XIII CONGRESO INTERNACIONAL ANEMBE DE MEDICINA BOVINA SALAMANCA

del 7 al 10 de mayo de 2008

A la cabeza del conocimiento
conectando tradición y futuro





XIII CONGRESO INTERNACIONAL
ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

SALAMANCA del 7 al 10 de mayo de 2008

A la cabeza del conocimiento conectando tradición y futuro

Índice

9 *Currículums*

Ponencias

31 **EFICIENCIA DE UTILIZACIÓN DE LA PROTEÍNA EN EL BOVINO LECHERO**
A. Bach

45 **CNS Disorders in Calves**
W. Klee

51 **Estrategias de MANEJO DE LOTES de VACAS Durante el Perĺodo de Transición**
Alfonso Lago, LV

59 **Neonatal calf diarrhea (NCD) and related disorders**
Lorenz I., Klee W.

67 **ACIDOSIS RUMINAL Y TIMPANISMO: ¿QUÉ SABEMOS REALMENTE?**
Maria Devant

93 **Feed Additives: Which, When, and Why**
Michael F. Hutjens

103 **Neonatal Intensive Care of the Calf**
Reny Lothrop

111 **FEEDING STRATEGIES WITH HIGH FEED COSTS**
Michael F. Hutjens

117 **New diagnostic tools for helminth infections in cattle**
Jozef Vercruysse & Johannes Charlier

119 **Perspectivas de futuro en el sector vacuno de carne**
Javier López López

127 **SITUACIÓN Y PERSPECTIVAS DE LOS MERCADOS INTERNACIONALES DE LECHE Y GRANOS Y SU INFLUENCIA EN LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE**
Alejandro Galetto

145 **What is improved dairy cattle reproductive performance worth?**
Albert De Vries

155 **Management of Hepatic lipidosis in Dairy cows**
PJ Rehage, A Starke, M Heppelmann, H Meier, M Höltershinken

159 **Coccidiosis in Cattle, Current Understanding**
Pierre Veys

165 **Optimal culling and breeding decisions for individual dairy cows**
Albert De Vries

177 **Comparison of different surgical approaches in the treatment of Abomasal displacement in Dairy cows**
PJ Rehage, A Starke, M Heppelmann, H Meier, M Höltershinken

181 **The involvement, diagnosis and control of mycoplasmas in the bovine respiratory disease complex**
Robin Nicholas

187 **OPORTUNIDADES EN EL MANEJO DE LA MAMITIS CLÍNICA**
Alfonso Lago

201 **FALLO REPRODUCTIVO TEMPRANO POR TRICOMONOSIS Y CAMPILOBACTERIOSIS EN VACUNO EXTENSIVO**
L.M. Ortega-Mora y F.J. García Peña

211 **Heifer Mastitis: Prevalence, Risk Factors and Strategies of Control**
S. P. Oliver

229 **PUNTOS SOBRE LOS QUE EL VETERINARIO PUEDE INFLUIR PARA GARANTIZAR LA CALIDAD DE LA CARNE.**
Carlos Sañudo Astiz

255 **Survival rates and risk factors for culling in dairy herds**
Albert De Vries

267 **Public Health and Food Safety Issues Associated with Foodborne Pathogens From the Dairy Farm Environment**
S. P. Oliver

287 **La leche y productos derivados: más allá de sus cualidades nutritivas**
Sergio Calsamiglia

Comunicaciones Libres

299 **Inmunomodulación inducida por Lipoarabinomananos de *Mycobacterium avium subsp. avium* (LAMs) en la respuesta inmune de terneros**
Colavecchia, S.B., Fernández, B., Jolly, A., Fernández, E. y Mundo, SL.

303 **RESOLUCION QUIRURGICA DE UNA HERNIA UMBILICAL RECIDIVADA MEDIANTE LA COLOCACION DE UNA MALLA INTRAABDOMINAL**
Jesús García Collado Joaquín González Rodríguez

307 **EXTIRPACIÓN QUIRÚRGICA DE FIBROPAPILOMAS DE PENE EN SEMENTALES BOVINOS**
Alfonso Urkitza Jorge

311 **EXPLORACIÓN OCULAR Y PRUEBAS COMPLEMENTARIAS.**
Ferrer Mayayo, Luis Miguel; Ramos Antón, Juan José; Cebrián, Yagüe, Luis Miguel y Espada Aguirre, Mónica

