR una secuencia interna del amplicón producido en la primera PCR. Esta técnica fue originalmente diseñada para incrementar la especificidad, ya que cualquier producto no especifico originado en la primera PCR no es amplificado en la nested PCR, en otras palabras, la especificidad es definida por cuatro cebadores en lugar de dos. Utilizando este sistema se pueden amplificar múltiples secuencias, en primer lugar se amplifica el material genético de la biopsia en un tubo de PCR con todos los cebadores de los distintos locus. Posteriormente, cada locus se amplifica individualmente con los cebadores internos y una alícuota del producto de la primera PCR, de esta forma se puede optimizar los paramentos para cada PCR de cada locus.

Un método alternativo consiste en la preamplificación de todo el genoma en una primera PCR y posteriormente utilizar alícuotas de esta primera PCR para amplificar en una segunda PCR cada específica secuencia de interés. Este método se denomina WGA (amplificación de todo el genoma) y se puede realizar de distintas formas. Se puede realizar con cebadores degenerados (DOP-PCR) que consisten en cebadores con una secuencia definida al azar rodeada de una secuencia específica [22]. En los primeros ciclos de la

PCR se utiliza una temperatura de anillamiento muy baja (30ºC) que permite la unión de los cebadores a cualquier secuencia del genoma; como la secuencia específica del cebador pasa a ser parte del producto de la PCR, la temperatura de los siguientes ciclos de la PCR puede aumentarse. Una alternativa es el método que utiliza cebadores completamente degenerados para preamplificar todo el genoma [23]. Este método se denomina PEP (preamplificación extendiendo primers) y requiere una temperatura de anillamiento muy baja (25-37ºC) en todos los ciclos de amplificación.

Presente y futuro de la selección de específicos alelos

En la actualidad hay un gran esfuerzo por identificar específicos loci que influyen en caracteres cuantitativos (QTLs), de tal forma que la selección asistida por marcadores pueda utilizarse para seleccionar embriones que confieran incrementos de la producción [24, 25]. Hay varios marcadores identificados en bovino que en la actualidad se utilizan como marcadores de producción de leche [26], como por ejemplo DGAT1 [27, 28]], BTA6 [28], GHR [29] o resistencia a la mastitis [30, 31]. El desarrollo del proyecto genoma en bovino incrementará en un futuro el numero de QTLs. Además se han identificados otros marcadores genéticos para varios caracteres de herencia Mendeliana como el color de la cubierta [32], la condición morfológica [33], [34]κ-caseina [35], prolactina [35], resistencia a mastitis [31] caracteres metabólicos y reproductivos (leptina [36]), resistencia a dermatofilosis bovina [34], resistencia a tripanosomiasis [37], textura de la canal y la carne [38], y algunas enfermedades causadas por alelos recesivos, como la deficiencia uridina monofosfato sintasa (DUMPS) [39], displasia tubular renal [40], y el síndrome de deficiencia de adhesión leucocitaria (BLAD) [41]. Embriones bovinos son seleccionados por varias empresas para DUMPS, BLAD, sexo, etc.

Nuevas técnicas en el campo de la biología molecular se están desarrollando. Aunque la PCR es en al actualidad la técnica mas usada en PGD, es probable que es encuentren nuevos procedimientos para amplificar o detectar una secuencia. Por ejemplo las nuevas tecnologías de microarrays que utilizan formatos muy pequeños para la detección y cuantificación molecular serán probablemente usadas en el futuro del PGD.

Bibliografia

1. Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT, Mullis KB, Erlich HA. Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. Science 1988; 239: 487-491.
2. Hansen PJ, Block J. Towards an embryocentric world: the current and potential uses of embryo technologies in dairy production. Reprod Fertil Dev 2004; 16: 1-14.
3. Gorlach A, Hahn R, Schuh W. [Possibilities for the use of micromanipulation on bovine embryos under field conditions]. Dtsch Tierarztl Wochenschr 1985; 92: 10-11.
4. Bredbacka P, Huhtinen M, Aalto J, Rainio V. Viability of bovine demi- and quarter-embryos after transfer. Theriogenology 1992; 38: 107-113.
5. Hasler JF, Cardey E, Stokes JE, Bredbacka P. Nonelectrophoretic PCR-sexing of bovine embryos in a commercial environment. Theriogenology 2002; 58: 1457-1469.
6. Bredbacka P. Progress on methods of gene detection in preimplantation embryos. Theriogenology 2001; 55: 23-34.
7. Dorland M, Duijndam WA, Kruip TA, van der Donk JA. Cytogenetic analysis of day-7 bovine embryos

by cytophotometric DNA measurements. J Reprod Fertil 1993; 99: 681-688.

8. Ocana-Quero JM, Pinedo-Merlin M, Moreno-Millan M. Cytogenetic study of in vitro-derived bovine embryos. Vet J 1999; 158: 228-233.
9. Yoshizawa M, Konno H, Zhu S, Kageyama S, Fukui E, Muramatsu S, Kim S, Araki Y. Chromosomal diagnosis in each individual blastomere of 5- to 10-cell bovine embryos derived from in vitro fertilization. Theriogenology 1999; 51: 1239-1250.
10. Edwards RG, Gardner RL. Sexing of live rabbit blastocysts. Nature 1967; 214: 576-577.
11. Seike N, Utaka K, Kanagawa H. Production and development of calves from sexed-bisected bovine embryos. Jpn J Vet Res 1990; 38: 1-9.
12. Kobayashi J, Sekimoto A, Uchida H, Wada T, Sasaki K, Sasada H, Umezu M, Sato E. Rapid detection of male-specific DNA sequence in bovine embryos using fluorescence in situ hybridization. Mol Reprod Dev 1998; 51: 390-394.
13. Ried T, Landes G, Dackowski W, Klinger K, Ward DC. Multicolor fluorescence in situ hybridization for the simultaneous detection of probe sets for chromosomes 13, 18, 21, X and Y in uncultured amniotic fluid cells. Hum Mol Genet 1992; 1: 307-313.
14. King D, Wall RJ. Identification of specific gene sequences in preimplantation embryos by genomic amplification: detection of a transgene. Mol Reprod Dev 1988; 1: 57-62.
15. Shea BF. Determining the sex of bovine embryos using polymerase chain reaction results: a six-year retrospective study. Theriogenology 1999; 51: 841-854.
16. Gutierrez-Adan A, Behboodi E, Andersen GB, Medrano JF, Murray JD. Relationship between stage of development and sex of bovine IVM-IVF embryos cultured in vitro versus in the sheep oviduct. Theriogenology 1996; 46: 515-525.
17. Gutierrez-Adan A, Cushwa WT, Anderson GB, Medrano JF. Ovine-specific Y-chromosome RAPD-SCAR marker for embryo sexing. Anim Genet 1997; 28: 135-138.
18. Gutierrez-Adan A, Lonergan P, Rizos D, Ward FA, Boland MP, Pintado B, de la Fuente J. Effect of the in vitro culture system on the kinetics of blastocyst development and sex ratio of bovine embryos. Theriogenology 2001; 55: 1117-1126.
19. Rizos D, Lonergan P, Boland MP, Arroyo-Garcia R, Pintado B, de la Fuente J, Gutierrez-Adan A. Analysis of differential messenger RNA expression between bovine blastocysts produced in different culture systems: implications for blastocyst quality. Biol Reprod 2002; 66: 589-595.
20. Rizos D, Gutierrez-Adan A, Perez-Garnelo S, De La Fuente J, Boland MP, Lonergan P. Bovine embryo culture in the presence or absence of serum: implications for blastocyst development, cryotolerance, and messenger RNA expression. Biol Reprod 2003; 68: 236-243.
21. Rizos D, Gutierrez-Adan A, Moreira P, O'Meara C, Fair T, Evans AC, Boland MP, Lonergan P. Species-related differences in blastocyst quality are associated with differences in relative mRNA transcription. Mol Reprod Dev 2004; 69: 381-386.
22. Telenius H, Carter NP, Bebb CE, Nordenskjold M, Ponder BA, Tunnacliffe A. Degenerate oligonucleotide-primed PCR: general amplification of target DNA by a single degenerate primer. Genomics 1992; 13: 718-725.
23. Zhang L, Cui X, Schmitt K, Hubert R, Navidi W, Arnheim N. Whole genome amplification from a single cell: implications for genetic analysis. Proc Natl Acad Sci U S A 1992; 89: 5847-5851.
24. Kappes SM. Utilization of gene mapping information in livestock animals. Theriogenology 1999; 51: 135-147.

25. Grisart B, Coppieters W, Farnir F, Karim L, Ford C, Berzi P, Cambisano N, Mni M, Reid S, Simon P, Spelman R, Georges M, Snell R. Positional candidate cloning of a QTL in dairy cattle: identification of a missense mutation in the bovine DGAT1 gene with major effect on milk yield and composition. Genome Res 2002; 12: 222-231.

26. Olsen HG, Gomez-Raya L, Vage DI, Olsaker I, Klungland H, Svendsen M, Adnoy T, Sabry A, Klemetsdal G, Schulman N, Kramer W, Thaller G, Ronningen K, Lien S. A genome scan for quantitative trait loci affecting milk production in Norwegian dairy cattle. J Dairy Sci 2002; 85: 3124-3130.

27. Spelman RJ, Ford CA, McElhinney P, Gregory GC, Snell RG. Characterization of the DGAT1 gene in the New Zealand dairy population. J Dairy Sci 2002; 85: 3514-3517.

28. Freyer G, Sorensen P, Kuhn C, Weikard R, Hoeschele I. Search for pleiotropic QTL on chromosome BTA6 affecting yield traits of milk production. J Dairy Sci 2003; 86: 999-1008.

29. Viitala S, Szyda J, Blott S, Schulman N, Lidauer M, Maki-Tanila A, Georges M, Vilkki J. The role of the bovine growth hormone receptor and prolactin receptor genes in milk, fat and protein production in Finnish Ayrshire dairy cattle. Genetics 2006; 173: 2151-2164.

30. Klungland H, Sabry A, Heringstad B, Olsen HG, Gomez-Raya L, Vage DI, Olsaker I, Odegard J, Klemetsdal G, Schulman N, Vilkki J, Ruane J, Aasland M, Ronningen K, Lien S. Quantitative trait loci affecting clinical mastitis and somatic cell count in dairy cattle. Mamm Genome 2001; 12: 837-842.

31. Youngerman SM, Saxton AM, Oliver SP, Pighetti GM. Association of CXCR2 polymorphisms with subclinical and clinical mastitis in dairy cattle. J Dairy Sci 2004; 87: 2442-2448.

32. Seitz JJ, Schmutz SM, Thue TD, Buchanan FC. A missense mutation in the bovine MGF gene is associated with the roan phenotype in Belgian Blue and Shorthorn cattle. Mamm Genome 1999; 10: 710-712.

33. Schmutz SM, Marquess FL, Berryere TG, Moker JS. DNA marker-assisted selection of the polled condition in Charolais cattle. Mamm Genome 1995; 6: 710-713.

34. Maillard JC, Berthier D, Chantal I, Thevenon S, Sidibe I, Stachurski F, Belemsaga D, Razafindraibe H, Elsen JM. Selection assisted by a BoLA-DR/DQ haplotype against susceptibility to bovine dermatophilosis. Genet Sel Evol 2003; 35 Suppl 1: S193-200.

35. Chrenek P, Boulanger L, Heyman Y, Uhrin P, Laurincik J, Bulla J, Renard JP. Sexing and multiple genotype analysis from a single cell of bovine embryo. Theriogenology 2001; 55: 1071-1081.

36. Liefers SC, Veerkamp RF, Te Pas MF, Chilliard Y, Van der Lende T. Genetics and physiology of leptin in periparturient dairy cows. Domest Anim Endocrinol 2005; 29: 227-238.

37. Hanotte O, Ronin Y, Agaba M, Nilsson P, Gelhaus A, Horstmann R, Sugimoto Y, Kemp S, Gibson J, Korol A, Soller M, Teale A. Mapping of quantitative trait loci controlling trypanotolerance in a cross of tolerant West African N'Dama and susceptible East African Boran cattle. Proc Natl Acad Sci U S A 2003; 100: 7443-7448.

38. White SN, Casas E, Wheeler TL, Shackelford SD, Koohmaraie M, Riley DG, Chase CC, Jr., Johnson DD, Keele JW, Smith TP. A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of Bos indicus, Bos taurus, and crossbred descent. J Anim Sci 2005; 83: 2001-2008.

39. Schwenger B, Schober S, Simon D. DUMPS cattle carry a point mutation in the uridine monophosphate synthase gene. Genomics 1993; 16: 241-244.

40. Hirayama H, Kageyama S, Moriyasu S, Hirano T, Sugimoto Y, Kobayashi N, Inaba M, Sawai K, Onoe S, Minamihashi A. Genetic diagnosis of claudin-16 deficiency and sex determination in bovine preimplantation embryos. J Reprod Dev 2004; 50: 613-618.

41. Tammen I, Klippert H, Kuczka A, Treviranus A, Pohlenz J, Stober M, Simon D, Harlizius B. An improved DNA test for bovine leucocyte adhesion deficiency. Res Vet Sci 1996; 60: 218-221.

TRAUMATIC RETICULOPERITONITIS – A VIEW FROM INSIDE THE COW

Harald Kümper

Introduction

Traumatic reticuloperitonitis is a disease that is highly correlated to the specific way of eating of cows and to the special anatomic conditions of the forestomachs. Cows like to eat fast and almost greedy, they just want to gather food that they will chew later in a comfortable lying position. The thick epidermis of the tongue is not able to detect foreign bodies while the cow is eating. By this, pieces of wire, nails and other "hardware" get into the reticulum. The honeycomb shaped internal surface of the reticulum traps these foreign bodies and the powerful contractions of the reticulum can push pointed objects through the reticular wall. The German name "Schleudermagen", which means "sling stomach" indicates the power and velocity of physiologic reticular contractions.

1) Acute traumatic reticuloperitonitis

What happens, when a pointed object is pushed into the reticular wall?

The injury of the reticular wall is painful. To prevent further and deeper injuries the reticular motility is immediately stopped by reflex action. The cow suddenly stops eating and a slight rumen tympani (visible in the left paralumbar fossa) develops, due to the reduction of reticular movements. This pain reflex prevents in some cases a total perforation of the reticular wall and the object may fall back into the reticular

lumen. With decreasing pain and the restart of powerful contractions this object can cause new insults. One or more incomplete injuries of the reticular wall will produce a local "reticulitis" without fever.

A percussion of the affected area will reveal pain reactions (moaning). A faint moaning is also audible after each ructus. By ultrasound examination the decreased reticular motility and local swellings of the reticular wall can be detected.

A simple reticulitis is the only indication for a "metaphylactic" application of a cage-magnet without accompanying antibiotic treatment.

What happens, when a pointed object perforates the reticular wall?

When an object perforates the reticular wall it brings bacteria from the reticulum in the abdominal cavity. In addition to the local pain, a peritonitis develops. The threshold for ructus is raised. With fibrinous adhesions the cow tries to enclose the inflammation and protects herself prom a generalized peritonitis. Adhesions between the reticulum and surrounding organs strongly inhibit the reticular motility.

Affected cows show a specific posture. By active tension of the abdominal wall (palpable in the right flank), a slightly curved back and by prevention of all movements that irritate the aching reticular region the cow tries to reduce her pain. The rumen is slightly tympanitic but still well filled with feed. Defecation is reduced and due to the slower intestinal passage the faeces get a dry consistency. Resulting from the local peritonitis the internal body temperature rises to 39,5 to 40 °C.

The classical clinical diagnosis in this stage of the disease is based on the typical posture of the patient and on specific pain tests (pressing down the back, local percussion). The diagnosis can be confirmed by ultrasound examination. Adhesions between the reticulum and its surrounding and the hindrance of reticular activity caused by this adhesions can be clearly detected, even by untrained investigators.

About 85 % of all patients with a fresh perforating object can be healed by a therapy that combines the use of a strong (therapeutic) cage magnet (to trap the object) with an antibiotic treatment of the peritonitis for about one week. But too many magnets are given without antibiotics.

The conservative therapy is successful, when the state of health of the cow is not getting worse but starts to get better within two or three days after the beginning of the antibiotic treatment. Signs of improvement are better appetite, increasing amounts of faeces and decreasing fever. The tension of the abdominal wall and the tensed up posture of the body can be present for more than a week.

Complications of acute reticuloperitonitis

A perforating object can injure organs in the neighbourhood of the reticulum. By careful clinical (and ultrasound) examination the risk for such complications can be estimated. By percussion the area of maximum pain can be determined. This area is the point, where the object has probably perforated the reticulum:

Cranially the object may perforate the diaphragm and penetrate in lung or pericardium.

Left laterally the spleen may get injured.

Right cranially the liver may be penetrated.

And to the right, in the pockets between reticulum, abomasum and omasum an increased risk for abscess formation exists.

When the cow does not respond to conservative treatment within two or three days, an explorative rumentomy should be considered.

2) Subacute to chronic traumatic reticuloperitonitis

More complications: Very often the veterinarian is not called in the acute state of the disease. The story is always the same. Either the cow was repeatedly sick for some days (repeated perforations by a pointed object) or the farmer tried to treat the cow in the acute stage with a cheap prophylactic magnet and without antibiotics (peritonitis complications).

Affected animals have lost weight, they look sick. The rumen may be slightly bloated but it is not well filled with food. The pain reactions are no longer clearly detectable. All those animals have a shortened glutardialdehyd-reaction and by ultrasound examination adhesions and sometimes abscesses can be detected.

In each chronic form of traumatic reticuloperitonitis a very careful examination of the patient should be performed: Look for prognostic unfavourable diseases like pericarditis traumatica (congested jugular veins, muffled heart sounds), liver abscess, endocarditis valvularis (pulsation of jugular veins, secondary heart murmur), and signs of vagus indigestion (bradycardia, rumen dilatation, reoccurring tympani, frothy bloat).

Operative treatment of traumatic reticuloperitonitis

Rumentomy in our clinic is performed in GÖTZE´s way, in the left flank of the standing animal with a cutting line parallel to the last rib. A circular suture connects the rumen with the parietal peritoneum and prevents accidentally leaking rumen contents to flow in the abdominal cavity.

In the last 30 years the number of rumentomies in our clinic has dramatically decreased. In average no more than 10 out of about 600 cow-patients receive this treatment. My own experience covers abut 100 rumentomies in 25 years. There were only two cases where I really had to pull a nail out of the reticular wall. In all other cases ferromagnetic objects, often more than one, were connected to a magnet, free lying in the atonic reticulum, or they had already passed in the abdominal cavity.

But the indication for a rumentomy is not only therapeutic but also explorative. During rumentomy the range of adhesions and the severity of peritonitis can be judged. Abscess formation around the reticulum can be detected. And in many cases an abscess can be cured by splitting it through the reticular wall and draining its contents in the rumen.

In cases with vagus indigestion a temporary tube-fistula can be applied in the dorsal angle of the rumen-wound to prevent reoccurring bloat.

Prevention of traumatic reticuloperitonitis

The prophylactic application of a cage magnet is cheap and for years it gives an effective shelter for injuries by ferromagnetic objects. But most German farmers never give magnets to healthy animals.

Correspondence

Dr. Harald Kümper

Fachtierarzt für Rinder, Dipl. ECBHM

Clinic for Ruminants and Swine (Internal Diseases and Surgery)

Justus-Liebig-University Giessen

Frankfurter Str. 110, D-35392 Giessen, Germany

Email: Harald.Kuemper@vetmed.uni-giessen.de

Johne's Control Programs in the USA

Robert Whitlock DVM PhD School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, New Bolton Center, Kennett Square, PA 19348
rhw@vet.upenn.edu

Background: History

Johne's disease has been recognized in the USA since the first description of Johne's in North America by Pearson in 1906. Research to better understand the incubation period, methods of transmission and economic aspects progressed gradually over the years with relatively intensive investigations at Cornell University during the 1950's and later during the 1970's and 1980's with ongoing research efforts at the National Animal Disease Laboratory in Ames, Iowa for several decades after 1960. The herd prevalence of the disease gradually increased, especially in dairy herds as herd size increased often with the purchase of herd replacements.

From a national perspective, during the 1980's, the focus of Johne's disease (JD) management was at the state level with some states developing their own control programs, often focused on testing and culling. Other states such as Wisconsin, Iowa, Indiana and Pennsylvania began implementing vaccination to control JD in heavily infected herds. During this time Pennsylvania was one of the only states to implement an indemnity program designed to provide partial financial compensation to farmers for sending culture positive cattle to slaughter. At peak activity of this program, the state was paying more than $150,000 per year to farmers in addition to providing laboratory testing at no cost.

First National USA Johne's Program:

During the early 1990's a national Johne's task force of state and federal government, extension personal and University researchers and animal agriculture organizations collaborated together under the auspices of the Johne's Committee of the United States Animal Health Association to develop the first national Johne's disease certification program for cattle[1]. Briefly, a comprehensive program was outlined that developed criteria for

cattle herds to be certified at low risk for Johne's disease. Following testing of adult cattle in the herd by either ELISA or fecal culture (negative results) the herd was granted a test negative status. Sequential annual testing with negative results gave a higher probability of being at low risk for JD. The testing had to be completed in laboratories that participated and passed annual ELISA and fecal culture check tests conducted by the National Veterinary Services Laboratory in Ames, Iowa. Although the Certification program was constructed for both beef and dairy herds, the greatest interest and participation in the program was dairy herds. Prior to development of the first national JD certification program, only four states had their own state level certification program: New York, Maryland, Wisconsin and Pennsylvania, while ten other states were actively considering a JD certification program for their state. Eleven states had their own control programs[2].

The JD Certification program expanded slowly over the next few years as more states became involved, but enhanced value of sale of cattle from herds enrolled in the Certification program was never fully realized. The demand for replacement dairy cattle to expand herd size proved to be a major factor outweighing producer concerns if these cattle may be infected with JD. The 1996 National Animal Health Monitoring Study (NAHMS) reported that 55% of US dairy farmers were fairly knowledgeable about Johne's Disease, while 35% did not consider themselves knowledgeable and another 10% had not heard of the disease[3]. This lack of knowledge about JD resulted in an extensive educational effort by the Educational subcommittee of National Johne's Working Group (NJWG)[4].

Although an intense national educational effort was implemented by the NJWG to enhance cattle producers and veterinarian's knowledge about Johne's disease, market forces prevailed especially with large herd expansions (herds > 500 milk cattle). The First National Johne's Certification program was based on alternative year testing by either ELISA or fecal culture. This new national certification program replaced several earlier state programs based entirely on annual fecal culture. Although the new certification program was scientifically sound, it attracted less than an estimated 600 herds in total to participate from all states over a period of four years. Consequently in 1997, the NJWG appointed a committee to develop a more affordable and flexible, yet scientifically sound Johne's herd certification program. The program must be voluntary, provide for flexibility for the owners to remain at any level, and cost less than the 1993 certification program.

The NJWG developed a new Johne's program, called the "United States "Voluntary Johne's Disease Herd Status Program for Cattle" (VJDHSP)[5]. The Status program is based on herd level diagnostics, not individual animal diagnostic criteria. This program was endorsed by the USAHA in 1998 in Minneapolis, MN and now serves as the foundation program for Johne's disease in the United States[5].

The VJDHSP program focused entirely on Johne's test negative herds with no consideration given for infected herds. To assist states, herd veterinarians, and producers dealing with Johne's Disease, the NJWG developed a follow up program for Johne's infected herds. This document, entitled "Minimum Recommendations for Administering and Instituting State Voluntary Johne's Disease Programs for Cattle" is found in the 1999 Johne's Committee report[7]. The current edition (June 1, 2006) of Uniform Program Standards for the Voluntary Bovine Johne's Disease Control Program are available at:

http://www.aphis.usda.gov/vs/nahps/johnes/johnes-umr.pdf and
http://www.johnesdisease.org/National/JOHNE'S%20PROGRAM%20STANDARDS6-1-06%201.pdf

Current Johne's Disease Program in the USA:

The current Voluntary National Johne's Disease Control Program has three major elements: A) Education, B) Management and C) herd testing and classification. Education about JD takes many forms including group workshops, producer discussing JD with the herd veterinarians, lay publications about JD and via the WWW. An excellent site for producers and veterinarians is: **http://www.johnes.org/**

The multifaceted educational effort included the development of an Educational CD of Johne's disease that included 25 power-point slide presentations for both lay and professional agricultural staff including veterinarians. This CD is available at: **http://www.jd-rom.com/main.asp** last accessed May 5, 2007. The cost is approximately $50 for an individual copy. The National Beef Cattleman's Association developed a heavy paper brochure designed for beef producers. A number of USDA extension offices, individual states, regions developed educational pamphlets of Johne's program for their states and constituencies. Many of these educational brochures are available at **http://www.johnesdisease.org/Resources/resources.htm**

The management component is accomplished with a herd risk (RA) assessment completed by a veterinarian certified/trained to do Johne's risk assessments followed up with a herd management plan (HMP). Risk assessment scores are based on visual assessment of each environment and owner responses. Estimate the

risk for fecal/oral and colostrum disease spread, or gap in farm's biosecurity for each management practice. Proceed in your assess from calf risk to the adult cow areas. Note the range of possible scores in each area.

A. Calving Area Risk Factors	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
1. Multiple animal use											
2. Manure build up risk for calf ingestion											
3. Manure soiled udders/ legs											
4. Presence of JD clinicals / suspects											
5. Manure soiled udders/legs											
6. Calves born in other areas											
7. Calves stay with dam 30 min to 24 hrs											
8. Calves nurse dam, Never---Most or all											

Maximum score = 80. Your score is _____. Consider the impact of JD prevalence on ability to reduce risks. Estimate the risk for spreading Johne's in the calving area:

Very Low **Low** **Moderate** **High very high** (circle choice)

B. Preweaned Heifer Risk Factors	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
Fed pooled colostrum, Never-high risk cows											
1. Fed colostrum from individual cow to several calves (as above)											
2. Fed unpasteurized pooled milk JD negative cows to high risk cows											
3. Possible manure contamination of colostrum or milk at harvest, utensils, traffic or people											
4. Possible manure contamination of calf feed or water by cows, traffic splatter, equipment or people											
5. Direct cow contact or potential manure contamination of calf pen by cows, traffic splatter, equipment or people											

Maximum score = 60. Your score is _____. Consider the impact of JD prevalence on ability to reduce risks. Estimate the risk for spreading Johne's in pre-weaned calves.

Very Low **Low** **Moderate** **High very high** (circle choice)

C. Post-Weaned Heifer Risk Factors	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**
1. Direct contact or pen contamination with cows' manure.								
2. Possible manure contamination of feed: refused cow ration, stored feed, equipment, cows, traffic splatter, people or runoff.								
3. Potential for contamination of water: shared with or by cows, traffic splatter, runoff or people.								
4. Share pasture with cows.								
5. Manure spread on forage grazed/harvested same season.								

Maximum score = 35. Your score is _____. Consider the impact of JD prevalence on ability to reduce risks. Estimate the risk for spreading Johne's in post weaned heifers.

Very Low **Low** **Moderate** **High very high** (circle choice)

D. Bred Heifers and Yearling Bulls Risk Factors	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
1. Direct cow contact or contamination with cows' manure.						
2. Possible manure contamination of feed: stored feed, equipment, cows, traffic splatter, people or runoff.						
3. Potential for contamination of water sources: shared with or by cows, traffic splatter, runoff or people.						
4. Share pasture with cows.						
5. Manure spread on forage grazed/harvested same season.						

Maximum score = 25. Your score is _____. Consider the impact of JD prevalence on ability to reduce risks. Estimate the risk for spreading Johne's in bred heifers.

Very Low **Low** **Moderate** **High very high** (circle choice)

E. Cow & Bull Risk Factors	**0**	**1**	**2**	**3**	**4**
1. Possible manure contamination of feed: when fed or stored, by equipment, traffic splatter, runoff, or people. (never to frequently)					
2. Possible manure contamination of water: by cows, traffic splatter, people or runoff.					
3. Direct access to accumulated or stored manure.					
4. Manure spread on forage grazed/harvested same season.					

Maximum score = 80. Your score is _____. Consider the impact of JD prevalence on ability to reduce risks. Estimate the risk for spreading Johne's in the calving area:

Very Low **Low** **Moderate** **High very high** (circle choice)

Sources of additions & Replacements	**1-5**	**6-12**	**13-20**	**21-50**	**> 50**
1. Get additions from Level 2 - 4 Status herds	0	2	4	6	8
2. From low risk herds, level 1 or pretested herds	10	11	12	13	14
3. From single source herds or non-program herds	20	22	23	26	28
4. From multiple sources non-tested or non-program herds or markets	30	34	36	38	40
Maximum score is 60					

Totals scores added together for final assessment

Risk Factor Area	**Max. Score**	**Your Score**
Calving area	80	
Nursing calves	60	
Weaned heifers	35	
Bred heifers	25	
Cows & Bulls	16	
Replacements	60	
Total	276	

The total score for each area decreased as the proportion of risk of transmitting Johne's disease diminishes. The herd RA and MP are the key elements of current United States Johne's control program. The RA is done only by veterinarians trained by state and federal officials approved by the designated state coordinator (DJC). Once certified to perform RA and design HMP, veterinarians must obtain additional training every three years for new information about Johne's disease.

Once the RA is complete then these same certified veterinarians need to outline a herd management plan designed specifically for that herd. The plan is designed to make management and biosecurity changes to reduce the transmission of JD and to reduce the prevalence of JD on that farm. The HMP are not mandatory but voluntary by the producer.

Any laboratory testing that is done is also voluntary and may be subsidized by state and or federal funds. The exact type of testing being done is entirely at the discretion of the veterinarian and farmer. However if the testing is federally supported it must be done in an USDA approved laboratory.

If the herd has Johne's disease, then they are placed in the management tract and proceed with testing as best fits the farm. If the herd does not have Johne's disease, then the farmer may elect to enter the test negative or Status program. The status program has four levels (1 to 4), each with increasing lower risk of Johne's disease present in the herd. The test-negative component must include a herd management plan based on the requirements in the management element. Each higher level represents a greater probability that the herd is free of JD. However, this does not certify that a herd is free of JD. Herds in the test-negative component may remain at any given level by doing monitoring testing or may advance to a higher status with additional testing. The complete details and requirements for the US Johne's Disease Control Program are available at: **http://www.aphis.usda.gov/vs/nahps/johnes/johnes-umr.pdf**

Biosecurity practices and herd management plans. The key to preventing, controlling and eliminating Johne's in a herd is by implementation of rigorous herd management plan designed to reduce MAP exposure to young calves[8]. Factors such as finances, movement of cattle on the farm, maternity and sick cow pen locations, feed delivery to adult cattle, location and structure of feed bunks, personnel issues are but a few of the specific issues that need to be reviewed with the final focus on how to best limit transmission of MAP to young calves. Farm managers should adopt two fundamental control principles: 1) prevent highly susceptible newborn calves and young animals from ingesting manure from infected adults, 2) reduce total farm environmental contamination of MAP by culling infected animals shedding the highest concentrations of MAP. Calves should be separated from their dams at birth and fed single source colostrum from culture negative and or ELISA negative cows. The same management factors that reduce the risk for JD also reduce the risk of other fecal-oral diseases such as salmonella, cryptosporidia, *E. coli* and campylobacter[9].
Fecal culture testing of the whole herd followed by aggressive culling of infected animals is very effective in reducing the prevalence of paratuberculosis in the herd[8]. The risks of transmission of MAP within both dairy and beef herds have been compiled into three major documents, entitled "How to do risk assessments for Johne's disease", a "Handbook for veterinarians and dairy producers" and "Handbook for Veterinarians and beef producers". These documents are available at the national office of United States Animal Health Association (USAHA) and the National Institute Animal Agriculture (NIAA) web site[10]
http://www.johnesdisease.org/Resources/resources.htm Last accessed May 5, 2007.
In herds with low to moderate infection levels (one percent or fewer clinical cases per year), wise use of a combination of testing, culling and biosecurity measures may eliminate clinical disease within one to three years and most infected adults in 5 to 7 years, as the adult cattle are culled over time. Complete elimination of infected cattle is likely to take many years after clinical Johne's disease is no longer apparent. Biosecurity measures should remain in place, or Johne's disease is likely to recur. Herds at low risk for Johne's disease need to be reminded that a major risk factor for Johne's disease is the purchase of replacement cattle from herds of unknown Johne's status. As herd owners continue to expand herd size with the acquisition of purchased animals, Johne's disease is often included in the purchased cattle[11].
Herds with more severe, widespread infection require aggressive control programs and many years to eliminate clinical Johne's disease. These herds should consider Johne's vaccination as one serious alternative to control JD. However, a practical control program and sound herd management can eliminate clinical disease in these

herds and reduce the economic impact of Johne's disease to a minimum. Feeding monensin to heifers and all adult cows should reduce the MAP bio-burden on the farm and therefore reduce transmission to young susceptible calves[13]. Rather than focused attention to detect all MAP shedders, the diagnostic efforts should focus on elimination of those cattle shedding the highest concentration of MAP, i.e. MAP super-shedders[6].

Environmental and pooled fecal samples. Johne's disease continues to be considered a herd disease with more diagnostic efforts designed to detect infection at the herd level as efficiently as possible. Initially serum ELISA tests on 30 second lactation cows or older was designed to fill this need since this sample subset was relatively inexpensive with a rapid turn around time. Over time less expensive and more sensitive alternatives were sought, especially for sheep. An Australian report showed that one positive fecal sample from a sheep with multibacillary paratuberculosis could be readily detected when combined with fecal pellets of 49 uninfected sheep[14]. Later this approach to testing sheep flocks became the standard approach as a sensitive, efficient means to detect MAP infection[14]. Subsequently reports from the USA with cattle manure samples showed that pools of five samples were sensitive to detect infected cows and could be done at a fraction of the cost of whole herd cultures on all adult cattle[15]. In this experimental study, 1:5 and 1:10 pools were tested. The sensitivity of pooled cultures ranged from 30% to 100% and was strongly dependent on pool size and the shedding level of the positive sample (low shedder compared to a heavy shedder). Occasionally culture of the pooled sample will be positive, while each individual sample was found to be culture negative[17, 18]. Evaluation of pooled fecal samples (1:5) in a range of JD infected dairy herds detected at least 88% of samples that contained at least one animal shedding moderate (>10 cfu/tube) to high colonies per tube[19]. Later studies with pools of 10 fecal samples in low prevalence herds proved cost-effective for herd screening and may provide an estimate of MAP infected dairy cows within large herds[19, 20]. Optimal pool size depends on both prevalence and herd size that varied from 3 samples per pool for a 500-cow herd with low prevalence to 5 samples per pool for a 1,000-cow herd with high prevalence[20].

Composite environmental manure samples (a combination of 3-4 manure samples from a specific area) from high cow traffic areas in 64 herds known to be infected with MAP detected 50 (78%) of the 64 herds with positive fecal pools, thus providing evidence that environmental manure samples serve as an excellent proxy to detect herd infection[22]. With refinement of the environmental manure samples composite or pooled manure samples within high cow traffic areas, manure storage areas and manure from pens/lots representing all cow groups within the herd, the diagnostic sensitivity to detect herd infection is further increased[21]. Additional investigations have shown that composite environmental manure samples from high dairy cow traffic sites and manure storage area samples has a greater sensitivity and would be less expensive to detect herd MAP infection than 30 serum ELISA tests of second lactation and older cattle[17,22]. Samples of lagoon water from larger herds (350 to 2500 cows) were significantly more likely to give positive results than composite manure samples from high cow traffic areas[21]. Because composite environmental samples are collected from high cow traffic areas where cows defecate daily, the weather or season of collection should not affect the ability to isolate MAP. Additionally, MAP has been shown to remain viable for long periods in the environment[23-26].

Johne's progress-USA	**2003**	**2004**	**2005**	**2006**	**2007**
Advisory committees	42	44	47	48	49
# States in compliance with VBJDCP at the beginning of year	34	36	43	48	49
# Herds in VBJDCP	4,722	6,189	7,876	8,736	8,674*
Total Status Herds	543	993	1,472	1,779	1,760*
ELISA Tests	549,810	673,299	697,264	784,978	130,178*
Cultures	97,057	101,786	105,685	125,336	23,312*
Pooled Samples				3,093	1,124*
Environmental Samples				1,700	89*

Courtesy Dr. Michael Carter, National Johne's Coordinator, USDA-VS, as of March 28, 2007*.

Summary:
National Johne's Control Program in the United States has implemented a significant educational effort directed toward both producers and veterinarians, which resulted a much greater awareness of Johne's disease by the veterinary profession and farmers, especially dairy producers. Laboratory infra-structure with and national check tests for both serology and organism detection is in place to meet the demand for diagnostic testing for Johne's disease at the current time. New testing formats including pooling of manure samples and testing of composite environmental manure samples is becoming more common and both procedures have been incorporated in the National standards.
A major disappointment of most Johne's investigators has been the lack of full endorsement of the Herd Status or test negative program. Although more herds have qualified for the Status program, the sale of low risk cattle from these herds has not commanded additional sale premiums compared to cattle from non-status herds. Cattle sold from Status herds in Minnesota have brought higher prices, but the overall demand for these cattle has not increased to the point that participation in the Status Program is being valued to the extent necessary to expand the overall Johne's program. This is especially true in the larger dairy herds with more than 1,000 cows. When those herds need replacement cattle for expansion, JD is of little concern, since the bigger concern is to be able to purchase replacement heifers regardless of JD status.
The use of Johne's vaccine continues to used in states where it has been used previously over the years but overall usage but with only modest increases is usage. Some state veterinarians are concerned about the potential increase in tuberculosis in cattle herds and coupled with the fact the current Johne's vaccine will give a positive tuberculin test necessitating a comparative cervical test which is labor intensive and costly to the state and federal government. Recently a 600 cow dairy herd that had been vaccinated for Johne's disease for many years held a dispersal sale and the owner wanted to be able to sell cows to owners in other states. This required that all adult cows be TB tested which resulted in 120 positive caudal fold (TB) tests. Comparative cervical tests had to be done on each cow; fortunately all were negative for tuberculosis based on the comparative cervical test, but the costs to state government officials was significant. Currently, less than 50% of the states allow Johne's vaccine to be used in cattle herds with Johne's disease.
Federal funding of the national Johne's program has decreased over the past five years from a high of nearly $22 million per year to $12 million for the 2007 fiscal year. With decreased federal funding fewer funds are available to support each states JD program resulting in diminished participation by farmers and veterinarians who were paid for the professional time necessary to Risk Assessments and Herd Management Plans. If the federal funds continue to decrease, producer participation will also likely decrease over time, unless a more definitive link is found between Johne's disease and Crohn's disease.
In addition to the well defined voluntary JD herd status program in the USA[5], Australia was one of the first countries to implement a national JD control program. The National Johne's Disease Market Assurance Program for Cattle was launched in 1999[11]. Subsequently both Denmark and Holland[27] and more recently the Canadians have implemented voluntary JD programs[28].

Acknowledgements: This work was supported in part by a research grant from the USDA/ARS Cooperative Agreement entitled "Pilot Study of factors affecting Maintenance of Mycobacterium, salmonella, E coli and Listeria on Dairy Farms (three farms, herds A, B & C)"; USDA-ARS Agreement # 58-1265-3-155 Project # 1265-32000-074-07S.

References:
1. Whipple D, et al, National Paratuberculosis Certification Program, Proceedings United States Animal Health Association Mtg Los Vegas, NV October 23-29, 97:311-316, 1993.

2. Whitlock RH. Johne's Disease Control Programs and Diagnostic Testing by individual States. Proc Livestock Conservation Institute, St Louis, MO, April 14-16, pp 48-54, 1993.

3. NAHMS. 1997. Johne's Disease on U. S. Dairy Operations USDA:APHIS:VS, CEAH, National Animal Health Monitoring System. Fort Collins, CO. #N245.1097. Available at, last citation May 5, 2007.
http://www.aphis.usda.gov/vs/ceah/ncahs/nahms/dairy/#dairy1996

4. Whitlock RH, Adams J, Weber G. National Johne's Working Group (NJWG): Five year review with path forward. Proc 104th Annual Mtg, United States Animal Health Association. Birmingham, AL pp 400-415, October 20-27, 2000.

5. Bulaga LL. U. S. Voluntary Johne's Disease Herd Status Program for Cattle. Proc 102nd Annual Mtg, United States Animal Health Association. Minneapolis, MN pp 420-433, October 3-9, 1998.

6. Whitlock RH et al: RT-PCR & serial dilution of fecal samples to detect MAP Supershedders (SS). Poster # 10, pp 34-35, Proceedings 3rd Annual Conference, JDIP meeting College Station, TX January 19-21, 2007.

7. Whitlock RH, & Rossiter CA. Report of the Committee on Johne's Disease. Proc 102nd Annual Mtg, United States Animal Health Association. San Diego, CA. pp 420-433, October 3-9, 1999.

8. Rossiter CA, Burhans W: Farm specific approach to paratuberculosis (Johne's disease) control, *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 12:383–415, 1996.

9. McKenna SL et al: Johne's disease in Canada part II: disease impacts, risk factors, and control programs for dairy producers, Can Vet J 47:1089-99, 2006.

10. National Institute for Animal Agriculture, Johne's information central, How to do Risk Assessment and Management Plans for Johne's Disease, Dairy Manual, Beef Manual,

http://www.johnesdisease.org/Resources/resources.htm Last accessed February 10, 2007.

11. Animal Health Australia [page on the Internet]; National Johne's Disease Program: Standard Definitions and Rules for Cattle. c2003. Available from: http://www.animalhealthaustralia.com.au/programs/jd/njdcp.cfm Last accessed May 5, 2007.

12. Animal Health Australia [page on the Internet]; The New Market Assurance Programs for Johne's Disease. c2003. Available from: http://www.animalhealthaustralia.com.au/programs/jd/maps.cfm Last accessed February 10, 2007.

13. Whitlock RH et al: Johne's Disease: The Effect of Feeding Monensin to Reduce the Bioburden of Mycobacterium avium Subspecies paratuberculosis in Neonatal Calves, Proc 38th Ann Mtg Am Assoc Bovine Practitioners 191-192, 2005.

14. Whittington RJ et al: Use of pooled fecal culture for sensitive and economic detection of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis infection in flocks of sheep, J Clin Microbiol 38:2550–2556, 2000.

15. Wells SJ et al: Evaluation of bacteriologic culture of pooled fecal samples for detection of Mycobacterium paratuberculosis, Am J Vet Res 63:1207–1211, 2002.

16. Kalis CHJ et al: Culture of strategically pooled bovine fecal samples as a method to screen herds for paratuberculosis, J Vet Diagn Invest 12:547–551, 2000.

17. Raizman EA et al: The distribution of Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis in the environment surrounding Minnesota dairy farms, J Dairy Sci 87:2959-2966, 2004.

18. Wells SJ et al: Evaluation of bacteriologic culture of individual and pooled fecal samples for detection of Mycobacterium paratuberculosis in dairy cattle herds, J Am Vet Med Assoc 223:1022–1025, 2003.

19. Tavornpanich S et al: Evaluation of microbial culture of pooled fecal samples for detection of Mycobacterium avium subsp paratuberculosis in large dairy herds, Am J Vet Res 65:1061-70, 2004.

20. van Schaik G et al: Pooled fecal culture sampling for Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis at different herd sizes and prevalence, J Vet Diagn Invest 15:233–241, 2003.

21. Berghaus RD et al: Environmental sampling for detection of Mycobacterium avium ssp. paratuberculosis on large California dairies, J Dairy Sci 89:963–970, 2006.

22. Lombard JE et al: Evaluation of environmental sampling and culture to determine Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis distribution and herd infection status on US dairy operations, J Dairy Sci 89:4163-71,2006.

23. Jorgensen JB: Survival of Mycobacterium paratuberculosis in slurry, Nord Vet Med 29:267–270, 1977.

24. Richards WD, Thoen CO: Effect of freezing on the viability of Mycobacterium paratuberculosis in bovine feces, J Clin Microbiol 6:392-395, 1977.

25. Whittington RJ et al: Isolation of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis from environmental samples collected from farms before and after destocking sheep with paratuberculosis, Aust Vet J 81:559-563, 2003.

26. Whittington RJ et al: Survival and dormancy of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis in the environment, Appl Environ Microbiol 70:2989–3004, 2004.

27. Benedictus G, Kalis CJ. Paratuberculosis: Eradication, control and diagnostic methods, Acta Vet Scand 44:231–241, 2003.

28. McKenna SL et al: Proposed Canadian Voluntary National Johne's Disease Prevention and Control Program, Can Vet J 47:539–541, 2006.