315 **Estudio de patógenos zoonóticos en granjas de vacuno lechero de Galicia**
M. J. Vilar, F. J. García-Peña, F. J. Diéguez, I. Domínguez, I. Pérez, M. L. Sanjuán, J. L. Rodríguez-Otero, E. Yus

319 **Monitorización del *status* de infección por el BVDV en rebaños lecheros**
JFrancisco J. Diéguez, Eduardo Yus, María L. Sanjuán, María J. Vilar, Ignacio Arnaiz

323 **VIDEO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RABIA PARALÍTICA BOVINA EN MÉXICO**
Manzano Martínez María Dolores, De Vega García Alfonso, Ramírez Hernández Roberto, Orozco de la Isla Mauricio, Echevarría Mayo Juan Emilio, Vázquez Morón Sonia

327 **METAFILAXIA PARCIAL CON FLORFENICOL BASADA EN LA TEMPERATURA FRENTE AL SINDROME RESPIRATORIO BOVINO (SRB) EN UN SISTEMA DE CEBO ESPAÑOL**
J. V. González Martín, L. Elvira Partida, N. Pérez Villalobos, P. García Jiménez, M. Cerviño López, E. Calvo López- Guerrero, J. M. Gutiérrez y S. Astiz Blanco

331 **PRESENCIA DEL TAPÓN DE QUERATINA EN NOVILLAS 60 DÍAS ANTES DEL PARTO Y SU RELACIÓN CON LAS INFECCIONES INTRAMAMARIAS**
Luis Miguel Jiménez, Raquel Timón, Juan C. Marco

335 **EFECTO DEL CEFALONIUM EN LAS INFECCIONES INTRAMAMARIAS Y EN LA PRODUCCIÓN LÁCTEA EN NOVILLAS NULÍPARAS**
Luis Miguel Jiménez, Raquel Timón, Juan C. Marco

339 **El efecto de una inyección de closantel/ivermectina en el crecimiento y desarrollo reproductivo de la *Fasciola hepatica* inmadura en bovinos**
R.E.B. Hanna, L. Cromie, S.M. Taylor, A. Couper

343 **Descripción de un brote de besnoitiosis bovina en el Sistema Central**
Fernández-García A., Morales A., Pereda J. M., Aguado-Martínez A., Marcén J. M., Rojo-Montejo, S., Risco-Castillo V., Alvarez-García G., Ortega-Mora L. M.

347 **EFICACIA CLINICA DEL DICLAZURIL FRENTE A LA COCCIDIOSIS EN TERNEROS LACTANTES**
Salichs Florensa, Marta DVM – Llena, Jaime DVM – Arias Vázquez, Marisol DVM – Homedes Beguer, Josep DVM, MS, PhD.

351 **Caracterización etiológica de las mastitis bovinas en España y diferencias en la distribución de los patógenos mamarios en función de la presentación clínica o subclínica.**
Esnal, A.; Marco, J.C.; Escobal, I; Extramiana, A.B.; Elorriaga, M.

357 **UTILIZACIÓN DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) EN EL DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS EN BOVINOS DE LA SABANA DE BOGOTÁ COLOMBIA**
Hernández-Rodríguez Patricia M.Sc; Quintero Gladys M.Sc; Díaz César M.Sc; Dalmau Ernesto M.Sc.

363 **EVALUACIÓN DE LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN EN SEMEN BOVINO CONGELADO**
Posado, R.; Hernández, M.; García, J.; Bartolomé, D.; Olmedo, S.; Rodríguez, L., López-Fernández, C.; Gosálvez, J.

367 **EFECTO DEL EMPLEO DE REMOLQUE MEZCLADOR EN LA FINALIZACIÓN DEL TORO DE LIDIA SOBRE DIVERSOS PARAMETROS INDICADORES DE SALUD RUMINAL**
Bartolomé, D.J.; García, J.J.; Posado, R.; Alonso, M.E.; Gómez, L.; Olmedo, S.; Rodríguez, L.; Gaudioso, V.