ELISA

Robert Whitlock DVM PhD School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania, New Bolton Center, Kennett Square, PA 19348
rhw@vet.upenn.edu

Background on ELISA testing:
Sensitivity and specificity of ELISA to detect *Mycobacterium paratuberculosis* infected cattle have been reported in several published reports[1,2]. ELISA sensitivity is nearly always reported in reference to another diagnostic test, usually fecal culture[3-10]. In the two decades since a commercial absorbed ELISA was introduced, the reported sensitivity has gradually decreased from an initial 57%[2] to 45%[10] and most recently to 28%[11]. During the same period, the sensitivity of fecal culture has increased due to modifications such as centrifugation, less severe decontamination and increased fecal sample size (1–2 g)[12.] Most reports estimate ELISA sensitivity in relation to concurrent fecal culture. However, fecal culture sensitivity is rarely reported, since it needs to be compared to another diagnostic modality, such as culture or histological examination of tissues at slaughter.

ELISA Specificity:
The specificity of the absorbed ELISA was estimated at 98.9% based on three ELISA positive serum samples among 274 serum samples from cattle with three or more negative fecal cultures from the same three infected herds. Some of these animals classified as negative or non-infected may have been infected at a low level but remained undetected with three serial fecal cultures. Subsequent reports of ELISA specificity strongly emphasize that calculations of specificity should include only animals with known lack of infection best obtained from repeated test negative herds[1,4]. In a population of 998 cattle from western Australia, where Johne's disease is not present, the absorbed ELISA specificity was 99.8% with only two positive sera[5,14]. The specificity was 99.0% in 196 cattle from certified herds in Wisconsin[5].

ELISA sensitivity:
Initial ELISA tests were only slightly more sensitive than the AGID test; 58% compared to 45% for the AGID test with a 96% specificity. *M. phlei* pre-absorption reduced the false positive reactions without changing the detectable antibody in the sera. The estimated sensitivity of the CSL/IDEXX Johne's absorbed ELISA was 45–65%. Fecal culture sensitivity to detect infected cattle ranged from 40 to 50%[10]. A simple comparison would suggest the sensitivities were similar, but a critical review suggests this is not the case.

In three Australian dairy herds with a history of up to 5% annual loss due to clinical Johne's disease, the absorbed ELISA detected 30 of the 53 infected animals (57% sensitivity) and 20 of the 24 animals reported to have clinical signs (83% sensitivity)[8]. In nine experimentally infected calves all developed positive fecal cultures prior to seroconverting with a positive Johne's ELISA test[2]. Milner[2] goes on to state, "Animals in the early stages of infection, even if shedding the organism, cannot necessarily be identified by ELISA because months or even years may elapse before seroconversion, thus limiting the value of the ELISA and any other serological tests in any scheme for the eradication of Johne's disease". Milner clearly states that the sensitivity of the ELISA depends on the stage of the disease, with a higher sensitivity in the later stages or clinical phase of the disease. As emphasized by Sockett[4,13], animals included in calculations of sensitivity should represent not only the full range of infected animals but also include samples in proportion to animals in each stage of infection.

The "Iceberg effect"[15] for Johne's disease suggests that for every animal with clinical signs that was born in the resident herd, another 15–20 animals will be infected with *M. paratuberculosis*. A small proportion will be detectable by ELISA with others positive by fecal culture. Most of the infected animals will not be detected as positive until subsequent fecal cultures or the tissues are examined at slaughter for the Johne's organism[16]. However, one may estimate the number of infected cattle in a herd with several cases of clinical Johne's disease. With 24 clinical cases[8] (×15), one would estimate 360 additional infected cattle in the three herds tested (327 cattle tested) with 5% clinical disease prevalence. Based on the prospective epidemiological data now available, most of the adult cattle in each studied herd were infected, although not confirmed fecal culture positive by the techniques used at the time.

Sockett[13] evaluated four serologic tests in 177 subclinically infected cattle and 196 uninfected cattle. The absorbed ELISA sensitivity was 43.4% for all infected cattle (177), 56.5% for cattle (108) shedding detectable *M. paratuberculosis* in feces, and 24.6% for (69) non-fecal shedding cattle. Cattle classified as infected included those with a positive fecal culture or *M. paratuberculosis* isolated from tissues. Infection was determined by several techniques including the conventional fecal culture without centrifugation, BACTEC system, or DNA probe. These detection techniques are not as sensitive as current fecal culture techniques using centrifugation and with a larger sample size (2 g) which should detect fivefold more infected cattle among the 632 cattle tested in the five infected herds.

Further evidence of the existence of infected, but non-detected cattle is the proportion of non-shedders to shedders. Only 35 additional cattle (108 initial shedders) were detected as positive during four additional fecal culture tests done over the following 2 years. Results from the University of Pennsylvania[17] indicate that seven additional herd fecal tests detected nearly 150% (91) additionally infected animals than that were detected on the first fecal culture test (67). This incremental number neither accounts for the proportion of the original cohort culled and not included in subsequent tests nor those animals found to have infected tissues at slaughter that were repeatedly and always fecal culture negative. If culled animals not tested were accounted for in future tests, the initial herd fecal culture test using a sensitive technique with centrifugation would detect less than 30% of total infected cattle in a typically infected herd[17]. Thus, it is likely that many infected cattle from the nine infected herds (632 animals) included in Sockett's evaluations were never detected as infected, resulting in an overestimation of the test sensitivity for the absorbed ELISA and other serological tests. The AGID test sensitivity of 26% (47 of 177 infected animals) provides further evidence of the overestimate of test sensitivity. In the author's experience, it is rare that the AGID test will detect 26% of infected animals. However, a large number of AGID positive animals is indicative of a much larger number (5–10-fold increase) of infected cattle in the herd, or that the entire herd of adult cattle is infected. This may be the case for three of the herds (G, H, I) in Sockett's report.

Ridge[14] compared the absorbed ELISA and the CF test using serum from Australian cattle and serum from the National Repository from Wisconsin[13]. The sensitivity for clinically infected cattle was 88% which is compatible with other reports (Sweeney: 87%; Milner: 83%). In 43 Australian cattle and 150 US cattle with subclinical infection, the sensitivity of the ELISA was 48.8 and 47.3%, respectively, for the two groups. The Australian cattle were the same animals included in the Milner report and the USA cattle were the same as the Sockett study. Overestimates of test sensitivity for both reports are similar: use of an insensitive fecal culture test and under detection of truly infected animals as discussed above.

Of those animals detected by a sensitive fecal culture at the time of the first fecal culture using centrifugation, the estimated test sensitivity of the absorbed ELISA test would be approximately 15%. The lower sensitivity (15%) of the absorbed ELISA is similar to the data presented by Sweeney[10] for subclinical infection or low shedders (15%). Apparent test sensitivity in detecting clinical cases was similar for both Sweeney and Collins, 87 and 88%, respectively. Sweeney further divided subclinical infections as heavy and light shedders. The ELISA test sensitivity for these subgroups differed significantly, 75% for high shedders compared to 15% for low shedders. Thus, the extent of fecal shedding becomes a major determinant concerning sensitivity for the absorbed ELISA and perhaps any serological test. Cattle shedding few organisms (less than 10 total colonies on four tubes) are much less likely to be seropositive compared to heavy shedders (>70 colonies per tube).

The number of animals in each stage of infection in the population to be tested is the critical issue concerning sensitivity of the ELISA test. Based on the information presented in 2503 fecal cultures from 10 herds, cultured four times, approximately 70% of infected cattle should be classified as low shedders (less than 10 colonies per tube), 20% as high shedders (more than 50 colonies per tube) and 10% as mid-shedders (10–50 colonies per tube)[17]. Based on the sensitivity data presented by Sweeney [10)], this would estimate the overall ELISA sensitivity to be 25% for herds of cattle with distributed stages of infection as described (Table 1). This estimated ELISA sensitivity does not include animals tested but found to be fecal culture positive in the future, nor those infected animals only detected by examination of the tissues at slaughter.

Table 1. ELISA sensitivity based on the population of adult cattle in each category

Category	ELISA sensitivity	% of adults in this category	Number detected
Clinical cases	87%	5	4.4
High shedders	75%	20	15
Mid-shedders	50%	5	2.5
Low shedders	15%	70	2.7
Total		100	24.6

Further evidence that cattle shedding few organisms have less antibody, and therefore, not likely to be detected by ELISA antibody test was described in a national survey of laboratories to test both fecal samples for organisms and serum samples for antibody. Twenty-four animals were fecal culture positive in one laboratory, yet only three of the 24 animals were positive by the IDEXX absorbed ELISA test, an apparent sensitivity of 13%. If all fecal samples tested by all laboratories were included (32 culture positive), the apparent sensitivity of the absorbed ELISA decreased to 9%[18].

In a heavily infected herd of 125 adult dairy cattle, with no current evidence of clinical Johne's disease, but with a history of one to three confirmed clinical cases each year, 70 cows were found to be culture positive with 27 absorbed ELISA positive sera on a single herd test. The ELISA test sensitivity for this herd was 39%. In the author's experience using both fecal culture and ELISA tests on the same cohort of cattle, positive fecal cultures outnumber the positive ELISA samples threefold. The authors emphasize that lack

of diagnostic serosensitivity to detect lightly infected or stage 1 cattle is not an inherent defect with the absorbed ELISA test but characteristic of *M. paratuberculosis* infection in cattle. Most cattle in stage 1 are lightly infected, have negative fecal cultures and essentially no detectable antibody in serum or plasma samples.

Recently (2005), five ELISA tests for Johne's disease were evaluated in 359 cattle from test negative or status herds and 2,094 cattle from seven known dairy infected herds[11]. Three independent laboratories using three different fecal culture methods completed fecal cultures on all fecal samples from these 2,453 cattle found 417 cows to be shedding MAP. The specificity of three ELISA's , two on serum and one on milk was =/> than 99.8%. The specificity of the two remaining ELISA tests both done on serum was 94.9% and 84.7%. Four of the five ELISA tests had a sensitivity to detect fecal shedding cattle of 27.8% to 28.9%. The other ELISA test with lower specificity (84.7%) had the highest sensitivity to detect fecal shedders (44.5%), but if the cut-off for specificity of the ELISA was increased to make it similar to the other four ELISA tests (97.5%), then the sensitivity dropped to 31.8%. The authors concluded, if the tests were used judiciously and quantitatively, these ELISA tests would be useful tools for a JD control program[11]. The sensitivity of any one of the four more specific assays to detect cows as positive at any MAP shedding level was not different. Additionally, there was a direct relationship between the level of fecal shedding and the percentage of positive assays. At lowest MAP shedding level the ELISA tests detected 6.9% to 28.6% (mean = 13.3%) of the cows and the mean sensitivity of all assays[10] increased to 27.3%, 54.9% and 78.4% for the highest shedding level. As reported in earlier JD ELISA reports, cows at the highest level of MAP fecal shedding, approximately 20% of these highly infectious cows are ELISA negative, ie not detected as positive, although contributing massive numbers of MAP bacteria to the environment.

Likelihood Ratios and ELISA interpretation:
Utilization of the magnitude of the positive ELISA test may be enhanced by converting the S/P ratio to the odds ratio of a test result giving a positive result, in this case by being culture positive. Likelihood ratios are superior to positive predictive values (PPV) since the PPV is a function of prevalence. Essentially, as the odds ratio or likelihood ratio increases the more likely the test result indicates the cow will be culture positive. For further information the reader is referred to the paper by Collins[20].

False Positive ELISA test results:
Over the past five years reports periodically find an unusually large number of what seems to be false positive ELISA test results that lack epidemiologic evidence supporting a high number of positive ELISA results. One particular case occurred in a Pennsylvania professional heifer raising facility. Calves were brought to the facility less than one week of age and raised in group pens until ready to return to their home farms as pregnant heifers. At capacity the facility held 4,000 cattle from calves to 20 months of age. To emphasize the biosecurity, bred heifers were tested for Johne's disease with a commercial ELISA test at the state diagnostic laboratory. The expectation was to have negative tests, but unexpectedly, 20% of the serum samples were test positive. These unexpected positive tests resulted in a flurry of activity to determine if these heifers were truly infected with MAP or were these false positive ELISA tests. First more blood samples were taken to determine if they were repeatable, yes. Then fecal samples were submitted for PCR testing without clear cut results, a few PCR tests were positive. But in the final analysis the results were false positive ELISA tests.

Among regions of the USA, the southern states and perhaps Texas cattle seemed to have the highest occurrence of false positive ELISA test results. On more than one occasion this results in lawsuits among purebred cattlemen. Results of herd screening of Texas beef cattle found more false positive ELISA tests results using a commercial than expected[21]. This phenomenon of false positive Johne's ELISA tests was the subject of several investigations from personnel at Texas A & M University. One potential reason for the false ELISA positive Johne's tests was exposure of beef cattle to soil mycobacteria other than MAP that induces antigenic stimulation producing cross-reacting antibodies. These mycobacteria are often referred to as environmental or atypical mycobacteria or Runyon group mycobacteria. Some of these

isolates have sufficient genetic DNA homology with MAP to give false positive reactions on the PCR test[22]. Interestingly, Osterstock noted that both humans and cattle have had false positive tuberculin response in certain geographic of the USA[23]. The greatest number of tuberculin reactions was from people in the southern parts of the USA including Texas. Using mycobacterial isolates obtained from manure samples of cattle from Texas, calves were experimentally infected calves did give periodic positive tests of two commercially available Johne's ELISA tests. They concluded at least on some occasions this occurrence of false positive ELISA tests were attributable to environmental mycobacteria[23].

Another study by the Texas A & M investigators evaluated the frequency of isolation of environmental mycobacteria from beef cattle in herds with an unusually high rate of false positive Johne's ELISA tests compared to herds in the same geographic area but without high rates of positive ELISA results[24]. Environmental mycobacteria were 9.4 times more likely to be isolated from manure samples of cattle in the high ELISA positive herds compared to cattle in the lower positive ELISA herds. *M. scrofulaceum* was the most prevalent isolate of the non-MAP species of organisms found in manure samples. These findings are similar to Falkingham's studies that reported higher isolations of *M. scrofulaceum* in water samples in southern costal areas compared to the northeast areas. The Texas authors suggested farm ponds or stagnant water may serve as water sources for pastured beef cattle may provide the environmental conditions for these non-MAP bacteria to grow and expose cattle. *M. avium* complex were the second most common isolates found in manure samples of ELISA positive cattle[24]. Another report from the Texas group indicated no seasonality was detected in cattle with high positive ELISA values[25]. They further found no seasonality associated with any detectable differences in fecal shedding of beef cattle.

Previous investigations with calves orally inoculated with *mycobacterium avium* or *intracellulare* will develop abnormal or false positive reactions to tuberculin[26]. Other investigators have also reported that cattle exposed to environmental mycobacteria develop sensitivity to the tuberculin test[27-29]. Exposure of cattle to these environmental mycobacteria is affected by factors that can be predicted geographically. For example, Falkingham found the frequency of isolation of *M. Intercelullare*, *M. avium* and *M. scrofulaceum* from water sources was greater in the southeast than in northeastern states[30]. The author is aware of a 120 cow closed dairy herd in New York that was fecal test negative annually for over 6 years, then suddenly had a number of positive Johne's ELISA tests. Subsequent investigation found a large number of migratory geese had been using their farm pond as a temporary home. The geese were thought to be carriers on mycobacteria that sensitized the cows to give false positive reactions. Similar occurrences of false positive Johne's ELISA tests have occurred across the United States in states such as North Dakota, Maryland, Ohio, and Pennsylvania. Occasionally these false positives were thought to be related to specific kit lots from the manufacturers and not to geographic factors.

Milk ELISA testing:

The most commonly used test for the diagnosis of Johne's disease in the United States today is the blood ELISA, with nearly 800,000 tests run this past year (2006). Results are typically available within 7 to 10 days. Both the blood and milk Johne's ELISA measures the level of antibody present. Unfortunately, MAP does not stimulate a detectable antibody response until many months or several years after the animal has been infected. Most cattle become infected as young calves, as this is the time they are most susceptible to the Johne's organism. Based on current evidence the antibody against the Johne's organism begins to appear in the adult cow at about the same time in blood and in milk, but at different concentrations, with the level being much lower in milk. Thus, the milk ELISA test must be run using lower dilution levels for milk than for either serum or blood. Both the blood and the milk ELISA tests are reported as negative or positive and if positive, then scored as to the strength of the positive reaction. The ELISA score is based on a comparison of the sample results to those from a positive control and is called the S/P ratio. The higher the ELISA score (S/P ratio) the more likely the cow is infected with Johne's disease. Milk ELISA tests are reported in the same manner.

During the 2002 Dairy NAHMS study, milk samples were compared to blood samples using the Johne's ELISA test. The correlation between test results was quite high, providing additional evidence that milk

ELISA testing for Johne's disease in dairy cattle was a viable option for use by producers. One publication by investigators from Wisconsin, Minnesota and Pennsylvania reported that both the sensitivity and specificity (absence of false positive tests) of the milk ELISA test for Johne's disease was similar to that of the serum (blood) ELISA.

There are two major advantages of the milk ELISA over blood ELISA. The first is that milk samples are taken at monthly intervals for routine DHIA testing. This saves the hassle of having the cows restrained to take a blood sample as well as the cost of having a veterinarian take the blood samples. The second advantage is that since the samples are routinely available at monthly intervals, the dairyman may choose which cows to test at what times, thus providing the opportunity of "target testing" such as at time of dry-off or when cows are checked for pregnancy.

Some dairymen prefer testing at dry-off, so that ELISA positive cows can be more easily segregated at calving time to help prevent the spread of Johne's to other cattle. Additionally, the colostrum from ELISA positive cattle would not be fed to new-born calves thus reducing the risk of transmission of the Johne's organism via colostrum. If there are other reasons for culling a cow, such as bad feet or chronic mastitis, a positive ELISA test provides an additional reason to cull that cow prior to calving.

With any ELISA test, blood or milk, some infected cows (as determined by fecal culture) will test negative. ELISA tests do not detect about 15-20% of the cows identified as heavy shedders by a fecal culture test. A higher percentage of moderate (~50%) and low shedders (~75%) will be missed with either ELISA test. ELISA tests were originally designed as herd tests to detect Johne's infection in a herd and not to manage individual cows. As both producers and veterinarians have become more experienced with ELISA testing, they are increasingly being used to manage individual cows thought to have Johne's disease. Critical assessment of the actual ELISA value helps, since as Johne's infection progresses in the individual cow, the antibody concentration usually increases over time giving a higher ELISA score. Fecal culture of ELISA positive cows is one of the best methods to determine the true situation regarding Johne's status. If the fecal sample from an ELISA positive cow is negative, then the ELISA test should be regarded as a false positive. This may occur relatively frequently in herds with a low prevalence of Johne's disease.

Currently the milk ELISA test has not been approved by the USDA-Center for Veterinary Biologics (CVB), however AntelBio is in the process of submitting data to seek approval. Three companies have been approved by USDA-CVB to market a serum (blood) ELISA test. Although three blood ELISA test have been approved by the USDA-CVB, blood tests are **not** recognized as "official" tests according to the Code of Federal Regulations (CFR). Only organism based tests are recognized as "official" tests to determine if an animal is truly infected with the causative organism for Johne's disease.

Most testing (blood, milk or fecal samples) done for Johne's disease is done annually which leads some herd veterinarians to classify test negative animals as not infected or at low risk. However, cattle infected with the Johne's mycobacteria do progress over time and some of the test negative cattle will be test positive within a year's time. These positive animals can shed millions of Johne's bacilli per gram in their manure which can then infect other exposed cattle. The rate of progression to develop either antibody or clinical Johne's disease is highly variable; some cattle will progress rapidly while others may progress slowly over several years. Thus, a negative test, ELISA or fecal culture, indicates test results for a single point in time and continued testing must be completed in order to fully understand the Johne's status of both the individual animal as well as the herd.

Canadian dairymen began using the milk ELISA in May 2005 in Ontario and now have expanded testing to include the western Provinces of Manitoba, Saskatchewan, Alberta and British Columbia. The Canadian Johne's testing program is based on the milk Elisa test offered by AntelBio in Michigan. The test is offered by Canadian Dairy Herd Improvement Association which facilitates collection and shipping milk samples and simplifies record maintenance for the Johne's program. As in the U.S., the program includes on-farm risk assessment and education components.

The milk ELISA serves as the foundation for the Canadian Johne's program, whereas in the United States, the milk ELISA serves as an informal, unofficial test available to producers, but it is not recognized as part of the official Johne's program. That may soon change based on the level of interest by producers and the increased scientific basis for using the test as an appropriate tool for dairymen to manage their herds to both prevent introduction of infected cattle and mange known infected herds.

Web sites that provide further information about Johne's disease and the milk ELISA:
http://www.johnesdisease.org/
http://www.canwestdhi.com
http://www.antelbio.com/
http://www.johnes.org/

Gamma Interferon Tests. An ELISA test to measure gamma interferon, a mediator released by sensitized T-lymphocytes in response to stimulation by specific mitogens may be a useful diagnostic tool in the future. Current studies suggest that the gamma interferon test may be more sensitive than other currently available serologic tests[31-33]. At this time, a commercially available gamma interferon is available, but the kit does not include an antigen for MAP and the laboratory has to provide an antigen. Research suggests the gamma interferon has promise, if a well characterized and reproducible antigen can be consistently manufactured.

Summary:
Only repeated serial testing of cattle, including youngstock, from infected herds will provide the data to determine the true infection rates within infected herds. Based on the survey of 10 herds tested repeatedly over 4 years the estimated sensitivity of fecal culture is 33%. The specificity of fecal culture has been accepted as 100%. The reported overall sensitivity of the absorbed ELISA test ranges from 40 to 55%, but most often in relationship to an insensitive fecal culture method. However, the sensitivity of the ELISA test is highest for those animals in the later stages of the disease, usually when the animals develop clinical signs. The lowest reported ELISA sensitivity is for low shedders, those animals only shedding a few colonies detectable with a sensitive fecal culture. Estimated ELISA sensitivity for stage 1 animals infected, but not detectable by culture is unknown. However, these authors believe the absorbed ELISA sensitivity for stage 1 animals will be very low (<10%). Overall, the absorbed ELISA detects approximately 35% of the animals that will be found positive by concurrent fecal culture.

Acknowledgements This work was supported in part by a research grant from the USDA/ARS Cooperative Agreement entitled "Pilot Study of factors affecting Maintenance of Mycobacterium, salmonella, E coli and Listeria on Dairy Farms (three farms, herds A, B & C)"; USDA-ARS Agreement # 58-1265-3-155 Project # 1265-32000-074-07S.

References:
1. Collins MT, Sockett DC. Accuracy and economics of the USDA-licensed enzyme-linked immunosorbant assay for bovine paratuberculosis. J Am Vet Med Assoc 203:1456–1463, 1993.

2. Milner AR, Lepper AWD, Symonds WN, Gruner, E. Analysis by ELISA and western blotting of antibody reactivities in cattle infected with Mycobacterium paratuberculosis after absorption with M. phlei. Res Vet Sci 42:140–144, 1987.

3. Collins MT, Sockett DC, Ridge S, Cox JC. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbant assay for Johne's disease. J Clin Microbiol 29:272–276, 1991.

4. Sockett DC, Conrad TA, Thomas CB, et al. Evaluation of four serological tests for bovine paratuberculosis. J Clin Microbiol 30:1134–1139, 1992.

5. Ridge SE, Morgan IR, Sockett DC, et al. Comparison of the Johne's absorbed EIA and the complement fixation test for the diagnosis of Johne's disease in cattle. Aust Vet J 68:253–257, 1991.

6. Collins MT, Diagnosis of paratuberculosis. Vet Clin North America: Food Anim Pract 12:357–371, 1996.

7. Cox JC, Drane DP, Jones SL, Ridge S, Milner AR. Development and evaluation of a rapid absorbed enzyme immunoassay test for the diagnosis of Johne's disease in cattle. Aust Vet J 68:157–160, 1991.

8. Milner AR, Mack WN, Coates KJ, Hill J, Gill I, Sheldrick P The sensitivity and specificity of a modified ELISA for the diagnosis of Johne's disease from a field trial in cattle. Vet Microbiol 25:193–198, 1990.

9. Sockett DC, Conrad TA, Thomas CB, Collins MT. Evaluation of four serological tests for bovine paratuberculosis. J Clin Microbiol 30:1134–1139, 1992.

10. Sweeney RW, Whitlock RH, Buckley CL, Spencer PA. Evaluation of a commercial enzyme-linked immunosorbant assay for the diagnosis of paratuberculosis in dairy cattle. J. Vet. Diagn. Invest. 7:488–493,1995.

11. Collins MT, Wells SJ, Petrini KR, et al. Evaluation of five antibody detection tests for bovine paratuberculosis. Clin Diagn Lab Immunol 12:685–692, 2005.

12. Whitlock RH, Bruce JB, Spencer PA, Hutchinson LJ. Proceedings of the 69th Conference of Research Workers on Animal Disease, p. 24 (Abstr), 1988.

13. Sockett DC, Carr DJ, Richards WD, Collins MT. A repository of specimens for comparison of diagnostic procedures for bovine paratuberculosis. J Vet Diagn Invest 4:188–191,1992.

14. Ridge SE, Morgan IR, Sockett DC, Collins MT, Condron RJ, Skilbeck NW, Webber JJ. Comparison of the Johne's absorbed EIA and the complement-fixation test for the diagnosis of Johne's disease in cattle. Aust Vet J 68: 253–257,1991.

15. Whitlock RH, Buergelt C. Preclinical and clinical manifestations of paratuberculosis (including pathology). Vet Clin North America: Food Anim Pract 12: 345–356,1996.

16. Whitlock RH, Rosenberger AE, Sweeney RW, Spencer, PA. Distribution of M. paratuberculosis in tissues of cattle from herds infected with Johne's disease. In: Proceedings of the Fifth International Colloquium on Paratuberculosis, Madison, WI, September 29–October 4, pp. 168–174,1994.

17. Whitlock RH, Hutchinson LT, Sweeney RW, Spencer, PA, Rosenberger AE, Van Buskirk MA. Pattern of detection of M. paratuberculosis infected cattle in 10 dairy herds cultured every six months for four years. In: Proceedings of the Fourth International Colloquium on Paratuberculosis, July 17–21, St. John's College, Cambridge, UK, pp. 47–53, 1994.

18. Whitlock RH, Rosenberger AE, Sweeney RW, Spencer PA. National survey of diagnostic laboratories: the performance of fecal culture and serologic testing for Johne's disease. In: Proceedings of the Fifth International Colloquium on Paratuberculosis, Madison, WI, September 29–October 4, pp. 242–249, 1996.
19. Sockett DC, Carr DJ, Richards, WD, Collins MT. A repository of specimens for comparison of diagnostic procedures for bovine paratuberculosis. J Vet Diagn Invest 4:188–191, 1992.

20. Collins MT. Interpretation of a commercial bovine paratuberculosis enzyme-linked immunosorbent assay by using likelihood ratios. Clin Diagn Lab Immunol. 9:1367-71, 2002.

21. Roussel AJ, Libal MC, Whitlock RL, et al. Prevalence of and risk factors for paratuberculosis in purebred beef cattle. J Am Vet Med Assoc. 226:773–778, 2005.

22. Cousins DV, Whittington R, Marsh I, et al. Mycobacteria distinct from Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis isolated from the faeces of ruminants possess IS900-like sequences detectable IS900 polymerase chain reaction: implications for diagnosis. Mol Cell Probes 13:431–442, 1999.

23. Osterstock JB, Fosgate GT, Norby B, Manning EJ, Collins MT, Roussel AJ. Contribution of environmental mycobacteria to false-positive serum ELISA results for paratuberculosis. J Am Vet Med Assoc. 230:896-901, 2007.

24. Roussel AJ, Fosgate GT, Manning EJ, Collins MT. Association of fecal shedding of mycobacteria with high ELISA-determined seroprevalence for paratuberculosis in beef herds. J Am Vet Med Assoc. 230:890-5, 2007.

25. Strickland SJ, Scott HM, Libal MC, Roussel AJ Jr, Jordan ER. Effects of seasonal climatic conditions on the diagnosis of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in dairy cattle. J Dairy Sci. 88:2432-40, 2005.

26. Jørgensen JB. Pathogenicity and immunogenicity of atypical mycobacteria for calves: a short summary. Rev Infect Dis 3:979–980, 1981.

27. Corner LA, Pearson CW. Response of cattle to inoculation with atypical mycobacteria isolated from soil. Aust Vet J 55:6–9, 1979.

28. Pearson CW, Corner LA, Lepper AW. Tuberculin sensitivity of cattle inoculated with atypical mycobacteria isolated from cattle, feral pigs and trough water. Aust Vet J 53:67–71, 1977.

29. Corner LA. The duration of the response of cattle to inoculation with atypical mycobacteria. Aust Vet J 57:216–219, 1981.

30. Falkinham JO, Parker BC, Gruft H. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. I. Geographic distribution in the eastern United States. Am Rev Respir Dis 121:931–937, 1980.

31. Zurbrick BG, Czuprynski CJ: Ingestion and intracellular growth of Mycobacterium paratuberculosis within bovine blood monocytes and monocyte-derived macrophages, Infect Immun 55:1588–1593, 1987.

32. Wood PR et al: Field comparison of the interferon-gamma assay and the intradermal tuberculin test for the diagnosis of bovine tuberculosis, Aust Vet J 68:286–290, 1991.
33. Stabel JR: Transitions in immune responses to Mycobacterium paratuberculosis, Vet Microbiol 77:465–473, 2000.

"SALA DE ORDEÑO: COMO PREVENIR PROBLEMAS DE FORMA SENCILLA".

D. ANTONIO PALOMINO

INTRODUCCIÓN.

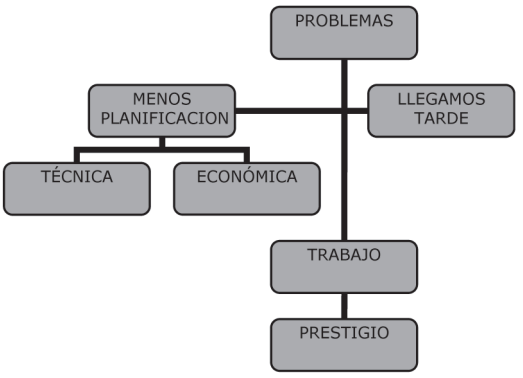
Nos acercamos cada vez más a granjas con un tamaño medio más elevado, esto supone un cambio en la mano de obra con una mayor especialización en algunos aspectos de la granja como es el caso de la obtención de la leche.

El control general de todos los aspectos de la granja por cada individuo de la misma va dando paso a un control más especializado por areas, donde la habilidad del productor por motivar a los empleados dara mayores resultados en la calidad de la leche.

Todos conocemos o al menos intuimos los efectos negativos que ejercen la máquina de ordeño sobre la ubre de la vaca, basta teclear en cualquier página especializada "teat" y aparecerán cuantiosos artículos sobre el efecto de los sistemas de ordeño sobre el estado del pezón y en consecuencia sobre la ubre y la calidad de la leche.

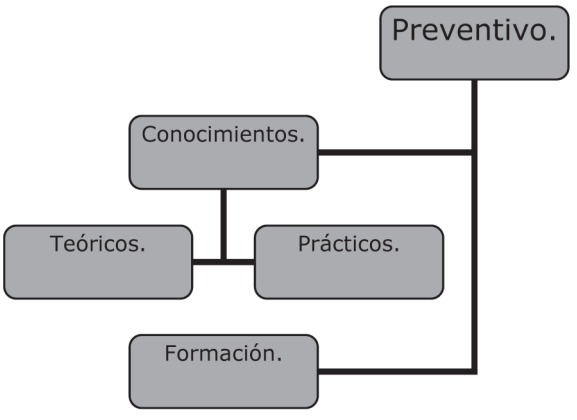
El mismo efecto que se ejerce sobre la ubre también se ejerce sobre el ánimo del productor y especialmente sobre el ambiente en la sala de ordeño. La responsabilidad de controlar la mamitis pasa directamente por los empleados de la sala de ordeño, sin embargo el efecto que ejerce sobre la misma el estado de las instalaciones, la alimentación o el crecimiento de la granja no son controlables por ellos.

Si necesitamos depositar nuestra confianza como técnico o productor sobre los empleados de la sala de ordeño es necesario que le aportemos todas las ventajas posibles y disminuyamos los imprevistos. Un buen estado de camas y zonas de paso limpias formaría parte de las ventajas, el mantenimiento de la sala de ordeño lo sería de los imprevistos.



No perder nuevas oportunidades de trabajo sería un buen título para esta conferencia, solucionar problemas derivados del mantenimiento de la máquina de ordeño es tan solo dar un paso atras en la planificación técnica y económica de la granja, o mejor dicho de la empresa. Aunque inicialmente la resolución de estos problemas nos de prestigio y trabajo, en definitiva queda el mal sabor de saber que se ha llegado tarde. Por tanto no perdamos nuevas oprtunidades de realizar nuestro trabajo como "preventivistas" y que mejor momento que la adquisición de una nueva sala de ordeño, no solo podemos asesorar sobre las necesidades técnicas o económicas de la nueva instalación, tambien ha llegado el momento de establecer los costes en mantenimiento de la nueva sala y por supuesto asegurarnos que nuestro trabajo y el de los empleados sea más sencillo, esto permitira buscar lo que nos interesa a todos ***producir leche***.

¿QUE ENTENDEMOS COMO MANTENIMIENTO?



Podemos verlo desde dos puntos de vista distintos con resultados económicos antagónicos,por un lado el mantenimiento como mecanismo preventivo y por tanto función primordial para que la instalación y todos sus instrumentos trabajen eficazmente; por otro como mantenimiento correctivo sobre problemas ya creados, con mayor o menor grado de ineficiencia económica.

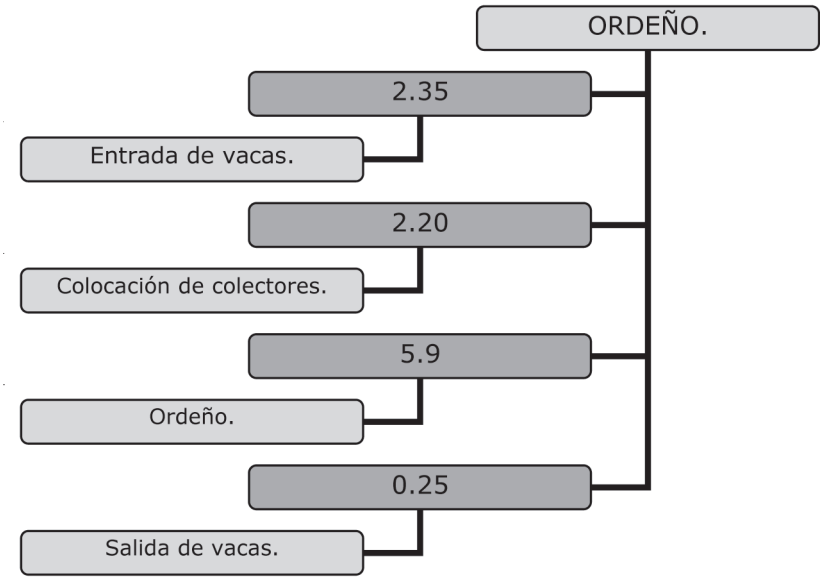
Nuestro objetivo debe ser preservar las instalaciones de ordeño y para ello hay que anticiparse, para que esto pueda realizarse no solo el técnico tiene que tener conocimientos teóricos y prácticos sobre el instrumental de ordeño, también hay que conseguir implicar al productor y los empleados; ***gastar dinero y tiempo en mantener aquello que desconocemos su uso sera una tarea difícil.***

¿PARA QUE SIRVE?

La sala de ordeño es sin duda la mayor inversión a realizar en una nueva explotación, al tratarse de un sistema de producción su coste no solo debe hacer frente al gasto que supone su adquisición también debe generar renta, obtener ingresos.

El mantenimiento debe permitir:

- Disminuir al mínimo las averias.
- Aumentar al máximo la duración de la sala.
- Conseguir el mayor rendimiento posible del grupo de trabajo (ordeñadores).



Respecto al último punto hay que tener en cuenta que un grupo de trabajo tiene que realizar tres fases Preordeño, Ordeño y Posordeño. Entendamos Preordeño como el inicio del ordeño con el movimiento de animales desde los patios hasta la sala de ordeño, siendo Posordeño la fase contraria; serían dos fases en el trabajo de los ordeñadores donde el Mantenimiento no afectaría en nada. No ocurre lo mismo con la fase de Ordeño, cualquier alteración del sistema de ordeño debido a un mal Mantenimiento supone alterar la rutina de ordeño.

Un mal Mantenimiento de la estructura afectara a la entrada de vacas, un punto de ordeño que no funciona afectara a la colocación de colectores, unos retiradores en mal estado afectaran al tiempo de ordeño y por último de nuevo un mal mantenimiento de la estructura volvera afectar a la salida de las vacas; en definitiva una alteración de la rutina tanto para los ordeñadores como para las vacas, si los objetivos es incrementar la producción, reducir el tiempo de ordeño y mejorar el estado de la ubre, dificilmente lo podremos conseguir con imprevistos relacionados con el mantenimiento.

¿DONDE APLICARLO?

Para realizar rapidamente y de forma correcta el mantenimiento es necesario organizar todos los procesos de trabajo de la granja. Esto supone que debe adaptarse a cualquier programa de ordeño, independientemente del número de ordeñadores, frecuencia de ordeño y número de vacas en lactación.

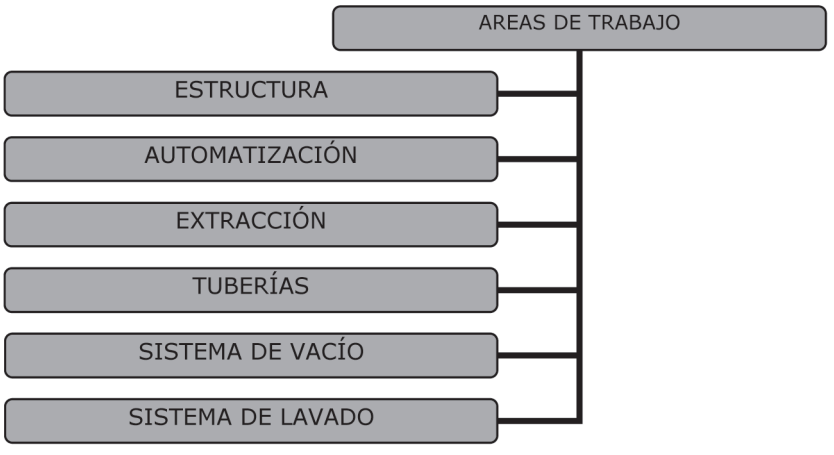
Hay que conocer el tiempo real o aproximado necesario para realizar el ordeño y lavado de la máquina, el intervalo entre ordeños sera el tiempo disponible para realizar mantenimiento.

El número de ordeñadores y sobre todo las horas contratadas, así como las tareas externas al ordeño (si existieran) que realizan determinaran la posibilidad de realizar el mantenimiento por personal del ordeño, personal de mantenimiento de la granja o el servicio técnico. Una tarea que parece sencilla como renovar loas pezoneras puede ser un problema serio de organización si las tareas totales de las granjas ya están definidas y por tanto el tiempo real de trabajo, es muy importante incluir el mantenimiento dentro del organigrama de la explotación como una tarea más. La estrategia de cada explotación puede variar, algunas prefieren dedicación completa de determinado personal durante varios días, mientras otras prefieren pocas horas semanales incluidas en la distribución de tareas.

La frecuencia de ordeño también puede ser un problema para realizar el mantenimiento, mientras en un ordeño 2X permite en la mayoria de los casos de un tiempo entre ordeños aceptable para trabajar en la renovación de material, no es así en 3X o 4X. En estos casos el tiempo entre ordeño puede reducirse a tan solo unas horas (2 / 3 Horas), haciendo que el mantenimiento sea un carrera contrareloj.

COMO OBTENER EL MANTENIMIENTO.

Hay que establecer las pautas de cambio y renovación en el mantenimiento, para ello se pueden escoger realizar los cambios en función del tiempo real o aproximado de ordeño y lavado, o bien trabajar por número de ordeños. Se puede usar trabajar por horas en explotaciones con salas rápidas, eficacia de ordeño por hora y tiempos de lavado largos (más de 1 hora), mientras que en explotaciones con baja eficacia de ordeños por hora y lavados cortos (1/2 hora) puede ser interesante trabajar por número de ordeños.



Es también muy importante acometer un sistema de mantenimiento acotando las areas de trabajo, como puede ser punto de ordeño, retirador , sistema de pulsación,...

Además es necesario definir en conjunto (ordeñador, montador y técnico) cada concepto, así sí un cambio de material lleva asociado limpieza de las partes que la integran debe conocerse para organizarse laboralmente.

COMO MEJORAR LOS RESULTADOS.

1. Localizar los puntos débiles: a través de una revisión visual previa.
2. Localizar los puntos claves, aquellos que influyen en el rendimiento de leche, tanto en flujo medio o máximo como en Kg de leche, como es la Bomba de vacío, Regulador y Colector.
3. Definir periodo necesario para recoger resultados técnicos.Dependera de nuestros abjetivos , si queremos trabajar para mantener en buen estado todo el material de la sala y por tanto su funcionamiento, o bien para mantener o mejorar la producción. En el primer caso las revisiones visuales del material tras los cambios pueden determinar en que momento óptimo debemos realizar los cambios para evitar averias, en el segundo hay que buscar en que momento no se altera la producción de leche aunque el material no haya llegado ha modificarse para provocar averias.
4. Como cambian los resultados en función del manejo de la explotación. La evaluación de los resultados puede realizarse a través del control de costes, sobre todo por la disminución de urgencias y averías. A ello hay que unir evitar la incertidumbre sobre el funcionamiento del material.
5. Controlar los costes de producción. En cualquier balance económico conocer de antemano los costes de mantenimiento de la sala de ordeño permitiran organizarse y evitar sobresaltos; no realizar mantenimiento o reducirlo al mínimo no va a favorecer la producción ni la economía de la explotación a largo plazo. En una sala el mantenimiento nos viene determinado por el material que hemos adquirido y por las horas de trabajo, si queremos controlar los costes es importante adelantarse y establecer el calendario de mantenimiento como una premisa más en la adquisición de la sala, así sabremos la repercusión por litro durante los años de funcionamiento.
6. Aprender para futuras salas. Si hay materiales cuyo coste de mantenimiento es alto y además tenemos que emplear un tiempo en su reposición ha llegado el momento de estudiar reemplazar por materiales que no necesiten Mantenimiento; esto no es posible con partes de goma como pezoneras, pero si se puede evitar en las entradas de la Unidad Final, Medidores o uniones de tuberías entre otros materiales. Por tanto la adquisición de una nueva sala da pie ha reducir los costes y el tiempo de mantenimiento, así como ha comprobar antes de la adquisisción salas o montaje tienen mayor repercusión posterior en los costes de mantenimiento.

CONCLUSION.

Nuestro objetivo debe ser adelantarnos a cualquier problema, aunque inicialmente solo nos preocupe que nada este en mal estado debemos prepararnos para el paso siguiente: asegurar la producción.

Toda la información que se puede adquirir con la práctica diaria es fruto de la colaboración con lo ordeñadores y los montadores, no hay que olvidar que ambos aportan la observación diaria y unir estos datos a la experiencia técnica da nuevas oprtunidades de trabajo a todos.

Ya que nuestro trabajo circula alrededor de la sala de ordeño no es licito criticar el funcionamiento y el diseño si no nos hemos implicado en ello, de igual forma ocurre con el mantenimiento, definirlo previamente a la adquisición supone un reto y responsabilidad, pero colabora enormemente en la eficacia del ordeño y por tanto simplificara nuestro futuro trabajo.

AGRADECIMIENTOS.

Mi gratitud para aquellos compañeros dedicados a la difícil tarea del ordeño o montaje de salas ya que me permiten estar siempre activo y no convertir nuestra profesión en rutina y aburrimiento.

BIBLIOGRAFIA.

VARIATION IN THE SURFACE OF A MILKING LINER AFTER 4000 MILKINGS

M. Hale1, David Boast1, Nicola Middleton2, Ian Ohnstad3 and J. Eric Hillerton2
1Avon Rubber, Melksham, Wiltshire, United Kingdom
2Institute for Animal Health, Compton; United Kingdom
3ADAS, Taunton, United Kingdom

PERFORMANCE OF A SILICONE LINER

Jin-Woong Shin1, Jeffery Weisel1 and S.B. Spencer2
1Lauren AgriSystems®, New Philadelphia, Ohio
2Spencer Consulting, State College, Pennsylvania

CHANGES IN MILKING LINER PERFORMANCE WITH AGE

J. Eric Hillerton1, David Boast2, Derek Davies2, Ian Ohnstad3 and Nicola Middleton1

VARIATION IN THE BULK RUBBER CHEMISTRY AND DYNAMIC MECHANICAL PROPERTIES OVER THE LIFE OF A LINER

M. Hale1, D. Boast1, J.E. Hillerton2, N. Middleton2 and I. Ohnstad3
1Avon Rubber, Melksham, Wiltshire; United Kingdom
2Institute for Animal Health, Compton; United Kingdom
3ADAS, Taunton; United Kingdom

MANAGING THE MILKING PARLOR: AN ECONOMIC CONSIDERATION OF PROFITABILITY

John F. Smith1
Kevin C. Dhuyvetter1, M.J. VanBaale2, D.V. Armstrong2 and Joseph Harner1
1Kansas State University, Manhattan, Kansas
2University of Arizona, Tuscon, Arizona

UPDATE ON THE NMC GUIDELINES FOR EVALUATING VACUUM LEVELS AND AIR FLOW IN MILKING SYSTEMS

Norm Schuring1 and Doug Reinemann2
1WestfaliaSurge, Inc., Naperville, Illinois
2University of Wisconsin, Madison, Wisconsin

Pregnancy Losses: Prevalence, Timing and Associated Causes

José Eduardo P. Santos
Veterinary Medicine Teaching and Research Center
University of California, Davis
Tulare, CA – 93274
jsantos@vmtrc.ucdavis.edu

Introduction

Revenue from the dairy industry is directly dependent on reproductive efficiency. Conception rate, estrous detection rate and pregnancy loss are factors that determine the reproductive efficiency in dairy herds. However, pregnancy loss alone can have devastating effects on economic success of dairy herds. It has been estimated that for every pregnancy lost, there is an average loss of US $640.00 (Thurmond et al., 1990).

Reproductive failure in inseminated dairy cattle results from poor fertilization and embryo survival. Recent studies with lactating dairy cows indicate that fertilization rate averaged 76.2 %, and ranged from 55.3 to 87.8 % (Santos et al., 2004a). Once the egg is fertilized, the fate of the pregnancy is then determined by the survival of the embryo and fetus. The incidence of pregnancy losses in dairy cattle vary with time when pregnancy is diagnosed. Unfortunately, little is know about the risk factors for pregnancy loss in the first 25 to 28 d of gestation, as no accurate, noninvasive method for pregnancy diagnosis is available at this point for detection prior to day 25.

Losses of pregnancy can be characterized as early embryonic death, which occurs prior to maternal recognition of pregnancy; late embryonic death, which occurs from day 24 to 42 of gestation; and

fetal death, which occurs after day 42. Frequency of losses is presumed to be greater during the early embryonic period, which can be demonstrated by the use of embryo transfer. When 7 day old embryos were transferred to recipient cows and then recovered by uterine flushing 9 days later, only 55 to 60 % of the concepti were recovered (Bertolini et al., 2002). In lactating dairy cows, transfer of fresh or frozen/ thawed embryos results in pregnancy rates that are rarely greater than 50 %; thereby indicating that early embryonic loss can affect more than 50 % of the fertilized oocytes. For AI, late embryonic losses are more prevalent than fetal losses. When taken together, embryonic and fetal losses can account for more than 60 % of the gestations.

Several factors affect pregnancy losses in cattle, some of which were discussed in other presentations in this proceedings. However, common risk factors associated with reduced fertility in cattle include: abnormalities of the oocytes associated with impaired quality due to stresses or prolonged dominance, impaired embryonic development and compromised pregnancy recognition signal, prolonged postpartum anestrous, uterine and other periparturient diseases, infectious diseases, excessive loss of body condition score early postpartum, heat stress, increased parity, and dietary ingredients.

Characterization of Pregnancy Losses

Pregnancy losses can be characterized by death of an embryo or fetus. Most producers recognize losses of pregnancy when the fetus is expelled from the uteri of pregnant cows. However, it is estimated that most losses of pregnancy occur in the first 50 d of gestation, during the embryonic period. Humblot (2001) suggested that luteolysis and return to estrus prior to day 24 might be linked with early embryonic death; but, if the corpus luteum (**CL**) is maintained and return to estrus is delayed beyond day 24, it could point to embryonic loss occurring after day 16 of gestation. Therefore, losses of pregnancy prior to day 24 after AI indicate early embryonic losses, and those between days 24 and 50, indicate late embryonic losses. Pregnancy losses detected after day 50 characterize fetal losses.

Prevalence of Pregnancy Losses

Sartori et al. (2002) collected embryos on day 6 after ovulation from lactating dairy cows and observed that only 33.3 and 52.8 % of them were considered viable when cows were exposed to either heat stress or thermoneutrality, respectively. Based on their results, when heat stress is not present, more than 45 % of the pregnancies have been lost by day 7 of gestation.

McDougall et al. (2005) studied the prevalence and risk factors associated with pregnancy losses in lactating dairy cattle in pasture-fed dairy cattle in

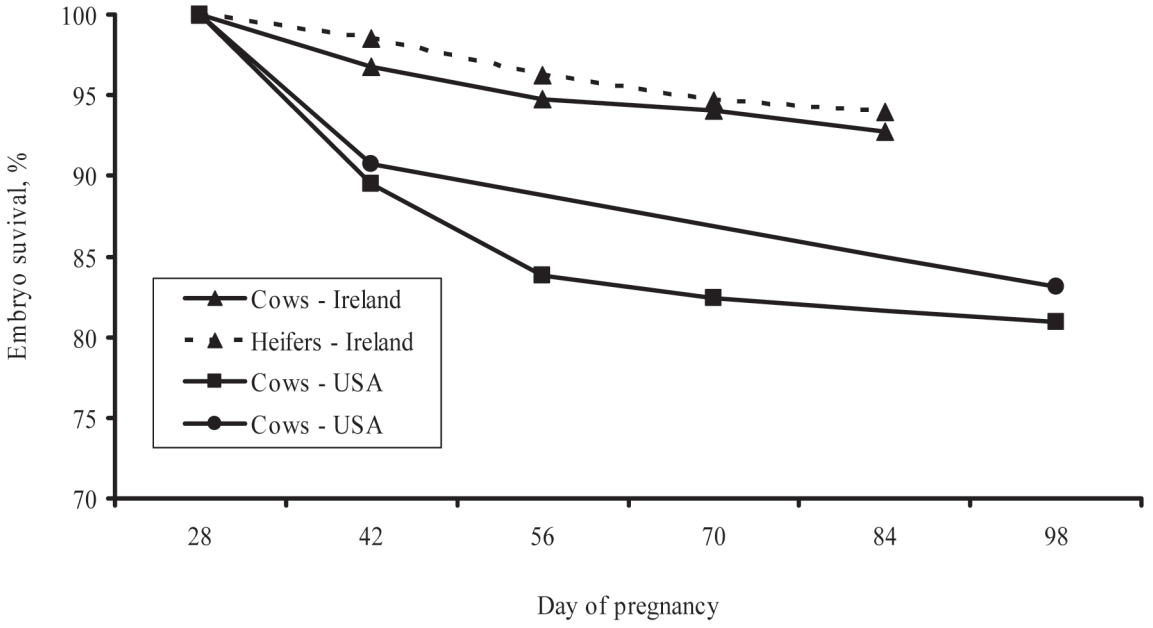


Figure 1. Curves for embryo survival after day 28 of gestation in lactating dairy cows and primigravid dairy heifers in Ireland and the USA. Adapted from Santos et al. (2004a).

New Zealand. A total of 2,004 pregnant cows were enrolled in the study and 128 animals (6.4 %) lost their pregnancy. The pregnancy loss incidence rate was greater between weeks 6 to 10 of gestation than to weeks 10 to 14. Vasconcelos et al. (1997) evaluated pregnancy at various intervals after AI. Of the initial pregnancies on day 28 after AI, 89.5 %, 83.8 %, 82.4 %, and 80.9 % remained pregnant on days 42, 56, 70, and 98 of gestation, respectively. Santos et al. (2004a) summarized data from several experiments and observed that the risk for pregnancy loss was much greater early than later in gestation. Between gestation days 30 and 45, approximately 12.8 % of the pregnancies were lost; whereas after day 45, when the interval between pregnancy diagnoses were much longer than 15 d less than 11 % of the pregnancies were lost. Figure 1 depicts survival curves for late embryonic and fetal losses in lactating dairy cattle (Santos et al., 2004a). It is clear that for cows in the US, the rate of loss is greater during the early than the later stages of gestation.

In most dairy farms in the US, approximately 10 to 15 % of the pregnancies are lost between 40 d of gestation and calving. Therefore, early embryonic losses are more prevalent than late embryonic losses, which in turn are more prevalent than fetal losses.

Early Pregnancy Loss

Estimations of fertilization rate in lactating dairy cows range from 55.3 % during the summer to almost 87.8 % during periods of thermoneutrality (Sartori et al., 2002). However, conception rates 27 to 31 d after AI are usually lower than 50 % in lactating dairy cows. Furthermore, when 6 to 7 d old embryos are transferred to lactating dairy cows, only 35 to 45 % of the cows remain pregnant 22 days later. Therefore, a tremendous loss of pregnancy occurs early after insemination, and this loss can represent up to 40 % of the fertilized oocytes.

Oocyte Quality

The female and male gamete quality is a major factor involved in fertilization rate and development of the newly formed zygote. Different studies have shown deleterious effects of poor quality oocytes on fertilization rate, embryo development, and conception rate. Embryonic survival is reduced if embryos are derived from oocytes of cows with follicles of prolonged dominance, diets containing gossypol or that result in increased concentrations of urea and ammonia in blood, or exposure to heat stress. Because it might take 40 to 50 d for a follicle to develop to the ovulatory stage (Webb et al., 2004), events taking place months before ovulation can influence fertilization and early embryonic survival.

Persistent Follicle

The ovulation of aged follicles results in oocytes of lower quality. Revah and Butler (1996) compared the quality of the cumulus oophorus complex of persistent follicles recovered on day 13 of the estrous cycle (d 0 = ovulation) and follicles in the growing phase recovered on day 7. The cumulus oophorus complex of 13 day old follicles had degenerative characteristics, while cumulus oophorus complex of 7 day old follicles were intact. The long exposure of the cumulus oophorus complex to increasing concentration of LH causes premature maturation of the oocyte, resulting in compromised viability (Mihm et al., 1999) and in reduced conception rates (Austin et al., 1999). Early embryonic survival was compromised when inseminated cows ovulated a persistent follicle compared to cows ovulating a growing follicle (Ahmad et al., 1995). Similarly, as the period of dominance was prolonged, embryo quality on day 6 was compromised (Cerri et al., 2005). These results indicate that factors resulting in prolonged dominance of the ovulatory follicle can compromise early embryonic development, likely resulting in greater embryonic loss.

Heat Stress

Lactating dairy cows are very sensitive to heat stress. The high milk yield is related to increased feed intake and metabolic rate, compromising the cow's thermoregulatory mechanisms. Zeron and colleagues (2001) evaluated the developmental competence and the composition of the membrane of oocytes exposed to heat stress. The exposure to high environmental temperatures resulted in decreased production of estradiol and inhibin by the follicles and decreased rate of cleavage and development to the blastocyst stage. Oocytes collected during the summer had worsened morphology, which could have been due to changes in the fatty acid profile of the oocyte membrane. Although heat stress influences fertilization, early and late embryonic and fetal survival (Cartmill et al., 2001; Chebel et al., 2004; Sartori et al., 2002), it is during the early stages of gestation, from fertilization to the initial cell divisions, that high temperatures have the most deleterious effects.

A recent study by Sartori et al. (2002) demonstrated that lactating cows under heat stress have lower fertilization rates than nulliparous animals and lactating cows exposed to thermoneutral temperatures. This was thought to be related to oocyte quality, because the number of accessory spermatozoa was similar between embryos and unfertilized oocytes. Moreover, embryos produced by lactating cows in hot climates had lower quality than embryos produced by lactating cows under thermoneutral temperatures (Sartori et al., 2002). Drost et al. (1999) demonstrated transfer of *in vivo* produced embryos from cows exposed to thermoneutral temperatures increased pregnancy rates in heat stressed cows compared to AI. This demonstrates that negative effects of heat stress can compromise oocyte quality, fertilization, and early embryo development; thus reducing establishment of pregnancy. The results of Drost et al. (1999)

also indicate it is possible to overcome the negative effects on oocyte quality and fertilization of high ambient temperature and the consequent high body temperature (Sartori et al., 2002).

Pregnancy Recognition

At day 15 to 17 of the estrous cycle the elongated embryo undergoes a critical period of its development as it is faced with the eminent possibility of luteal regression and pregnancy termination due to secretion of prostaglandin (**PG**) $F_{2\alpha}$ by the endometrial cells. The mononuclear cells of the trophectoderm in early stages of development (15 to 17 days) are responsible for the production and secretion of interferon-tau (**IFN-τ**) (Thatcher et al., 2001). The antiluteolytic effect of IFN-τ results from the inhibition of endometrial expression of oxytocin receptors and possibly the transduction mechanism once oxytocin binds to its receptor on the endometrial cells; thereby inhibiting the episodic release of $PGF_{2\alpha}$ that would regress the CL and terminate the pregnancy (Demmers et al., 2001). Compromised development of the embryo and underdevelopment of the trophectoderm are; therefore, responsible for early pregnancy loss. This is thought to be mediated by the inability of the embryo to suppress the luteolytic mechanism during the period of CL maintenance, further compromising the implantation of the embryo (Thatcher et al., 2001).

Diseases

Many diseases have been reported to reduce conception rate, an indication of reduced fertilization or increased early and late embryonic losses. Although diseases reduce fertility in cattle, it is unknown the stage of gestation when pregnancy is most affected by previous or concurrent illnesses. Cerri et al. (2006) reported that cows with subclinical endometritis, diagnosed by increased neutrophil influx into the uterus, tended to have reduced fertilization rates. It is clear that clinical (McDougall et al., 2006; Galvão et al., 2006a) and subclinical (Galvão et al., 2006a; Gilbert et al., 2005) endometritis reduce conception rates in cattle and this is likely the result of reduced fertilization and embryonic survival.

Late Pregnancy Loss

In primigravid cows, embryonic and fetal losses in dairy cattle are usually low, and average 4.2 % (Santos et al., 2004a). However, in high-producing lactating dairy cows, pregnancy losses are prevalent. Survival curves for pregnancy maintenance in three studies with lactating dairy cattle clearly indicate that the rate of pregnancy loss is more pronounced in the first 42 days of gestation in the US; however, results from Ireland indicate a similar rate of pregnancy loss throughout the first 80 to 90 days of gestation (Figure 1).

Cycling Status

Rhodes et al. (2003) indicated that between 11 and 38 % of the cows in year-round calving production systems are still anovulatory by 50 to 60 days postpartum; whereas 13 to 43 % of the cows in pasture-based systems are anovulatory prior to the beginning of the breeding season. Rutigliano and Santos (2005) evaluated cyclic status in 5,767 lactating dairy cows in the first 65 d postpartum and observed that multiparous cows were 2.1 times more likely to be cyclic than primiparous cows (81.9 vs 69.5 %; $P< 0.001$). In that population of lactating Holstein cows from five dairy herds, 22.5 % of the cows remained anovular by day 60 postpartum.

It is interesting to note that even when cows ovulate following a period of anovulation or anestrous, fertility is low. These cows usually have poor insemination rates after the voluntary waiting period when subjected to estrous detection systems (Gümen et al. 2003). When subjected to a timed AI program utilizing GnRH, the majority of anovular cows experience a synchronized ovulation, but conception rates

remain low (Gümen et al., 2003). The first postpartum luteal phase can be of short duration (< 12 days), which is usually associated with lack of previous exposure to progesterone (Inskeep, 2002) or adequate estradiol during proestrus (Mann and Lamming, 2000). Lower plasma concentrations of progesterone in the preceding estrous cycle resulted in premature release of $PGF_{2\alpha}$ in the subsequent cycle (Shaham-Albalancy et al., 2001). Therefore, anovulation poses a risk to establishment and maintenance of pregnancy in cattle.

It is known that anovulation and anestrous is a major risk factor for conception rates (McDougall, 2001; McDougall, 2005; Rhodes et al., 2003), but less characterized is the risk for late embryonic and fetal losses. Rutigliano and Santos (2005) evaluated the risk for late embryonic loss in lactating dairy cows classified as cyclic or anovular at 65 d postpartum and subjected to synchronization of estrus or ovulation for first postpartum AI. They observed that anovular cows were 1.3 times more likely to lose a pregnancy than cyclic cows (Table 1).

Table 1. Risk for pregnancy loss between 30 and 58 d of gestation in cows classified as cyclic or anovular by 65 d postpartum (Rutigliano and Santos, 2005).

Cyclic status	Pregnancy loss	Adjusted OR	P value
Cyclic	14.5 (249/1716)	Referent	0.09
Anovular	18.6 (63/339)	1.30 (0.95, 1.79)	

[1] OR = odds ratio.

Santos et al. (2004a) reviewed several studies with high-producing dairy cows and observed that 15.7 and 26.3 % of the pregnancies were lost in cyclic and anovular cows, respectively. Anovular cows were 2.01 times more likely to experience pregnancy loss than cyclic cows (OR = 2.01; 95 % confidence interval 1.41, 2.88; $P < 0.001$). Similarly, in New Zealand, working with dairy cows in pasture-based system, those cows classified as anestrous at the beginning of the breeding season had lower pregnancy rate and increased risk for pregnancy loss. In fact, the risk for pregnancy loss increased 1.6 times in anestrous compared with cyclic cows (Figure 2). Therefore, reducing the prevalence of anovulatory cows prior to first postpartum AI is expected to increase conception rates and minimize pregnancy losses in cattle.

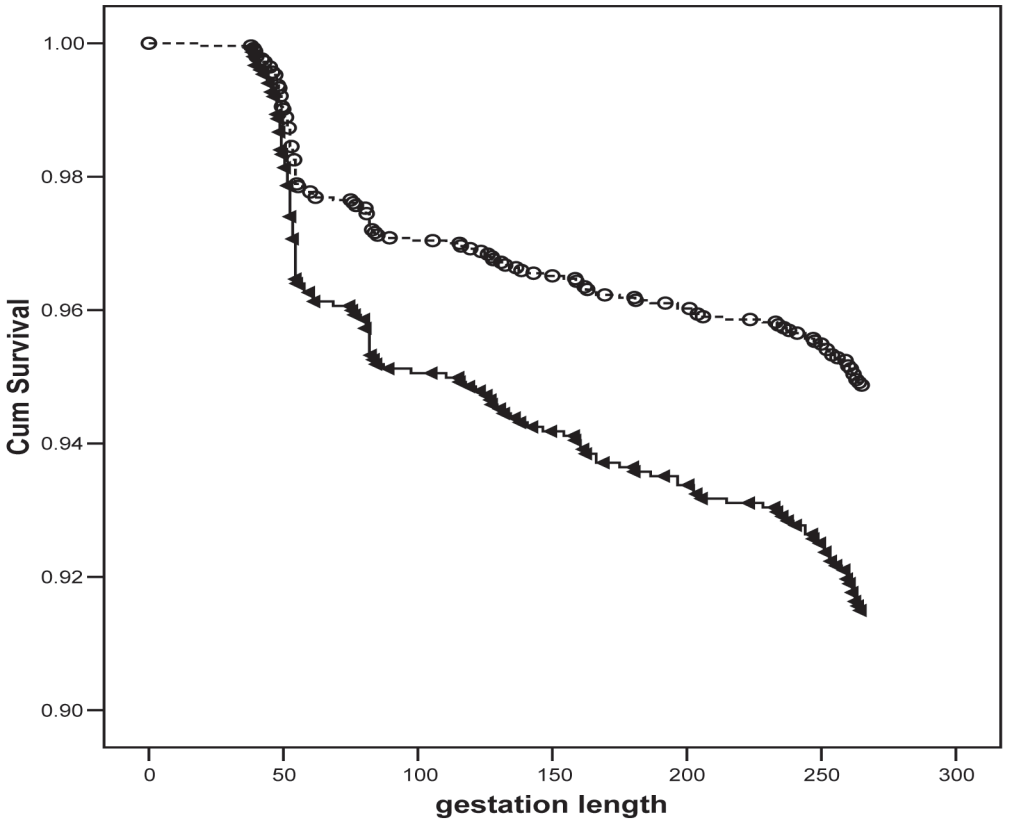


Figure 2. The survival of cows considered cyclic (open circle) or anestrous (closed triangle) by 7 days prior to the beginning of the breeding season (McDougall et al., 2005).

Milk Yield

Reproductive performance of dairy cattle has decreased in North America, Europe, and Israel (Royal et al., 2000; Lucy, 2001; Zeron et al., 2001; López-Gatius, 2003), which has partially been attributed to the emphasis on high milk yield per cow (Royal et al., 2000). Increased milk yield is accompanied by increases in feed intake and overall metabolic rate in dairy cows. Increased feed intake related to increased milk yield has been associated with increased blood flow through the liver and increased clearance of progesterone and estradiol. Sangsritavong et al. (2002) demonstrated that feed intake corresponded with acute increases in hepatic blood flow and reduction in peripheral concentrations of progesterone and estradiol. Sub-optimal concentrations of estradiol (Mann and Lamming, 2000) and of progesterone (Mann et al., 1999) can have impacts on the reproductive physiology of the cow that adversely affects fertility. Increased milk yield also results in increased catabolic state during the first few weeks of lactation. A decline in energy balance early postpartum can delay resumption of cyclicity and negatively influence fertility. Snijders et al. (2000) observed that cleavage rate and the number of oocytes developing into blastocysts were reduced when they were derived from high versus medium genetic merit cows. However, the same study indicated that 120-day milk production was not associated with cleavage rate and blastocyst development in *in vitro* cultured oocytes.

We have recently summarized nine studies in which milk yield in the first 90 d postpartum and embryo survival were evaluated (Rutigliano and Santos, 2005). Cows were categorized into quartiles for milk yield

according to parity (primiparous and multiparous) and late embryonic loss was evaluated from days 30 to 58 of gestation. Pregnancy loss did not differ according to level of milk production (Table 2).

Table 2. Association between milk yield in the first 90 d postpartum and pregnancy loss between 30 and 58 d of gestation (Rutigliano and Santos, 2005).

Milk yield quartiles	Pregnancy loss	Adjusted odds ratio and 95 % CI
Q1, 34.5 kg/d	14.9 (73/491)	Referent
Q2, 41.4 kg/d	13.7 (73/533)	0.91 (0.64, 1.30)
Q3, 45.7 kg/d	14.4 (79/550)	0.94 (0.66, 1.35)
Q4, 51.6 kg/d	18.1 (87/481)	1.20 (0.84, 1.72)

Body Condition Score

López-Gatius et al. (2002) indicated that a 1 unit drop in body condition score using the 1-5 scale from calving to 30 days postpartum increased risk for pregnancy loss by 2.41 fold. Similarly, Silke et al. (2002) observed that cows losing 1 unit in BCS from day 28 to 56 of gestation had a 3.2 fold increase in risk of pregnancy loss in the same period. We observed similar results with high-producing cow in the US (Rutigliano and Santos, 2005). Cows losing more than 1 unit of BCS in the first 70 d postpartum were more likely to experience late embryonic loss than those losing less than 1 unit (Table 3).

Table 3. Association between changes in body condition score (BCS, 1 to 5 scale) in the first 70 d postpartum and pregnancy loss between 30 and 58 d of gestation (Rutigliano and Santos, 2005).

BCS change	Pregnancy loss	Adjusted odds ratio and 95 % CI	P value
Lost 1 unit or more	22.5 (29/129)	Referent	0.01
Lost < 1 unit	16.8 (176/1047)	0.66 (0.41, 1.04)	
No change	12.2 (107/879)	0.50 (0.30, 0.81)	

These data indicate that the metabolic status of the cow, as evidenced by changes in BCS, affects embryonic and fetal survival. Therefore, nutrition and health programs during late gestation and early lactation that minimize tissue mobilization are expected to improve maintenance of pregnancy in lactating dairy cows.

Mastitis

Bacterial mastitis can be caused by either gram-negative or gram-positive organisms. The former releases endotoxins from its lipopolysaccharides-containing cell wall that can induce endogenous release of $PGF_{2\alpha}$. Similar to gram-negative, gram-positive bacteria can cause inflammatory responses, pyrexia, and septic shock. It is known that mastitis, either clinical or subclinical, is associated with reduced conception rates in dairy cattle (Schrick et al., 2001). Several epidemiological studies have indicated a strong relationship between mastitis and risk for pregnancy loss in lactating dairy cows.

Risco et al. (1999) evaluated the risk for fetal loss in 2087 cows diagnosed pregnant. The authors observed during the study period 127 abortions and 60 cases of clinical mastitis. After evaluating the risk for abortion, they concluded that cows diagnosed with clinical mastitis during the first 45 d of gestation were at 2.7 (95 % confidence interval = 1.3 to 5.6) times greater risk of abortion within the next 90 d of gestation than herdmates without mastitis.

Santos et al. (2004b) demonstrated that animals developing mastitis prior to AI, from AI to pregnancy diagnosis, and after pregnancy diagnosis had greater incidence of abortion than cows not developing mastitis throughout the lactation. Similarly, Chebel et al. (2004) observed that clinical mastitis between pregnancy diagnosis and reconfirmation was associated with increased late embryonic loss ($P = 0.02$). Cows experiencing clinical mastitis were 2.80 (95 % confidence interval: 1.16, 6.78) times more likely to lose their pregnancy than those not experiencing mastitis. In pasture-based systems, clinical mastitis was also associated with risk for pregnancy loss (McDougall et al., 2005). Therefore, it is clear that clinical mastitis is associated with increased risk for pregnancy loss, although it is less clear whether this is a direct causal relationship or that the underlying mechanisms leading to mastitis also influence maintenance of pregnancy in cattle.

Table 4. Risk for pregnancy loss between 30 and 58 d of gestation in cows inseminated following timed AI or synchronized estrus (Rutigliano and Santos, 2005).

Method of AI	Pregnancy loss	Adjusted OR[1]	P value
Timed AI	15.2 (227/1493)	Referent	0.99
Estrus	15.1 (85/562)	1.00 (0.75, 1.33)	

[1] OR = odds ratio

Synchronization Programs

The current low estrous detection rate achieved by commercial dairies has encouraged the wide use of synchronization of ovulation/estrus protocols. These programs are based on combinations of hormones such as GnRH and $PGF_{2\alpha}$ in the case of the Ovsynch and CoSynch protocols, which synchronize the emergence of a new follicular wave, cause luteal regression, and synchronize the final development and ovulation of the dominant follicle. Other programs for estrous or ovulation synchronization might also incorporate the use of intravaginal inserts containing progesterone.

It has been suggested that pregnancy losses might have increased with the use of ovulation synchronization programs (Lucy, 2001). Several studies have compared late embryonic losses in lactating dairy cattle when inseminated following a synchronized estrus or ovulation. Lactating cows inseminated following a timed AI program (Ovsynch) had similar pregnancy losses from day 31 to 45 post-AI compared with cows inseminated after spontaneous estrus (10.4 vs. 13.2 %; Chebel et al., 2004). When Santos et al. (2004a) summarized six studies, only one observed a tendency to increase pregnancy loss for cows inseminated following timed AI compared to synchronized estrus (Cartmill et al., 2001). Recently, Rutigliano and Santos (2005) evaluated the risk of late embryonic loss in lactating dairy cows inseminated either at detection of a synchronized estrus or at timed AI. The authors observed similar pregnancy loss between the two methods of insemination (Table 4).

It is interesting to note that when cows were inseminated following secondary signs of estrus using mounting detectors or following timed AI after a single treatment with $PGF_{2\alpha}$, the risk for abortion increased by 1.7 times compared with cows inseminated after being observed in estrus based on visual observation of mounting activity (Risco et al., 1999). Therefore, when properly implemented, it is unlikely that synchronization protocols increase the risk for pregnancy losses in dairy cattle.

Gossypol

Cottonseed is extensively used in diets of lactating dairy cows as a source of protein, fat, and fiber. Cottonseed contains gossypol, a polyphenolic compound produced by the pigment glands of the cotton plant that can be toxic to mammalian cell. Several studies have demonstrated that both *in vivo* and *in vitro* gossypol influences embryo quality and development (Coscioni et al., 2003; Hernandez-Ceron et al., 2005; Villasenor et al., 2003).

When lactating dairy cows were fed diets differing in free gossypol content, those receiving the greater gossypol diet had reduced conception rates and experienced greater fetal losses (Santos et al., 2003). Transfer of embryos into lactating dairy cows from gossypol-fed donor heifers reduced pregnancy rates compared with embryos from heifers not fed gossypol (Galvão et al., 2006b). Therefore, diets that increase plasma gossypol pose a risk to establishment and maintenance of pregnancy in dairy cattle.

Conclusions

It is clear that high-producing lactating dairy cows experience substantial losses of pregnancy from fertilization to delivery of a live newborn. On most farms, producers and veterinarians only recognize fetal losses that occur after day 40 or 50 of gestation. In most cases, causative agents can not be determined. However, the majority of losses of pregnancy occur during the embryonic stages of development. Among the several factors that increase the risk for pregnancy loss are oocytes of low quality, due to stresses such as high body temperature or prolonged follicular dominance; diseases; the metabolic status of the cow and consequent changes in BCS which result in delays in resumption of ovarian cyclicity; and embryo toxicants such as gossypol.

Literature Cited

Ahmad, N., F.N. Schrick, R.L. Butcher, and E.K. Inskeep. 1995. Effect of persistent follicles on early embryonic losses in beef cows. Biol. Reprod. 52:1129-1135.

Austin, E.J., M. Mihm, M.P. Ryan, D.H. Williams, and J.F. Roche. 1999. Effect of duration of dominance of the ovulatory follicle on onset of estrus and fertility in heifers. J. Anim. Sci. 77:2219-2226.

Bertolini M., S.W. Beam, H. Shim, L.R. Bertolini, A.L. Moyer, T.R. Famula, and G.B. Anderson. 2002. Growth, development, and gene expression by in vivo- and in vitro-produced day 7 and 16 bovine embryos. Mol. Rep. Dev. 63:318-328.

Cartmill, J.A., S.Z. El-Zarkouny, B.A. Hensley, T.G. Rozell, J.F. Smith, and J.S. Stevenson. 2001. An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. J. Dairy Sci. 84:799-806.

Cerri, R.L.A., H.M. Rutigliano, R.G.S. Bruno, R.C. Chebel, and J.E.P. Santos. 2005. Effect of artificial insemination (AI) protocol on fertilization and embryo quality in high-producing dairy cows. J. Dairy Sci. 88(Suppl. 1):86(Abstr.).

Cerri, R.L.A., H.M. Rutigliano, F.S. Lima, D.S. Brito, J. Hillegass, W.W. Thatcher, and J.E.P. Santos. 2006. Effect of source of supplemental Se on embryo quality and uterine health in high-producing dairy cows. J. Dairy Sci. 89(Suppl. 1):53(Abstr.).

Chebel, R. C., J.E.P. Santos, J.P. Reynolds, R.L.A. Cerri, S. O. Juchem, and M. Overton. 2004. Factors affecting conception rate after artificial insemination and pregnancy loss in lactating dairy cows. Anim. Reprod. Sci. 84:239–255.

Coscioni, A.C., M. Villaseñor, K.N. Galvão, R. Chebel, J.E.P. Santos, J.H. Kirk, B. Puschner, and L.M.C. Pegoraro. 2003. Effect of gossypol intake on plasma and uterine gossypol concentrations and on embryo quality and development in superovulated Holstein dairy heifers. J. Dairy Sci. 86(Suppl. 1):240(Abstr.).

Drost, M., J.D. Ambrose, M-J. Thatcher, C.K. Cantrell, K.E. Wolfsdorf, J.F. Hansen, and W.W. Thatcher. 1999. Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in Florida. Theriogenology 52:1161-1167.

Demmers, K.J., K. Derecka, and A. Flint. 2001. Trophoblast interferon and pregnancy. Reproduction 121:41-49.

Galvão, K.N., L.F. Greco, J.M. Vilela, and J.E.P. Santos. 2006a. Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health. J. Dairy Sci. 89(Suppl. 1):9(Abstr.).

Galvão, K.N., J.E. Santos, A.C. Coscioni, S.O. Juchem, R.C. Chebel, W.M. Sischo, and M. Villasenõr. 2006b. Embryo survival from gossypol-fed heifers after transfer to lactating cows treated with human chorionic gonadotropin. J. Dairy Sci. 89:2056-2064.

Gilbert, R.O., S.T. Shin, C.L. Guard, H.N. Erb, and M. Frajblat M. 2005. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. Theriogenology. 64:1879-1888.

Gümen, A., J.N. Guenther, and M.C. Wiltbank. 2003. Follicular size and response to Ovsynch versus detection of estrus in anovular and ovular lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 86:3184-3194.

Hernández-Cerón, J. F.D. Jousan, P. Soto, and P.J. Hansen. 2005. Timing of inhibitory actions of gossypol on cultured bovine embryos. J. Dairy Sci. 88:922-928.

Humblot, P. 2001. Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. Theriogenology 56:1417-1433.

Inskeep, E.K. 2002. Factors that affect embryo survival in the cow: application of technology to improve calf crop. In: Fields, M.J., Sand, R.S., Yelich, J.V. (Eds.), Factors affecting calf crop: biotechnology of reproduction. CRC Press, Boca Raton, FL, pp. 255-279.

López-Gatius, F. 2003. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. Theriogenology 60:89-99.

López-Gatius, F., P. Santolaria, J. Yániz, J. Rutllant, and M. López-Béjar, M., 2002. Factors affecting pregnancy loss from gestation day 38 to 90 in lactating dairy cows from a single herd. Anim. Reprod. Sci. 57:1251-1261.

Lucy M.C. 2001. Reproductive loss in high-producing dairy cattle: where will it end? J. Dairy Sci. 84:1277-1293.

Mann, G.E., G.E. Lamming, R.S. Robinson, and D.C. Wathes. 1999. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. J. Reprod. Fertil. Suppl. 54:317-328.

Mann, G.E., and G.E. Lamming. 2000. The role of sub-optimal preovulatory estradiol secretion in the etiology of premature luteolysis during the short estrus cycle in the cow. Anim. Reprod. Fert. 64:171-180.

McDougall, S., R. Macaulay, and C. Compton. 2006. Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. Anim. Reprod. Sci. (in press).

McDougall, S., F.M. Rhodes, and G.A. Verkerk. 2005. Pregnancy loss in dairy cattle in the Waikato region of New Zealand. N. Zeal. Vet. J. 53:279-287.

McDougall, S. 2001. Effects of periparturient diseases and conditions on the reproductive performance of New Zealand dairy cows. N. Zeal. Vet. J. 49:60-67.

Mihm, M., N. Curran, P. Hyttel, P.G. Knight, M.P. Boland, and J.F. Roche. 1999. Effect of dominant follicle persistence on follicular fluid estradiol and inhibin and on oocyte maturation in heifers. J. Reprod. Fertil. 116:293-304.

Revah, I., and W.R. Butler. 1996. Prolonged dominance of follicles and reduced viability of bovine oocytes. J. Reprod. Fertil. 106:39-47.

Risco, C.A., G.A. Donovan, and J. Hernandez. 1999. Clinical mastitis associated with abortion in dairy cows. J. Dairy Sci. 82:1684-1689.

Rhodes, F.M., S. McDougall, C.R. Burke, G.A. Verkerk, and K.L. Macmillan. 2003. Invited review: Treatment of cows with extended postpartum anestrous interval. J. Dairy Sci. 86:1876-1894.

Royal, M., G.E. Mann, and A.P. Flint. 2000. Strategies for reversing the trend towards subfertility in dairy cattle. Vet. J. 160:53-60.

Rutigliano and J.E.P. Santos. 2005. Interrelationships among parity, body condition score (BCS), milk yield, AI protocol, and cyclicity with embryonic survival in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 88(Suppl. 1): 39 (Abstr.).

Sangsritavong, S., D.K. Combs, R. Sartori, L.E. Amentano, and M.C. Wiltbank. 2002. High feed intake increases liver blood flow and metabolism of progesterone and estradiol-17β in dairy cattle. J. Dairy Sci. 85:2831-2842.

Santos, J.E.P., M. Villaseñor, E.J. DePeters, P.H. Robinson, and C.H. Holmberg. 2003. Type of cottonseed and level of gossypol in diets of lactating dairy cows: plasma gossypol, health, and reproductive performance. J. Dairy Sci. 86:892-905.

Santos, J.E.P., W.W. Thatcher, R.C. Chebel, R.L.A. Cerri, and K.N. Galvão. 2004a. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrous synchronization programs. Anim. Reprod. Sci. 82-83:513-535.

Santos, J.E.P., R.L.A. Cerri, M.A. Ballou, G.E. Higginbotham, and J.H. Kirk. 2004b. Effect of timing of first clinical mastitis occurrence on lactational and reproductive performance of Holstein dairy cows. Anim. Reprod. Sci. 80:31-45.

Sartori, R., R. Sartor-Bergfelt, S.A. Mertens, J.N. Guenther, J.J. Parrish, and M.C. Wiltbank. 2002. Fertilization and early embryonic development in heifers and lactating cows in summer and lactating and dry cows in winter. J. Dairy Sci. 85:2803-2812.

Schrick, F.N., M.E. Hockett, A.M. Saxton, M.J. Lewis, H.H. Dowlen, and S.P. Oliver. 2001. Influence of subclinical mastitis during early lactation on reproductive parameters. J. Dairy Sci. 84:1407–1412.

Shaham-Albalancy, A., Y. Folman, M. Kaim, M. Rosenberg, and D. Wolfenson. 2001. Delayed effect of low progesterone concentrations on bovine uterine $PGF_{2\alpha}$ secretion in the subsequent oestrous cycle. Reproduction. 122:643-648.

Silke, V., M.G. Diskin, D.A. Kenny, M.P. Boland, P. Dillon, J.F. Mee, and J.M. Sreenan. 2002. Extent, pattern and factors associated with late embryonic losses in dairy cows. Anim. Reprod. Sci. 71:1-12.

Snijders, S.E., P. Dillon, D. O'Callaghan, and M.P. Boland. 2000. Effect of genetic merit, milk yield, body condition and lactation number on in vitro oocyte development in dairy cows. Theriogenology 53:981–989.

Thatcher, W.W., A. Guzeloglu, R. Mattos, M. Binelli, T.R. Hansen, and J.K. Pru. 2001. Uterine-conceptus interactions and reproductive failure in cattle. Theriogenology 56:1435-1450.

Thurmond, M. C., J.P. Picanso, and C.M. Jameson. 1990. Considerations for use of descriptive epidemiology to investigate fetal loss in dairy cows. J. Am. Vet. Med. Assoc. 197:1305-1312.

Vasconcelos, J.L.M., R.W. Silcox, J.A. Lacerda, J.R. Pursley, and M.C. Wiltbank. 1997. Pregnancy rate, pregnancy loss, and response to heat stress after AI at 2 different times from ovulation in dairy cows. Biol. Reprod. 56 (Suppl. 1):140(Abstr.).

Villaseñor, M., A.C. Coscioni, K.N. Galvão, S.O. Juchem, J.E.P. Santos, and B. Puschner. 2003. Effect of gossypol intake on plasma and uterine gossypol concentrations and on embryo development and viability *in vivo* and *in vitro.* J. Dairy Sci. 86(Suppl. 1):240(Abstr.).

Zeron, Y., A. Ocheretny, O. Kedar, A. Borochov, D. Sklan, and A. Arav. 2001. Seasonal changes in bovine fertility: relation to developmental competence of oocytes, membrane properties and fatty acid composition of follicles. Reproduction 121:447-454.

Webb, R., P.C. Garnsworthy, J.G. Gong, and D.G. Armstrong. 2004. Control of follicular growth: local interactions and nutritional influences. J. Anim Sci. 82(E-Suppl):E63-E74.

PARATUBERCULOSIS IN AUSTRIA - A NOTIFIABLE DISEASE

BAUMGARTNER, W., KHOL, J.L.
Clinic for Ruminants, Department for Farm Animals and Herd Management, University of Veterinary Medicine Vienna, Austria

Paratuberculosis worldwide

Paratuberculosis (Johne´s disease) is one of the most important diseases of ruminants today. It is worldwide spread and can cause severe financial losses (Hasanova and Pavlik, 2006). The disease is untreatable, diagnosis is limited in the early stages of the infection and control of the disease is difficult.

Paratuberculosis (Johne´s disease) is a chronic infectious disease in ruminants caused by *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* (MAP). Clinical signs, ethiology and epidemiology of this untreatable disease have been described elsewhere (Whitlock, 1996; Klee, 2002).

Paratuberculosis has been reported on every continent. Sweden and some states in Australia are the only regions of the world that claimed freedom from the disease over the last years. But recently there were reported findings of paratuberculosis in Sweden although with a very low prevalence (Holmström and Stenlund, 2005).

The reported prevalence of infected animals varies by country and region and reaches up to 84.7 % MAP positive dairy herds in parts of Germany (Hacker et al., 2004). 47.0 % positive dairy herds were found by Jakobsen et al. (2000) in Denmark, van Leeuwen et al. (2001) reported 43.0% positive dairy herds in Canada, and in Wisconsin (USA) 50.0 % of the dairy herds were found to be positive for MAP (Collins et al., 1994).

Paratuberculosis in Austria

Slightly more than 2 Million cattle in almost 83.000 farms have been counted in Austria in 2005 (Kalcher et al., 2006). Milk production, beef production and sale of breeding cattle are the main branches of the Austrian cattle industry. Austrian Simmental represents the predominating breed, followed by Braun Swiss, Holstein and local breeds (Kalcher et al., 2006).

In the years 1995 to 1997 11.028 cattle from 2.757 Austrian cattle farms were examined for the presence of antibodies against MAP in blood by Gasteiner et al. (1999). 1.99 % of the cattle included in the study showed antibodies against MAP, 4.84 % gave an inconclusive result and 93.17 % were negative. 6.97 % of the farms had at least one serologically positive animal (Gasteiner et al., 1999).

A second statistically balanced study concerning the presence of antibodies against MAP in Austria was performed in 2002/2003 (Dreier et al., 2006). In this study 756 animals for slaughter, each originating from one Austrian farm, were tested for specific antibodies by Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA). 19.0 % of the tested animals were found to be positive, 10.1 % were inconclusive and 70.9 % turned out to be serologically negative. These two representative studies reveal a highly significant increase in Austrian cattle and cattle farms showing specific antibodies against MAP (Baumgartner et al., 2005).

In contrast to the cattle population MAP seems not to be as widespread in sheep and goat (Khol et al., 2006) but there are some reports of paratuberculosis in free ranging wild ruminants in Austria (Deutz et al., 2005).

Legal regulations worldwide

Legal regulations against MAP are established only in very few countries. Sweden has a very low prevalence of MAP and paratuberculosis is compulsory notifiable in all animals. A stamping out policy is applied in infected herds, with a total of 53 culled cattle herds since 1993 (Sternberg et al., 2005). Furthermore all imported ruminants have to be tested for paratuberculosis during quarantine, purchase of imported animals to dairy herds as well as purchase of animals from non tested beef herds is prohibited. In an additional voluntary program farmers are advised to import semen or embryos instead of living animals (Holmström and Stenlund, 2005).

Official programs to prevent spreading of the disease to free areas of the continent have been established in Australia (Kennedy et al., 2002).

In Iceland vaccination of sheep against paratuberculosis is compulsory in endemic areas, which lead to a considerable reduction of losses but did not help to prevent further spreading of the disease (Fridriksdottir et al., 2002).

In the USA paratuberculosis control varies significantly from state to state (Sockett, 1996). Some states have educational certification and control programs and some other states have no program at all. In some states paratuberculosis is a reportable disease and there exists movement restrictions on positive animals. Most states offer a diagnostic testing service and some, like Wisconsin, have an implied warranty that sold animals are free of infection with MAP (Sockett, 1996).

Voluntary control programs have been established in some parts of Germany (Flebbe, 2002; Luyven et al., 2002). In North Rhine-Westphalia a voluntary program has been installed in 1993 (Lyven et al., 2002). Cattle of at lest 18 months of age are tested twice a year for MAP by faecal culture and serology, positive animals have to be culled. In clinical cases serological testing or faecal staining alone can also be used to confirm the diagnosis. Participating farms have to follow strict hygienic measures to provide spreading of the disease. In farms with more than 10 % positive cattle vaccination can be performed with

special permission by the state (Lyven et al., 2002). A voluntary control program was initiated also in the Netherlands in 1998. Yearly faecal samples are taken from all cattle older than two years in participating herds and cultured for MAP (Franken, 2002).

In 2005 the "Guidelines for the acquaintance with paratuberculosis in ruminants" were released by the German Federal Ministry of Food, Agriculture and Consumer Protection. Aims of the guidelines are the unification of the actions of the different federal states, reduction of clinical cases, prevention of further spreading of the disease and decrease of MAP prevalence in Germany. According to this guidelines a nationwide monitoring program for paratuberculosis in Germany is in preparation.

The UK Government's Department of Environment Food and Rural Affairs also published guidelines on the control of Johne´s disease in dairy herds in 2002 (Greenstein and Collins, 2004). The guidelines suggest changes in animal husbandry to minimise the transmission of MAP, with the intent to decrease the prevalence of Johne´s disease and the level of MAP in raw milk.

Legal regulations in Austria

Due to the documented increase of MAP in Austria and the ongoing discussion about a possible link between paratuberculosis and Morbus Crohn in humans (Nakase et al., 2006; Pickup et al., 2004) the Regulation of the Austrian Federal Ministry of Health and Women on monitoring and abatement of clinical paratuberculosis in ruminants (Paratuberculosis-Regulation) came in action on the 3rd of April 2006 (Khol et al., 2007).