371 **Riesgo sanitario asociado a los purines de vacuno de leche. Influencia de la mezcla con deyecciones de novillas y terneras.**
Patricia Santorum, Raquel García, Benito Fernández

375 **DETERMINACIÓN DE LA NATREMIA EN VACAS DE APTITUD LÁCTEA EN EL MOMENTO DE SU INSEMINACIÓN ARTIFICIAL: RESPUESTA REPRODUCTIVA OBSERVADA**
Sierra Toral, Ana y Rodríguez Lago, José Manuel



XIII CONGRESO INTERNACIONAL
ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

SALAMANCA del 7 al 10 de mayo de 2008

A la cabeza del conocimiento conectando tradición y futuro

Currículums



DR. ALEX BACH

El Dr. Bach ha participado como ponente en más de 50 ocasiones en distintos congresos, es autor o coautor de más de 40 publicaciones científicas, y más de 40 publicaciones de divulgación. Ha participado en la elaboración de 2 libros sobre nutrición de rumiantes, uno sobre la calidad de la soja, 2 sobre el bienestar del vacuno lechero, y uno sobre la recría del vacuno lechero.

Como reconocimiento a su actividad investigadora, Àlex Bach recibió el 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 Agroalimentàries) dedicada al estudio de los sistemas de producción de los rumiantes (nutrición, manejo, gestión...) y es Profesor de Investigación de ICREA (Institut Català de Recerca i Estudis Avançats), una institución integrada por investigadores de alto prestigio a nivel internacional cuya misión es estimular la investigación en Cataluña.



D. RAMIRO CASIMIRO ELENA

Licenciado de Grado en Veterinaria por la Universidad Complutense de Madrid en el año 1.985.
Funcionario de la Administración General del Estado, perteneciente al Cuerpo Nacional Veterinario, desde 1986.
Actualmente Jefe del Servicio de Ordenación Farmacéutica en la Subdirección General de Medicamentos de Uso Veterinario de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.
Puestos desempeñados:
Asesor Técnico de la Jefatura Provincial del SENPA de A Coruña de 1987 a 1988.
Asesor Técnico de la Dirección General del SENPA de 1988 a 1991.
Jefe de Sección de Inspección y Control de Entidades Elaboradoras de Medicamentos Veterinarios, Subdirección General de Sanidad Animal – MAPA – de 1991 a 1995.
Jefe de Servicio de Medicamentos Veterinarios y Otros Productos Zoosanitarios, Subdirección General de Sanidad Animal – MAPA – de 1995 a 1999.
Jefe de Servicio de Medicamentos Veterinarios en la Agencia Española del Medicamento de 1999 a 2002.
Jefe de Servicio de Ordenación Farmacéutica en la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios desde 2002.

Pertenencia a:

- De 1991 a 1995 experto en la Comisión Asesora de Productos Zoosanitarios.
- De 1995 a 1999 vocal de la Comisión Nacional de Evaluación de Medicamentos Veterinarios.
- De 1991 a 1995 miembro del Comité Permanente de Medicamentos Veterinarios de la Comisión Europea.
- De 1991 a 1995 miembro del Grupo de Trabajo de Eficacia.
- De 1991 a 1995 miembro del Grupo de Trabajo de Farmacovigilancia Veterinaria.
- De 1991 a 1995 miembro del Grupo de Trabajo Operacional.
- De 1991 a 1995 miembro del Grupo de Trabajo del Notice to Applicants.
- De 1991 a 1995 miembro del Grupo de Trabajo de Distribución de Medicamentos Veterinarios.
- De 1991 a 1999 miembro del Comité Regulador o de Standing Committee de la Comisión Europea.
- De 1995 a 1999 miembro del Comité Farmacéutico Veterinario.
- Desde 1995 formo parte del Panel de expertos de la EMEA en las áreas de Inspección de Laboratorios y de Evaluación en las áreas de preclínica, clínica y Farmacovigilancia.
- Desde mayo de 1999 soy el responsable de la Farmacovigilancia Veterinaria, Comercio Exterior y Defectos de Calidad de Medicamentos Veterinarios, participando en el grupo de trabajo de la EMEA sobre Farmacovigilancia Veterinaria.