The regulation affects cattle, sheep, goats and farmed deer. Animals showing clinical signs of paratuberculosis have to be notified to the district veterinarian. Suspicious animals have to be separated, slaughtering and use of milk is prohibited. Blood and faeces of suspicious animals are taken by the district veterinarian and sent to the national reference laboratory for paratuberculosis of the Austrian Agency for Health and Food Safety.

If severe emaciation is noticed during slaughtering in ruminants that might have been caused by MAP, samples including liver – and intestinal lymph nodes (ileocaecal) as well as parts of the small intestine have to be sent to the reference laboratory for Polymerase Chain Reaction (PCR). The same actions have to be taken if signs of clinical paratuberculosis occur in culled or perished animals.

Samples of suspicious animals are tested and adjudged by ELISA and if necessary with PCR by the national reference laboratory for paratuberculosis. Living animals are tested following the scheme shown in table 1. Animals with a questionable result have to be retested after 3 weeks by ELISA and PCR. If one of the two tests gives a positive or questionable result the animal is rated as positive at this time. Lymph node and intestine samples from slaughtered, culled or perished animals are tested for MAP with PCR. A positive result leads to the result "positive" for the animal, a negative PCR result to a negative animal respectively.

Clinically MAP positive animals have to be culled within 3 days and the meat is declared unfit. Furthermore, hygienic precautions listed in the Paratuberculosis-Regulation (see Addendum 1) have to be performed. Compensation for culled animals depending on age and value of the animal is paid by the government.

Meat of animals found MAP positive at slaughtering is also declared unfit and has to be disposed.

Whenever an animal showing clinical signs or emaciation is diagnosed as MAP positive by the reference laboratory the farm the animal is originating from has to be controlled by the district veterinarian for further cases of clinical paratuberculosis.

Discussion and Conclusion

Austria is, beside Sweden, the first country to declare clinical paratuberculosis a notifiable disease. The regulation of the Austrian Federal Ministry of Health and Women on monitoring and abatement of clinical paratuberculosis in ruminants (Paratuberculosis-Regulation) is an important step in the fight against this disease. Although, due to the lack of diagnosis of subclinically infected animals, only ruminants showing clinical paratuberculosis are affected by the law, it can be a powerful tool in the control of MAP. It is well known that animals showing clinical signs of paratuberculosis signify only the tip of the iceberg and that there are always many more subclinically infected animals (Whitlock, 1996). But on the other side one severely affected animal ("super-shedder") can excrete more bacteria with faeces than 20.000 lowly shedding animals (Whitlock et al., 2005). The elimination of these "super-shedders" from livestock can cause a significant decrease of MAP in farms and environment leading to a smaller amount of MAP intake to the food chain and might help to prevent further spreading of the disease.

A second big advantage of declaring clinical paratuberculosis a notifiable disease with compulsory culling of affected animals and compensation is that consequently the disease is recognized as important by farmers, veterinarians and consumers. Paratuberculosis is a worldwide problem that cannot be controlled by one country alone. Actions on a European level are necessary to prevent further spreading of the disease and to protect MAP free livestock. Better diagnostic tools for young and subclinically infected animals are needed followed by measures in livestock trading to decrease the prevalence of paratuberculosis in ruminants.

Addendum 1

List of hygienic precautions as listed in the Austrian Paratuberculosis-Regulation (Khol et al., 2005).

Precautions at parturition

separate calving pen

cleaning and disinfection of calving pen before use

cleaning of cows (claws, udder, legs) before shifting to calving pen

calves born amongst cows outside the calving pen are at a higher risk to become infected and should be slaughter before 2 years of age

Precautions at rearing

immediate separation of new born calves

group housing of calves of the same age

use of colostrum from antigen / antibody free cows only

no feeding of milk with high cell count or antibiotics

no feeding of bulk milk to breeding calves

change to feeding with milk replacer as soon as possible

cleaning of feeding buckets with hot water (95°C) after use

no feeding of hay from pastures fertilised with manure

hey should not be offered from the ground

corn silage is believed to be safe

"all in all out" when groups are changed

cleaning and disinfection between shifting of groups

no feeding of leftovers from adult cattle to calves

separation of calves from antigen / antibody positive and negative cows.

calves and young cattle should not be brought on pastures used by adult cattle during the last year

General precautions

separation of cattle from goats and sheep not tested for paratuberculosis

use of separate working equipment for calves and young cattle

prevention of pollution of water sources with manure

keep cattle away from rivers and ponds on pasture

treatment of pastures with lime

avoid shaded pastures

keep deer away from pastures of young cattle

no use of equipment together with other farms

providing of clean clothes and boots for veterinarians and visitors

use of quarantine pens

improvement of cleaning and disinfection procedures

References

Baumgartner, W., Damoser, J., Khol, J.L., 2005. Vergleich zweier serologischer

Untersuchungen der Österreichischen Rinderpopulation zur Verbreitung der bovinen Paratuberculose (Johne´sche Krankheit) in den Jahren 1995-97 und 2002/03 sowie Vorstellung geplanter Bekämpfungsmaßnahmen. Vet. Med. Austria/Wien. Tierärztl. Mschr. **92**, 274-277.

Collins, M.T., Sockett, D.C., Goodger, W.J., Conrads, T.A., Thomas, C.B., Carr, J.D.,

l. 1994. Herd prevalence and geographic distribution of, and risk factors for bovine paratuberculosis in Wisconsin. J. Am. Vet. Med. Assoc. **204**, 636-641.

Deutz, A., Spergser, J., Wagner, P., Rosengarten, R., Köfer, J., 2005. Nachweis von

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* bei Wildtieren und Rindern in der Steiermark/Österreich. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **118**, 314-320.

Dreier, S., Khol, J.L., Stein, B., Fuchs, K., Gütler, S., Baumgartner, W., 2006.

Serological, bacteriological and molecularbiological survey of paratuberculosis (Johne´s disease) in Austrian cattle. J. Vet. Med. B **53**, 477-481.

Flebbe, U., 2002. 15 Jahre Paratuberkulosebekämpfung Erfahrung der

Niedersächsische Tierseuchenkasse. Dtsch. Tierärztl. Wschr. **109**, 520-523.

Franken, P., 2002. Paratuberculosis control in The Netherlands.In: The

7th Int. Colloquium on Paratuberculosis, Bilbao, Spain 2002, p. 100.

Fridriksdottir, V., Hjartadottir, S., Poulsen, S., Sigurdarson, S., Gunnarsson, E., 2002.

Paratuberculosis in sheep in Iceland – Is eradication by vaccination possible? In: The 7th Int. Colloquium on Paratuberculosis, Bilbao, Spain 2002, p. 99.

Gasteiner, J., Wenzl, H., Fuchs, K., Jark, U., Baumgartner, W., 1999. Serological

Cross-sectional Study of Paratuberculosis in Cattle in Austria. J. Vet. Med. B **46**, 457-466.

Greenstein, R.J., Collins, M.T., 2004. Emerging pathogens: Is *Mycobacterium avium*

subspecies *paratuberculosis* zoonotic? Lancet **364**, 396-397.

Hacker, U., Hüttner, K., Konoe, M. 2004. Untersuchungen zur serologischen

Prävalenz und zu Risikofaktoren der Paratuberkulose in Milchviehbetrieben in Mecklenburg-Vorpommern. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. **117**, 140-144.

Hasanova, L., Pavlik, I., 2006. Economic impact of paratuberculosis in dairy cattle

herds: a review. Vet. Med.-Czech. **51**, 193-211.

Holmström, A., Stenlund, S., 2005. Control of Paratuberculosis in live cattle and

semen imported to Sweden 1995-2004. In: The 8th International Colloquium on Paratuberculosis. Copenhagen, Denmark 2005, p. 18.

Jakobsen, M.B., Alban, L., Nielsen, S.S., 2000. A cross-sectional study of

paratuberculosis in 1155 Danisch dairy cows. Prev. Vet. Med. **46**, 15-27.

Kalcher, L., Sturmlechner, F., Fürst, C., Mayerhofer, M., Hofinger, M., (Eds.), 2006.

Cattle Breeding in Austria 2006. Zentrale Arbeitsgemeinschaft österreichischer Rinderzüchter, Vienna, pp. 85-86.

Kennedy, D.J., Hood, R., Allworth, M.B., 2002. Directions for the future control of

Johne´s disease caused by cattle types of *M. paratuberculosis* in Australia. In: The 7th Int. Colloquium on Paratuberculosis, Bilbao, Spain 2002, p. 100.

Khol, J.L., Damoser, J., Baumgartner, W., 2005. Hygienemaßnahmen zur

Bekämpfung der Ausbreitung von Paratuberkulose in Rinderbetrieben. Klauentierpraxis **4/05**, 137-138.

Khol, J.L., Damoser, J., Dünser, M., Baumgartner, W., 2007. Paratuberculosis, a

notifiable disease in Austria- current status, compulsory measures and first experiences. Prev. Vet. Med., under review.

Khol, J.L., Stein, B., Dreier, S., Baumgartner, W., 2006. Paratuberculosis (Johne´s

Disease) in Small Ruminants in Austria. Slov. Vet. Res. **43**, Suppl. 10, 129-130.

Klee, W., 2002. Paratuberkulose (Johnesche Krankheit). In: Dirksen,

H.D., Stöber, M. (Eds.), Innere Medizin und Chirurgie des Rindes, 4. Auflage, Blackwell Verlag, Berlin, Germany, pp. 586-591.

Luyven, G., Vom Schloß, A., Saßerath, M., 2002. Paratuberkulosesanierung in

Nordrhein-Westfalen. Dtsch. Tierärztl. Wschr. **109**, 524-527.

Nakase, H., Nishio, A., Tamaki, H., Matsuura, M., Asada, M., Chiba, T., Okazaki, K.,

2006. Specific Antibodies Against Recombinant Protein of Insertion Element 900 of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in Japanese Patients With Crohn´s Disease. Inflamm. Bowel. Dis. **12**, 62-69.

Pickup, R.W., Rhodes, G., Arnott, S., Sidi-Boumedini, K., Bull, T.J., Weightman, A.,

Hurley, M., Hermon-Taylor, J., 2004. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in the Catchment Area and Water of the River Taff in South Wales, United Kingdom, and Its Potential Relationship to Clustering of Crohn´s disease in the City of Cardiff. Appl. Env. Microbiol. **71**, 2130-2139.

Sockett, D.C., 1996. Johne´s disease eradication and control: regulatory implications.

Vet. Clin. North. Am. Food Anim. Pract. **12**, 431-440.

Sternberg, L.S., Larsson, B., Melin, L., Bölske, G., 2005. Screening the Sweedish

sheep population for paratuberculosis. In: The 8th International Colloquium on Paratuberculosis.

Copenhagen, Denmark 2005, p. 76.

Van Leeuwen, J.A., Keefe, G.P., Tremblay, R., Power, C., Wichtel, J.J., .2001.

Seroprevalence of infection with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*, bovine leukemia virus and bovine viral diarrhea virus in Maritime Canada dairy cattle. Can. Vet. J. 42**:** 193-198.

Whitlock, R., 1996. Johne´s Disease. In: Smith, B.P. (Eds.), Large Animal Internal

Medicine, 2nd Ed., Mosby, St Louis, Missouri, pp. 899-904.

Whitlock, R.H., Sweeney, R.W., Fyock, T.L., Smith, J., 2005. MAP Super-Shedders:

Another factor in the control of Johne´s disease. In: The 8th International Colloquium on Paratuberculosis, Copenhagen, Denmark 2005, p. 164.

48. Verordnung der Bundesministerin für Gesundheit und Frauen über ein

Überwachungsprogramm zur Bekämpfung der klinischen Paratuberkulose bei Wiederkäuern (Paratuberkulose-Verordnung). 7. Februar 2006.

Bekanntmachung des Deutschen Bundesministeriums für Verbraucherschutz,

Ernährung und Landwirtschaft vom 10.02.200: Leitlinien für den Umgang mit der Paratuberkulose in Wiederkäuerbeständen (Paratuberculoseleitlinien) vom 17.Jannuar 2005

Table 1: Test scheme for the detection of MAP in clinical affected ruminants according to the Austrian Paratuberculosis-Regulation

	Test result				
ELISA serum	pos.	neg.	neg.	quest.	quest.
PCR faeces	n.d.	neg.	pos.	pos.	neg.
animal	pos.	neg.	pos.	pos.	quest.

ELISA: Enzyme linkend Immuno Sorbent Assay

PCR: Polymerase Chain Reaction

neg.: negative

pos.: positive

quest.: questionable

n.d.: not done

Univ.Prof.Dr. Walter Baumgartner

Diplomate ECBHM

Clinic for Ruminants

University of Veterinary Medicine Vienna

Veterinaerplatz 1

A-1210 Vienna (Austria)

IMPACT OF NUTRITION ON DAIRY CATTLE REPRODUCTION

José Eduardo P. Santos
Veterinary Medicine Teaching and Research Center
University of California, Davis
Tulare, CA – 93274
jsantos@vmtrc.ucdavis.edu

Abstract

Nutrition has an important impact on the reproductive performance of dairy cattle. Energy is the major nutrient required by adult cattle and inadequate energy intake has a detrimental impact on reproductive activity of the female bovine. Cows under negative energy balance have lowered plasma glucose, insulin, and insulin - like growth factor-I (**IGF-I)**; reduced peak frequency of LH pulses; lowered plasma progesterone; and impaired ovarian activity. Incidence of postpartum anovulation and anestrus, as well as reduced fertility, is magnified by losses of body condition during the early postpartum period. Resumption of ovulatory cycles is associated with energy balance, but seems to be mediated by a rise in plasma IGF-I; which is linked to nutritional status and concentrations of insulin in blood. Feeding diets that promote higher plasma glucose and insulin may improve the metabolic and endocrine status of cows. Addition of supplemental fat to the diet improves energy intake, modulates $PGF_{2\alpha}$ secretion by the uterus, affects ovarian dynamics, enhances luteal function, and improves fertility. More specifically, some fatty acids might impact fertilization rate and embryo quality in dairy cows. Although gossypol intake seems to not affect lactation performance of dairy cows, it may affect fertility when the resulting plasma gossypol concentrations are excessive. Excessive intake of dietary crude protein or ruminally degradable protein increases urea nitrogen concentration in blood and tissues and alters uterine function, which may impair conception rates. Although evidence suggests that protein may interfere with reproduction, dietary changes should not be made in detriment to production and profitability.

Introduction

Selection of dairy cattle for milk yield has linked the endocrine and metabolic controls of nutrient balance and reproductive events such that reproduction in dairy cattle is compromised during periods of nutrient shortage, such as in early lactation. Although the energy costs to synthesize and secrete hormones, to ovulate a follicle, and to sustain an early developing embryo are probably minimal compared to the energy needs for maintenance and lactation; However, the metabolic and endocrine cues associated with negative energy balance (**NEB**) impair resumption of ovulatory cycles, oocyte quality and embryo quality, and establishment and maintenance of pregnancy in dairy cattle.

As the demands for milk synthesis increase, reproductive functions may be depressed when no compensatory intake of nutrients is achieved. Numerous recent studies have reported that reproductive performance is compromised by the nutrient demands associated with high levels of production. Milk yield increases at a faster rate in the first 4 to 6 weeks after parturition than energy intake and high yielding cows will experience some degree of negative balance of energy and other nutrients during the early postpartum period. When cows experience a period of NEB, the blood concentrations of nonesterified fatty acids (**NEFA**) increases, at the same time that insulin-like growth factor-I **(IGF-I**), glucose, and insulin are low. These shifts in blood metabolites and hormones might compromise ovarian function and fertility. It has also been reported that energy balance and dry matter intake (**DMI**) might affect plasma concentrations of progesterone (Vasconcelos et al., 2003; Villa-Godoy et al., 1988), which may interfere with follicle development and maintenance of pregnancy.

During the last decades, genetic selection and improved management of herds have dramatically increased milk production of dairy cows, at the same time that fertility has decreased (Butler, 1998). Selection for higher milk production in dairy cattle has changed endocrine profiles of cows so that blood concentrations of bovine somatotropin and prolactin have increased, whereas insulin has decreased (Bonczeck et al., 1988). These hormonal changes and the increased nutrient demands for production might negatively impact reproduction of dairy cows. However, adequate nutrition and sound management has been shown to offset depression of fertility in herds with average milk production superior to 12,000 kg/cow/year (Nebel and McGilliard, 1993; Jordan and Fourdraine, 1993). Several nutritional strategies have been proposed to improve reproduction of dairy cattle with no detrimental effect on lactational performance. Maximizing DMI during the transition period, minimizing the incidence of periparturient problems, adding supplemental fat to diets, manipulating the fatty acid content of fat sources, balancing diets for adequate amounts of ruminally degradable (**RDP**) and undegradable proteins (**RUP**), and optimizing supply of ruminally fermentable carbohydrates during late gestation and early lactation are expected to benefit reproduction in dairy cattle. However, factors such as high incidence of metabolic diseases early postpartum, poor body condition score (**BCS**) at first insemination, high milk urea N, and excessive gossypol concentrations in plasma are detrimental to fertility of dairy cattle.

Resumption of Postpartum Cyclicity

The onset of lactation creates an enormous drain of nutrients in high producing dairy cows which, in many cases, antagonizes the resumption of ovulatory cycles. During early postpartum, reproduction is deferred in favor of individual survival. Therefore, in the case of the dairy cow, lactation becomes a priority to the detriment of reproductive functions.

During periods of energy restriction, oxidizable fuels consumed in the diet are prioritized toward essential processes such as cell maintenance, circulation, and neural activity (Figure 1; Wade and Jones, 2004).

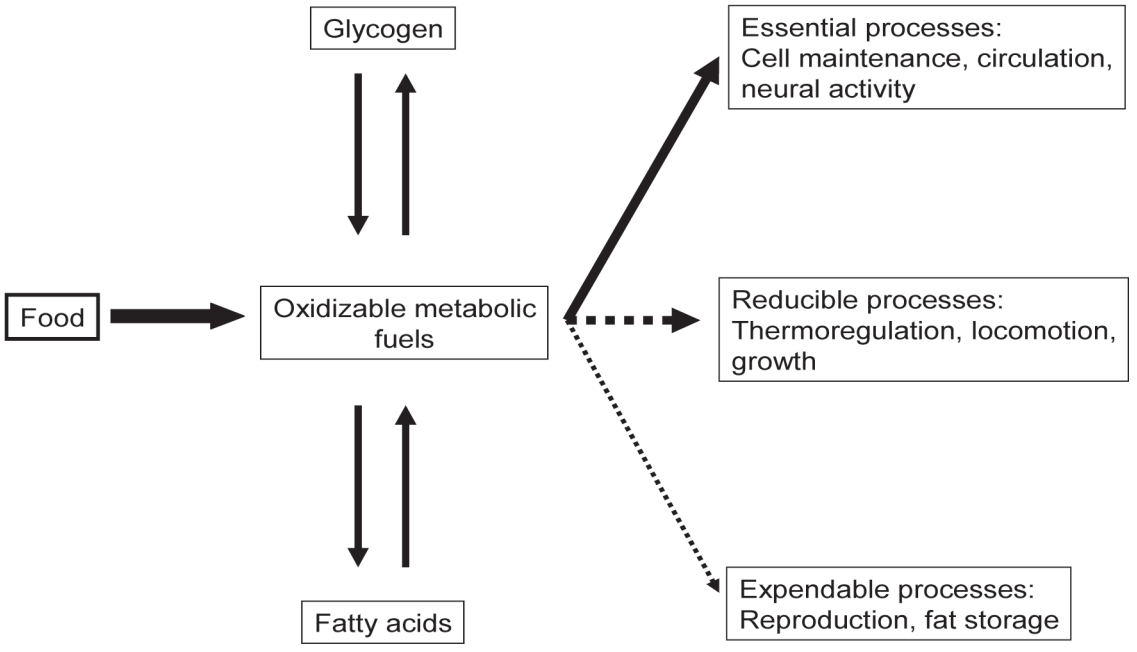


Figure 1. Partitioning of metabolic fuels according to priority (Wade and Jones, 2004).

Homeorhetic controls in early lactation assure that body tissue, primarily adipose stores, will be mobilized in support of milk production. Therefore, the early lactation dairy cow that is unable to consume enough energy-yielding nutrients to meet the needs of production and maintenance will sustain high yields of milk and milk components at the expense of body tissues. This poses a problem to reproduction as delayed ovulation has been linked repeatedly with energy status (Beam and Butler, 1998; Beam and Butler, 1997; Canfield et al., 1990; Butler and Smith, 1989). Energy deprivation reduces the frequency of pulses of luteinizing hormone (**LH**); thereby impairing follicle maturation and ovulation. Furthermore, undernutrition inhibits estrous behavior by reducing responsiveness of the central nervous system to estradiol by reducing the number of estrogen receptor α content in the brain (Figure 2; Hileman et al., 1999).

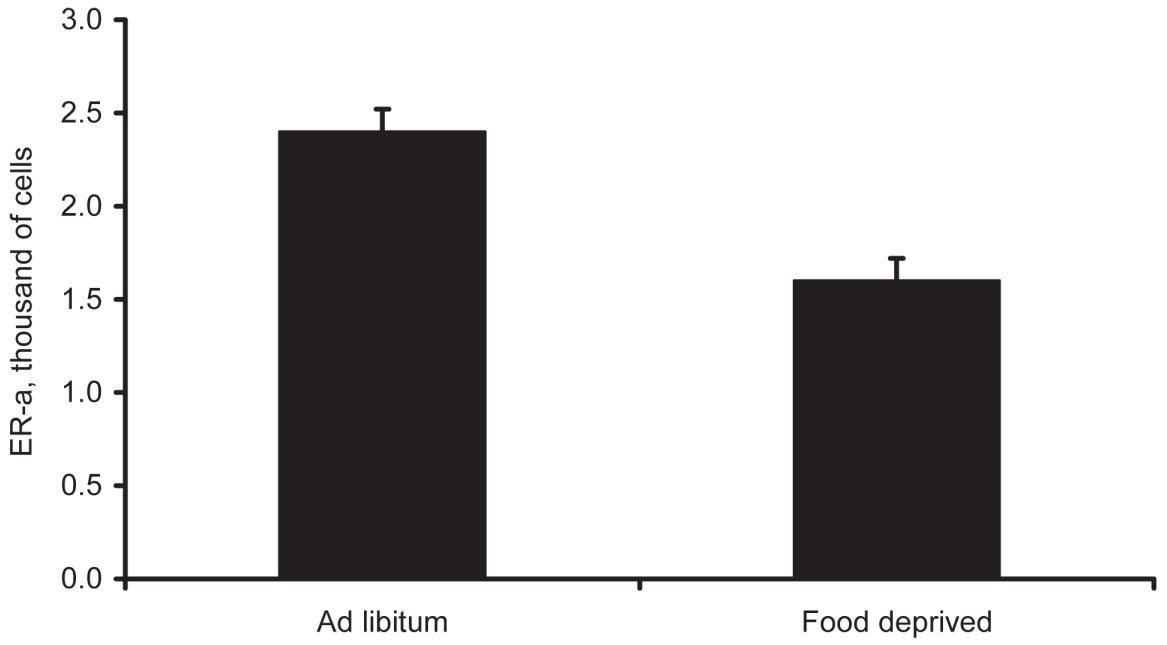


Figure 2. Changes in hypothalamic estrogen receptor-containing cells number in response to feed restriction in ewes (Hileman et al., 1999).

Generally, the first postpartum ovulation in dairy cattle occurs 10 to 14 d after the nadir of NEB (Beam and Butler, 1998; Beam and Butler, 1997; Canfield et al., 1990; Butler and Smith, 1989), and severe weight and BCS losses caused by inadequate feeding or illnesses are associated with anovulation and anestrus in dairy cattle. In fact, cows with low BCS at 60 d postpartum are more likely to be anovular (Figure 3; Santos et al., 2004a), which compromises reproductive performance at first postpartum insemination.

Prolonged postpartum anovulation or anestrus extends the period from calving to first artificial insemination and reduces fertility during the first postpartum service (Stevenson et al., 2001). In fact, anovular cows not only have reduced estrous detection and conception rates, but also have compromised embryo survival (Santos et al., 2004b). On the other hand, an early return to cyclicity is important in regard to early conception. The timing of the first postpartum ovulation determines and limits the number of estrous cycles occurring prior to the beginning of the insemination period. Typically, in most dairy herds, fewer than 20 % of cows should be anovulatory by 60 d postpartum (Stevenson, 2001). Estrus expression, conception rate, and embryo survival improved when cows were cycling prior to an estrous synchronization program for first postpartum insemination (Santos et al., 2004a; Santos et al., 2004b).

Resumption of ovarian activity in high producing dairy cows is determined by energy status of the animal. Therefore, feeding management that minimizes loss of body condition during the early postpartum period and incidence of metabolic disorders during early lactation should increase the number of cows experiencing a first ovulation during the first 4 to 6 wk postpartum.

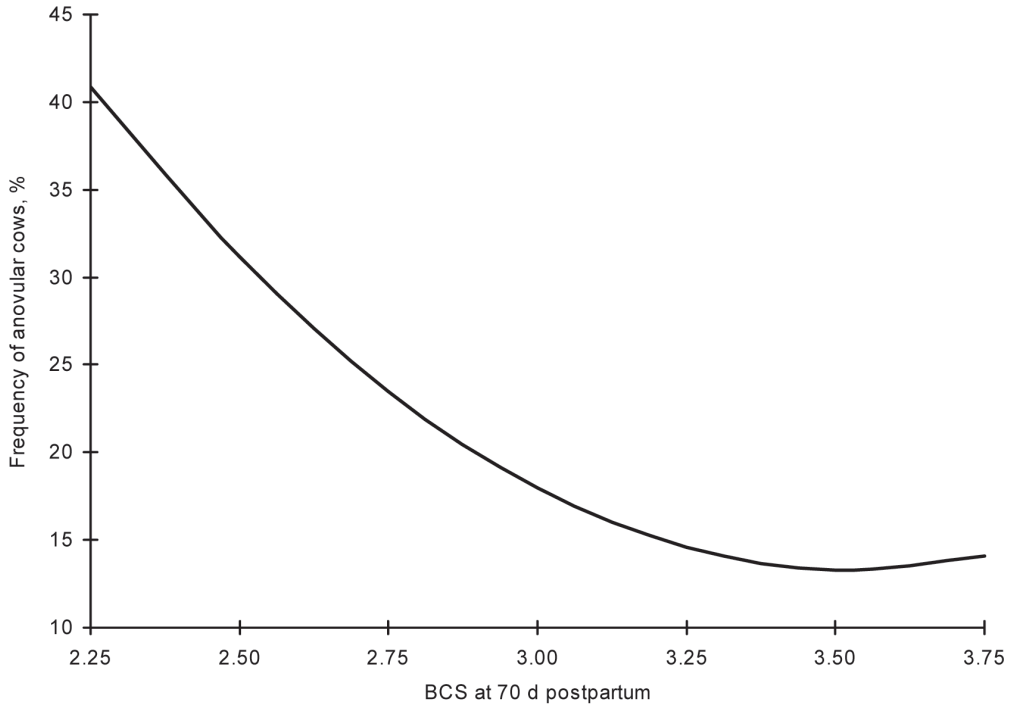


Figure 3. Relationship between the frequency of lactating dairy cows classified as anovulatory/anestrous based on plasma progesterone (< 1.0 ng/ml) at 51 and 63 days in milk and body condition score (BCS) at 70 DIM (Santos et al., 2004a).

Energy and Reproduction

Energy intake appears to have the greatest impact on energy status of lactating dairy cows. Villa-Godoy et al. (1988) reported that variation in energy balance in postpartum Holstein cows was influenced most strongly by DMI (r = 0.73) and less by milk yield (r = -0.25). Therefore, differences among cows in the severity of energy balance are more related with how much energy they consume than with how much milk they produce.

During periods of NEB, blood concentrations of glucose, insulin, and IGF-I are low, as well as the pulse frequency of GnRH and LH. Plasma progesterone concentrations are also affected by the energy balance of dairy cows. These metabolites and hormones have been shown to affect folliculogenesis, ovulation, and steroid production *in vitro* and *in vivo*. The exact mechanism by which energy affects secretion of releasing hormones and gonadotropins is not well defined, but it is clear that lower levels of blood glucose, IGF-I, and insulin may mediate this process.

It has been suggested that NEB influences reproduction of dairy cows by impacting the quality and viability of the oocyte of the ovulatory follicle and the CL resultant of the ovulation of that follicle. Because there is substantial evidence that metabolic factors can influence early follicular development, it is conceivable that changes in metabolism during periods of NEB could influence preantral follicles destined to ovulate weeks later during the breeding period. To test this hypothesis, Kendrick et al. (1999) randomly assigned 20 dairy cows to one of two treatments formulated so that cows consumed either 3.6 % (high energy) or 3.2 % (low energy) of their body weight. Follicles were transvaginally aspirated twice weekly and oocytes were graded based upon cumulus density and ooplasm homogeneity. Cows in better energy balance (high

energy) had greater intrafollicular IGF-I and plasma progesterone and tended to produce more oocytes graded as good. Therefore, NEB not only delays resumption of ovulatory cycles, but it might also influence the quality of occytes once cows are inseminated.

Nutritional Manipulation to Increase Energy Intake

Nutritional efforts to minimize the extent and duration of NEB may improve reproductive performance. The first and most important factor that affects energy intake in dairy cows is feed availability (Grant and Albright, 1995). Therefore, dairy cows should have at all times a high quality palatable diet available to assure maximum DMI. However, DMI is limited during late gestation and early lactation, which can compromise total energy intake and reproductive performance. Several nutritional management strategies have been proposed to increase energy intake during early lactation. Feeding high quality forages, increasing the concentrate:forage ratio, or adding supplemental fat to diets are some of the most common ways to improve energy intake in cows.

Intake of energy increases linearly with increasing grain in the diet up to 55 to 60 % of the dry matter (**DM**). Diets with more than 60 % concentrate and limited fiber content are associated with higher ruminal osmolarity, lower rumen pH, increased VFA in the rumen and portal system, and decreased DMI.

Diets with greater amounts of concentrate have higher content of non-fiber carbohydrate (**NFC**). Starch is the most important NFC in diets for high producing cattle. Degradation of starch in the rumen increases the proportion of propionate relative to other VFA and enhances glucose synthesis by the liver. Both glucose and propionate are insulin secretagogue, and diets with high ruminally degradable starch increase liver output of glucose (Theurer et al., 1999) and plasma concentrations of glucose and insulin (Santos et al., 2000).

A number of studies have demonstrated the importance of insulin as a signal mediating the effects of acute changes in nutrient intake on reproductive parameters in dairy cattle. In early postpartum dairy cattle under NEB, reduced expression of hepatic growth hormone receptor 1A (**GHR-1A)** is thought to be responsible for the lower concentrations of IGF-I in plasma of cows (Radcliff et al., 2003). Because IGF-I is an important hormonal signal that influences reproductive events such as stimulation of cell mitogenesis, hormonal production, and embryo development, among other functions; increasing concentrations of IGF-I early postpartum are important for early resumption of cyclicity and establishment of pregnancy. It is interesting to note that insulin mediates the expression of GHR-1A in dairy cows (Butler et al., 2003; Rhoads et al., 2004), which results in increased concentrations of IGF-I in plasma. Because IGF-I and insulin are important for reproduction in cattle, feeding diets that promote greater insulin concentrations should benefit fertility.

Gong et al. (2002) fed cows of low- and high-genetic merit isocaloric diets, that differed in the ability to induce high or low insulin concentrations in plasma. The authors observed that diets that induced high insulin reduced the interval to first postpartum ovulation, increased the proportion of cows ovulating in the first 50 d postpartum, and improved conception rate at first AI (Table 1).

Table 1. Effect of diets designed to alter plasma insulin concentrations on reproductive parameters of high- and low-genetic merit postpartum dairy cows (Gong et al., 2002).

	Diet				
	Low insulin			High insulin	
Genetic merit	Low	High		Low	High
Plasma insulin,[1] ng/mL	0.34	0.21		0.48	0.32
Ovulation in first 50 d postpartum,[1] %	60	50		100	80
Days to first ovulation	43	54		28	41
Conception rate to first AI, %	62.5	37.5		66.7	44.4

[1] Effect of high-insulin diet ($P < 0.05$).

Recently, monensin (Rumensin 80®, monensin sodium, Elanco, Greenfield, IN) was approved for use in lactating dairy cattle to enhance milk production efficiency. However, although not labeled for treatment of subclinical ketosis, monensin supplementation of transition dairy cows increases plasma glucose concentrations and reduces subclinical ketosis. Because monensin increases propionate production in the rumen and glucose concentrations in plasma, it is expected that monensin supplementation will improve plasma insulin concentrations and impact reproductive performance. When cows were treated with a controlled release capsule that delivers approximately 335 mg of monensin/d, risk for ketosis, displaced abomasum and multiple illnesses were reduced, but reproductive parameters were not altered (Table 2; Duffield et al., 1999).

Table 2. Effect of monensin in a controlled release capsule on conception rates of dairy cows (Duffield et al., 1999).

	Treatment	
	Monensin	Control
Cows, n	406	403
Conception rate, %		
First AI	35.2	34.5
Second AI	37.6	41.5
Third AI	40.7	38.6
> 3 AI	60.0	64.1

Feeding Fat and Fatty Acids

Feeding fat is a common method to increase the energy density of the diet. However, supplemental fat sources

not only provide calories, but also impact tissue metabolism by altering gene expression (polyunsaturated fatty acids; Sumida et al., 1993), by supplying precursors (acetyl Co-A) for synthesis of other fatty acids or steroids (Staples et al., 1998), or by competing with other cell components (Thatcher et al., 2004).

The use of fat in diets of dairy cattle usually increases the energy density of the ration and improves lactation and reproduction (Table 3; Ferguson et al., 1990).

Table 3. Effect of feeding 500 g of saturated free fatty acids on reproduction of dairy cows (Ferguson et al., 1990).

	Treatment	
	Control, no supplemental fat	500 g/d saturated free fatty acids
Cows, n	138	115
Conception rate 1st AI, %	42.6[a]	59.1[b]
Overall conception rate, %	40.7[a]	59.3[b]
Pregnant, %	86.2[c]	93.0[d]

[a,b] Superscripts in the same row differ (P < 0.05).
[c,d] Superscripts in the same row differ (P = 0.08).

Some have suggested that fat feeding improves reproduction in spite of provision of calories (Staples et al., 1998). These effects might be mediated by the fatty acid make up of the fat source, as different fatty acids can have distinct effects at the tissue and cellular level.

There are different commercial sources of rumen inert fats including hydrogenated fatty acids and calcium salts of fatty acids. These fat sources were originally designed to increase the caloric intake of dairy cows with minimal impact on rumen microbial activity. More recently, there has been an increased interest in designing fat sources rich in the polyunsaturated fatty acids of ω-6 (linoleic acid, *cis*-9 *cis*-12 C18:2_{n6}) and ω-3 (α-linolenic acid, C18:3_{n3}; eicosapentaenoic - EPA, C20:5_{n3}; docosahexaenoic - DHA, C22:6_{n3}) for delivery to the lower gut for absorption. Because microbial activity in the rumen resulting in lipolysis and biohydrogenation alters the make-up of fat sources rich in polyunsaturated fatty acids, methods to protect fatty acids from microbial activity in the rumen have been developed. Staples et al. (1998) reviewed the literature on the effects of fat feeding on reproduction in dairy cows and indicated that increasing dietary fat in the ration usually resulted in improvements in reproductive performance of cows. The authors indicated that the beneficial effects of supplemental fat were observed in spite of provision of calories (Staples et al., 1998).

Unfortunately, the commercial methods available today to *protect* lipids from microbial biohydrogenation are not very effective at preventing saturation of polyunsaturated fatty acids in the rumen (Lundy III et al., 2004). In spite of that, we attempted to increase the supply of polyunsaturated fatty acids in a Ca salt form in 3 experiments to improve reproductive performance of lactating dairy cows (Bruno et al., 2004; Cerri et al., 2004; Juchem et al., 2004a, Juchem et al., 2004b).

Effect of Calcium Salts of Fish and Palm Oil on Lactational and Reproductive Performance of Dairy Cows

Seven-hundred and thirty eight multiparous Holstein cows from a commercial dairy farm were assigned to one of the two different diets in a randomized complete block design (Juchem et al., 2007a; Juchem et al.,

2007b). Cows were blocked according to parity and previous lactation milk yield and, within each block, randomly assigned to one of the two treatment diets containing either tallow (1.65 % diet DM) or Ca salts of fish oil and palm oil (CaSFO, 1.8 % diet DM) to provide equal amounts of fatty acids. All cows received a pre-treatment diet during the first 25 d in lactation that consisted of a blend of each fat supplement (0.8 % of tallow + 0.9 % of CaSFO) and remained in the treatment diets until 145 d in lactation. The supplemental fat sources were designed to supply no ω-3 fatty acids as eicosapentaenoic (EPA, C20:5_{n3}) and docosahexaenoic (DHA, C22:6_{n3}) when tallow was fed or approximately 10 g of EPA and 10 g of DHA when calcium salts were fed. Based on previous studies (Thatcher et al., 2004), we hypothesized that feeding a calcium salt of ω-3 fatty acids would modulate uterine prostaglandin synthesis and benefit embryo survival in lactating dairy cows.

Yields of 3.5 % fat-corrected milk (**FCM**) and milk fat were not affected by source of fatty acids, but yields of true protein were greater for cows fed tallow. Feeding CaSFO altered the fatty acid composition of milk fat and increased linoleic, EPA, DHA, and *trans*-9 *cis*-11 CLA. Body condition score was smaller for cows fed CaSFO than tallow. Individual cow DM intake at 52 and 100 d postpartum was similar ($P = 0.50$) for CaSFO and tallow and it averaged 26 kg/d. Digestibility of DM in the total tract was higher for cows fed CaSFO, but efficiency of feed utilization (3.5 % FCM/ DMI) was similar for both treatments. No treatment effect was observed on plasma concentrations of glucose and NEFA.

Reproductive performance of dairy cows was generally not affected by treatment (Table 4).

Table 4. Reproductive responses at first and second AI for multiparous cows fed calcium salts of fish and palm oils (CaSFO) or tallow (Experiment 1).

	Treatment[2]			
Item	CaSFO	Tallow	OR (95% CI)[1]	P value
Cycling,[2] %	82.2 (343)	83.2 (356)	0.98 (0.7 – 1.5)	0.68
First AI				
Pregnancy rate, %				
d 28	35.9 (343)	40.7 (356)	0.81 (0.9 – 1.7)	0.19
d 39	31.2 (340)	35.7 (356)	0.81 (0.9 – 1.7)	0.21
d 67	26.3 (335)	32.0 (353)	0.76 (0.9 – 1.8)	0.10
Pregnancy loss, %				
d 28 to 39	11.7 (120)	12.4 (145)	0.96 (0.5 – 2.3)	0.85
d 39 to 67	12.9 (101)	8.9 (124)	1.44 (0.3 – 1.5)	0.34
d 28 to 67	23.5 (115)	20.4 (142)	1.18 (0.5 – 1.5)	0.55
Second AI				
Pregnancy rate, %				
d 39	19.9 (176)	23.0 (178)	0.96 (0.7 – 2.0)	0.47
d 67	18.7 (176)	17.4 (178)	1.20 (0.5 – 1.6)	0.74
Pregnancy loss, %	5.7 (35)	24.4 (41)	0.23 (1.1 – 26.2)	0.04
Pregnant 140 DIM, %	49.8 (343)	54.2 (356)	0.86 (0.9 – 1.6)	0.25

[1] OR = odds ratio; CI = confidence interval; Tallow was utilized as the reference group.

[2] Number in parenthesis represent the total number of cows.

After analyzing Ca salts samples, we determined that the amount of free fat decreased as the storage time increased. In the first few days after manufacturing, the free fat content was approximately 12 %, and it decreased to less than 6 % after 60 d. Most of the negative effects of CaSFO on embryonic survival were observed for cows inseminated under heat stress, and when the free fatty acid content of the calcium salts was high. Therefore, we suspect that some of the negative effects observed were consequent to the higher availability of free polyunsaturated fatty acids in the rumen.

Effect of Calcium Salts of Fish and Palm Oil on Lactational and Reproductive Performance of Dairy Cows under Heat Stress

Because of the negative effects observed in cows receiving CaSFO under heat stress in the previous experiment and the higher free fat content of the calcium salts fed during the heat stress period, we replicated the same experiment in the summer of 2003 (Bruno et al., 2004).

Dietary treatment and experimental design was the same as described previously. Three-hundred and thirty-one multiparous Holstein cows were assigned to treatments from May 1st to August 31st, and the study was conducted from May to December of 2003.

Group DMI averaged 25.7 kg/d. Yields of milk, 3.5 % FCM, and milk fat were similar for both treatments; but cows fed CaSFO produced milk with lower concentrations of true protein, resulting in lower yields of milk protein. Similarly, concentrations of lactose and solids nonfat were also lower for cows fed CaSFO. Reproductive performance as determined by conception rates, pregnancy loss, days open, and proportion of cows pregnant at the end of the study were similar for both treatments.

Effect of Feeding Ca Salts Rich in ω-6 and trans Fatty Acids during Transition on Lactation, Health, and Reproduction of Dairy Cows

Four-hundred and twenty-three prepartum Holstein dairy cows were assigned to one of the two treatment diets that differed in the supplemental fat source (Juchem et al., 2004a; 2004b). The study started 25 d before the expected calving date, and cows were fed the supplemental fat sources until 70 to 75 d postpartum. The supplemental fat sources were added at equal amounts for both treatments during the pre- (1.9 % of the diet DM; ~250 g/cow/d) and postpartum periods (1.5 % of the diet DM; ~250 g/cow/d) and they consisted of Ca salts of palm oil (**PO**) or calcium salts of linoleic and a blend of monoenoic trans fatty acids (**LTFA**). The calcium salts were the only supplemental fat source fed to cows throughout the entire study.

Yields of milk were similar for both treatments throughout the 70 d experiment. However, because milk fat content decreased beginning at 3 wk postpartum, 3.5 % FCM production was lower for cows fed LTFA. Yields of milk protein were similar between treatments, but milk from cows fed LTFA had higher milk true protein content (2.78 vs 2.74 %; $P < 0.01$). Feeding LTFA altered the fatty acid profile of milk fat as early as 2 wk postpartum. Cows fed LTFA had milk fat with greater concentration of linoleic acid, cis-9 cis-11 CLA, and trans fatty acids. Conception rate at first postpartum insemination was higher for cows fed LTFA than those fed PO (36.1 vs 28.1 %; $P = 0.09$).

Effect of Fat Sources Differing in Fatty Acid Profile on Fertilization Rate and Embryo Quality in Lactating Dairy Cows

Because of the positive effects of LTFA on conception rates of lactating dairy cows, we evaluated the effects of these fatty acids on fertilization rate and embryo quality. One hundred and fifty-four lactating Holstein dairy cows were assigned to one of the two treatment diets as described in the previous experiment. After

synchronizing the estrous cycle and ovulation, cows were inseminated and uteri flushed 5 d after AI (Cerri et al., 2004). A total of 161 ovulations were detected in 154 cows, and 14 (18.7 %) and 12 (15.2 %) cows fed PO and LTFA, respectively, experienced double ovulation when inseminated. The number of structures recovered was 45 and 41 for PO and LTFA, respectively; and the recovery rate (number of structures/ number of corpora lutea) was similar for both treatment, averaging 53.4 %. Fertilization rate tended to be higher (P = 0.11) for cows fed LTA than those fed PO (87.2 vs 73.3 %). Similarly, the number of accessory sperm per structure collected was greater (P < 0.001) for cows fed LTA than PO (34.3 vs 21.5), which might partially explain the greater fertilization rate. Cows fed Ca salts of LTFA throughout the transition period and early lactation had a greater (P = 0.06) proportion of embryos classified as high quality compared to cows fed Ca salts of PO (73.5 vs 51.5 %). Furthermore, the number of total cells (19.4 vs 14.0; P = 0.13) and the proportion of live cells (94.2 vs 85.3 %; P = 0.09) tended to be greater for cows fed LTA than those fed PO. Results from this experiment indicate that improvements in fertility of dairy cows at first postpartum AI observed in the previous study might be attributed to improvements in fertilization rate and embryo quality when cows are fed fat sources containing linoleic and monoenoic trans fatty acids during the transition period.

Source of Se and Reproduction

During the immediate postpartum period, the cow's immune system is challenged severely (Goff, 2006), and the innate and humoral defense systems are reduced. The incidence of diseases and disorders can be high during this time period and have a negative impact on reproductive performance. For example the *risk* of pregnancy (odds ratio) was reduced if cows had retained fetal membranes (**RFM**) or lost one BCS unit (Loeffler et al., 1999). Reduction in adaptive and innate immunity at parturition increases the risk of health disorders such as RFM, metritis, and mastitis. Selenium has long been associated with immunity. Cattle supplemented with Se-yeast had an 18 % increase of Se in plasma in comparison to sodium selenite in some studies (Weiss, 2003). Some regions of the US are deficient in Se, particularly the Southeast; whereas other states such as California are mostly adequate in Se.

We have conducted an experiment to evaluate a supplemental source of organic selenium on reproductive and immune responses by dairy cows in FL and CA (Silvestre et al., 2006a; Silvestre et al., 2006b; Rutigliano et al., 2006a; Rutigliano et al., 2006b). Objectives were to evaluate effects of organic Se on health and reproductive performance of dairy cows. Cows were assigned prepartum at approximately 25 d prior to expected day of calving to one of two sources of Se, organic Se (Se-yeast [SY; Sel-Plex®, Alltech) or inorganic sodium Se (sodium selenite, SS) fed at 0.3 ppm (DM basis) until 80 d posptartum. In both sites, cows followed the same study protocol and health was monitored daily throughout the study. Rectal temperature was recorded each morning for 10 d postpartum. In FL, vaginoscopic evaluation of the reproductive tract was performed at 5 and 10 DIM. Cows were evaluated for incidence of RFM, metritis, puerperal metritis, subclinical endometritis by uterine cytology, ketosis, displacement of abomasum, and mastitis. Cows were subjected to one of the two ovulation synchronization programs, a presynchronized Ovsynch protocol, in which presynchronization was performed with 2 $PGF_{2\alpha}$ given 14 d apart, with the last $PGF_{2\alpha}$ injected 12 d prior to initiation of the Ovsynch, or a CIDR-presynchronized Ovsynch protocol, in which the cows received a CIDR for 7 d, $PGF_{2\alpha}$ at CIDR removal, and Ovsynch was initiated 3 d later.

Plasma Se concentrations increased with days postpartum, but source of Se did not influence Se concentrations in cows in CA. However, in FL, feeding SY improved plasma Se concentrations (0.087 vs 0.069 ± .004 µg/ml; P < 0.01). Incidence of postpartum diseases did not differ between treatments in both sites, but cows fed SY had smaller incidence of purulent vaginal discharge than those fed SS in FL. Diet altered frequency of multiparous cows detected with > 1 event of fever (rectal temperature > 39.5 ºC;

SY, 13.3 % [25/188] vs SS, 25.5 % [46/181]; P < 0.05) but the SY effect was not observed in primiparous cows, which had a much higher frequency of fever (40.5 %). Vaginoscopy discharge scores at 5 and 10 d postpartum were better for the SY group; namely, 47.1 (217/460) vs 35.0 % (153/437) clear, 43.4 [200/460] vs 47.8 % [209/437]) mucopurulent, and 9.3 (43/460) vs 17.1 % (75/437) purulent for SY and SS groups, respectively (P < 0.05). Feeding organic Se (Se-yeast, Sel-Plex®) improved uterine health and second service PR during summer.

Diet failed to alter first service pregnancy rates in CA and FL, and second service pregnancy rate in CA. However, second service pregnancy rate in FL was greater for cows fed SY than SS [SY, 17 % (34/199) vs SS, 11.3 % (24/211); P < 0.05]. The benefit of SY on second service pregnancy rate is intriguing. We hypothesize that cows of the SY group were better able to reestablish an embryo-trophic environment at second service following either early or late embryonic losses.

Innate immunity (i.e., neutrophil function) was determined by phagocytic and oxidative burst capacity of neutrophils in whole blood in both sites. In CA, source of supplemental Se had no effect on neutrophil phagocytic or killing activities, but in FL cows fed SY had improved neutrophil function compared with cows fed SS. Percentage of gated neutrophils that phagocytized Escherichia coli and underwent oxidative burst did not differ between dietary groups at 26 d prepartum (44.6 ± 4.6 %). For subsequent samples, a diet by parity by day interaction was detected (P < 0.05); namely, SY improved neutrophil function at parturition in multiparous cows (42 ± 6.14 % vs 24.3 ± 7.2 %; Figure 1) and at 7, 14 and 37 d postpartum in primiparous cows (53.9 vs 30.7 %, 58.6 vs 41.9 %, and 53.4 vs 34.8 %, respectively; pooled SE = 6.8%). It is clear that neutrophil function is suppressed in primiparous cows at the time of parturition and it is not restored until between 7 to 14 d postpartum. In contrast, the multiparous cows did not have a restoration in neutrophil function until between 14 to 21 d postpartum. Organic Se improved phagocytosis and killing activity of neutrophils in both multiparous and primiparous cows. However, the primiparous cows seemed to be more responsive in that SY stimulated neutrophil function throughout 0 to 21 d postpartum; whereas, SY stimulation in multiparous cows was evident on only the day of parturition. In most of our postpartum experiments, we detect distinct differences between primiparous and multiparous cows for a multiplicity of physiological and biochemical responses.

Anti-IgG to Ovalbulmin did not differ between dietary groups at -60 and -22 d postpartum (0.18 ± 0.01 and 0.97 ± 0.04 optical density). Although Anti-IgG to Ovalbulmin concentration did not differ between dietary groups for primiparous cows (1.40 ± 0.08 optical density), concentrations were higher in SY cows at 21 and 42 dpp (1.91 ± 0.1 vs 1.24 ± 0.07; 1.44 ± 0.7 vs 0.99 ± 0.07 optical density, respectively; P < 0.01). Thus our measurement of adaptive immunity was improved in multiparous dairy cows in response to SY, but not in primiparous cows.

Our findings indicated that feeding SY improved measures of humoral and cellular immunity, uterine health, and second service pregnancy rate in cows in FL; which is known as a Se deficient state. However, in CA source of Se had no impact on health, measures of immune response, and reproductive performance.

Gossypol and Reproduction

Gossypol was first discovered by Chinese scientists after noticing that no birth of a child happened for more than a decade in a village where people cooked food with cottonseed oil. Since then, innumerous reports in the literature have confirmed the anti-fertility effect of gossypol in mammals. Gossypol disrupts cell membrane metabolism, affects glycolysis, influences mitochondrial and energy metabolism in the cell, and increases fragility of cell membranes, such as in the red blood cells. In fact, erythrocyte fragility has been one of the indicators of potential gossypol toxicosis.

Risco et al. (1992) were one of the first to show that gossypol can be toxic and even kill growing cattle.

They fed rations to bull calves with 200, 400 or 800 mg/kg of free gossypol (**FG**) for 120 days. The diets with 400 and 800 mg/kg of FG were considered to be toxic and could potentially cause the death of growing ruminants. Baby calves have little ability to detoxify gossypol and toxicity can be easily induced by feeding cotton products.

The negative effects of gossypol on fertility of ruminants are clear in males. Studies at the University of Florida and at Kansas State University have shown that as little as 8 g/d of FG fed to young bulls reduced sperm quality and sexual activity (Chenoweth et al., 2000; Velasquez-Pereira et al., 1998).

Little information is available on the effects of cottonseed or gossypol on fertility of dairy cows. The female ruminant seems to be relatively insensitive to the anti-fertility effect of gossypol because of rumen detoxification; but *in vitro* data indicate some inhibition of embryonic development and ovarian steroidogenesis (Randel et al., 1992). However, a recent study from the University of Florida (Brocas et al., 1997) observed a distinct effect of gossypol on gametes and embryos of cattle. Feeding cottonseed meal to dairy cows did not affect the number of oocytes collected per cow, cleavage rate after *in vitro* maturation and fertilization, or the proportion of oocytes or embryos that developed to blastocysts. When oocytes were exposed *in vitro* to physiological levels of gossypol (similar to those observed in plasma of cows fed cotton products), cleavage rate or subsequent development was not affected. In contrast, addition of a higher gossypol concentration to the media reduced embryo cleavage rate. Based on these data, the authors concluded that developing embryos are sensitive to high gossypol concentrations and diets that increase plasma gossypol level may impact fertility of cows.

Three experiments were conducted to determine the effects of three concentrations of FG in the diet of Holstein dairy heifers on reproductive parameters by assessing follicle development, luteal function, embryo quality, and embryo development (Coscioni et al., 2003a; Coscioni et al., 2003b; Villaseñor et al., 2003). In all 3 experiments, postpubertal heifers were randomly assigned to one of three isocaloric and isonitrogenous diets differing only in their FG content (from cracked Pima cottonseed): control (C; 0 mg of FG/kg of BW); medium (M; 20 mg of FG/kg of BW); and high (H; 40 mg of FG/kg of BW).

In experiment 1 (Coscioni et al., 2003a), emergence of first and second follicular waves (**FW**) were similar ($P>0.15$) for C (1.1 and 9.1 d), M (1.0 and 8.9 d), and H (1.9 and 8.8 d). Deviation of the dominant follicle (**DF**) after emergence for the first (C=3.5 vs M=3.5 vs H=3.4; P=0.99) and second FW (C=4.0 vs M=4.6 vs H=4.5; P=0.61) was not affected by treatments. Treatment had no effect on CL growth throughout the estrous cycle (P=0.68). Estrous cycle length (P=0.60), maximum follicle diameter for the DF of the first and second FW (P=0.96, P=0.64), period of follicle dominance for the DF of the first and second FW (P=0.99, P=1.0), and diameter of ovulatory follicle (P=0.36), were not influenced by dietary gossypol intake.

In experiments 2 and 3 (Coscioni et al., 2003b, Villaseñor et al., 2003), number of structures collected per heifer were, respectively, 9.4, 8.4, and 8.8 for C, M, and H (P=0.88). Number of embryos grades 1 and 2 were similar for all treatments (P=0.87), and averaged 3.5, 3.6, and 3.3 for C, M, and H, respectively. However, heifers receiving the H diet (5.8) had a higher number ($P<0.01$) of grade 3 and degenerated embryos than those receiving the C (3.6) and M (3.2) diets. Number of unfertilized oocytes were higher ($P<0.01$) for heifers fed diets containing gossypol than for controls. High dietary gossypol retarded embryo development, and heifers fed C and M had a lower proportion of embryos classified as morula than those fed H (33.3 vs 20.2 vs 47.7 %; $P<0.02$). Total number of cells in fresh stained embryos were similar for C, M, and H (16.6 vs 14.8 vs 16.4; P=0.40). However number of live cells was higher for C compared to M, but did not differ from H (13.5 vs 10.4 vs 12.2; P=0.05). Similarly, percent of total live cells was higher for C compared to M, but did not differ from H (80.2 vs 72.2 vs 78.1; P=0.02). Hours of development for *in vitro* cultured embryos was reduced by gossypol acetic acid (77.1 vs 64.9 h; P=0.05), but no interaction between heifer diet and culture medium was observed (P=0.50). Number of cells after culture was higher

for C than M and H (23.1 vs 20.3 vs 14.6; P<0.01), but culture medium did not influence cell numbers (P=0.50). Results indicate that consumption of up to 40 mg of FG/kg of BW does not influence follicle and CL development in dairy heifers, but feeding a diet with 40 mg of FG/kg of BW increased the number of degenerated embryos and hindered embryo development by day 7 after AI. Furthermore, concentrations of gossypol *in vitro* of 10 µg/ml resulted in delayed embryo development.

Results from these studies indicate that FG intake up to 40 mg/kg of BW/d does not affect follicle and CL development in Holstein heifers, but it can affect fertility by decreasing fertilization and delaying embryo development. Reduced conception and increased pregnancy loss in dairy cattle fed high dietary gossypol previously demonstrated by our laboratory might be related to reduced embryo quality and viability. When lactating dairy cows received embryos from heifers fed either no gossypol or > 20 mg of free gossypol/kg of body weight, pregnancy rates were reduced (P = 0.02) in those cows receiving embryos from gossypol-fed heifers (Galvão et al., 2004). In fact, when cows were fed 720 or 950 mg/kg of FG in the diet for the first 180 d in lactation, gossypol consumption increased from approximately 17 to 24 g/d throughout the course of the study, which resulted in marked differences in plasma gossypol concentrations in the first 150 d postpartum (Santos et al., 2002). These changes in plasma gossypol concentrations reduced conception rates and increased pregnancy losses (Table 5), which resulted in reduced overall pregnancy rates during the entire study (Figure 4; Santos et al., 2003).

Table 5. Effect of concentration of gossypol in the diet on reproductive parameters in dairy cows (Santos et al., 2003).

	Gossypol		
Parameter (%)	Low	High	P <
Estrous detection	51.5	57.0	0.10
Conception at 1st AI	28.2	29.3	0.73
Proportion pregnant	79.1	70.6	0.01
Abortion	3.3	7.9	0.01

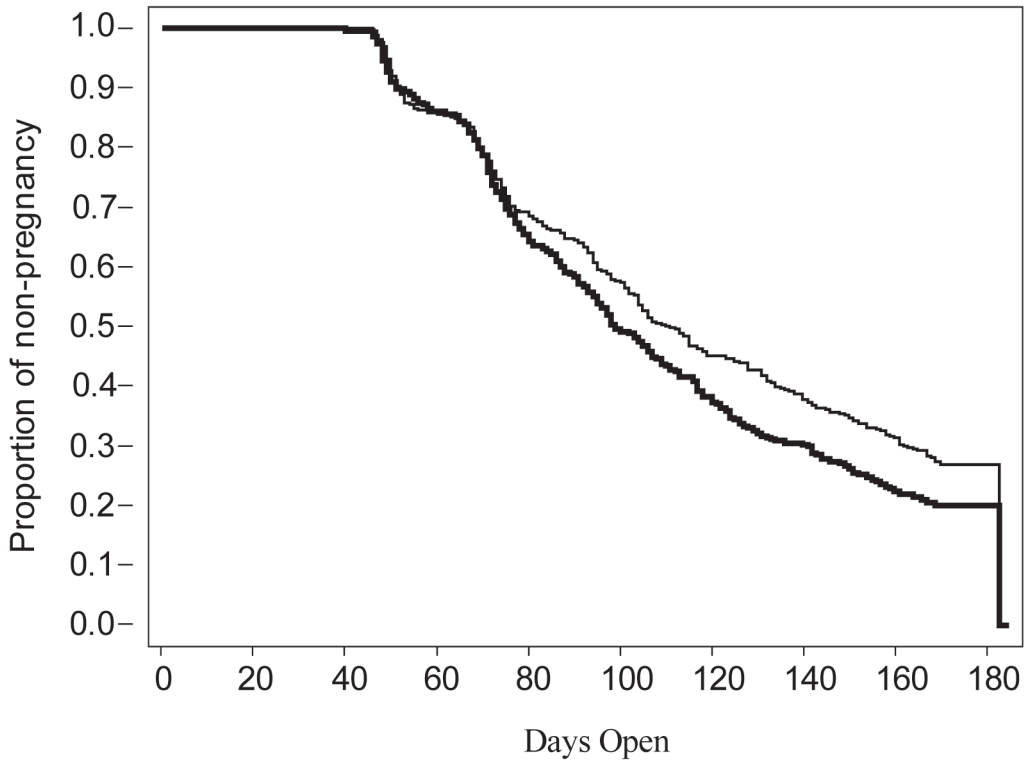


Figure 4. Survival curves for the proportion of cows remaining nonpregnant when fed the low gossypol diet with whole Upland cottonseed (thick line; LSM = 111.2; SEM = 2.35) and of cows fed the high gossypol diet with a blend of whole Upland and cracked Pima cottonseed (thin line; LSM = 119.1; SEM = 2.59). The high gossypol diet reduced ($P < 0.01$) pregnancy rates (Santos et al., 2003).

Therefore, feeding Holstein heifers diets that supply > 20 mg of FG/kg of BW can suppress embryo development. When these embryos are transferred into lactating cows, maintenance of pregnancy is compromised. Furthermore, when lactating cows are fed diets that result in plasma gossypol concentrations greater than 5 µg/ml, conception rates and maintenance of pregnancy are reduced. In fact,

when the impact of plasma gossypol concentrations on conception rates after the first postpartum insemination was evaluated, conception declined in a quadratic manner as plasma gossypol concentrations increased (Figure 5, Santos et al., 2003). Therefore, it is prudent to feed lactating dairy cows amounts of cottonseed that result in low plasma gossypol concentrations.

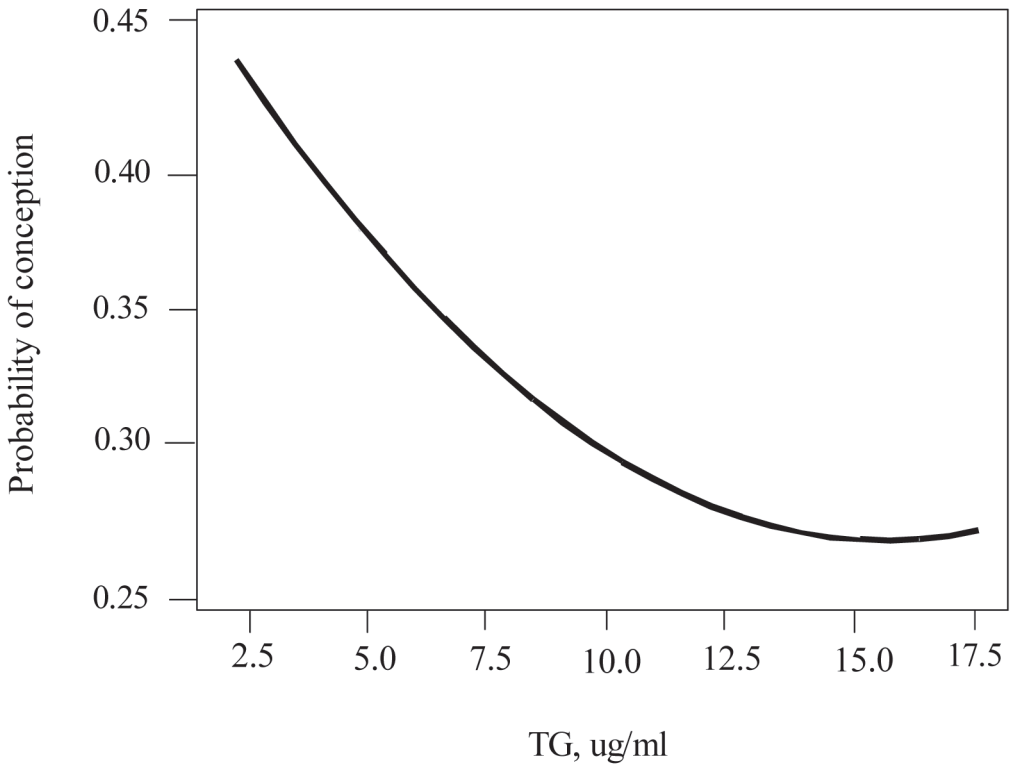


Figure 5. Probability of conception after the first postpartum artificial insemination (AI) according to plasma total gossypol (TG) concentrations (µg/ml). Quadratic effect of plasma TG on the probability of conceiving after the first postpartum AI was significant ($P < 0.006$).

Implications

Inadequate intake of nutrients and inadequate body reserves during early lactation are the major factors affecting reproductive performance of dairy cows. Improving energy balance by increasing energy intake through additional NFC or supplemental fat in the diet reduces days to first ovulation and improves conception postpartum. Growing evidence indicates that the delivery of supplemental unsaturated fatty acids to the lower gut for absorption may target reproductive tissues to alter reproductive function and fertility. We presented results from 4 experiments indicating that reproductive performance of dairy cows is influenced by dietary fatty acids when the energy concentration in the ration is maintained. However, better methods to protect these fatty acids are required if precise calculations of the supply of unsaturated lipids are to be utilized in dairy cattle ration formulation to improve fertility. Source of Se might influence health and reproduction of dairy cows, but response seem to be dependent upon the background Se concentrations in dietary ingredients. Lastly, although lactating dairy cows can consume substantial amounts of gossypol with no detrimental effects on health and lactation, when plasma gossypol concentrations increase above 5 µg/ml, embryo development and establishment and maintenance of pregnancy are compromised.

References

Beam, S.W., and W.R. Butler. 1998. Energy balance, metabolic hormones, and early postpartum follicular development in dairy cows fed prilled lipid. J. Dairy Sci. 81:121-131.

Beam, S.W., and W.R. Butler. 1997. Energy balance and ovarian follicle development prior to first ovulation postpartum in dairy cows receiving three levels of dietary fat. Biol. Reprod. 56:133-142.

Bonczeck, R.R., C.W. Young, J.E. Wheaton, and K.P. Miller. 1988. Responses of somatotropin, insulin, prolactin, and thyroxine to selection for milk yield in Holsteins. J. Dairy Sci. 71:2470-2478.

Brocas, C, R.M. Rivera, F.F. Paula-Lopes, L.R. McDowell, M.C. Calhoun, C.R. Staples, N.S. Wilkinson, A.J. Boning, P.J. Chenoweth, and P.J. Hansen. 1997. Deleterious actions of gossypol on bovine spermatozoa, oocytes, and embryos. Biol. Reprod. 57:901-907.

Bruno, R.G.W., K.N. Galvão, S.O. Juchem, W.W. Thatcher, E.J. DePeters, D. Luchini, and J.E.P. Santos. 2004. Effect of Ca salts of palm and fish oils on lactation and reproduction of dairy cows under heat stress. J. Dairy Sci. 87(Suppl. 1):336 (Abstr.).

Butler, S.T., A.L. Marr, S.H. Pelton, R.P. Radcliff, M.C. Butler, and W.R. Butler. 2003. Insulin restores GH responsiveness during lactation-induced negative energy balance in dairy cattle: effects on expression of IGF-I and GH receptor 1A. J. Endocrinol. 176:205-217.

Butler, W. R. 1998. Review: effect of protein nutrition on ovarian and uterine physiology in dairy cattle. J. Dairy Sci. 81: 2533-2539.

Butler, W.R., and R.D. Smith. 1989. Interrelationships between energy balance and postpartum reproductive function. J. Dairy Sci. 72:767-783. Butler, 1998

Canfield, R.W., C.J. Sniffen, and W.R. Butler. 1990. Effects of excess degradable protein on postpartum reproduction and energy balance in dairy cattle. J. Dairy Sci. 73:2342-2349.

Cerri, R.L.A., R.G.S. Bruno, R.C. Chebel, K.N. Galvão, H. Rutgliano, S.O. Juchem, W.W. Thatcher, D. Luchini, and J.E.P. Santos. 2004. Effect of fat sources differing in fatty acid profile on fertilization rate and embryo quality in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 87(Suppl. 1):297 (Abstr.).

Chenoweth, P.J., C.C. Chase, Jr., C.A. Risco, and R.E. Larsen. 2000. Characterization of gossypol-induced sperm abnormalities in bulls. Theriogenology. 53:1193-203.

Coscioni, A.C., M. Villaseñor, K.N. Galvão, J.E.P. Santos, B. Puschner, and L.M.C. Pegoraro. 2003a. Effect of gossypol intake and plasma gossypol concentrations on follicle development and luteal function in dairy heifers. J. Dairy Sci. 86(Suppl. 1):240 (Abstr.).

Coscioni, A.C., M. Villaseñor, K.N. Galvão, R. Chebel, J.E.P. Santos, J.H. Kirk, B. Puschner, and L.M.C. Pegoraro. 2003b. Effect of gossypol intake on plasma and uterine gossypol concentrations and on embryo quality and development in superovulated Holstein dairy heifers. J. Dairy Sci. 86(Suppl. 1):240 (Abstr.).

Duffield, T.F., K.E. Leslie, D. Sandals, K. Lissemore, B.W. McBride, J.H. Lumsden, P. Dick, and R. Bagg. 1999. Effect of a monensin-controlled release capsule on cow health and reproductive performance. J. Dairy Sci. 82:2377-2384.

Ferguson, J.D., D. Sklan, W.V. Chalupa, and D.S. Kronfeld. 1990. Effects of hard fats on in vitro and in vivo rumen fermentation, milk production, and reproduction in dairy cows. J. Dairy Sci. 73:2864-2879.

Galvão, K.N., J.E.P. Santos, A.C. Coscioni, S.O. Juchem, R.C. Chebel, W.M. Sischo, and M. Viallaseñor. 2006. Embryo survival from gossypol-fed heifers after transfer to lactating cows treated with human chorionic gonadotropin. J. Dairy Sci. 89: 2056-2064.

Goff, J. P. 2006. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. J. Dairy Sci.89: 1292-1301.

Gong, J. G., D. G. Armstrong, G. Baxter, C. O. Hogg, P. C. Garnsworthy, and R. Webb. 2002. The effect of increased dietary intake on superovulatory response to FSH in heifers. Theriogenology. 57: 1591-1602.

Grant, R.J., and J.L. Albright. 1995. Feeding behavior and management factors during the transition period in dairy cattle. J. Anim. Sci. 73:2791.

Hileman S.M., L.S. Lubbers, H.T. Jansen, and M.N. Lehman. 1999. Changes in hypothalamic estrogen receptor-containing cell numbers in response to feed restriction in the female lamb. Neuroendocrinology. 69:430-437.

Jordan, E.R., and R.H. Fourdraine. 1993. Characterization of the management practices of the top milk producing herds in the country. J. Dairy Sci. 76:3247-3256.

Juchem, S.O., R.L.A. Cerri, M. Villaseñor, K.N. Galvão, R. Bruno, H.M. Rutigliano, A.C. Coscioni, E.J. DePeters, W.W. Thatcher, D. Luchini, and J.E.P. Santos. 2004a. Effect of feeding Ca salts of palm oil (PO) or of a blend of linoleic and monoenoic trans fatty acids (LTFA) on lactation and health of Holstein cows. J. Dairy Sci. 87(Suppl. 1):95-96 (Abstr.).

Juchem, S.O., R.L.A. Cerri, R. Bruno, K.N. Galvão, E.W. Lemos, M. Villaseñor, A.C. Coscioni, H.M. Rutigliano, W.W. Thatcher, D. Luchini, and J.E.P. Santos. 2004b. Effect of feeding Ca salts of palm oil (PO) or of a blend of linoleic and monoenoic trans fatty acids (LTFA) on uterine involution and reproductive performance in Holstein cows. J. Dairy Sci. 87(Suppl. 1):310 (Abstr.).

Juchem, S.O., J.E.P. Santos, R.L.A. Cerri, R.C. Chebel, K.N. Galvão, E.J. DePeters, W.W. Thatcher, and F. Silvestre. 2007a. Reproduction and uterine prostaglandin secretion of dairy cows fed calcium salts of fish oil. J. Dairy Sci. (submitted March 2007).

Juchem, S.O., J.E.P. Santos, R.L.A. Cerri, R.C. Chebel, K.N. Galvão, R. Bruno, E.J. DePeters, T. Scott, W.W. Thatcher, and D. Luchini. 2007b. Effect of calcium salts of fish and palm oils on lactational performance of Holstein cows. Anim. Feed Sci. Technol. *In press.*

Kendrick, K.W., T.L. Bailey, A.S. Garst, A.W. Pryor, A. Ahmadzadeh, R.M. Akers, W.E. Eyestone, R.E. Pearson, and F.C. Gwazdauskas. 1999. Effects of energy balance on hormones, ovarian activity, and recovered oocytes in lactating Holstein cows using transvaginal follicular aspiration. J. Dairy Sci. 82:1731-1740.

Loeffler, S. H., M. J. de Vries, and Y. H. Schukken. 1999. The effects of time of disease occurrence, milk yield, and body condition on fertility of dairy cows. J. Dairy Sci. 82: 2589-2604.

Lundy, III, F.P., E. Block, W.C. Bridges, Jr., J.A. Bertrand, and T.C. Jenkins. 2004. Ruminal biohydrogenation in Holstein cows fed soybean fatty acids as amides or calcium salts. J. Dairy Sci. 87:1038-1046.

Nebel, R.L., and M.L. McGilliard. 1993. Interactions of high milk yield and reproductive performance in dairy cows. J. Dairy Sci. 76:3257-3268.

Radcliff, R.P., B.L. McCormack, B.A. Crooker, and M.C. Lucy. 2003. Plasma hormones and expression of growth hormone receptor and insulin-like growth factor-I mRNA in hepatic tissue of periparturient dairy cows. J. Dairy Sci. 86: 920-3926.

Randel R.D., C.C. Chase Jr., and S.J. Wyse. 1992. Effects of gossypol and cottonseed products on reproduction of mammals. J. Anim. Sci. 70:1628-1638.

Rhoads, R.P., J.W. Kim, B.J. Leury, L.H. Baumgard, N. Segoale, S.J. Frank, D.E. Bauman, and Y.R. Boisclair. 2004. Insulin increases the abundance of the growth hormone receptor in liver and adipose tissue of periparturient dairy cows. J. Nutr. 134:1020-1027.

Risco, C.A., C.A. Holmberg, and A. Kutches. 1992. Effect of graded concentrations of gossypol on calf performance: toxicological and pathological considerations. J. Dairy Sci. 75:2787-2798.

Rutigliano, H.E., R.L.A. Cerri, F.S. Lima, L.F. Vettorato, D.B. Araujo, J. Hillegass, W.W. Thatcher, and J.E.P.

Santos. 2006a. Effects of source of supplemental Se on health and immune status of periparturient dairy cows. J. Dairy Sci. 89(Suppl. 1):165 (Abstr.).

Rutigliano, H.M., F.S. Lima, R.L.A. Cerri, L.F. Greco, J.M. Vilela, V. Magalhaes, J. Hillegass, W.W. Thatcher, and J.E.P. Santos. 2006b. Effects of source of supplemental Se and method of presynchronization on reproduction and lactation of dairy cows. J. Dairy Sci. 89(Suppl. 1):151 (Abstr.).

Santos, J.E.P., S.O. Juchem, R.L.A. Cerri, K.N. Galvão, R.C. Chebel, W.W. Thatcher, C. Dei, and C. Bilby. 2004a. Effect of bST and reproductive management on reproductive and lactational performance of Holstein dairy cows. J. Dairy Sci. 87: 68-881.

Santos, J.E.P., W.W. Thatcher, R.C. Chebel, R.L.A. Cerri, and K.N. Galvão. 2004b. The effect of embryonic death rates in cattle on the efficacy of estrous synchronization programs. Anim. Reprod. Sci. 82-83C:513-535.

Santos, J.E.P., M. Villaseñor, E.J. DePeters, P.H. Robinson, and C.H. Holmberg. 2003. Type of cottonseed and gossypol in diets of lactating dairy cows: Plasma gossypol, reproduction, and health. J. Dairy Sci. 86:892-905.

Santos, J.E.P., M. Villaseñor, E.J. DePeters, P.H. Robinson, and B.C. Baldwin. 2002. Effect of type of cottonseed and gossypol intake on plasma gossypol and performance of lactating Holstein dairy cows. J. Dairy Sci. 85:1491-1501.

Santos, J.E.P., J.T. Huber, C.B. Theurer, C.M. Nussio, L.G. Nussio, M. Tarazon, and D. Fish. 2000. Effects of grain processing and bovine somatotropin on metabolism and ovarian activity of dairy cows during early lactation. J. Dairy Sci. 83:1004-1015.

Staples, C.R., J.M. Burke, and W.W. Thatcher. 1998. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows. J. Dairy Sci. 81:856-871.

Stevenson, J.S. 2001. Reproductive management of dairy cows in high milk-producing herds. J. Dairy Sci. 84(E. Suppl.):E128-E143.

Silvestre, F.T., D.T. Silvestre, C. Crawford, J.E.P. Santos, C.R. Staples, and W.W. Thatcher. 2006a. Effect of selenium (Se) source on innate and adaptive immunity of periparturient dairy cows. Biol. Repro. 39th Annual Meeting. Special Issue. Pp. 132.

Silvestre, F.T., D.T. Silvestre, J.E.P. Santos, C. Risco, C.R. Staples, and W.W. Thatcher, 2006b. Effects of selenium (Se) sources on dairy cows. J. Anim. Sci. 89 (Suppl. 1):52.

Sumida, C., R. Graber, and E. Nunez. 1993. Role of fatty acids in signal transduction: modulators and messengers. Prost. Leukot. Essent. Fatty Acids 48:117-122.

Thatcher, W.W., T. Bilby, C.R. Staples, L. MacLaren, and J. Santos. 2004. Effects of polyunsaturated fatty acids on reproductive processes in dairy cattle. *In:* Proc. Southwest Nutrition & Management Conference, Bioproducts, Inc. Pre-Conference Symposium. Phoenix, AZ, February 26.

Theurer C.B., J.T. Huber, A. Delgado-Elorduy, and R. Wanderley. 1999. Invited review: summary of steam-flaking corn or sorghum grain for lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 82:1950-9.

Vasconcelos, J.L.M., S. Sangsritavong, S.J. Tsai, and M.C. Wiltbank. 2003. Acute reduction in serum progesterone concentrations after feed intake in dairy cows. Theriogenology. 60:795-807.

Velasquez-Pereira, J., P.J. Chenoweth, L.R. McDowell, C.A. Risco, C.A. Staples, D. Prichard, F.G. Martin, M.C. Calhoun, S.N. Williams, and N.S. Wilkinson. 1998. Reproductive effects of feeding gossypol and vitamin E to bulls. J. Anim Sci. 76:2894-2904.

Villa-Godoy, A., T.L. Hughes, R.S. Emery, T.L. Chaplin, and R.L. Fogwell. 1988. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 71:1063-1069.

Villaseñor, M., A.C. Coscioni, K.N. Galvão, S.O. Juchem, J.E.P. Santos, and B. Puschner. 2003. Effect of gossypol intake on plasma and uterine gossypol concentrations and on embryo development and viability *in vivo* and *in vitro.* J. Dairy Sci. 86(Suppl. 1):240 (Abstr.).

Wade, G.N., and J.J. Jones. 2004. Neuroendocrinology of nutritional infertility. Am. J. Regul. Integr. Comp. Physiol. 287:1277-1296.

Weiss, W. P. 2003. Selenium nutrition of dairy cows: comparing responses to organic and inorganic selenium forms. Pg 33-343 in Nutritional Biotechnology in the Feed and Food Industries, Alltech Inc., Lexington, KY.

Pruebas diagnósticas cuantitativas: Índices de validez y valores predictivos. Aplicación a la paratuberculosois

José M. Doménech Massons
Susana Astiz Blanco
Laura Elvira Partida

La prueba diagnóstica es una herramienta que ayuda a identificar casos (individuos con la enfermedad) pero sus resultados deben ser interpretados con precaución porque se pueden encontrar tanto falsos positivos como falsos negativos. La frecuencia de estos errores de predicción depende de las características de la prueba diagnóstica y del contexto en que se aplica. El objeto de esta ponencia es presentar el modelo matemático en que se fundamenta el uso de las pruebas diagnósticas cuantitativas. Los trabajos de Burgueño et al. (1995) y Zweig y Campbell (1993), en el ámbito de la Medicina, son dos buenas referencias para profundizar en este tema. Asimismo el trabajo de Greiner y Gardner (2000) evalúa los factores epidemiológicos a tomar en cuenta en el ámbito de la veterinaria a la hora de validar una prueba diagnóstica.

Exactitud diagnóstica de una prueba

La exactitud diagnóstica ("diagnostic accuracy") es la característica más importante de la prueba como instrumento de clasificación: mide su capacidad para distinguir entre dos estados de salud (Zweig y Campbell, 1993).

Suponga un **diseño de casos y controles** en el que se aplica una prueba diagnóstica cuantitativa (por ejemplo, glucemia en ayunas) a dos muestras, una de individuos que sin la enfermedad (controles) y a otra de individuos con la enfermedad (casos). Este es el caso del estudio de Klausen et al. (2003) en el cual evaluó la técnica ELISA en suero y leche en granjas danesas. Para el ensayo se seleccionaron ocho granjas. Los controles fueros las explotaciones 1 y 2 con ausencia de casos clínicos de paratuberculosis desde hace muchos años y sin introducción de animales del exterior. Los casos fueron las explotaciones 3 a 8 con numerosos casos clínicos diagnosticados anualmente.

La ausencia y presencia de la enfermedad se determina a través del **diagnóstico de referencia** o "gold standard". Sin embargo, en el caso de la paratuberculosis no se dispone de técnica *antemortem* de referencia o "gold standard" (Van Schaik y col, 2007); en este caso la técnica para el diagnóstico de paratuberculosis suele ser el cultivo fecal (Whitlock y col., 2000, Kalis y col., 2002), técnica de elevado coste económico y que requiere 16 semanas para obtener el resultado (Whitlock y col., 2000).

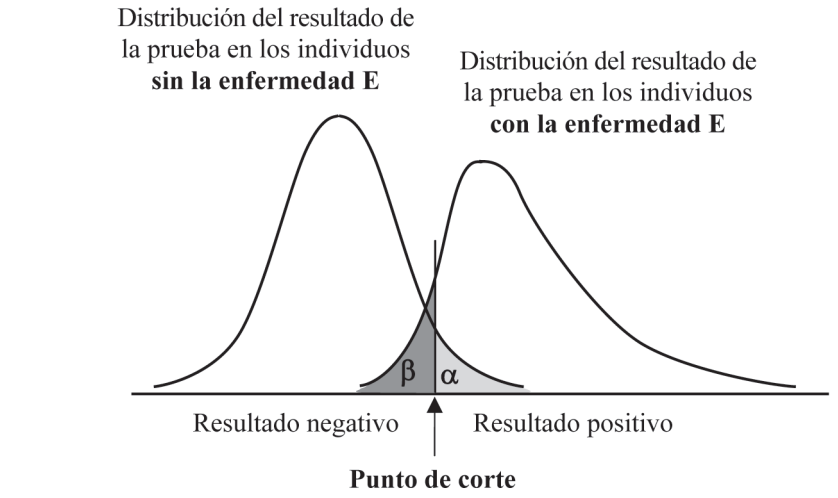
Para que este diseño valore adecuadamente la exactitud de la prueba, **los casos** deben representar el espectro de la enfermedad (casos leves, intermedios y graves) presente en la comunidad, porque la **sensibilidad** de la prueba (que es el índice de exactitud que se calcula en este grupo) puede depender del estadio de la enfermedad. **Los controles** deben representar el diagnóstico diferencial de la enfermedad, para que la **especificidad** de la prueba (que es el índice de exactitud a calcular en este grupo) sea la correcta.

Por ejemplo, en el trabajo de Whitlock et al. (2000) evidenciaron como la técnica de ELISA presentaba mayor sensibilidad en animales que eliminaban elevada carga bacteriana en heces (75%) comparado con las que eliminaban escaso número de bacterias en heces (15%). La carga bacteriana se asocia a la fase de enfermedad (Ridge et al., 1991; Sockett et al., 1992; Whitlock et al., 2000), de manera que en fase 1 (animales con enfermedad preclínica que no eliminan cantidades de bacteria detectables mediante cultivo en heces) representan el 70% de los animales infectados en una explotación, en fase 2 los animales eliminaban cantidades de bacteria detectables mediante cultivo sin presentar signos clínicos y en fase 3 los animales, con signos clínicos de pérdida de peso y diarrea, liberaban gran cantidad de bacterias en heces, siendo generalmente positivos tanto al cultivo como al análisis serológico.
Para valorar una prueba diagnóstica, también se puede realizar un **diseño transversal** que consiste en extraer una muestra de individuos, que represente el contexto real en el que se utilizará la prueba, y aplicar de forma independiente la prueba diagnóstica y realizar el diagnóstico de referencia a cada individuo de la muestra.

En el trabajo de Dargatz et al. (2001), que evaluó con un estudio transversal una técnica ELISA para el diagnóstico de paratuberculosis en el ganado, también se evidenció cómo el comportamiento de la prueba variaba dependiendo de la fase clínica y de la fase de eliminación de la bacteria en heces.
Cualquiera de estos diseños conducen a las dos distribuciones de la Figura 1, que representa los resultados de la prueba en los individuos sin y con la enfermedad. El solapamiento de ambas distribuciones confirma que se trata de una prueba diagnóstica. En efecto, si se establece un punto de corte, los individuos se pueden clasificar en sanos o enfermos según el valor obtenido en la prueba sea inferior o superior al del punto de corte o umbral elegido. La clasificación generada al introducir un determinado punto de corte ("cut-off") comporta dos tipos de errores:

- **Falsos positivos (*False positive,* FP):**
  Individuos sanos diagnosticados como enfermos.
  La probabilidad de cometer este error se designa por α.
- **Falsos negativos (*False negative,* FN):**
  Individuos enfermos diagnosticados como sanos.
  La probabilidad de cometer este error se designa por β.

Figura 1. Índices de exactitud diagnóstica de una prueba cuantitativa para un determinado punto de corte



Resultado de la prueba	Diagnóstico de referencia de la enfermedad E	
	No enfermos (nE)	Enfermos (E)
Positivo	**A** falsos positivos (α)	**B**
Negativo	**C**	**D** falsos negativos (β)
Total	**A+C**	**B+D**

$$\text{Pr}(-\text{ si } \mathbf{nE}) \rightarrow \quad \text{Sp} = \frac{C}{A+C} = 1-\alpha \qquad \text{Se} = \frac{B}{B+D} = 1-\beta \quad \leftarrow \text{Pr}(+\text{ si } \mathbf{E})$$

Especificidad **Sensibilidad**

Índices de exactitud para un punto de corte dado

La Figura 1 recoge la tabla que se genera al establecer un punto de corte: clasifica los individuos con resultado positivo o negativo en la prueba según tengan o no el diagnóstico de referencia. La exactitud diagnóstica se evalúa con los clásicos índices de sensibilidad y especificidad:

- **Especificidad (*Specificity,* Sp):**
  La especificidad (Sp) caracteriza la capacidad de la prueba para descartar la enfermedad en individuos sanos: es la proporción de diagnósticos negativos obtenidos al aplicar la prueba en una población de individuos sin la enfermedad E:

$$\text{Sp} = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Total sanos}} = 1-\alpha = \frac{C}{A+C} \rightarrow \text{Sp} = \text{Prob}(-\text{ si nE})$$

- **Sensibilidad (*Sensitivity*, Se):**
  La sensibilidad (Se) caracteriza la capacidad de la prueba para detectar la enfermedad en individuos enfermos: es la proporción de diagnósticos positivos obtenidos al aplicar la prueba en una población de individuos con la enfermedad E:

$$Se = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Total enfermos}} = 1 - \beta = \frac{B}{B+D} \rightarrow Se = Prob(+ \text{ si } E)$$

Lógicamente, cuanto más cercanos a 1 se encuentren los valores de sensibilidad y especificidad mejor será la prueba diagnóstica.
La tabla siguiente presenta los resultados del estudio transversal en que se evaluó la técnica ELISA con respecto al cultivo fecal en explotaciones de pequeño y gran tamaño del sur de Chile (Schaik et al., 2006):

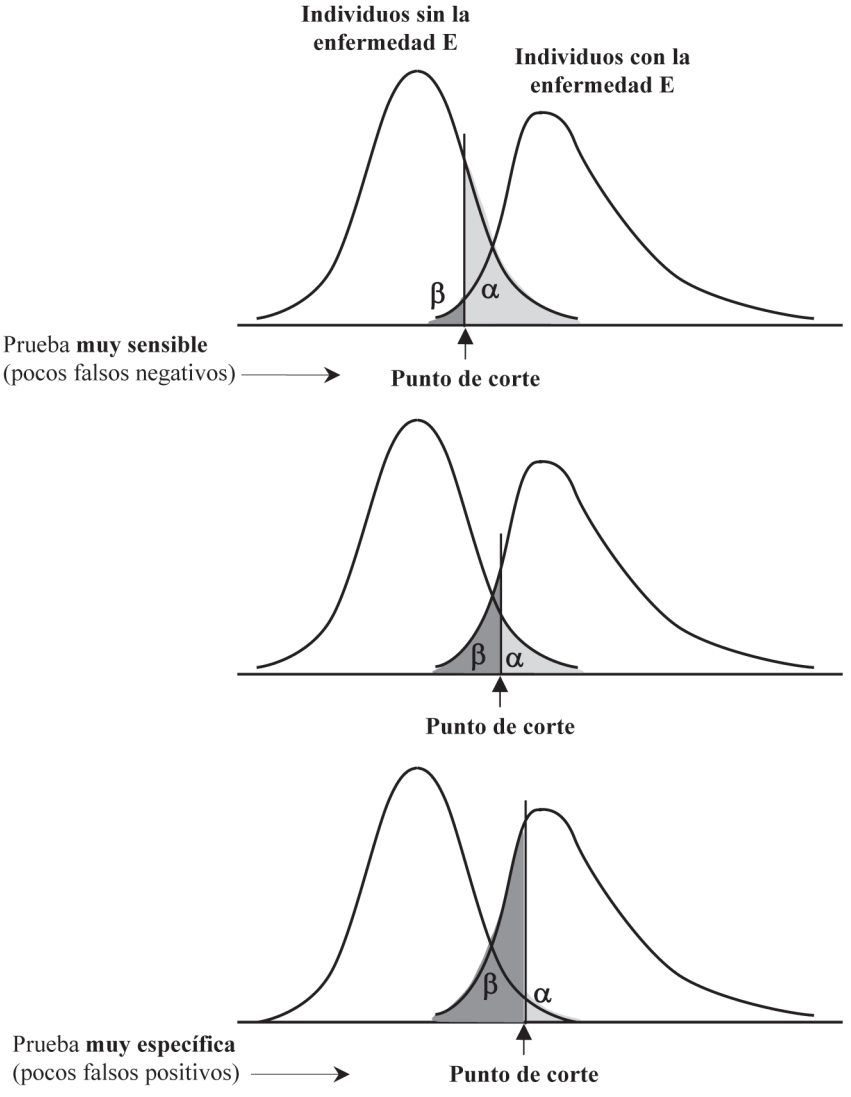
Explotación		Cultivo Fecal (+)	Cultivo Fecal (–)	n
Pequeña	ELISA +	0	30	30
	ELISA –	0	432	432
	Total	0	462	462
Grande	ELISA +	21	35	56
	ELISA –	33	782	815
	Total	54	817	871
Global	ELISA +	21	65	56
	ELISA –	33	1214	815
	Total	54	1279	871

Para el conjunto de la muestra, la sensibilidad (Se) y la especificidad (Sp) relativa de la técnica de ELISA en relación al cultivo fecal fueron respectivamente 38,9% (95% CI: 25,9 a 51,9%) y 94,9% (95% CI: 93,7 a 96,1%).
Cuando la prueba diagnóstica proporciona un resultado cuantitativo, la sensibilidad y especificidad dependen del punto de corte escogido, es decir, del valor de la prueba a partir del cual se considera que el individuo presenta o no la enfermedad.