DR. SERGIO CALSAMIGLIA BANCAFORT

Licenciado en Veterinaria (UAB, 1987)
Master en Animal Science (Universidad de Minnesota, EEUU, 1991)
Doctor en Animal Science (Universidad de Minnesota, EEUU, 1994)
Profesor de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona (1996-presente)
Director de la División de Producción de la American Dairy Science Association (2004-2007)
Editor de la sección de Nutrición del Journal of Dairy Science (2007-2010)



DR. ALBERT DE VRIES

DATOS PERSONALES

Nombre: PhD, Prof. Asoc. Albert DE VRIES
Nacionalidad: Estados Unidos
Dirección: Department of Animal Sciences, University of Florida. L.E. «Red» Larson Dairy Science Building. Shealy Drive, Bldg. 499, Rm. 104F, Gainesville, FL 32608. PO Box 110910, Gainesville, FL 32611-0910
Teléfono: (352) 505 8081
Fax: (352) 392 5595
E-mail: devries@ufl.de
Web: http://www.animal.ufl.edu/devries http://dairy.ifas.ufl.edu

FORMACIÓN ACADÉMICA

2001: Doctor en Medicina Veterinaria, especialidad en Ciencias Animales, por la Universidad de Minnesota (St. Paul, Minnesota, EEUU)
1991: Licenciado en Ciencias Animales por la Universidad de Wageningen (Holanda)
1989: Diplomado en Ciencias Animales por la Universidad de Wageningen (Holanda)

EXPERIENCIA LABORAL

Desde 2007: Profesor Asociado en la Universidad de Florida
2001 – 2007: Profesor Asistente en la Universidad de Florida
2000 – 2001: Empleado público en la Universidad de Minnesota
1995 – 2000: Asistente de Investigación en la Universidad de Minnesota
1994 – 1995: Asociado en plantilla en el Centro Telemático de Agricultura (Holanda)
1993-1994: Asociado de Investigación en la Universidad de Wageningen (Holanda)
1992 – 1993: Asociado en plantilla en el Centro Telemático de Agricultura (Holanda)
1991-1992: Recluta en la Real Armada Holandesa

MARIA DEVANT

Doctorada en Producción Animal por la UAB en el año 2001, el trabajo de investigación se centró en la optimización de la alimentación de vacuno de cebo.
Del 2001 al 2003 responsable del Departamento de Desarrollo y Evaluación de productos de la empresa Rotecna, empresa especializada en equipamiento porcino, daba soporte al departamento técnico y al departamento comercial
Desde 2003 investigadora de la unidad de Rumiantes del IRTA, la principal área de investigación es el ternero de cebo, estudia aspectos relacionados con la nutrición y manejo y su efecto sobre la calidad del producto final. El principal objetivo de la su investigación es mejorar el rendimiento económico y la competitividad de las explotaciones a través de la innovación tecnológica.
Participa también en la investigación de terneras de reposición y vacas lecheras que se lleva a cabo en la Unidad de Rumiantes. Tiene más de 20 publicaciones científicas y de divulgación, y fue premio joven investigador de FEDNA.

DR. ALEJANDRO GALETTO

Ingeniero Agrónomo (Universidad Nacional del Litoral, Argentina, 1980)
PhD Agricultural Economics (University of Nebraska-Lincoln, USA, 1989)

Actividades laborales:
1980-1983: Centro de Mejoramiento de la Producción Lechera, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional del Litoral.
1983-1998: Economista agrícola, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).
1998-2008: Coordinador de la Junta Intercooperativa de Productores de Leche y asesor de Política Lechera y Relaciones Institucionales en SanCor Coop. Unidas Ltda.

Además:
Docente de grado y posgrado en temas de administración rural y agronegocios.
Consultorías y asesoramientos en diferentes países de América Latina.





DR. MIKE HUTJENS

DATOS PERSONALES
Nombre: PhD., Prof. Uni. Mike HUTJENS
Nacionalidad: Estados Unidos

FORMACIÓN ACADÉMICA
1967: Diplomado en Medicina Veterinaria por la Universidad de Wisconsin
Licenciado por la Universidad de Wisconsin (estudio de detección de mastitis en Wisconsin)
1971: Doctorado en Ciencias del Vacuno Lechero y Ciencias de la Nutrición con especialización secundaria en bioquímica por la Universidad de Wisconsin, Madison
MIEMBRO Y FUNCIONES EN ORGANIZACIONES CIENTÍFICAS NACIONALES E INTERNACIONALES.
Presidente de la Asociación Americana de vacuno Lechero, de 2004 a 2005
Miembro del Comité Director de la Federación de Sociedades de Ciencias Animales (FASS) de 2004 a 2006
Ha recibido numerosas becas y cientos de reconocimientos a su labor profesional