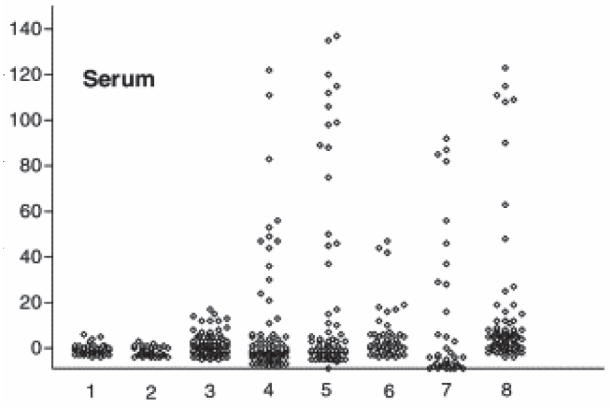
La Figura 2 ilustra el efecto del punto de corte sobre la sensibilidad y especificidad de la prueba. Si se elige un umbral muy estricto (punto de corte alto), aumentará el número de enfermos no detectados por la prueba, es decir, los falsos negativos. Por el contrario, si se elige un umbral poco estricto (punto de corte bajo), aumentarán los falsos positivos, esto es, la prueba dará muchos diagnósticos de enfermedad en individuos sanos.

Para puntos de corte bajos la prueba es muy sensible: la mayoría de individuos enfermos son correctamente clasificados por la prueba, pero a costa de un incremento de individuos sanos que son diagnosticados como enfermos. Por el contrario, para puntos de corte altos la prueba es muy específica: la mayoría de individuos sanos son correctamente clasificados por la prueba, pero a costa de un incremento de individuos enfermos no identificados como tales.

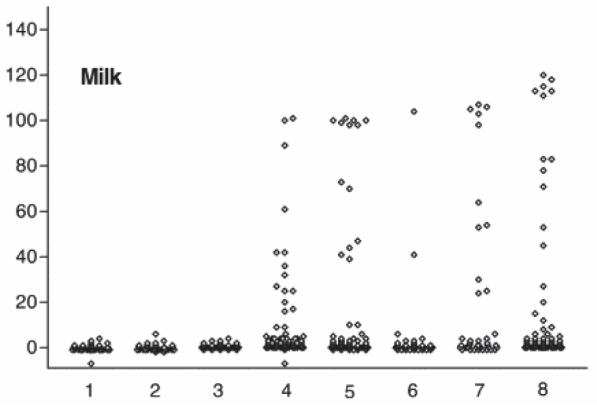
Figura 2. Efecto del punto de corte sobre los valores de la sensibilidad y especificidad.



Así, por ejemplo, en el trabajo de Klausen et al. (2003), en el que se evalúa la técnica de ELISA en leche y en suero para el diagnóstico de paratuberculosis en las granjas danesas, el menor punto de corte para que los resultados del ELISA sean negativos para las granjas control (1 y 2) negativas al cultivo fecal fue una densidad óptica (OD) 7 para ambos ELISAs. En este punto de corte el ELISA en suero detectó seis granjas positivas, mientras que el ELISA en leche detectó una granja menos.



OD% ELISA en suero de las 8 granjas



OD% ELISA en leche de las 8 granjas

Table 2
Relative sensitivity (Se) and relative specificity (Sp) of serum and milk ELISAs for paratuberculosis in 580 Danish dairy cows collected during the period August 1996–December 1996

OD% (cut-off)	Serum				Milk			
	Se		Sp		Se		Sp	
	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI	%	95% CI
4	64	53, 76	80	76, 83	55	44, 67	92	89, 94
7	63	52, 74	90	87, 92	54	43, 66	95	93, 97
17	51	40, 63	96	94, 98	49	38, 62	96	94, 98

La Se y Sp del ELISA varía en función del punto de corte de OD elegido tanto en leche como en suero (Klausen y col., 2003).
En otro trabajo Huda et al. (2004) evaluaron la técnica del gamma interferón y el ELISA, concluyendo que la primera tenía mejor resultado según el análisis de la curva ROC en los animales de uno y dos años, mientras que a partir de los tres años ambas técnicas eran igualmente buenas.

Exactitud diagnóstica global con curvas ROC
La sensibilidad y la especificidad dan una medida de la exactitud de la prueba diagnóstica para un determinado punto de corte cuyo valor depende del contexto en el cual se aplica la prueba. Una medida global de la exactitud de la prueba para el conjunto de todos los posibles puntos de corte se obtiene mediante una curva ROC ("Receiver Operating Characteristic").

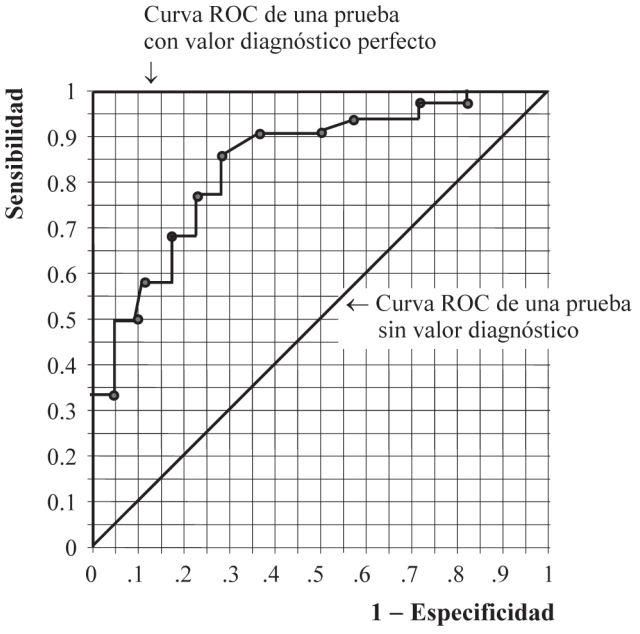
Para construir la curva ROC es necesario calcular la sensibilidad y la especificidad para todos los posibles puntos de corte. La sensibilidad (Se) se sitúa en el eje de las ordenadas (Y) y el complemento de la especificidad (1–Sp) en el eje de las abscisas (X). La estimación no paramétrica de la curva ROC se dibuja uniendo los pares de valores (1–Sp ; Se), que corresponden a cada punto de corte, con una función escalonada (Figura 3). Si el punto corresponde a un empate (un sano y un enfermo con igual puntuación en la prueba) se une con un segmento diagonal. Este gráfico permite determinar dos situaciones extremas:

- Una prueba con discriminación diagnóstica perfecta (Se=1; Sp=1), que tiene probabilidad 1 de diagnosticar correctamente tanto a un individuo enfermo como a uno no enfermo, da una curva ROC representada por los lados izquierdo y superior del gráfico.
- Una prueba sin discriminación diagnóstica, es decir que tiene probabilidad 0.5 de diagnosticar correctamente tanto a un individuo enfermo como a uno no enfermo (Se=0.5 ; Sp=0.5), da una curva ROC representada por la diagonal del gráfico.

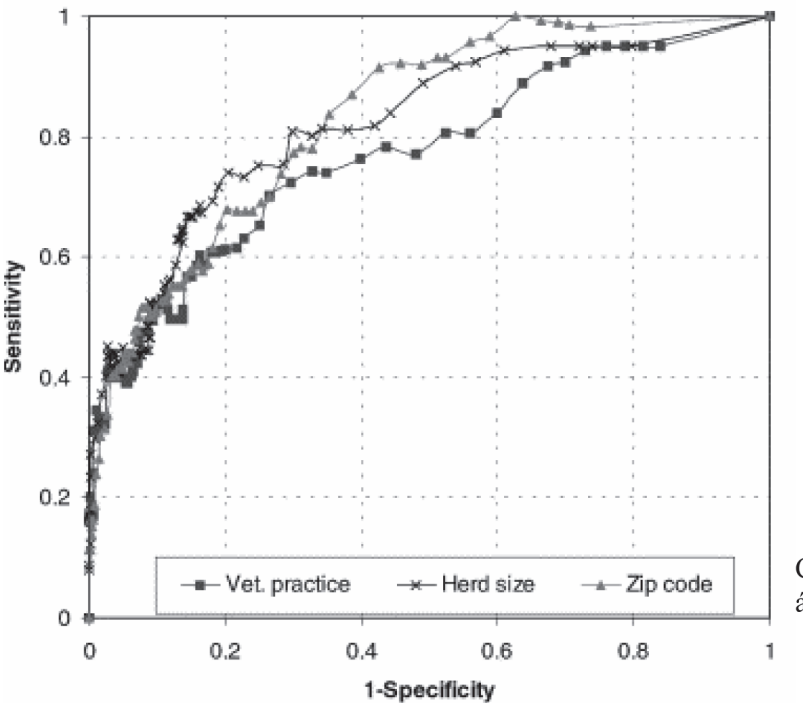
De estas dos situaciones se deduce que el área bajo la curva ROC (que se simboliza por AUC "area under curve") es un valor comprendido entre 0.5 y 1 que se utiliza como medida de **exactitud global**: una área igual a 1 indica una prueba diagnóstica perfecta (Se=Sp=1), es decir, se trata del diagnóstico de referencia, mientras que a una prueba sin poder diagnóstico le corresponde una área igual a 0.5 (Se=Sp=0.5).

También es posible comparar dos pruebas diagnósticas dibujando sobre el mismo gráfico sus curvas ROC y calculando el área que queda bajo cada una de ellas. La mejor prueba será aquella que deje por debajo un área mayor, es decir, cuya curva ROC se acerque más a los lados izquierdo y superior del gráfico. La peor corresponderá a aquella que deje por debajo un área menor, es decir, cuya curva ROC esté más cerca de la diagonal del cuadrado. Además de la comparación visual de las curvas ofrece una valiosa información sobre el comportamiento diferencial de las pruebas; por ejemplo, si las curvas se cruzan indica que una prueba es más específica y la otra más sensible.

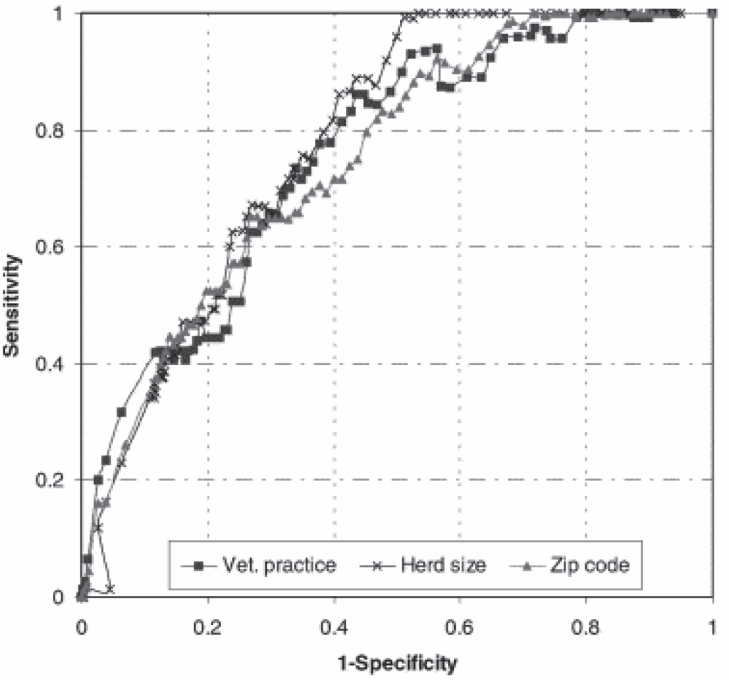
Figura 3. Curva ROC de una prueba diagnóstica representado junto con el diagnóstico de referencia y con una prueba sin poder diagnóstico.



El estudio transversal de Nielsen et al. (2002) para valorar la validez del ELISA, utilizando el cultivo fecal como referencia para el diagnóstico de tuberculosis, calcula los valores de especificidad y sensibilidad para los distintos puntos de corte y los representa en las siguientes curvas ROC por subpoblaciones en base a el tamaño de la explotación, el código postal y el veterinario clínico responsable de la explotación. El área bajo la curva para la curva ROC del ELISA en leche fue de 0,78 y 0,75 para el ELISA en suero. Estas áreas indican una validez regular porque no son próximas a 1.



Curva ROC del ELISA en leche; área bajo la curva 0,78



Punto de corte óptimo

La curva ROC proporciona una imagen gráfica que ayuda a escoger el punto de corte óptimo. Sin embargo, la selección del umbral de positividad de la prueba no es fácil porque comporta asignar el coste de los falsos positivos (FPC) y coste de los falsos negativos (FNC). Además, también es necesario conocer la prevalencia (P) de la enfermedad en el ámbito de aplicación rutinaria de la prueba.

Hallar el punto de corte que maximiza una combinación ponderada de la sensibilidad y especificidad o el

que maximiza el porcentaje total de clasificaciones correctas, son las principales estrategias para obtener el punto de corte óptimo. En el trabajo de Zweig y Campbell (1993) se explica con detalle la opción de maximizar la siguiente función:

$$f(x) = Se - \left[\frac{FPC}{FNC} \times \frac{1-P}{P}\right] \times (1 - Sp)$$

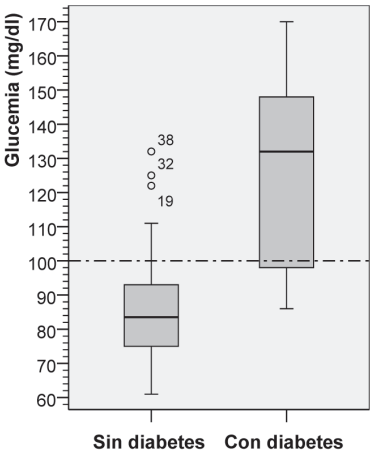
No obstante, si el coste de un falso positivo es el mismo que el de un falso negativo, el punto el corte optimo corresponde al punto de la curva ROC más cercano al vértice superior izquierdo de la gráfica.

Obtención de la curva ROC con el Sistema SPSS

El cuadro presenta el resultado obtenido de analizar los datos de este estudio con el procedimiento ROC del Sistema SPSS.
El resultado del análisis indica un AUC= 0.92 (IC 95%: 0.87 a 0.97) lo que indica un valor predictivo bueno porque el área bajo la curva ROC es próximo a 1.

Ejemplo: Cálculo de la sensibilidad, especificidad y curva ROC de una prueba diagnóstica

Se desea evaluar la glucemia en ayunas (mg/dl) como prueba diagnóstica de la diabetes en humanos. La tabla recoge los valores de glucemia obtenidas en un estudio de casos y controles en el que se dispone de una muestra de 50 diabéticos correctamente diagnosticados (*Gold standard*) y de una muestra de 50 controles sin patología de diabetes (controles) que se han seleccionado de la misma población de donde proceden los casos.



Cálculo de la sensibilidad y especificidad de esta prueba diagnóstica para los puntos de corte de 100; 100 y 90 mg/dl.

	Sin diabetes	Con diabetes
G ≥ 110	5	35
G < 110	45	15
Total	50	50

$$Sp = \frac{45}{50} = 0.90 \qquad Se = \frac{35}{50} = 0.70$$

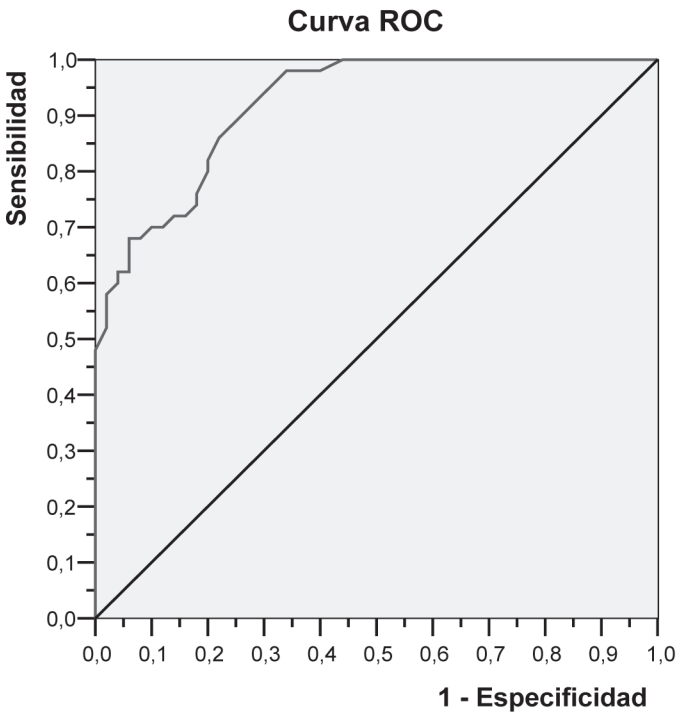
	Sin diabetes	Con diabetes
G ≥ 100	8	36
G < 100	42	14
Total	50	50

$$Sp = \frac{42}{50} = 0.84 \qquad Se = \frac{36}{50} = 0.72$$

	Sin diabetes	Con diabetes
G ≥ 90	17	49
G < 90	33	1
Total	50	50

$$Sp = \frac{33}{50} = 0.66 \qquad Se = \frac{49}{50} = 0.98$$

		Diagnóstico	
		Sin diabetes	Con diabetes
Glucemia (mg/dl)	170	0	1
	168	0	1
	163	0	1
	162	0	1
	160	0	1
	158	0	1
	156	0	1
	154	0	1
	153	0	1
	152	0	1
	150	0	2
	148	0	2
	146	0	1
	144	0	1
	142	0	2
	141	0	1
	140	0	2
	138	0	1
	136	0	1
	134	0	1
	132	1	2
	131	0	1
	130	0	1
	128	0	1
	125	1	1
	124	0	1
	122	1	0
	120	0	1
	118	0	1
	116	0	1
	111	1	0
	110	1	1
	108	1	0
	106	1	1
	104	1	0
	99	1	1
	98	0	1
	97	1	2
	96	0	1
	95	1	2
	94	1	1
	93	1	1
	92	1	1
	91	1	1
	90	2	2
	88	2	0
	87	1	0
	86	2	1
	85	1	0
	84	2	0
	83	1	0
	82	1	0
	81	2	0
	80	2	0
	79	2	0
	78	1	0
	77	1	0
	76	2	0
	75	2	0
	74	1	0
	73	1	0
	72	2	0
	71	1	0
	70	1	0
	69	1	0
	65	1	0
	64	1	0
	63	1	0
	61	1	0
	Total	**50**	**50**



Diagnóstico de diabetes	N válido (según lista)
Positivo	50
Negativo	50

Área bajo la curva

Variables resultado de contraste	Área	Error típ.[a]	Sig. asintótica[b]	Intervalo de confianza asintótico al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Glucemia (mg/dl)	**,920**	,025	**,000**	**,871**	**,969**

La variable (o variables) de resultado de contraste: Glucemia (mg/dl) tiene al menos un empate entre el grupo de estado real positivo y el grupo de estado real negativo. Los estadísticos pueden estar sesgados .

a. Bajo el supuesto no paramétrico

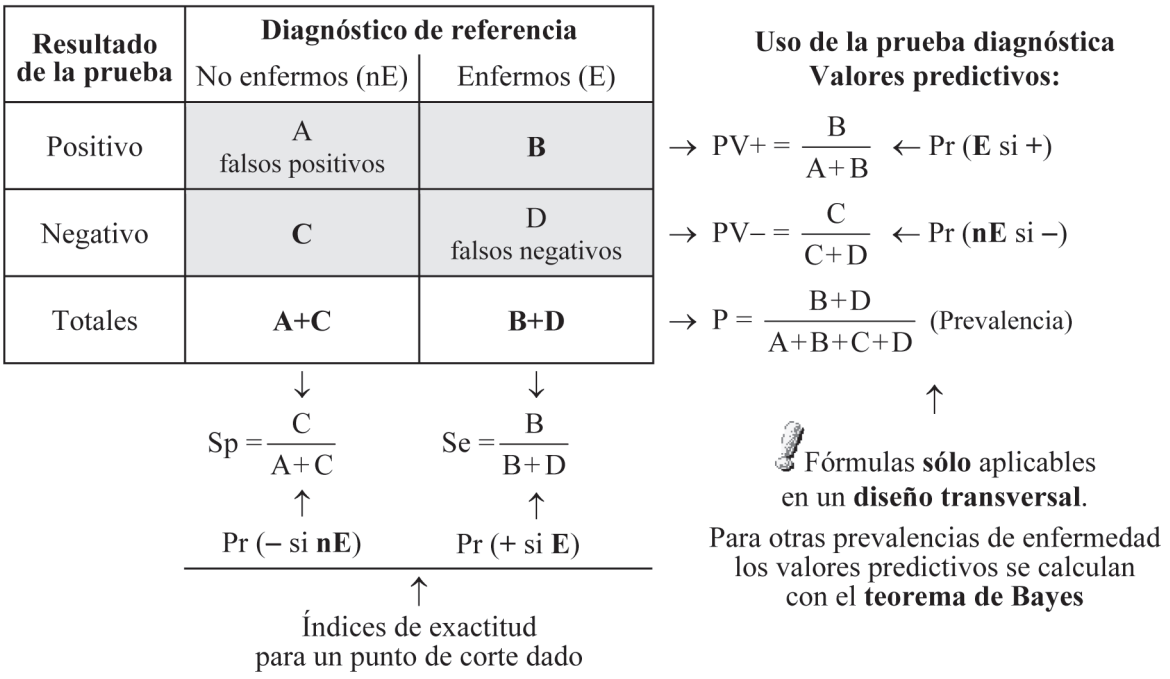
b. Hipótesis nula: área verdadera = 0,5

Poder predictivo de una prueba diagnóstica: valores predictivos

Además de la exactitud diagnóstica de una prueba se debe evaluar su **comportamiento predictivo** cuando se usa en diferentes contextos clínicos.

Cuando se diagnostica, primero se conoce el resultado de la prueba diagnóstica (+ ó –) y a partir de esta información tiene mucho interés conocer la probabilidad de que el individuo presente o no la enfermedad según el resultado de la prueba haya sido positivo o negativo. Estas probabilidades condicionales se denominan **valores predictivos** (PV) de la prueba y, en general, se calculan con el **teorema de Bayes**. La Figura 4 ilustra esta situación.

Figura 4. Índices de exactitud y valores predictivos de una prueba diagnóstica.



Valor predictivo positivo (*Positive predictive value*): Proporción de individuos con la enfermedad E entre todos los que dan resultado positivo en la prueba. Es la probabilidad de que un individuo de esta población con una prueba positiva tenga la enfermedad. Si los datos proceden de un diseño transversal:

$$PV+ = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Total positivos}} = \frac{B}{A+B} \leftarrow p(E \text{ si } +)$$

$$\text{Fórmula general (Bayes):} \quad PV+ = \frac{P \times Se}{P \times Se + (1-P) \times (1-Sp)}$$

Valor predictivo negativo (*Negative predictive value*): Proporción de individuos sin la enfermedad E entre todos los que dan resultado negativo en la prueba. Es la probabilidad de que un individuo de esta población con una prueba negativa no tenga la enfermedad. Si los datos proceden de un diseño transversal:

$$PV- = \frac{\text{Verdaderos negativos}}{\text{Total negativos}} = \frac{C}{C+D} \leftarrow p(nE \text{ si } -)$$

$$\text{Fórmula general (Bayes):} \quad PV- = \frac{(1-P) \times Sp}{(1-P) \times Sp + P \times (1-Se)}$$

Ejemplo: Cálculo de los valores predictivos según la prevalencia. Teorema de Bayes
La siguiente tabla presenta el resultado de la prueba diagnóstica ELISA en una muestra aleatoria de 1000 vacas de 40 explotaciones españolas seleccionadas con un diseño transversal (datos supuestos). Los valores de sensibilidad y especificidad de la prueba son muy buenos (Se=0.99 y Sp=0.98). Se puede comprobar que en esta población la prevalencia de infección es muy alta (60%), y que los valores predictivos de la prueba son excelentes (PV+ = 98.7% y PV– = 98.5%).

Nótese que podemos realizar estos cálculos directamente de la tabla porque se dispone de una muestra obtenida con un diseño transversal.

	Sin Paratub	Con Paratub	Total
Elisa +	8	594	602
–	392	6	398
Total	400	600	1000

$\rightarrow$ PV+ $= \frac{594}{602} =$ **0.987**

$\rightarrow$ PV– $= \frac{392}{398} = 0.985$

$\rightarrow$ P $= \frac{600}{1000} = 0.60$ **(60%)**

$\downarrow$ $\qquad$ $\downarrow$

$Sp = \frac{392}{400} = 0.98 \qquad Se = \frac{594}{600} = 0.99$

La siguiente tabla presenta el resultado de la misma prueba diagnóstica en una muestra aleatoria de 100000 individuos de una población de riesgo moderado. Esta muestra se ha simulado de manera que la prevalencia de infección sea del 1 por 1000 pero manteniendo la sensibilidad y especificidad de la prueba (la muestra de infectados se ha dividido por 6 y la de no infectados se ha multiplicado por 249.75). La sorpresa, para algunos, es que con la misma prueba, pero aplicada a una población con riesgo del 1‰, el valor predictivo para positivos es bajísimo (PV+ = 4.7%), es decir, de cada 100 positivos sólo 5 presentan la infección.

	Sin Paratub	Con Paratub	Total
Elisa +	1998 (falsos positivos)	99	2097
–	97902	1	97903
Total	99900	100	100000

$\rightarrow$ PV+ $= \frac{99}{2097} =$ **0.047**

$\rightarrow$ PV– $= \frac{97902}{97903} = 0.9999$

$\rightarrow$ P $= \frac{100}{100000} = 0.001$ **(1‰)**

$\downarrow$ $\qquad$ $\downarrow$

$Sp = \frac{97902}{99900} = 0.98 \qquad Se = \frac{99}{100} = 0.99$

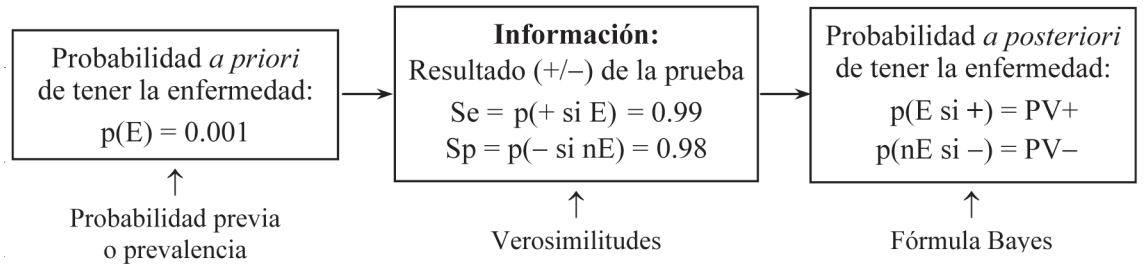
Este resultado es evidente y se explica por la lógica del proceso diagnostico ¿Por qué ha ocurrido? Observe que a pesar de disponer de una prueba diagnóstica con valores de sensibilidad y especificidad cercanos a 1, la prueba da un 2% de falsos positivos (1–Sp) ¿Qué ocurrirá si esta prueba, que da unos pocos falsos positivos, se aplica sistemáticamente a una población donde casi no hay enfermedad? Pues, lógicamente, los falsos positivos se incrementan muchísimo haciendo bajar drásticamente PV+.

En resumen, el poder predictivo de una prueba depende de la prevalencia de la enfermedad en el ámbito de aplicación de la prueba, disminuyendo a medida que la prueba se aplica a poblaciones con menor prevalencia de enfermedad. Por este motivo, el cálculo de los valores predictivos se acostumbra a realizar con el Teorema de Bayes.

Cálculo con del teorema de Bayes

El Teorema de Bayes (Bayes, 1763) permite calcular los valores predictivos a partir de la sensibilidad y especificidad de la prueba diagnóstica y de la prevalencia de la enfermedad. El siguiente organigrama ilustra el proceso bayesiano para una prevalencia del 1‰ (P=0.001) cuando se dispone de la información

aportada por una prueba diagnóstica con Se=0.99 y Sp=0.98.
Se parte de la probabilidad previa de que el individuo tenga la enfermedad; es este caso sólo se sabe que procede de una población con una prevalencia del 1‰, por lo tanto p(E) = 0.001. Luego se aplica la prueba diagnóstica y según su resultado haya sido positivo o negativo la fórmula de Bayes recalcula la probabilidad añadiéndole la información del resultado de la prueba. Así, si la prueba a resultado positiva la fórmula calcula p(E si +), que es el valor predictivo para positivos, y si a resultado negativa la fórmula calcula p(nE si –) que es el valor predictivo para negativos.



Aplicando la fórmula de Bayes para esta población de riesgo moderado (P=0.001) se obtiene idéntico valor que el calculado en la tabla del estudio transversal:

$$p(\text{VIH si } +) = \frac{P \times Se}{P \times Se + (1-P)\times(1-Sp)} = \frac{0.001 \times 0.99}{0.001 \times 0.99 + (1-0.001)\times 0.02} = 0.047$$

Probabilidad "a posteriori" PV+ | Probabilidad "a priori" | Verosimilitud | Probabilidad "a priori" | Verosimilitud

Para la población general con una prevalencia del 1 por 10 000 (P=0.0001) se obtiene un valor predictivo para positivos aún más bajo, de manera que sólo 5 de cada 1000 positivos son verdaderos positivos:

$$p(\text{VIH si E+}) = \frac{0.0001 \times 0.99}{0.0001 \times 0.99 + (1-0.0001)\times 0.02} = 0.005 \ \ (5\ ‰)$$

Pruebas diagnósticas y probabilidad previa de la enfermedad en el ámbito de aplicación de la prueba
Se ha comprobado que para calcular los valores predictivos de una prueba diagnóstica con el teorema de Bayes es necesario evaluar la magnitud de la prevalencia. Pero la magnitud de la prevalencia no es un valor absoluto sino un valor relativo al ámbito **en el que se aplica la prueba** diagnóstica; por este motivo en este contexto se denomina probabilidad previa en vez de prevalencia.

En efecto, si se considera la diabetes mellitus (DM) y la prueba diagnóstica "glucemia en ayunas", la probabilidad previa de DM podría tomar los siguientes valores según el contexto en que se aplica:

P_{DM} = 40 %, si se aplica en un contexto ambulatorio ya que:

- Sólo se aplica la prueba cuando el facultativo sospecha un trastorno del metabolismo de los hidratos de carbono. La intensidad de la sospecha depende del grado de evidencia del trastorno y también de la apreciación personal del facultativo.
- Esto produce una selección de los pacientes que incrementa mucho su prevalencia; por lo tanto la probabilidad previa varía de un paciente a otro ya que depende del grado de evidencia del trastorno y del facultativo que lo valora.

En este contexto la prueba funciona correctamente y acostumbra a dar pocos falsos positivos (PV+ alto).

P_{DM} = 10 %, si es una prueba que se aplica sistemáticamente a todos los pacientes de Cirugía que van a ser intervenidos.
En este contexto hay bastantes más falsos positivos (PV+ bajo).

P_{DM} = 5 %, si se aplica como prueba de cribado en la población general.
En este contexto hay muchos falsos positivos (PV+ muy bajo).

Así pues, la sensibilidad y especificidad son características bastante estable de las pruebas diagnósticas. Sin embargo, el valor predictivo de una prueba no es un valor absoluto porque varía en función del contexto de aplicación y por lo tanto es deseable presentarlo en función de las diferentes probabilidades previas tal como ilustra la siguiente tabla para la prueba Elisa del ejemplo. Los valores predictivos se han calculado con la fórmula de Bayes a partir de la sensibilidad (Se=0.99) y especificidad (Sp=0.98) de la prueba

Probabilidad previa (prevalencia)	PV+ (%)	PV– (%)
60 %	98.7	98.5
40 %		
20 %	92.5	99.7
10 %	84.6	99.9
1 %	33.3	99.99
1 ‰	4.7	99.999
0.1 ‰	0.5	99.999999

La sensibilidad y la especificidad dependen de la prevalencia
El modelo matemático que se ha presentado supone que los valores de sensibilidad y especificidad se derivan de una característica constante de la prueba independiente de la prevalencia.

Burgueño et al. (1995) explican que "cuando se afirma que la sensibilidad y la especificidad son independientes de la prevalencia se hace referencia a la prevalencia de enfermos en la muestra global a la que se aplica la prueba. La sensibilidad sí depende de la prevalencia de los distintos grados de enfermedad en un grupo de individuos. Si al estudiar la sensibilidad de un marcador tumoral se mide sólo en individuos en fases avanzadas de cáncer, la sensibilidad resultará superior que si la muestra incluye también a enfermos de escasa evolución. Además debe tenerse cuidado de no excluir a individuos que estén en el límite diagnóstico (....). Igual que la composición del grupo de enfermos influye en la sensibilidad, la composición del grupo control que no padece la enfermedad influye en la especificidad. Si una prueba se va a usar para identificar el infarto agudo de miocardio (IAM) en individuos que se presentan en el servicio de urgencias con dolor torácico típico y otros síntomas indicativos de IAM, el grupo control debe estar formado por individuos que reúnan estas condiciones pero sin infarto. Si se usan donantes de sangre voluntarios se obtendrá una especificidad mayor pero falsa, puesto que la prueba no está encaminada a detectar IAM en individuos asintomáticos."
Whitlock et al. (2002) comprobaron cómo la sensibilidad a nivel de explotación en el programa voluntario de evaluación del estado de la enfermedad de Johne en la explotación, el uso del ELISA para muestrear 30 vacas seguido de la confirmación mediante cultivo fecal de las vacas positivas a ELISA varió del 33% al 84% dependiendo de la prevalencia de la enfermedad en la explotación.
En el trabajo de Schaik et al. (2007) para validar un ELISA comercial, utilizando el cultivo fecal como referencia y tomando el punto de corte recomendado por el fabricante, se obtuvo una sensibilidad del 38,9% (95% CI: 25,9 a 51,9%) y una especificidad del 94,9% (95% CI: 93,7 a 96,1%). Sin embargo, al realizar el modelo de Bayes, asumiendo la independencia de la sensibilidad y especificidad del ELISA y el cultivo fecal para diagnóstico de paratuberculosis, la Se del ELISA fue algo menor a lo esperado 26% (95% CI: 18 a 35%) y la especificidad algo mayor con un valor del 98,5% (95% CI: 97,4 a 99.4%), tal como indica la siguiente tabla reproducida de este trabajo:

Table 4
Bayesian inferences about sensitivity, specificity and prevalence for an ELISA and faecal culture to detect *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in two populations of dairy herds in the south of Chile

Parameters	Mean	S.D.	2.5% quantile	Median	97.5% quantile
Prevalence in small herds	8.29	1.49	5.63	8.20	11.43
Prevalence in large herds	12.18	1.62	9.21	12.12	15.53
Sensitivity ELISA	25.94	4.46	17.74	25.80	35.03
Sensitivity faecal culture	53.91	4.26	45.62	53.90	62.28
Specificity ELISA	98.48	0.52	97.38	98.51	99.42
Specificity faecal culture	99.99	0.10	99.96	99.99	100.00

Pruebas en serie

Para mejorar la sensibilidad se pueden utilizar distintas técnicas en la misma muestra. Nielsen et al. (2001), encontraron que el cultivo fecal utilizado como técnica de cribado tenía una sensibilidad del 20 a 25%. Sin embargo, si se utiliza como técnica de confirmación en vacas positivas al ELISA la sensibilidad se incrementa hasta un 60 a 70%.

Veamos un ejemplo (www.vet.ohio-state.edu/451.htm#johneDiagnostic_Testing) de una granja con 1000 vacas y una prevalencia de infección por *M. avium paratuberculosis* del 10%. Se utiliza para el diagnóstico de animales infectados, en primer lugar cultivo fecal convencional con sensibilidad del 16,5% y especificidad del 100%, seguido de una segunda fase en que se usa la centrifugación en dos pasos con lo que se incrementa la sensibilidad al 29,4% y se mantiene la especificidad en el 100%. Las siguientes tablas resumen los resultados obtenidos:

Análisis inicial	**Enfermos**	**Sanos**	Total	
Cultivo fecal convencional (+)	17	0	17	→ PV+ = 100%
Cultivo fecal convencional (–)	83	900	983	→ PV– = 91.6%
Total	100	900	1000	→ P = 10%
	Se= 17%	Sp= 100%		

Segundo análisis en los (–)	**Enfermos**	**Sanos**	Total	
Centrifugación en 2 pasos (+)	24	0	24	→ PV+ = 100%
Centrifugación en 2 pasos (–)	59	900	959	→ PV– = 93.8%
Total	83	900	983	→ P = 9.2%
	Se= 29%	Sp= 100%		

Análisis combinado	**Enfermos**	**Sanos**	Total	
Combinado +	41	0	41	→ PV+ = 100%
Combinado –	59	900	959	→ PV– = 93.8%
Total	100	900	1000	→ P = 10%
	Se= 41%	Sp= 100%		

El uso del análisis en dos pruebas en serie incrementa la sensibilidad del 17% al 41%, la especificidad no cambia y el valor predictivo negativo se incrementa del 91,6% al 93,8%.

Conclusiones

La prueba diagnóstica es una herramienta para identificar individuos con y sin la enfermedad, pero algunos resultados pueden ser falsos positivos o falsos negativos. Las probabilidades de estos errores pueden ser

cuantificadas y dependen de la validez de la prueba y del contexto en que se aplica.
Los índices de validez para un determinado punto de corte son la sensibilidad (Se) y la especificidad (Sp). La sensibilidad es la probabilidad de que la prueba aplicada a individuos con la enfermedad dé resultado positivo; la especificidad es la probabilidad de que la prueba aplicada a individuos sanos dé resultado negativo. Para calcular estos índices se debe disponer individuos representativos de la población a la que se aplicará la prueba y también del diagnóstico de referencia (*gold standard*) de dichos individuos.
Puesto que la sensibilidad y la especificidad toman diferentes valores según el punto de corte, la validez global de una prueba diagnóstica se valora con una curva ROC que representa los pares de valores (Se ; 1–Sp) obtenidos para cada uno de los posibles puntos de corte. Las curvas ROC de diferentes pruebas dibujadas en el mismo gráfico permite compararlas y el área bajo la curva (AUC) es el índice de validez global que varía entre 1 (la prueba coincide con el diagnóstico de referencia) y 0.5 (la prueba carece de valor predictivo).
Una vez se ha determinado la validez de la prueba es necesario conocer su comportamiento predictivo. Para ello se definen dos nuevos índices, el valor predictivo para positivos (PV+) que indica la probabilidad de que un individuo tenga la enfermedad cuando la prueba es positiva, y el valor predictivo para negativos (VP–) que indica la probabilidad de que un individuo este sano si la prueba es negativa.
Según las circunstancias epidemiológicas (prevalencia, probabilidad previa de la enfermedad, etc.) y nuestros objetivos (cribado, identificar si el animal enfermo, etc.) será de interés una u otra técnica por lo que debemos evaluar en cada caso la prueba diagnóstica a aplicar.

Referencias

Austerman R, Stabel S, Palmer JR, Oconnor MVA Comparing the probability of map tissue culture positivity in cmi negative and emi positive sheep. International Colloquium on Paratuberculosis (2005). p. 570.

Bayes, T. (1763). An essay towards solving a problem in the doctrine of chances. Reimpreso en Biometrika. 1958; 45:293-315.

Burgueño MJ, García-Bastos JL & González-Buitrago J M. Las curvas ROC en la evaluación de las pruebas diagnósticas. Medicina Clínica. 1995; 104:661-70.

Carpenter TE, Gardner IA, Collins MT, Whitlock RH. Effects of prevalence and testing by enzyme-linked immunosorbent assay and fecal culture on the risk of introduction of mycobacterium avium subsp. Paratuberculosis-infected cows into dairy herds. J Vet Diagn Invest. 1958; 16 (1):31-8.

Dargatz D A., Byrum BA, Barber LK, Sweeney RW, Whitlock RH, Shulaw WP y Jacobson RH, Evaluation of a commercial ELISA for diagnosis of paratuberculosis in cattle.Journal of the American Veterinary Medical Association. 2001; 218(7): 1163-6.

Doménech JM. Fundamentos de Diseño y Estadística. UD 3: Teoría y cálculo de probabilidades. Pruebas diagnósticas. Barcelona: Signo; 2007.

Dreier S, Khol JL, Stein B, Fuchs K, Gutler S, Baumgartner W. Serological, bacteriological and molecularbiological survey of paratuberculosis (Johne's disease) in Austrian cattle. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2006; 53(10): 477-81.

Greiner M. Y Gardner I.A. Epidemiologic issues in the validation of veterinary diagnostic tests. Preventive. Veterinary Medicine. 2000; 45:3-22.

Hirst HL, Garry FB, Salman MD. Assessment of test samples collected from adult dairy cattle. J Am Vet Med Assoc. 2002; 220(11): 1685-9.

Huda A, Jungersen G, Lind P. Evaluación de la técnica laboratorial a elegir: qué hay que tomar en consideración. Técnicas combinadas. Vet Microbiol. 2004; 104(1-2): 43-53.

Jakobsen M.B., Alban L. y Nielsen S.S. A cross-sectional study of paratuberculosis in 1155 Danish dairy cows. Preventive Veterinary Medicine; 2000; 46: 15-27

Jark U, Ringena I, Franz B, Gerlach GF, Beyerbach M, Franz B. Development of an ELISA technique for serodiagnosis of bovine paratuberculosis. Vet Microb. 1997; 57(2-3): 189-98.

Kalis Ch, Barkema Hw, Hesselink Jw, Van Maanen C, Collins Mt. Evaluation of two absorbed enzyme-linked immunosorbent assays and a complement fixation test as replacements for fecal culture in the

detection of cows shedding Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis. J Vet Diagn Invest. 2002; 14 (3):219-24.

Klausen J., Hudab A, Ekeroth L, Ahrens P. Evaluation of serum and milk ELISAs for paratuberculosis in Danish dairy cattle. Preventive Veterinary Medicine. 2003; 58: 171–8.

Nielsen SS, Gronbaek C, Agger JF, Houe H. Maximum-likelihood estimation of sensitivity and specificity of ELISAs and faecal culture for diagnosis of paratuberculosis. Prev Vet Med. 2002; 53: 191-204.

Ridge SE, Morgan IR, Sockett DC, Collins MT, Condron RJ, Skilbeck NW, Webber JJ. Comparison of the Johne's absorbed EIA and the complement fixation test for the diagnosis of Johne's disease in cattle. Aust. Vet. J. 1991; 68, 253–7.

Sockett DC, Conrad TA, Thomas CV y Collins MT. Evaluation of four serological tests for bovine paratuberculosis. J Clin Microbiol. 1992; 30 (5): 1134-9.

Tavornpanich S, Gardner IA, Carpenter TE, Johnson WO, Anderson RJ. Evaluation of cost-effectiveness of targeted sampling methods for detection of Mycobacterium Avium subsp paratuberculosis infection in dairy herds (2006) Am J Vet Res 67 (5): 821-828.

Van Schaik G., Haro F., Mella A. y Kruze J. Bayesian analysis to validate a commercial ELISA to detect paratuberculosis in dairy herds of southern Chile. Preventive Veterinary Medicine. 2007; 79 (1): 59-69.

Wells SJ, Whitlock RH, Wagner BA, Collins J, Garry F, Hirst H, Lawrence J, Saville WJ, Naugle AL. Sensitivity of test strategies used in the voluntary johne's disease herd status program for detection of mycobacterium paratuberculosis infection in dairy cattle herds. Vet Med Assoc. 2002; 220 (7): 1053-7.

Whitlock RH, Wells SJ, Sweeney RW, Van Tiem J. ELISA and fecal culture for paratuberculosis (Johne's disease): sensitivity and specificity of each method. Veterinary Microbiology. 2000; 77: 387-98.

Zweig MH, Campbell, G. Receiver-operating characteristics (ROC) plots: A fundamental evaluation tool in clinical medicine. Clinical Chemistr. 1993; 39*:* 561-77.

Anexo

Objetivo (coste FP FN y P)	ELISA	Cultivo fecal	Gamma interferon	PCR	Citas
Diagnóstico de animales enfermos; valoración para sacrificio. (Prev. alta y coste FP alto)	[1]Primeras fases Se=15% y últimas fases Se=75% [4]Se=88,3% en casos clínicos y Se=48,8% en subclínicos. Sp=99,8% [2]Se=26% (IC95%: 18 a 35%) Sp=98,5% (IC95%: 97 a 99%)	[2]Se=54% (IC: 46 a 62%) Sp=100% (IC: 99,9 a 100) [7]Se=32,2%; Sp=100%	[3] <2 años: Sens. alta >3 años: Sensibilidad similar ELISA [9] Se=87% (IC: 70 a 96%) Sp=70% (IC: 58 a 82%)	[7]Se=51,3% y Sp=99,0% [8]Se=29% y Sp=99,3%	1.Withlock y col (2000) 2 Schaick y col (2007) 3 Hude y col (2004) 4. Ridge y col. (1991) 7. Scout y col. (2007) 8. Wells y col (2006) 9. Austerman y col (2005)
Erradicación. 1ª Fase. Prev. baja, coste FN alto y coste FP relativo 2º Cribado. Confirmación a ELISA positivo Repetición de negativos	[3]Screening	[5]Screening: Se=16,5% y So=91,6% [1]Se=20-25% [3]Confirmar ELISA+: La sensibilidad aumenta al 60-70% [5]Repetición negativos: Se=41% y Sp=93,8%	[9]Se=87% (IC: 70 a 96%) Sp=70% (IC: 58 a 82%)	[7]Se=51,3% y Sp=99,0% [8]Se=29% y Sp=99,3%	1. Nielsen y col (2001) 3. Hude y col (2004) 5. Pag web Ohio 7. Scout y col. (2007) 8. Wells y col (2006) 9. Austerman y col (2005)
Compra de animales a granja libre prevalencia ¿?/baja y elevadísimo coste FN, coste FP nulo	[6] Se=25% con PV–=99,9 % en alta prevalencia y 91,7% con baja prevalencia	[7]Se=32,2% y Sp=100%	[9]Se 87% (IC: 70 a 96%) Sp=70% (IC: 58 a 82%)	[7]Se=51,3% y Sp=99,0% [8]Se=29% y Sp=99,3%	6. Carpenter y col (2004) 7. Scout y col. (2007) 8. Wells y col (2006) 9. Austerman y col (2005)
Venta de animales P conocida (baja?) coste FP alto y FN relativo	[6] Se 25% con PV–=99,9 % en alta prevalencia y 91,7% con baja prevalencia	[7]Se=32,2% y Sp=100%	[9]Se=87% (IC: 70 a 96%) Sp=70% (IC: 58 a 82%)	[7]Se=51,3% y Sp=99,0% [8]Se=29% y Sp=99,3%	6. Carpenter y col (2004) 7. Scout y col. (2007) 8. Wells y col (2006) 9. Austerman y col (2005)

GESTIÓN DE RECURSOS HUMANOS EN EXPLOTACIONES DE VACUNO LECHERO.

Manuel V. Morales Gamazo.
OCEVA

"Al iniciar el tercer milenio, la humanidad ha descubierto –maravillada- que las organizaciones están conformadas por personas (¡¡¡) y que la principal fuente de creación de valor esta dada en el conocimiento que emerge como fruto de la interacción humana: Que el conocimiento es un hecho social"

Esta cita de José Luis Lara, resume sin duda, una de las mayores preocupaciones de la empresa y empresario de la actualidad.

Los profundos cambios acontecidos en el sector lácteo europeo y por lo tanto español, la globalización de los mercados, la mejora en las condiciones sociales y de calidad de vida y las nuevas normativas y requerimientos sanitarios referentes a la producción de alimentos; han dado como fruto que la producción de leche exija criterios, herramientas y métodos empresariales, donde lo que prima es la productividad tanto de los animales como de las personas que trabajan en estas explotaciones para aumentar la competitividad y rentabilidad de éstas.

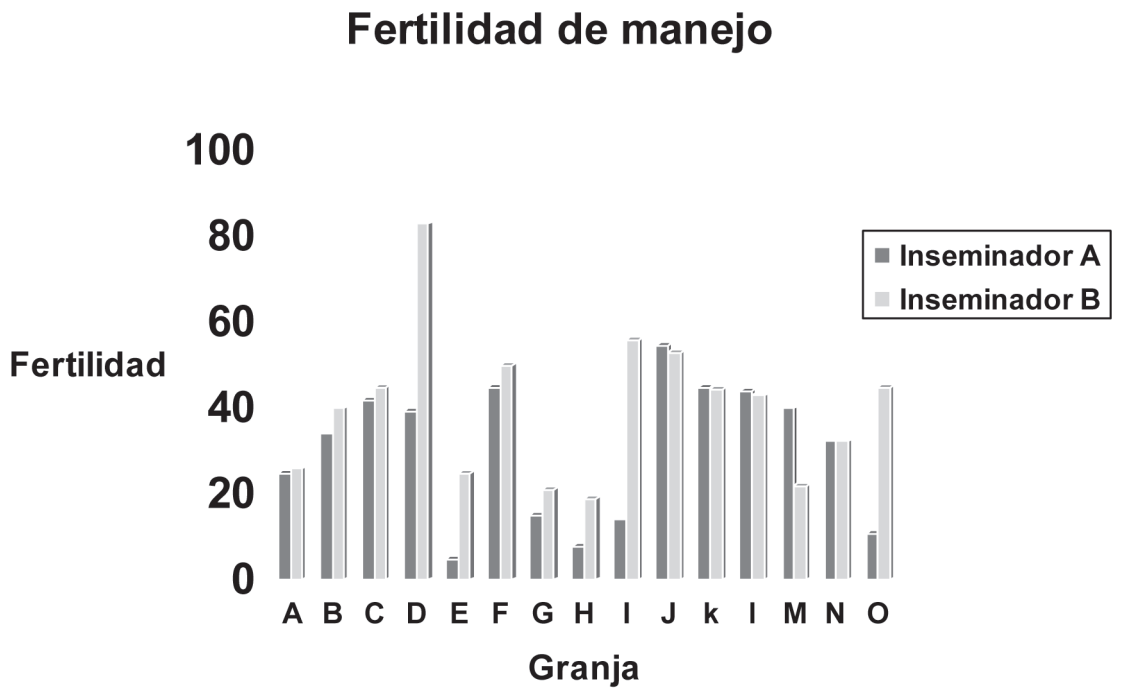
Los técnicos que trabajan en las explotaciones, en muchos casos han tenido que evolucionar al ritmo marcado por ellas y en otros han sido los verdaderos artífices y motores de los cambios. Lo que es una realidad es, que históricamente ni los ganaderos ni los veterinarios han tenido una formación empresarial básica y la adaptación a las condiciones de producción moderna esta exigiendo un esfuerzo adicional para todos.

En muchas ocasiones caemos en la tentación y el victimismo de pensar que tenemos un negocio muy diferente a los demás, pero en realidad y si analizamos la realidad con una perspectiva empresarial, nos daremos cuenta que el negocio lechero no es tan diferente del resto; e incluso en algunos aspectos (subvenciones, garantía de venta del producto…) tiene ventajas.

Históricamente, el asesoramiento a las granjas en la mayoría de los casos, simplemente consistía en consultar a los técnicos cuando los problemas aparecían, había animales enfermos, bajada de producción, problemas reproductivos, etc...; pienso que el veterinario del futuro ha de ser un asesor técnico de las empresas lecheras, que contemple la explotación como un todo y que convirtiéndose en un verdadero gestor de empresa aplique sus conocimientos en sanidad animal, en manejo, en instalaciones etc.… con un objetivo único que es aumentar la rentabilidad adelantándose a los problemas, e intentar buscar soluciones antes de que aparezcan.

Las explotaciones lecheras están formadas por instalaciones, animales y trabajadores; tradicionalmente nos hemos centrado mucho en los animales e instalaciones, olvidando que lo que realmente diferencia unas granjas de otras y lo que condiciona la evolución de las mismas, son las personas que en ellas trabajan; al fin y al cabo son éstas las que toman decisiones.

Por ejemplo si nos fijamos en un parámetros técnico como la fertilidad. Observamos grandes diferencias entre granjas en incluso dentro de la misma granja dependiendo de los inseminadores. *Fig.1*



Igual ocurriría si hablamos de células somáticas, de mortalidad en terneros, de incidencia de patologías etc.… Granjas con similares condiciones consiguen resultados muy diferentes.

Por tanto y asumiendo que el principal activo de las empresas y por ende de las explotaciones ganaderas son los **recursos humanos**, vamos a analizar cuales son los puntos débiles de estos recursos en nuestras explotaciones y como podemos paliar estas carencias.

Podríamos definir la gestión de recursos humanos como el conjunto de actividades que ponen en funcionamiento, desarrollan y movilizan a las personas que una organización necesita para realizar sus objetivos. Independientemente del tamaño de esta organización, la gestión acertada de estos recursos será un pilar fundamental en el éxito de la empresa. Es cierto que en explotaciones pequeñas, en donde el propietario es a la vez trabajador y gestor cabría pensar que la gestión de RRHH tendría menos importancia, pero si analizamos la realidad de cualquier granja actual nos daremos cuenta que en todas ellas operan un conjunto de personas y asesores (veterinario clínico, nutricionista, podólogo, especialistas en calidad de leche, ingenieros agrónomos, gestor económico, comerciales…) que deberían de conformar un equipo de trabajo sólido y coordinado. La coordinación y motivación de este grupo de personas es la labor fundamental del departamento de recursos humanos y esta labor es tanto o más difícil, en las granjas pequeñas que en las grandes.

Es necesario una política de personal que articule las funciones y responsabilidades de los trabajadores teniendo en cuenta los objetivos de la empresa.

Hablando de grupos humanos deberemos diferenciar grupo de trabajo de equipo de trabajo es decir, tener claro que no es lo mismo trabajar en grupo, que trabajar en equipo.

Trabajar en grupo significa un conjunto de personas, que en beneficio de sus propios intereses, influye en una organización, empresa o actividad social y todas ellas van a priorizar el éxito individual de cada uno de ellos, se marcaran objetivos y responsabilidades individualizadas.

Trabajar en equipo significa conjunto de personas, con habilidades complementarias, comprometido con un propósito común, objetivos de rendimiento y orientación, de los que se consideran mutuamente responsables. Se buscará el desarrollo y éxito colectivo con objetivos y responsabilidades comunes.

Lógicamente cualquier empresa lo que busca es trabajar en equipo y desde el punto de vista de RRHH el objetivo es formar equipos de alto rendimiento.

Veamos cuales son los errores más frecuentes que cometemos en nuestras explotaciones referentes a la gestión de RRHH:

1. **Ausencia de planificación de RRHH**. Al igual que en otras materias uno de los puntos débiles de la producción lechera es no planificar el futuro, no prever las necesidades de nuestro negocio, contratamos operarios con el único objetivo de cubrir una vacante en el presente, con un mal diseño del puesto de trabajo y sin una proyección claramente definida. Y en este caso también se cumple la máxima de que *"lo que diferencia al buen empresario del mediocre es la capacidad de prever y adelantarse al futuro que se nos avecina".*
2. **Reclutamiento y selección.** En pocas granjas se hacen verdaderas entrevistas de trabajo, con una metodología propia, sabiendo lo que queremos y el perfil de la persona que buscamos, no existen criterios claros de selección de personal y en muchas ocasiones desaprovechamos las fuente internas. Es cierto que sobre todo en explotaciones pequeñas no hay mucho en donde elegir y esto sería parte de otra discusión que trataremos más adelante; ¿por qué el trabajo que ofrecemos en nuestras explotaciones no es atractivo para la sociedad en que vivimos?.
3. **Ineficiente plan de formación y desarrollo.** En la mayoría de las ocasiones el empresario lácteo contempla los RRHH como un "gasto", en lugar de cómo una inversión; de tal forma que no se invierte tiempo ni dinero en planes de formación y capacitación de los operarios lo que con toda probabilidad sea la fuente de numerosos fracasos. En muchos casos el trabajador se encuentra sólo, con grandes responsabilidades, sin formación y sin reconocimiento lo que le conduce a la insatisfacción y desmotivación. No hay una estrategia definida ni plan de capacitación a seguir

por los diferentes grupos o categorías de trabajadores y no existen planes de evaluación en el desempeño de los puestos de trabajo.

4. **Remuneración y compensación.** En general la política salarial no se corresponde al nivel de los tiempos actuales, en muchos casos tampoco se corresponde con el nivel de responsabilidad que demandamos del operario. Existen también carencias de estimulación efectiva con una política salarial inconsistente y sin seguir criterios establecidos.
5. **Evaluación y Reciclaje en el desempeño de funciones.**- No existe una evaluación formal y esquemática de la mayoría de los puestos, en definitiva el operario no sabe lo que se espera de él; no tenemos en general planes de reciclaje ni de evaluación continuada y todo ello acompañado de poca transparencia ni puesta en común de la información de todas las personas implicadas en los procesos.
6. **Falta de atención personal.** En no pocas ocasiones este punto es el que determina que la rotación de RRHH en nuestras granjas sea superior al resto de empresas del entorno. La baja estima social de la profesión de ganadero, escaso reconocimiento de la profesión, condiciones de trabajo en muchos casos indignas, horarios no definidos, no asistencia a actos sociales, etc.…; son factores que determinaran el descontento y la marcha de los trabajadores de la empresa.

Teniendo en cuenta todos estos puntos, es por lo que considero imprescindible que la explotación de vacuno lechero del futuro, ha de contar con asesoramiento en RRHH, departamento imprescindible en cualquier empresa y que una vez más en nuestro sector llegamos con retraso.

Departamento de RRHH:

Desde luego la mayoría de nuestras granjas no tienen la dimensión suficiente para que en su estructura organizativa exista un departamento de RRHH, pero lo que si sería muy interesante es que el propietario de la granja y sus asesores fueran conscientes de la importancia de esta área.

Un buen departamento de RRHH debe de responder a las siguientes necesidades:

- **Promoción**
- **Selección.**
- **Formación.**
- **Organización.**
- **Valoración**
- **Motivación**.

Promoción.

Es saber vender nuestro trabajo, ser conscientes de las condiciones que ofrecemos y a la vez ser conscientes de las condiciones que ofrecen nuestros competidores, las empresas de otros sectores que operan en nuestro territorio más cercano. El nivel de promoción que deberemos aplicar en nuestro caso vendrá determinado por:

- Número de habitantes de la zona.
- Nivel de empleo y poder adquisitivo.
- Nivel cultural.
- Calidad de trabajo y sueldo ofertado

Deberemos promocionar un puesto de trabajo donde el operario se encuentre físicamente a gusto, con turnos de trabajo coherentes, ropa y herramientas adecuadas a la labor que le exigimos y todo ello deberemos transmitirlo a la sociedad, explicando nuestra actividad en foros diferentes; resaltando las virtudes de nuestra profesión: producción de alimentos de alta calidad, cuidado del bienestar animal, contacto directo con la vida y la naturaleza, cuidado del medio ambiente, entorno de trabajo más humano, etc….

Selección del personal.

Fase muy importante ya que debemos definir escrupulosamente para que queremos la persona que vamos a contratar. Y aquí tendremos presente cuatro puntos importantes:

- Reclutamiento.
- Selección
- Introducción en la empresa.
- Retención.

El reclutamiento dependerá de la promoción que hagamos del trabajo que ofrecemos y en nuestro sector esta promoción es mínima, por lo que cuando nos planteamos la selección en la mayoría de los casos hay muy pocos candidatos. Además de todo esto las entrevistas de trabajo y los test se hacen de forma desorganizada, sin criterios definidos, en ocasiones basándonos en el típico flechazo.

Un error frecuente es basar la selección en la habilidad o experiencia en el trabajo sin tener en cuenta el coeficiente emocional, que luego va a ser fundamental a la hora de la retención del trabajador en el puesto de trabajo asignado.

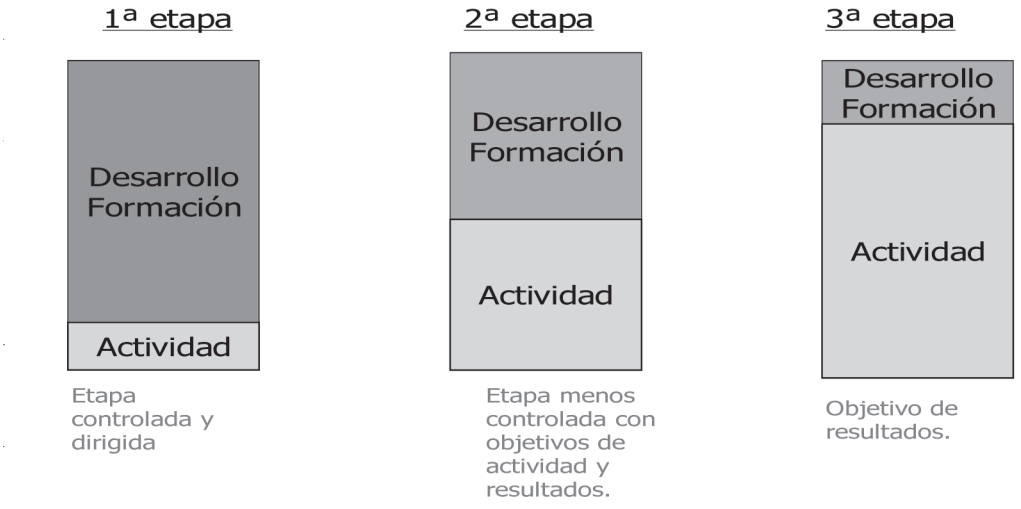
En definitiva el proceso de selección nos debe de permitir conocer a los candidatos y poder evaluar la capacidad de adaptación de las personas al ambiente de trabajo que ofrecemos

Formación. Es el desarrollo de habilidades con el objetivo de finalizar eficazmente un proceso determinado, debemos de hacer planes según las necesidades con periodos cortos y herramientas atractivas. Aunque parezca mentira las cosas que a nosotros nos pueden resultar más simples necesitan cierto tiempo de formación y adaptación. Un buen plan de formación va a cualificar a la persona para esa tarea y va a uniformizar el mismo trabajo, aunque lo desarrollen diferentes operarios.

Un buen plan de formación consta de tres etapas: (Fig.2)

1. Etapa controlada y dirigida, donde el nivel de actividad es mínimo y el nivel de desarrollo y formación máximo.
2. Etapa menos controlada con objetivos de actividad y resultados.
3. Objetivo buscando resultados, pero siempre dejando una parte de desarrollo y formación.

Plan de Formación:



Los planes de formación han de ser planes continuados en el tiempo, aunque podamos relajar la intensidad, debemos constantemente tenerlos en nuestras empresas.

La formación consta de cuatro fases principales: Explicar, Demostrar, Practicar y Controlar, todas ellas son igual de importantes y si alguna falla el plan fracasa.

Organización.- Organizar es establecer o reformar algo para lograr un fin, coordinando las personas y los medios adecuados.

Para organizar a las personas es fundamental trabajar con organigramas que son la representación gráfica de la estructura organizativa de la granja.

Los organigramas tienen doble finalidad:

1.- Desempeña un papel informativo, al permitir que los integrantes de la organización y de las personas vinculadas a ella conozcan, a nivel global, sus características generales.

2.- Sirve de instrumento para el análisis estructural, al poner de relieve las particularidades esenciales de la organización representada.

En definitiva permite a los trabajadores ejecutar su trabajo con más facilidad, habilidad y responsabilidad de acuerdo al cargo asignado.

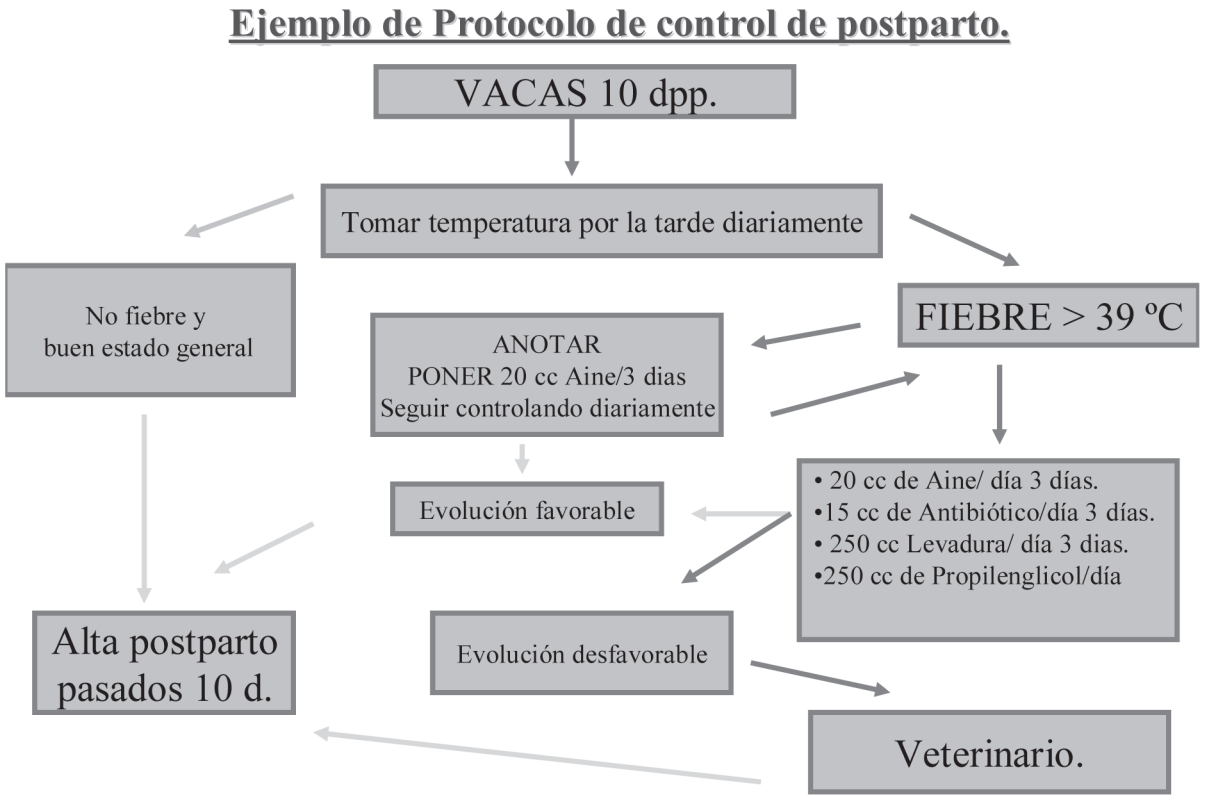
En cuanto a la organización de tareas es básica la elaboración de planning de trabajo donde se especifiquen los horarios de inicio de las diferentes tareas y las personas que las realizan, así como los turnos de apoyo e incidencias. Estos planning de trabajo han de ser consensuados entre los diferentes miembros del equipo al que se refieran y en su elaboración han de participar los operarios, los técnicos y los gestores; el ignorar a los operarios en la elaboración o reforma de los planning de trabajo no solo es una falta de reconocimiento hacia la persona que realmente tiene que realizar la tarea, dificultando su integración y compromiso, sino que estamos perdiendo la información y sugerencias que puedan aportarnos.

Una vez definidos los planning donde cada operario sabe de sus horarios y funciones dentro del engranaje de la empresa, tendremos que definir cada tarea en particular con el fin de facilitar la formación, estandarizar

el trabajo y mejorar la comunicación, ello no será posible sin el establecimiento de protocolos.

Un **protocolo** es la "disciplina que determina las formas bajo las cuales se realiza una actividad humana importante" (J.A. Urbina). Al fin y al cabo es detallar el camino paso a paso para conseguir un objetivo.

Existen diferentes tipos de protocolos, tantos como tareas en una granja: protocolos sanitarios, protocolos de mantenimiento, protocolos de incidencias, protocolos de comunicación etc…



El trabajo en una granja ha de ser ordenado, eficaz y repetitivo y en general, el trabajo pesado es por lo general la acumulación de tareas livianas que no se hicieron a tiempo.

Valoración.-

Es fundamental que en gestión de recursos humanos seamos capaces de evaluar las tareas para las que hemos formado a los operarios y a la vez estimar los conocimientos, aptitudes y rendimiento de los mismos. Para ello debemos de tener en cuenta:

- Recogida de datos objetivos que nos ayuden a evaluar un área de la explotación..
- Analizar los parámetros obtenidos en relación con los objetivos marcados y comparar el mismo parámetro con otras explotaciones de la zona o del país.
- Reconocer a las personas implicadas los objetivos conseguidos
- Establecer nuevos objetivos, aplicando las medidas correctoras o de mejora oportunas.

Motivación.

Es la voluntad para hacer un esfuerzo, para alcanzar las metas u objetivos de la empresa condicionado por un interés en satisfacer alguna necesidad personal. La motivación esta relacionada con la voluntad y el interés y es un valor muy subjetivo y relativo ya que para cada persona la motivación de un mismo trabajo puede ser diferente. Lo que si parece cierto es que es uno de los pilares fundamentales en los que debe de incidir el departamento de recursos humanos a la hora de retener a los operarios en la explotación.

La motivación puede ser:

- **Económica:** Salario Base digno, Seguros sociales, formación gratuita, Asesoría Legal, planes de pensiones, Regalos, incentivos por productividad etc….
- **No económica:** Seguridad en el trabajo, reconocimiento, orgullo de corporación, actividades sociales.

Una vez cubiertas unas necesidades económicas básicas lo que motiva a las personas a seguir en la empresa tiene poco que ver con el dinero. (Fig.3)



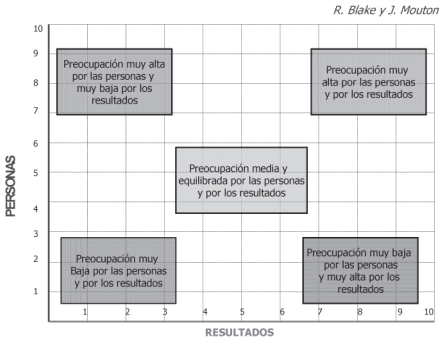
Y que la mejor garantía de éxito de cualquier empresa en la buena formación y motivación de sus operarios.

En este punto debemos tener en cuenta que siempre deben de existir canales de comunicación fluidos entre operarios, gestores y técnicos; el operario debe sentirse integrado en la empresa, ser partícipe de sus fracasos y éxitos y poder ser escuchado. Es muy positivo el establecer reuniones periódicas, en la que participen todos, donde la información fluya de forma transparente, se corrijan errores y se marquen nuevos objetivos.

Dirección de RRHH.

Desde luego no es una tarea fácil y en las explotaciones lecheras que han sufrido una reestructuración tan repentina y a veces tan traumática la pregunta es inevitable: ¿ quién esta más capacitado para gestionar los recursos humanos?.

Debemos de tener en cuenta que un director de RRHH debe ser aquella persona que reúna unas condiciones muy determinadas con una preocupación media-alta y equilibrada por las personas y por los resultados de la empresa (Fig.4).



Básicamente existen dos modelos de dirección (*Douglas Mc.Gregor .)* **Estilo X:**

- Al ser humano le es inherente el disgusto por el trabajo y quiere evitarlo si es posible.
- A causa de este disgusto la mayoría de la gente tiene que ser obligada, controlada y dirigida para conseguir los objetivos de la empresa.
- La mayoría de las personas prefieren ser dirigidas y evitar responsabilidades.
- Al ser humano por naturaleza no le gustan los cambios.
- Las personas son crédulas y fáciles de influir por cualquier charlatán o demagogo.

Estilo Y:

- El gasto de energía física y mental en el trabajo es algo natural a la persona.
- El control externo y el trato de castigo no son los únicos factores que inducen a la aportación de esfuerzos para la consecución de objetivos.
- El compromiso individual con los objetivos está en función de la recompensa asociada al logro de los mismos. **Recompensa muchas veces entendida como la satisfacción del ego y autorrealización.**
- En la mayoría de las ocasiones las personas buscan responsabilidades y el no hacerlo esta motivado por falta de experiencia.
- Hay que confiar en el **desarrollo de las personas** permitiendo que expresen su imaginación, ingenio y creatividad en la solución de los problemas.
- Bajo las condiciones de la vida moderna, el **potencial intelectual de los seres humanos esta infrautilizado.**

En general la teoría Y:

- Consigue mejores resultados y más útiles.
- Obtiene más beneficios o menores pérdidas en sus departamentos.
- Logran mas integración de las personas desarrollando más creatividad e innovación.
- Existen menos problemas laborales y rotación más baja.

Conclusión:

El sector lácteo se encuentra en un proceso de reestructuración que le lleva a una mayor profesionalidad y a una mayor estructura empresarial donde las claves y prioridades serán la mejora del bienestar animal, el incremento en la producción láctea tanto en calidad como en cantidad, respeto por el medio ambiente, eficiencia de la mano de obra y calidad de vida y dignificación de la profesión. Materias, todas ellas que necesitaran de asesores cualificados y comprometidos.

Todas estas áreas se convierten en nuevas oportunidades para la profesión veterinaria, que sin lugar a dudas, tanto por formación como por el contacto directo que tienen con las granjas, parten en una situación privilegiada para ocupar estos puestos de asesores y directivos.

Bibliografía:

- *The Human Side of Enterprise. Hill Mc Graw.*
- *Work and the Nature of man (World Publishing go. 1968)*
- *Gestión de recursos Humaos (Michael Beer)*
- *Administración de Personal y **Recursos Humanos**. William B. Werther Jr. y Keith Davis. Quinta Edición. Ed. Mc. Graw Hill.* **...**
- *Explotaciones en Crecimiento. Organizando el Trabajo. (José Mª Pont Camps) VIII Congreso Internacional de Medicina Bovina. Anembe*
- *CAPITAL HUMANO: 52 CASOS PRÁCTICOS; MANUAL DE SUPUESTOS PRÁCTICOS **SOBRE RECURSOS HUMANOS** Y PROCESOS ORGANIZACIONALES./Joan Boada Grau, director.. Gestión Estratégica de **Recursos Humanos**. AEDIPE-DEUSTO*
- *Diccionario Báscico de RRHH (Harper/lLinch)*
- ***Mercuri Internacional. (** www,mercuri-int.com)*
- *Manejo de los RRHH una parcela en la producción lechera (Miquel Collell . B & M) Master en Asesoria y Gestión de Explotaciones lecheras (U.A.B).*
- *Relaciones entre formación, motivación y satisfacción laboral.* Autora: Marta Gil La cruz (Área de Psicología Social, Universidad de Zaragoza)

MYCOBACTERIUM AVIUM SUBESPECIE PARATUBERCULOSIS. PARATUBERCULOSIS, INTERFERENCIAS CON LAS PRUEBAS DE TUBERCULOSIS EN ESPAÑA.

Julio Álvarez, Lucía de Juan, Beatriz Romero, Elena Castellanos, Javier Bezos, Sabrina Rodriguez, Alicia Aranaz, Ana Mateos y Lucas Domínguez.
Departamento de Sanidad Animal, Laboratorio de Vigilancia Sanitaria (VISAVET), Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid. Avenida Puerta de Hierro s/n, 28040 Madrid

En España, estamos llevando a cabo un programa de erradicación de la tuberculosis bovina que comenzó a aplicarse sistemáticamente en los años 90, principalmente en ganado de aptitud lechera, para posteriormente aplicarse en el ganado de aptitud cárnica. El Programa Nacional de Erradicación de la Tuberculosis Bovina cuenta con una cofinanciación de la Unión Europea, cuyo presupuesto en el año 2006 ascendió a un total de 29 millones de euros. Los resultados de la aplicación de este programa pueden calificarse de muy importantes, especialmente durante los primeros años. En los 5 últimos años, sin embargo, se ha observado un menor rendimiento de este programa, detectándose la necesidad de su implementación.

Esta circunstancia está influida por múltiples factores. Entre ellas, y como muy importante, se ha detectado que la coexistencia de la enfermedad tuberculosa con la sensibilización de los animales con otras micobacterias, limita seriamente la sensibilidad y especificidad de las técnicas diagnósticas. Además, cuando la prevalencia de la enfermedad se encuentra en los niveles actuales, cualquier interferencia origina una gran distorsión de las cifras que lógicamente preocupa a todos los responsables de la aplicación de los programas.

A este respecto, está suficientemente referido, el problema específico que las bacterias del complejo *Mycobacterium avium,* pueden estar produciendo, en el rendimiento adecuado de las campañas de saneamiento de tuberculosis en nuestro país. Esta interferencia puede deberse a que las bacterias causantes de estas enfermedades son filogenéticamente muy próximas y además comparten muchos antígenos,

que son la base de las técnicas inmunológicas empleadas para el diagnóstico. Todas pertenecen al género *Mycobacterium,* que se caracteriza por una ácido-alcohol resistencia debido a una envoltura constituida por ácidos micólicos y además poseen una elevada similitud en las pruebas de hibridación ADN/ADN.

La tuberculosis se define como la enfermedad en los bovinos causada por cualquiera de las especies incluidas dentro del complejo *Mycobacterium tuberculosis (M. tuberculosis, M. bovis, M.caprae, M. africanum, M. microti, M. pinnipedii, M.bovis BCG)*. En España, la especie más relevante es *M. bovis,* aunque recientemente se está incrementando la identificación de animales infectados con *M. caprae*. La forma de transmisión de la tuberculosis es fundamentalmente aerógena y por lo tanto las muestras necesarias para el cultivo microbiológico de la bacteria en el laboratorio son principalmente pulmón y linfonodos asociados (mediastínico, traqueobronquial, cervical superficial y retrofaríngeo). La técnica de DVR-spoligotyping es la prueba de elección para la caracterización molecular de las cepas del complejo *M. tuberculosis* y la realización de estudios epidemiológicos. Existen un buen número de mamíferos, incluido el hombre, que pueden ser infectados por estas bacterias, y por tanto, actuar como reservorios.

El complejo *Mycobacterium avium* comprende una serie de especies filogenéticamente relacionadas que se clasifican en función de sus características serológicas, biológicas y moleculares. Así, se distinguen dos especies, *Mycobacterium intracellulare* y *Mycobacterium avium*, estando ésta última subdividida en cuatro subespecies: *Mycobacterium avium* subsp. *avium* (*M.a.a*), *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* (*M.a.h.*), *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*M.a.p.*) y *Mycobacterium avium* subsp. *silvaticum* (*M.a.s.*). *M. avium* es la especie más prevalente, ya que se encuentra ampliamente distribuida en el ambiente, pero se pueden observar importantes diferencias en la distribución de sus distintas subespecies; así, mientras que *M.a.h.* puede aislarse de numerosas fuentes ambientales y parece comportarse como un mero patógeno oportunista, *M.a.a.* y *M.a.p*. son patógenos estrictos que dan lugar a importantes procesos infecciosos. *M.a.a.* es el agente causal de la tuberculosis aviar, y *M.a.p*. es el agente de la paratuberculosis, una enfermedad crónica granulomatosa del intestino que en los animales se caracteriza por un adelgazamiento progresivo y diarrea. La transmisión de la enfermedad es fecal-oral, por lo que el material de trabajo para el aislamiento de *M.a.p* en el laboratorio son las heces, válvula ileocecal y linfonodos adyacentes. Las cepas de *M.a.paratuberculosis* se clasifican principalmente en tres grandes grupos (Tipo I, II y III). Esta clasificación se ha realizado dependiendo de las características de crecimiento en medio de cultivo, lesiones anatomopatológicas y técnicas de caracterización molecular. Inicialmente se creía que había una especialización de hospedador y que en ganado vacuno aparecían únicamente cepas de Tipo II. Estudios realizados en explotaciones españolas han puesto de manifiesto que el ganado vacuno puede infectarse por dos tipos de cepas de *M.a.paratuberculosis* (coexistiendo a veces ambas en un mismo rebaño): el Tipo II, que es el más frecuente, y el Tipo I, que se caracteriza por ser una cepa de un crecimiento extremadamente lento en el laboratorio y más relacionada con animales criados deforma extensiva.

El programa de erradicación de la tuberculosis bovina en España define como método oficial de diagnóstico in-vivo la prueba intradérmica de tuberculina o intradermotuberculinización (IDTB). Esta prueba detecta la respuesta inmune que se produce en las primeras fases de la enfermedad; cuando un animal sano es infectado por cualquier bacteria del complejo *M. tuberculosis*, tiene lugar una primera fase caracterizada por una respuesta inmune de tipo celular. El funcionamiento de la prueba de IDTB se basa en detectar esta respuesta inmune celular. Hay dos formas de la IDTB, simple y el comparada.

Para la realización del test de IDTB simple se inyecta la llamada PPD bovina ("protein purified derivative" o derivado proteico purificado) o tuberculina bovina en la piel del animal; esta tuberculina, un extracto de proteínas obtenido a partir de una cepa de *M. bovis*, tiene un alto poder antigénico, y en animales previamente sensibilizados da lugar a una reacción de hipersensibilidad retardada. La zona donde se inyecta la tuberculina se examina 72 horas después, y se compara el grosor de la piel de esa área antes y

después de realizar la inyección. Si el animal analizado no estaba sensibilizado a los antígenos presentes en la tuberculina no debe producirse una respuesta inflamatoria local relevante. Por el contrario, si el animal estaba sensibilizado por una infección previa, se producirá una respuesta inflamatoria en el lugar de inoculación que alcanzará su máximo 48-72 horas post-inyección y que disminuirá con rapidez poco después. La legislación vigente en la actualidad determina que un animal se considerará positivo si el incremento en el grosor de la piel es igual o mayor de 4 mm. o aparecen signos clínicos en el punto de inoculación (dolor a la palpación, edema, necrosis…), dudoso si es entre 2 y 4 mm. y negativo si es menor de dos milímetros y no hay presencia de signos clínicos. En el caso de animales con respuestas dudosas, debe repetirse el test en un plazo de mínimo de 42 días; si el resultado del test no es negativo, el animal es considerado positivo. El criterio de interpretación de este test puede variar en función de la prevalencia de la zona; en este sentido la Task Force europea de tuberculosis bovina recomienda la aplicación de un criterio severo (en el que los animales dudosos son considerados positivos) en áreas de alta prevalencia de tuberculosis.

Como cualquier otro método diagnóstico el test simple de IDTB no tiene una sensibilidad ni una especificidad del 100%. En términos de especificidad, se han descrito una serie de factores que posibilitan la aparición de falsos positivos, esto es, animales sanos que empleando este test aparecen como reacciónantes. La causa más relevante de estos falsos positivos es la exposición a micobacterias no tuberculosas: dada la ya mencionada similitud estructural existente entre las micobacterias del complejo tuberculosis y algunas micobacterias del complejo *M. avium*, los animales sensibilizados frente a estas pueden reaccionar de forma inespecífica a la inoculación de la PPD bovina, dando una lectura positiva al test.

En estas situaciones, para incrementar la especificidad de la IDTB simple, se recomienda la aplicación de la prueba de la IDTB comparado: ésta se realiza siempre en las tablas del cuello, y en ella, además de inyectarse la PPD bovina, se inocula simultáneamente la llamada PPD aviar (que es un derivado proteico obtenido a partir de una cepa de *M. avium*). A las 72 horas se mide la respuesta a ambas PPDs, y se comparan. El fundamento de la prueba se basa en la asunción de que los animales que realmente sufran una infección por *M. bovis* deberían tener una mayor respuesta a la PPD bovina respecto a la aviar, mientras que aquellos animales sensibilizados a micobacterias relacionadas con el complejo *M. avium,* tendrán una mayor respuesta a la PPD aviar. Por ello la legislación vigente especifica que solo serán positivos a la IDTB comparada aquellos animales que tengan una respuesta positiva a la inoculación de la PPD bovina y ésta sea mayor que la producida por la PPD aviar. A pesar de resultar más laborioso en su realización, se asume que la prueba de la IDTB comparada es más específica que la simple.

Sin embargo, desde el punto de vista de la erradicación de la enfermedad es de capital importancia **reducir el número de falsos negativos**, incrementando al máximo la sensibilidad de las pruebas empleadas. Los fallos en la detección de animales enfermos pueden estar producidos por varias causas: por una parte, una errónea realización de la prueba, ya sea por una incorrecta dosis de inoculación, errores en la medida pre y post-inyección, fallos en la identificación de los animales, tuberculinas en mal estado, repeticiones del test demasiado próximas en el tiempo… Dentro de estas causas cabe destacar la importancia capital de la calidad de las tuberculinas empleadas en los test, ya que una baja potencia de la PPD bovina o una potencia demasiado elevada de la PPD aviar pueden conducir a falsos resultados negativos en las pruebas de IDTB.

Por otra parte, hay una serie de factores inherentes al animal e independientes de la realización del test, dentro de los cuales podemos enumerar:

- Animales en estado "prealérgico" (analizados antes de que se desencadene la respuesta inmune a la infección).
- Animales en estado de anergia.
- Coinfecciones con otras enfermedades que depriman el Sistema Inmune

• Tratamientos con inmunosupresores

Entre ellas nuestro grupo ha detectado, en colaboración con las administraciones, que **las sensibilizaciones con micobacterias del complejo *M. avium*** (o la vacunación frente a la paratuberculosis) en determinadas situaciones, pueden ser la causa, no solo, de pérdida de especificidad de las pruebas de diagnóstico, si no también , de una pérdida de sensibilidad de las mismas.

Entre las micobacterias del complejo *M. avium* que pueden comprometer la sensibilidad las pruebas se encuentran las encuadradas en *M. avium subespecie paratuberculosis,* el agente causal de la paratuberculosis. Así, una infección concomitante con *M.a.paratuberculosis* puede disminuir la respuesta inmune de los animales (especialmente en casos muy avanzados) causando una anergia inmunitaria, pero además puede afectar especialmente el rendimiento del test de IDTB comparado, pues los animales con paratuberculosis, o vacunados frente a la misma, tienden a mostrar, no siempre, una respuesta más intensa a la inoculación de la PPD aviar, que puede enmascarar la respuesta positiva a la PPD bovina.

Como prueba complementaria la legislación contempla el empleo de la técnica de detección de IFN-γ, y su uso está recomendado por la Task Force Europea en situaciones de alta prevalencia. Dicha técnica es una pruba in-vitro que se compone de dos fases: en la primera alícuotas de sangre de un mismo animal son incubadas a 37ºC en presencia de antígenos (PPD bovina y PPD aviar) durante 18-24 horas, y después son centrifugadas para obtener el plasma; en una segunda fase se mide la cantidad de IFN-γ presente en el plasma mediante un ELISA. El IFN-γ es una citoquina producida por las células T de gran importancia en la respuesta inmune desencadenada en la infección por *M. bovis/caprae*. Si un animal está sensibilizado por micobacterias del complejo *M. bovis*, la producción de IFN-γ en la alícuota estimulada con PPD bovina debería ser considerable, y siempre mayor que la que se produce al estimular la sangre con PPD aviar. Por el contrario, si el animal estaba sensibilizado a micobacterias del complejo *M. avium* la producción será mayor al estimular la sangre con PPD aviar. En cierto modo este test puede compararse con la IDTB comparada en la medida en la que ambos métodos tienen en cuenta las diferentes respuestas inmunes producidas tras la estimulación con antígenos de *M. bovis* y de *M. avium*. Sin embargo, la técnica de detección de IFN-γ es capaz de detectar una proporción significativa de animales que no serían identificados como positivos s empleando la prueba de IDTB, ya que detecta animales en una fase de infección más temprana (un animal podría reaccionar a esta prueba 1-5 semanas después de la infección, mientras que para desarrollar una respuesta positiva a los test de IDTB se necesitan normalmente 3-6 semanas). Otra clara ventaja de esta prueba es que su interpretación resulta menos subjetiva y menos influenciable por algunas de las causas que interfieren con la aplicación de la IDTB. Además se obtiene un valor numérico de medida de IFN-γ. Resulta fundamental, eso sí, definir cuál debe ser el punto de corte a partir del que se considerará a un animal positivo a la prueba.

Teniendo en cuenta, lo mencionado anteriormente y las herramientas disponibles para detectar animales positivos en el rebaño, resulta crucial aplicarlas de manera que optimicemos sus capacidades en función de cada situación epidemiológica concreta. Por ello, dentro de los factores a tener en cuenta a la hora de abordar el saneamiento de tuberculosis es fundamental determinar la presencia/ausencia de tuberculosis y paratuberculosis en la zona. Como hemos visto, la paratuberculosis puede dar lugar a falsos positivos (baja especificidad), provocando pérdidas económicas y restricciones al comercio, pero también y más importante, falsos negativos, en las zonas endémicas de tuberculosis, causando un fracaso o una ralentización en el mejor de los casos de los planes de erradicación.

Estudios realizados en nuestro laboratorio, en colaboración con distintas administraciones, están demostrando el doble efecto de la paratuberculosis en rebaños con y sin tuberculosis. En el caso de rebaños **demostrados** como libres de tuberculosis, la presencia de paratuberculosis puede provocar la aparición de falsos positivos en todas las pruebas diagnósticas disponibles, si bien no todas se verán afectadas de la

misma forma. La aplicación de técnicas comparadas puede reducir el impacto de la paratuberculosis en la falta especificidad, y por tanto su uso estaría claramente indicado en áreas libres de tuberculosis. A título de ejemplo, en los rebaños en los que se hubiera detectado un problema previo de animales positivos a la IDTB pero cuyo cultivo de *M. bovis* era negativo, se realizaron pruebas de IDTB simple, IDTB comparada y IFN-γ en dos tandas. En ambas se identificaron animales reactores (menos del 1%) a la IDTB simple y un porcentaje de entre el 7 y el 10% de animales positivos al test de detección de IFN-γ, pero a pesar de sacrificar un número importante de animales no se observaron lesiones compatibles con tuberculosis ni se obtuvo ningún cultivo de *M. bovis*. La presencia de paratuberculosis en la explotación sí se confirmó mediante cultivo, por lo que cabe achacar el problema de falsos positivos, a reacciones cruzadas con *M.a.paratuberculosis* (u otras micobacterias no tuberculosas), que estaría comprometiendo la especificidad de las pruebas empleados. Situaciones así ya han sido descritas en la literatura científica, donde rebaños libres de tuberculosis pero con problemas de paratuberculosis tienen tasas de falsos positivos mayores de lo esperable.

Sin embargo, en zonas endémicas de tuberculosis, la paratuberculosis puede disminuir la sensibilidad de las pruebas diagnósticas de forma dramática, afectando especialmente (aunque no exclusivamente) a aquellas que tengan en cuenta la respuesta inmune del animal a antígenos de *M. avium*. La aproximación tradicional en casos de presencia de paratuberculosis en un área es aplicar la IDTB comparada, independientemente de la presencia/ausencia de tuberculosis, para así minimizar el número de falsos positivos. Sin embargo hemos podido observar como en rebaños doblemente infectados la sensibilidad de la IDTB comparada puede descender a niveles por debajo del 20% a causa de la paratuberculosis. Por ejemplo, tras analizar empleando IDTB comparada y detección de IFN-γ más de 200 animales de un rebaño, se procedió al sacrificio y análisis microbiológico de todos ellos. De 48 animales con un cultivo positivo de *M. bovis* (considerado el gold-standard), tan solo 9 (18.75%) habían sido detectados empleando la IDTB comparada. Estos valores no se corresponden con la sensibilidad descrita en la literatura científica (entre un 52 y un 100%), si bien no se han publicado estudios amplios en rebaños con infecciones mixtas. La técnica de detección de IFN-γ detectó 37 (77.1%) de esos animales enfermos cuando el punto de corte se fijó en 0.05. Si la lectura de esta prueba se hace ignorando las lecturas de IFN-γ producidas tras la estimulación con PPD aviar (es decir, tomando en cuenta solo el valor de la estimulación con PPD bovina respecto a un punto de corte) se aumenta el número de animales infectados detectados hasta 41 (85.4%). Resulta curioso observar que, a pesar de que la sensibilidad de ésta última prueba fue sin duda mayor que la de la IDTB comparada, dos animales solo fueron detectados mediante el uso de la prueba cutánea. La mayor sensibilidad, por tanto, se observa si se aplican ambos test de forma paralela (es decir, un animal es positivo si es positivo a alguno de los dos test empleados) y se ignoran los resultados de IFN-γ aviar, detectando 42 (87.5%) animales enfermos.

Al observar los parámetros de sensibilidad solo en los animales de este rebaño con una infección de tuberculosis y paratuberculosis confirmada mediante cultivo microbiológico, se pone de manifiesto como el rendimiento de las pruebas diagnósticas es aún más bajo que en el conjunto del rebaño. Así, de 18 animales con una infección mixta, la IDTB comparada detectó tan solo uno (0.056%), y el IFN-g 10 (55.6%). Al contrario, cabe destacar que, de los 30 animales infectados por *M.bovis de* los que no se pudo aislar M.a.paratuberculosis, 28 fueron detectados mediante IFN-γ, que demuestra en este caso claramente la interferencia de esta enfermedad.

El incremento en la sensibilidad de la prueba de detección del IFN-γ al ignorar el valor de la estimulación con PPD aviar también es significativamente mayor, pasando de identificar el 56% de los animales al 72%.

En zonas endémicas de tuberculosis y paratuberculosis, por tanto, la aplicación de las pruebas diagnósticas comparadas disminuye de forma dramática la sensibilidad de las pruebas. A nivel de rebaño, este descenso se traduciría en un progreso muy lento de la erradicación de la tuberculosis, pues no eliminaríamos todos los animales infectados del rebaño; pudiendo producirse el caso de que rebaños infectados podrían ser calificados como negativos a las pruebas diagnósticas y resultar una importante fuente de infección. A este respecto conviene destacar que, de los 39 animales infectados no detectados mediante la IDTB comparada, 14 no presentaron lesiones macroscópicas, por lo que en caso de haber sido sacrificados por algún otro motivo hubieran pasado inadvertidos en el examen de matadero.

Resulta fundamental, por tanto, conocer el estado de infección de tuberculosis y paratuberculosis a la hora de plantear las pruebas diagnósticas a utilizar en una zona, y la interpretación que debe hacerse de las mismas, ya que de otra forma pueden causarse perjuicios económicos importantes en caso de problemas de especificidad o bien, lo que sería más grave, comprometer seriamente el éxito de las campañas de erradicación en casos de falta de sensibilidad.

En áreas libres, o con muy baja prevalencia de tuberculosis, en las que pueda haber problemas de sensibilización con otras micobacterias resulta conveniente aplicar técnicas de diagnóstico comparadas, pues evitaremos el sacrificio de falsos reactores. En cambio, si hablamos de áreas donde la tuberculosis está presente el objetivo principal debe ser alcanzar la máxima sensibilidad para lograr el objetivo de la erradicación, por lo que el empleo de técnicas comparadas que faciliten la aparición de falsos negativos debe ser evitado.

Resulta vital, por tanto, la inspección veterinaria en el matadero, no solo de los animales sacrificados procedentes de las campañas de saneamiento, y el cultivo a partir de muestras procedentes de los animales sospechosos, para establecer, sin lugar a dudas, el estado de los animales de una determinada zona frente a estas dos enfermedades. De esta forma se pueden tener argumento para aplicar de la forma más idónea las técnicas de diagnóstico de la tuberculosis.

PASADO, PRESENTE Y FUTURO DE LOS PROGRAMAS DE CALIDAD DE LECHE

D. LUIS MIGUEL JIMENEZ

Introducción

La Calidad de la Leche (CL) es un concepto muy amplio que abarca cuestiones diversas dentro y fuera de una explotación y debe ser considerada como el eslabón entre la producción de leche en la granja y el consumidor. Hablaremos de CL desde el punto de vista higiénico y legal de la leche, esto es, desde la parte que determina la salud de la ubre sin meternos en otros aspectos como la composición de la leche que aún formando parte de la CL dependen completamente de la nutrición y de la genética.

El objetivo fundamental de la CL es el beneficio del productor, de la industria y del consumidor. En el productor se producirá un incremento de la rentabilidad consiguiendo que la leche que venda todos los días sea de la mejor calidad y en cantidad suficiente. Por otro lado la calidad de la materia prima que recoja la industria de transformación determinará en cierta medida la rentabilidad del producto final. Por último el consumidor se beneficiará ya que recibirá un producto de alto valor nutricional y sin riesgos para la salud.

Nosotros los veterinarios hemos estado siempre presente, estamos y debemos estar en todos estos niveles de la CL, por un lado en la producción primaria que va a determinar la rentabilidad de la explotación. También podemos estar presentes en el proceso de transformación garantizando que el producto

no se altere y en ultima instancia en la administración asesorando cómo debe ser la leche producida garantizando en todo momento la salud del consumidor.

Importancia de la obtención de leche de calidad

Vamos a ver la importancia que tiene la obtención de leche de calidad desde 4 puntos de vista: consumidores, ganaderos, industria y administración.

El *consumidor* quiere en primer lugar que lo que compre sea realmente eso, en este caso leche o bien un producto lácteo, que tenga un buen sabor, que sea un alimento seguro sanitariamente y que dure lo más posible.

Los *productores* deben concienciarse de que están produciendo un alimento de primera necesidad, de ahí el deber moral de producir una leche de calidad y en ningún caso se deben conformar con no superar los límites establecidos. Por otro lado deben producir leche de calidad para incrementar la rentabilidad en la explotación, es una condición "sine qua non" que una explotación no puede ser del todo rentable si la leche que produce no es de calidad. La importancia real de la mamitis se debe a que es la enfermedad que más pérdidas ocasiona en una explotación moderna de vacuno de leche. La producción de leche de calidad le dará muchos beneficios sobre todo por la reducción de mamitis tanto clínica como subclínica. La mastitis es una inflamación de la glándula mamaria debido a la entrada de un germen por el conducto del pezón. Estas bacterias se desarrollan y multiplican en el interior de la ubre provocando en muchos casos daños irreparables que ni la mejor terapéutica del mundo puede solucionar. Desde que ese germen entra por el conducto del pezón el ganadero está perdiendo el potencial productivo de sus vacas, esta pérdida en producción es tal que se puede considera a la mastitis como la enfermedad más costosa del ganado bovino lechero. Un estudio realizado en 1994 revelaba que las pérdidas debidas a la mamitis eran de 185 $ por vaca y año. Un 66 % se debía a la reducción en la producción de leche, un 5,7 % a la leche que se debería descartar, un 22,6 % al coste de reposición de animales, un 4,1 % se debía a los tratamientos, un 1,5 % a los servicios veterinarios y un 0,1 % debido al trabajo extra que hay que realizar.

De todo esto se deduce que la lucha contra la mamitis y la producción de leche de calidad debe pasar inexcusablemente por la prevención marcándose como objetivo la obtención de leche por debajo de 200.000 células somáticas y por debajo de 10.000 gérmenes mesófilos por mililitro.

Como dijo Duclaux "no hay leche, sino leches", de aquí que a la *industria* tenga que comprar la leche acorde a sus necesidades que siempre será la de más alta calidad ya que el producto final ya sea leche líquida, queso o yogur no será el mismo, dependerá de la calidad de la materia prima en origen.

COMPONENTE	LECHE NORMAL %	LECHE CON ALTO RCS %	% LECHE NORMAL
Sólidos no grasos	8,9	8,8	99
Grasa	3,5	3,2	91
Lactosa	4,9	4,4	90
Proteína total	3,61	3,56	99
Caseína total	2,8	2,3	82
Globulina	0,8	1,3	162
Albúmina	0,02	0,07	350
Sodio	0,057	0,105	184
Cloruro	0,091	0,147	161
Potasio	0,173	0,157	91
Calcio	0,12	0,04	33

La caseína es la "proteína verdadera" o útil con un valor biológico muy similar a la ovoalbúmina y debe estar en torno a un 77 % de la composición total proteica de la leche, el resto son proteínas del suero, albúminas y globulinas . La caseína forma partículas coloidales llamadas "micelas" y en su interior hay gran cantidad de calcio y fósforo (fosfocaseinato de cal). Por un lado es determinante en el rendimiento quesero ya que es mediante ella por lo que se consigue la coagulación de la leche adicionando cuajo. Si proviene de vacas con mamitis, (o indirectamente si el recuento celular es alto) se necesitarán más litros de leche para hacer los mismos kilos de queso. Esta leche de mala calidad tendrá la misma cantidad de proteína pero en su mayoría será albúminas y globulinas debido a una rotura de la barrera hematomamaria e interferirán en la coagulación. En el caso del yogur, la lactosa es fermentada por los microorganismos y transformados en ácido láctico y cuando el PH es de 4,6 las caseína precipita y las proteínas del suero quedarán en el sobrenadante. Una vez más la composición va a determinar la calidad del yogur, sobre todo la textura del yogur que en definitiva es junto al sabor por lo que un consumidor compra el mismo yogur.

Una leche anormal o mamítica tendrá menos lactosa, menos caseína, menos calcio, menos fósforo, menos potasio, más cloruros (gusto salado), menor PH, más globulina, más albúmina. Por otro lado existen otros componentes no deseables en la leche de baja calidad como son las lipasas y proteasas, enzimas exógenas originadas por las bacterias psicotrofas que determinará el sabor a rancio y amargo, se caracterizan por ser termoestables influyendo en la conservación de la leche. Por otro lado una leche de baja calidad tendrá también una menor estabilidad si se somete a temperatura. A su vez la leche de baja calidad que se destine a la elaboración de leche pasteurizada, ésta tendrá menos tiempo de vida útil, está demostrado que una leche con un RCS menor de 200.000 cel/ml a los 14 días tendrá una calidad mejor que una leche con un recuento celular superior a 500.000 cel/ml.

Por último está la *administración* informando a los consumidores, a los productores y a la industria de la importancia de la CL y velando para que la legislación se cumpla.

Programas de Mejora de la Calidad de Leche en el mundo

• U.S.A y Canadá: El Programa para la Mejora de la Calidad de la

Leche (PMCL) más antiguo conocido en todo el mundo es el del estado de New York implantado por el Gobernador de ese estado Thomas Dewey desarrollado por el Veterinary college at Cornell University. Las

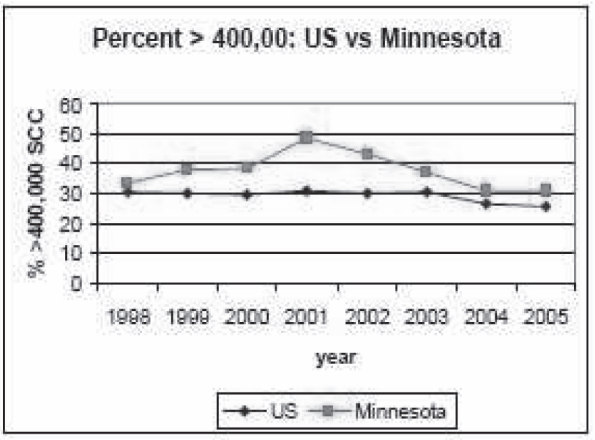
universidades en U.S.A tienen un papel muy importante en los PMCL, destacan el Quality Milk Production Services (QMPS) que lo desarrolla la Universidad de Cornell junto con el Departamento de Agricultura de U.S.A. El pilar fundamental del PMCL es el diagnóstico laboratorial (se llegan a analizar anualmente 180.000 muestras de leche), acompañado de asesoramiento a productores, formación continuada a productores y de investigación y estudios de campo. El PMCL está financiado por la administración y por los ganaderos. Esto es, la investigación al servicio del ganadero.



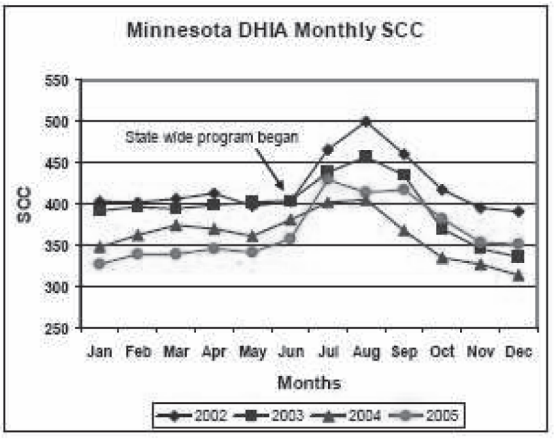
En esa línea está el PMCL de la Universidad de Madison- Wisconsin denominado "Milk Money" y basado en el asesoramiento a granjas en el que el objetivo primordial es la consecución de objetivos. Se realizan reuniones 3 veces al año con los ganaderos cuyo objetivo es la formación de los ganaderos y el entrenamiento de ordeñadores. En él están implicados la universidad a través de investigadores y extensionistas, cooperativas de ganaderos, asociaciones de ganaderos, industrias lácteas, empresas de máquinas de ordeño y la administración. La financiación corre por cuenta de los ganaderos y de la administración y las industrias realizan pago por calidad con primas importantes.

Por otro lado existe en Minnesota el "Quality Count$", en la misma línea que el de Wisconsin, consta de dos comités, el "Education Committe" y el "Media Committe", el primero lo desarrolla la Universidad de Minnesota a través de las industrias lecheras y el segundo es un comité de relaciones públicas con el Departamento de Agricultura de Minnesota. El objetivo es la reducción del recuento celular que era un gran problema en este estado y la manera de actuar es mediante información a productores, formación de veterinarios, de técnicos en máquinas de ordeño y proveedores de productos. Todo ello se acompaña de seminarios y talleres sobre CL.

Relación RCS > 400.000 Minnesota/Usa



Control Lechero mensual e impacto del PMCL



A su vez en U.S.A existen empresas de consultoría privada como por ejemplo Udder Health Systems en el estado de Washington o Total Herd Management en Wisconsin. Esto mismo ocurre en Canadá, destacando los PMCL del estado de Ontario y el de la Universidad de Prince Charles Island.

En resumen podríamos decir que en los PMCL en U.S.A y en Canadá hay mucha presencia de las universidades, es decir que la ciencia está al servicio de la CL, las personas encargadas de llevarlos a cabo son veterinarios, ingenieros y técnicos en máquinas de ordeño y sus acciones se funden en el PMCL.

• En Argentina por ejemplo no hay presencia de la universidad como

servicio de apoyo al productor. Es el gobierno a través de los institutos de Investigación Agropecuaria (INTA) los que realizan el trabajo en CL pero la eficacia varía según en qué zonas se realice el PMCL. Hay 5 industrias que compran el 50 % de la leche en Argentina y tienen 2 veterinarios en el campo asesorando en CL pero no de manera constante, simplemente se trata de un chequeo anual o incluso con menos frecuencia. A su vez las empresas vendedoras de máquinas de ordeño hacen un asesoramiento muy concreto puntualmente y una vez solucionado el problema (si es que se soluciona) se retiran, esto se denomina "troubleshooting". Por último hay especialistas en CL, en total 5, la mayoría veterinarios y algún ingeniero, éstos cuentan con un laboratorio de diagnóstico y generalmente trabajan solos.

• En México funcionan muy bien los laboratorios de diagnóstico

especializados en CL, la manera de asesorar allá es a través de la industria lechera destacando Alpura que tiene a más de 20 veterinarios en el campo asesorando en CL. A su vez hay veterinarios privados especialistas en CL que normalmente trabajan solos (muy pocos) y también las grandes firmas de máquinas de ordeño realizan asesoramiento puntual.

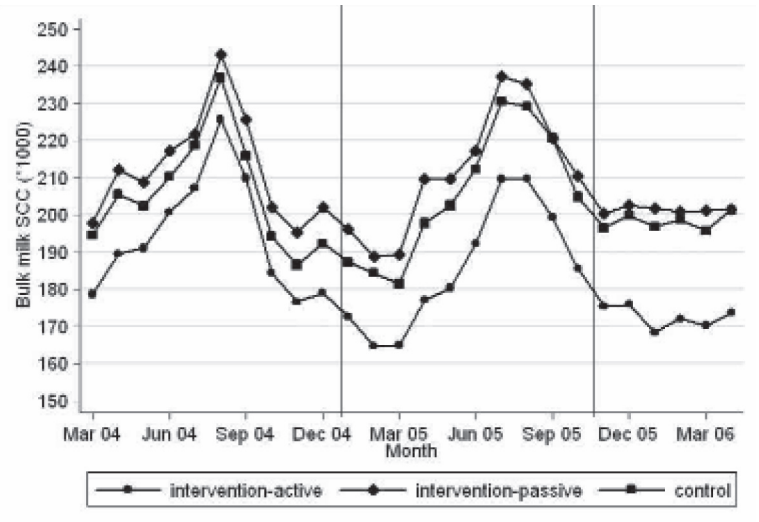
• En Australia son las grandes industrias las que realizan el Control

de Mamitis y CL, no todas están primando por calidad (< 200.000 ó < 250.000 cel/ml y < 50.000 recuento de mesófilos/ml) pero todas penalizan la leche por > 400.000 cel/ml. Además existen veterinarios y otros especialistas en salud de la ubre que juegan un papel importante en el "troubleshooting" o "apagafuegos" en granjas individuales. La universidad en Australia no juega ningún papel en la CL. La administración si que marca objetivos y métodos en materia de CL a través del "Countdown Downunder Website".

• En Nueva Zelanda los PMCL se desarrollan de una manera parecida

a como se hace en Australia con una diferencia sustancial, solamente hay una industria denominada Fonterra y no ofrece ninguna prima por calidad pero aplica fuertes penalizaciones, la leche > 400-500.000 cel/ml tiene una reducción del 5 % y un 10 % si se trata de leche entre 500 y 600.000 cel/ml.

• En Europa los más avanzados en el asesoramiento sobre CL son los holandeses y los españoles. En Holanda el mayor PMCL que se desarrolla es el realizado por el Centro Holandés de la Salud de la Ubre (UGCN). Un incremento en el recuento celular acontecido en Holanda entre 2000 y 2004 le llevó a la administración, a la industria lechera y a las agrupaciones de ganaderos holandeses a diseñar un PMCL que llevaría a cabo el UGNC y que sería pagado por los ganaderos y subvencionado por la administración. El objetivo es mejorar la salud de la ubre, aumentar la rentabilidad e incrementar el bienestar animal. El 50 % del trabajo del PMCL es investigación por parte del Centro y el otro 50 % es trabajo diario en granja. La investigación está basada en el proyecto australiano del "Countdown" y en proyectos canadienses de investigación. Esta línea de investigación se implementa por el trabajo práctico, diario y privado de los técnicos. El trabajo práctico consiste en visitas durante el ordeño (3 visitas al año), en estas visitas se realiza CMT, chequeo de la condición de pezones, recogida de muestras de leche y están complementadas por fichas de tratamiento, instrucciones sobre rutina de ordeño, etc. A su vez se realizan estudios de grupos liderados por los técnicos los cuales convocan a ganaderos y les dan charlas sobre los últimos avances en CL.



• En Francia es el Institut de l´Élevage el que trabaja en CL pero

mayoritariamente en investigación sin prestar asesoramiento en el campo, solamente es el trabajo realizado por los veterinarios clínicos lo único que se hace en materia de CL. Ocurre lo mismo en Alemania, tampoco se presta servicio de CL como tal, si existen laboratorios privados. En Italia los servicios de CL lo llevan a cabo tanto la Associazione Italiana de Allevatori (AIA) y cooperativas de ganaderos principalmente productoras de quesos prestando atención a la máquina de ordeño. También existen especialistas en CL privados.

• Noruega y Dinamarca destacan porque están muy dedicados a la

investigación que se hace a través tanto de empresas privadas (TINE en Noruega) como de universidades (la de Arhus en Dinamarca).

• En Irlanda destaca el Centro de Investigación de Moorepark

pertenecientes al Teagasc con un total de 7 centros de investigación en producción lechera y con 750 vacas en total. A los ganaderos irlandeses el centro de Moorepark lo que más les aporta es formación debido a la gran cantidad de publicaciones que realizan. Para el resto del mundo son muy importantes las investigaciones en materia de máquina de ordeño y más concretamente el aporte al diseño de componentes y a las Normas ISO de máquina de ordeño.



Programas de Mejora de la Calidad de Leche en España

Hablaremos de cómo fue el origen de los Programas de Mejora de la Calidad de la Leche en España, de cómo ha sido la evolución de este trabajo y cómo llegó a convertirse en una especialidad dentro de la profesión veterinaria, de las partes que debe integrar un buen Programa de Control de Calidad de Leche y por último del futuro que nos aguarda.

Origen de los PMCL

La entrada en la C.E.E supuso un cambio importante, se empezó a regir la obtención de la leche cruda por Directivas comunitarias, Reales Decretos en los cuales dejaban muy claro cual debería ser la leche legal. El RD 1679/1994 es una transposición de la Directiva 92/46/CEE y establecía las condiciones sanitarias aplicables a la producción y comercialización de leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos. El Anexo A contempla las condiciones de recepción de la leche cruda en los establecimientos de tratamiento y/o transformación. El capítulo I habla de las disposiciones de sanidad animal aplicables a la leche cruda, el capítulo II habla de la higiene de la explotación, el capítulo III habla de la higiene del ordeño, de la higiene de los locales de recogida, de la higiene del personal, de la higiene de la producción, el capítulo IV (el decisivo) dicta las normas que deberán respetarse en el momento de la recogida de la leche cruda en la explotación de producción o en el momento de recepción de la leche cruda en el establecimiento de tratamiento o transformación, quedando de esta manera: La leche cruda de vaca destinada a la producción de leche de consumo tratada térmicamente, de leche fermentada, gelificada o aromatizada y de natas, así como la de otros productos lácteos cumplirá con un contenido de gérmenes mesófilos a 30º (por ml) menor o igual a 100.000 (media geométrica observada en un periodo de 2 meses con 2 muestras por lo menos al mes) y un contenido en células somáticas menor o igual a 400.000 (media geométrica observada en un periodo de 3 meses con una muestra por lo menos al mes).

También cambió el sistema de pago de la leche, hasta la entrada en la C.E.E (campaña 1985-1986) los precios mínimos de compra de leche en origen y los criterios de pago se establecían por decreto. El ingreso en la C.E.E cambia la normativa, se establecen precios indicativos y normas en la que se

especifican las condiciones sanitarias aplicables a la producción y comercialización de la leche cruda, leche tratada térmicamente y productos lácteos. Desde este momento los sistemas de pago por calidad no se reflejan en ninguna normativa oficial, serán a partir de entonces acuerdos interprofesionales los que fijarán los criterios de pago y con este acontecimiento nacen los Laboratorios Interprofesionales, que son los organismos arbitrales reconocidos por ambas partes (ganaderos e industriales) para desarrollar un sistema de pago por calidad con garantías de funcionamiento. Los parámetros de pago que se utilizan actualmente son:

- Grasa
- Proteína
- Recuento de gérmenes totales
- Recuento de células somáticas
- Punto crioscópico
- Ausencia de inhibidores

Con algunas variaciones los criterios en la actualidad son:

LECHE TIPO	TIPO	PRIMA	PENALIZA
Materia grasa	3,70%	> 3,7 %	< 3,7 %
Proteína	3,20%	> 3,2 %	< 3,2 %
BACTERIOLOGÍA			
DOBLE A		<ó= 50.000	PRIMA
Clase A		<ó= 100.000	
Clase B		100-400.000	PENALIZA
Clase C		> 400.000	PENALIZA
RECUENTO DE CELULAS SOMATICAS			
DOBLE A		<ó= 250.000	PRIMA
Clase A		<ó= 400.000	
Clase B		400-600.000	PENALIZA
Clase C		> 600.000	PENALIZA

La responsabilidad de que esos criterios se cumplan viene por parte de los propios ganaderos, de la industria y todo ello va a ser una exigencia por parte de los consumidores. Una Leche de Alta Calidad desde el punto de vista higiénico la podemos definir como aquella cuyo contenido en células somáticas y gérmenes mesófilos por mililitro es inferior a 200.000 y a 10.000 respectivamente y a su vez ausencia total de inhibidores.

Hubo un cambio brusco en la legislación y en la relación entre la industria y el productor mediante el pago diferencial por calidad pero todo esto con un sector mal informado y con una baja conciencia de ser productor de alimento y baja profesionalidad para producir leche de calidad.

En función de esta circunstancia se intentó fomentar la producción de leche de calidad España creando una línea de subvenciones denominadas PMCL. El primer PMCL salió en 1999 en amparo del RD 1563/1998, los beneficiarios eran primeros compradores autorizados que aplicasen el sistema de pago diferencial y agrupaciones de ganaderos con cuota y que se comprometiesen mantener la actividad durante 5 años. El objeto era mejorar el RCS y la bacteriología, mejorar en los parámetros físico-químicos y la ausencia de inhibidores. Se subvencionaba el 70 % de todas las actuaciones e inversiones necesarias para cumplir los objetivos. Omitía un hecho fundamental y era que no iba a existir una evaluación de

resultados. Debido a la desinformación de los ganaderos y el bajo espíritu de asociacionismo la mayoría de las solicitudes fueron por parte de industrias y muchas de ellas no hacían un significativo sistema de pago diferencial para que sirviese de estímulo para producir leche de calidad. Por otro lado los ganaderos se conformaban con intentar que no hubiera penalizaciones más que preocuparse por mejorar la CL por obtener una mayor rentabilidad. A esto se sumó que se siguió recogiendo leche por encima de los límites legales, eso sí, con penalizaciones.

En el 2002 salió publicado otro RD, el 460/2002, que es el actual y en el que el importe de la ayuda era el 50 % de los gastos para el desarrollo del PMCL. Incorpora que también pueden ser beneficiarios los productores de leche de oveja y cabra, además incorpora la evaluación de resultados, por un lado el órgano competente de la Comunidad Autónoma debía hacer inspecciones "in situ" para comprobar el grado de cumplimiento y realizar un informe y que éste sirviese de criterio para denegar subvenciones a futuros PMCL. A su vez el órgano competente de la Comunidad Autónoma debería remitir al MAPYA un informe global que reflejara la eficacia de los PMCL reflejándose con claridad el antes, el durante y el después de la aplicación del PMCL. Este informe contendría la evolución de los resultados analíticos (RCS, bacteriología, físico-químico e inhibidores). Hay ejemplos muy claros con muy buenos resultados, siendo los solicitantes tanto primeros compradores como asociaciones de ganaderos.

A fecha de hoy podemos destacar el gran avance que ha habido en lo que a asesoramiento se refiere, gran información al ganadero y medios para ser profesional en la consecución de CL, hoy por hoy el productor que no produce leche de calidad es por que quiere porque realmente tiene todos los medios a su alcance. Por otro lado la posición por parte de muchas industrias sigue siendo la misma, insignificante sistema de pago diferencial, recogida de todo tipo de leches. Se puede decir abiertamente que el objetivo de los PMCL se ha conseguido perfectamente, lo que habría que cambiar en cierta medida es todo lo que rodea a los PMCL, que en definitiva es la subvención y por esto es por lo que se han convertido en algo atractivo. Lo más destacable es que habría que intensificar los sistemas de control para garantizar los cumplimientos de los PMCL.

El futuro RD que regulará los PMCL en el 2008 se prevé que sea muy satisfactorio. El objeto seguirá siendo la mejora de la CL y estará basado en el asesoramiento técnico para la implantación de sistemas de aseguramiento de la CL, la finalidad es mejorar el cumplimiento de las exigencias establecidas en el Reglamento europeo CE nº 852/2004 relativo a la higiene de los productos alimenticios y el CE nº 853/2004 por el que se establecen las normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal. El CE nº 852/2004 establece normas para los "operadores de empresa" como responsable de la seguridad alimentaria y esta estará basada en la aplicación general de procedimientos basados en los principios de análisis de peligros y puntos críticos de control (APPCC) y en las prácticas higiénicas correctas. El CEE nº 853/2004 dedica la sección IX a la leche cruda y productos lácteos y el capítulo I se refiere a la producción primaria de leche cruda, en el se contemplan los requisitos sanitarios, la higiene de las explotaciones (locales y equipos, higiene del ordeño, recogida y transporte e higiene del personal) y los criterios relativos a la leche cruda que seguirán igual que hasta ahora (400.000 cel/ml y 100.000 mesófilos/ml).

En cuanto a los beneficiarios del PMCL está como novedad que aparte de los primeros compradores y las asociaciones de productores también lo podrán solicitar Laboratorios Interprofesionales y productores a título individual previa autorización de la Comunidad Autónoma. Se establecerán 2 tipos de programas:

1- Programa de asesoramiento para la implantación de la Guía de Prácticas correctas (GPC) mediante un equipo técnico. También se definen los aspectos a implantar en la GPC.

2- Programa de certificación externa para la implantación de la GPC asesorado por un equipo técnico y certificado por una entidad externa.

Dentro de la modalidad 1 la duración del PMCL puede ser plurianual

estableciendo los objetivos por año y se exigen mínimo 2 visitas anuales, una al principio y la otra al final para ver la evolución. Por último también se exige una revisión anual tanto de la máquina de ordeño como del tanque de frío. Dentro de la modalidad 2 recoge aspectos relacionados con la certificadora externa. El importe de las ayudas será del 50 % de los gastos necesarios para el desarrollo del PMCL, como máximo un beneficiario podrá recibir ayudas 5 años consecutivos dentro de un mismo PMCL, los 2 primeros años la ayuda es para la implantación del sistema de autocontrol, los 3 siguientes para el control del sistema.

Se establecen controles e inspecciones en un Plan de Controles Oficiales por parte de la Mesa de Coordinación de la Calidad de la Leche y estas afectarán a los solicitantes, a los equipos técnicos asesores y a la entidad certificadora.

A partir de ahora cuando hablemos de PMCL debemos ir pensando en GPC, en APPCC y en certificación, aunque el trabajo clásico de CL se va a englobar dentro de la GPC.

Este borrador se pasó los trámites de audiencia de las C.C.A.A y del sector y por lo visto ha habido consenso.

Evolución del trabajo veterinario en CL

Los veterinarios han trabajado en CL sin saberlo desde hace mucho tiempo, tradicionalmente solamente se le prestaba atención a el tratamiento de la mamitis del animal individual que no deja de ser una parte muy pequeña dentro de la CL. Lo que marcó realmente un punto de inflexión fue la integración a la C. E. E, antes de esto no se había tomado conciencia de la importancia de la mamitis y su repercusión en la rentabilidad de las explotaciones debido principalmente a la reducción en la producción. Debido a esto se empezó a estudiar más a fondo esta enfermedad compleja y multifactorial y se dedujo que era la prevención o el control el pilar fundamental en la lucha contra la mamitis, de esta manera se empezó a ver el problema desde un punto de vista de rebaño y no individual.

En España se empezó a trabajar en CL en los años 80 principalmente en Navarra (ITG) y País vasco, destacando la labor de Miguel Angel Zorraquino y de Juan Miguel Echeverría en Navarra y de Juan C. Marco en el País Vasco. Fueron realmente los que marcaron y siguen haciéndolo la línea a seguir en del trabajo de CL. Al no existir ningún tipo de descuento por las centrales y por supuesto ninguna prima por calidad era difícil la tarea de convencer al ganadero de la importancia de la mamitis. Sencillamente se centraban en intentar convencer a los ganaderos que existían las mamitis subclínicas y su relación con el recuento celular, las mamitis clínicas sí sabían que existían porque tenían muchas. Ya recibían un reporte del RCS de los últimos 6 meses, así como los resultados del control lechero de vaca individual de los últimos 12 meses. El trabajo consistía en madrugar para ir al ordeño (cosa que no ha cambiado aún), hacer CMT y revisar la rutina de ordeño. El gran problema estaba en que todo estaba sucio, las vacas, la máquina y las instalaciones, el agua era la herramienta de trabajo y por supuesto era agua sucia, se mojaban las ubres, no se lavaba la máquina de ordeño, etc. Se empezó a instaurar el famoso Plan de los 5 puntos del N.I.R.D, (rutina de ordeño, máquina de ordeño, tratamiento de las mamitis clínica, tratamiento de secado y eliminación de vacas crónicas) centrándose más en el uso de baños de pezones y el tratamiento de secado. Se mandaba una hoja de recomendaciones explicando temas muy básicos sobre prevención de mamitis.

Fue a partir de la incorporación de los PMCL cuando hubo gran cantidad de profesionales dedicados al asesoramiento en Mastitis y Calidad de Leche, está muy bien ya que esto impulsó a la profesión veterinaria y se consolidó como un campo más en el que tenemos cabida. A partir de ahí empezó a

interesar tanto a los veterinarios que vieron en la CL una salida, a ciertas industrias que tuvieron que contar con nosotros para el desarrollo de sus respectivos programas y también a los laboratorios ya que encontraban un canal para vender más productos a través de técnicos especializados. Pero no solamente consistía en trabajar en un área sino que había que ser profesionales y hacer bien nuestro trabajo, en definitiva, había que formarse. Por un lado la Asociación Anembe contribuyó y lo sigue haciendo a la formación de especialistas en CL a través de los Congresos Internacionales y más concretamente de los Seminarios organizados en el ámbito de los congresos. Por otro lado están los laboratorios, muchos de ellos se han preocupado de la formación cada día mucho más especializada de todos los que se dedican al asesoramiento en CL, lo han hecho a través de páginas web u organizando cursos y seminarios sobre CL. Un hecho muy destacable y que ha influido decisivamente en esta formación son los propios veterinarios que tanto a título individual o dentro de sus respectivos equipos se han encargado (y lo siguen haciendo) de organizar Jornadas de formación.

Hay que entender que la CL y Control de Mamitis (CM) es una especialidad dentro de la veterinaria que se desarrolló en el ámbito de los PMCL pero que existía hacía años. Podríamos definirla como la especialidad dentro de la medicina de la producción que toca todos los aspectos de la producción de leche que influyen para la obtención de leche de calidad y en cantidad suficiente para que sea compatible con la rentabilidad. Es una de las especializaciones con más futuro porque es la cadena de transmisión entre el productor, la industria y el consumidor y requiere por ello cierto grado de concienciación, ya no solo estamos haciendo ganar dinero a los ganaderos sino que el fruto de nuestro trabajo va a contribuir a que ese alimento sea más seguro y de un valor biológico superior. Así nos deberíamos ver ante la sociedad y por supuesto frente a los propios compañeros que durante algún tiempo siempre nos consideraron veterinarios de otra categoría, o por lo menos esa era la impresión y muy ligados a subvenciones cuando todo el sector está íntimamente ligado e ellas.

El trabajo que debe realizar un especialista en CL adecuándose a lo que el futuro depara va a ir encaminado a la aplicación de GPC de higiene cuyo objetivo fundamental es asegurar que la leche se produzca por animales sanos, en condiciones aceptables y en sintonía con el entorno medioambiental. Vamos a actuar como implantadores del sistema y como certificadores del cumplimiento de esa implantación.

Trabajo de campo en CL y CM:

1- Visitas de diagnóstico y de seguimiento:

• Se realiza durante el ordeño, en ella se observa con detalle todas y cada una de las tareas que se realizan durante el ordeño como son: manejo de los animales, limpieza de los animales, limpieza y desinfección de pezones, colocación de unidades de ordeño, sobreordeño, retirada de unidades, aplicación de baños de pezones. A su vez se realiza una evaluación de la condición de los pezones, se chequea el funcionamiento del equipo de ordeño realizando testajes dinámicos. También se revisan los flujos de leche durante el ordeño (flujo máximo y medio), así como el tiempo medio de ordeño por vaca. Se recogen muestras de animales con un recuento celular elevado o positivos al CMT, con mastitis clínica.

• Recogida de una muestra general del tanque para aislamiento e identificación de gérmenes.

• Se evalúa el nivel de confort de los animales viendo las instalaciones. Se discuten todos y cada uno de los aspectos que influyen en el confort y por tanto en la producción lechera y en la calidad de la leche. Hay que hacer especial hincapié en el agua de consumo y en la limpieza de los animales.

2- Elaboración de una encuesta epidemiológica que registre todos los datos relevantes sobre el manejo de la granja que influyan en la calidad de la leche. Elaboración de fichas, de tratamiento, evaluación de

limpieza, etc.

3- Elaboración de un informe detallado para el productor de la actuación realizada, en el cual se establecen objetivos a corto y largo plazo planteando soluciones a todos y cada uno de los problemas observados. Se entrega al productor discutiendo el contenido.

4- Visitas de intervención: ante una problemática clínica concreta, previa demanda del ganadero.

5- Establecimiento de un sistema de registro de mamitis clínica. Consiste en una ficha en la que el productor registrará todos y cada uno de los casos de mamitis clínica aparecidos en el último mes. Se puede implementar con la recogida de muestras de estos casos de mamitis con el fin de evaluar la epidemiología.

6- Revisión del equipo de ordeño. Se presta especial atención a la influencia de la máquina de ordeño en la CL. Se hacen testajes dinámicos del equipo durante el ordeño y se comprueba así la influencia de la máquina en el estado de los pezones, se comprueba el estado de los componentes, etc. Se hacen testajes estáticos anuales, con especial atención al cumplimiento de la Norma UNE 68-048:1998 correspondiente con la Norma Internacional ISO 3918:1996, UNE 68-050:1998 correspondiente con la Norma ISO 5707:1996. Para los testajes tanto estático como dinámico se seguirán los *Procedimientos para la evaluación de niveles de vacío y flujo de aire en los sistemas de ordeño* del National Mastitis Council, así como la Norma UNE 68-061:1998 correspondiente con la Norma ISO 6690:1996.

7- Controles epidemiológicos. Mensualmente mediante el uso del Control Lechero se evalúa la situación de cada explotación en lo que al Control de Mamitis y Calidad de Leche se refiere.

8- Seguimiento. Se deben recoger con regularidad los resultados de los análisis de pago por calidad de cada explotación para evaluar la eficacia del Programa.

9- Formación. El equipo técnico debe implantar cursos de formación para los productores.

Servicio de diagnóstico laboratorial

El diagnóstico laboratorial es imprescindible en el CM y CL. Es de gran importancia el rápido procesamiento de las muestras y por ello el contar con un laboratorio de diagnóstico especializado en CM y CL. Es demostrado el avance en la mejora de la calidad cuando se cuenta con un laboratorio rápido y seguro.

Hay que plantearse es porqué y por quien son requeridos nuestros y en función de esto la plataforma de clientes es:

• Lógicamente los primeros interesados en solicitar un servicio de este tipo son los productores a nivel particular.

• Agrupaciones de ganaderos que se acogen normalmente a un PMCL, aquí podemos llevar a cabo tanto la gestión como la ejecución del PMCL.

• Por otro lado está la industria, la cual se acoge a PMCL o a nivel particular cual le interesa que el producto que compra sea de la mejor calidad posible en origen para que el producto procesado sea a su vez de máxima calidad.

• Empresas privadas que requieren nuestro asesoramiento para sus propios clientes.

La fidelización de los clientes pasa por que éstos vean la importancia de nuestro trabajo ya no solo como entes indispensables para recibir una subvención, tiene que existir beneficios para todos.

Conclusiones

El ganadero necesita un servicio de asesoramiento en CM y CL, las razones fundamentales por las que el ganadero debe integrarse en estos programas de asesoramiento son, por un lado aumentar la

producción y por otro el hecho de vender a la industria un producto de óptima calidad y por ello debe estar convencido de la utilidad de los objetivos que se van a plantear en dicho programa. Por otro lado la industria debe incentivar cuantiosamente al ganadero valorando el esfuerzo de éste para conseguir estos objetivos mucho más a gusto trabajará este ganadero. El favor que se hacen es mutuo, por un lado el ganadero ofrece un producto de calidad y espera que se le pague lo mejor posible y por otro la industria va a comprar una materia prima de la máxima calidad que lógicamente debe pagarla a un mayor precio puesto que la rentabilidad también va a ser mayor.

Por la experiencia en otros países y en muchas zonas de España donde se recoge leche de calidad es la industria lechera la que tiene la llave para que la CL mejore y debe dar el primer paso, esto pasa por el pago de incentivos a los productores. Esto consiste en que existan realmente diferencias de precios significativas entre los productores dependiendo de la Calidad Higiénica (contenido en células y bacterias) y de la Calidad Físico- Química (grasa y proteína). Lo lógico sería pensar que son los productores con su profesionalidad los que deberían obtener una leche de buena calidad, esto significaría que la prevención aumenta y como consecuencia la rentabilidad. En el mundo real y en la mayoría de los casos es cuando existen primas cuantiosas, cuando se sobrepasan límites legales o ante la amenaza de que dejen de recoger la leche cuando el ganadero reacciona.

Cuando los precios base son elevados (hecho siempre deseable) y cuando las primas por calidad higiénica son bajas o nulas lo que más va a interesar es producir cantidad de leche aunque esta no sea de calidad y el productor va a basar sus esfuerzos en esto. Se va a esforzar en producir mucha leche con tal de que esta esté por debajo del límite. Es el pago diferencial por contenido en células y bacterias y por "proteína verdadera" el primer paso para la producción de leche de calidad, esto diferenciará a los buenos y malos productores. En el caso que la leche que sobrepase los límites máximos habría que estudiar cada caso y ver realmente si el productor está poniendo los medios necesarios para solucionar los problemas y no solamente aprovechar estos límites para descontar dinero del precio de la leche. Hay que ser realistas, si la ley no se cumple habrá que cambiarla pero francamente creo que la mayoría de las explotaciones lecheras podría producir leche de calidad poniendo medios para ello.

Hoy día el nivel de conocimientos técnicos para producir leche en las mejores condiciones es muy alto, podríamos decir que a nivel de trabajo de campo tenemos suficientes conocimientos como para estar en vanguardia a nivel mundial. Han influido mucho en ello los PMCL, los cuales han impulsado un nuevo campo en la profesión veterinaria y ha apostado y lo seguirá haciendo por el asesoramiento especializado como único medio para conseguir los objetivos, que en definitiva es la producción de leche de calidad cumpliendo con la nueva filosofía comunitaria de la producción láctea.