PUBLICACIONES
Editor de la Base de Datos Nacional de Vacuno Lechero y de la Información del Vacuno de Leche en Illinois.
Anualmente, imparte alrededor de 90 a 100 conferencias en Illinois y los estados del Medio Oeste
Ha impartido conferencias en todo el mundo.
Escribe en el "Hoard's Dairyman", "Dairy Today", "Dairy Japan", "Western Canadian Dairy Magazine", "Wisconsin Agri-View" y "Dairy Herd Management".
Es autor de 19 artículos técnico, 450 artículos de impresión, 3 programas de ordenador, 4 cintas de vídeo y numerosas colecciones de diapositivas.
En 1989 fue coautor del libro titulado "Principles of Dairy Science" del Dr. Smith de Ohio y
Van Veelk de Cornell

EXPERIENCIA LABORAL
Trabajó dos veranos como joven asistente de la 4-H en los condados de Price y Marinette (Wisconsin)
En 1978 participó en la Expo Mundial del Vacuno Lechero, donde impartió dos cursos de juez y participó como director del equipo que ganó en la misma.
1971-1979: Especialidad en extensión agraria en la Universidad de Minnesota
Desde 1979, trabaja en los Departamentos de Ciencias Animaleo.s y Vacuno Lechero de la Universidad de Illinois, como especialista en extensión agraria.
Editor de la Base Nacional Agraria de Datos Lecheros y del Informe Lechero de Illinois



DR. WOLFGANG KLEE

DATOS PERSONALES
Nombre: Prof., Dipl ECBHM Wolfgang KLEE
Nacionalidad: Alemania
Dirección: Clinic for Ruminants Sonnenstr. 16. D-85764 Oberschleissheim. Deutchland
E-mail: Klee@lmu.de

FORMACIÓN ACADÉMICA
Doctor en Medicina Veterinaria, por la Fac. de Veterinaria de la Universidad de Munich
Diplomado por el Colegio Europeo de Veterinarios Especialistas en Bovino (ECBHM)

EXPERIENCIA LABORAL
Profesor de Medicina y Cirugía de Rumiantes en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Munich.
Director de la Clínica del Departamento de Rumiantes.



D. ALFONSO LAGO

FORMACIÓN ACADÉMICA
Doctor en Veterinaria - Epidemiología Concluirá en 2009
Universidad de Minnesota, EE.UU.
Especialidad en Medicina de la Producción de Vacas Lecheras Jun 2005
Universidad de Wisconsin, EE.UU.
Licenciatura en Veterinaria Jul 1998
Universidad de Santiago de Compostela, Lugo, España

ACTIVIDAD DOCENTE
Instructor Jul 2005 - Actualidad
Facultad de Veterinaria, Universidad de Minnesota, EE.UU.
Residente Sep 2002 - Jun 2005
Facultad de Veterinaria, Universidad de Wisconsin, EE.UU.

ACTIVIDAD PROFESIONAL
Consultoría Sep 2002 - Actualidad
Universidad de Wiscosnsin, EE.UU.
Universidad de Minnesota, EE.UU.
Clínica Privada Nov 1998 - Jun 2002
Valley Veterinarians Inc., Tulare, California
Centro Veterinario C.B., Ribadeo, España

INVESTIGACIÓN
Universidad de Minnesota Jul 2005 - Actualidad
Estudios clínicos de campo en rebaños de Minnesota y Wisconsin en EE.UU., y Ontario en Canadá:
Evaluación de la eficacia y la relación costo-beneficio de implementar sistemas de cultivo de leche en granja para el tratamiento selectivo de la mamitis clínica en vacas lecheras.
Evaluación de la eficacia y la relación costo-beneficio de usar pruebas para la detección y diagnóstico de mamitis subclínica en vacas después del parto.

Universidad de Wisconsin Sep 2002 - Jun 2005
Los proyectos de investigación incluyeron:
Estudio de campo evaluando la relación entre la prevalencia del síndrome respiratorio en terneras de recría y calidad del aire, estableciendo asociaciones entre los alojamientos, concentración bacteriana en el aire, y enfermedad respiratoria.
Evaluación del uso del recuento de células somáticas como una herramienta en la toma de decisiones para tratar la mamitis clínica, y para evaluar la curación de la mamitis.
Análisis de datos recogidos en investigaciones de problemas de rebaño en las áreas de manejo, nutrición, mamitis y recría.

PUBLICACIONES
Es autor de más de 25 publicaciones científicas incluyendo publicaciones arbitradas, artículos de divulgación y ponencias.



DR. JAVIER LOPEZ LOPEZ

NOMBRE: Francisco Javier López López.
FECHA DE NACIMIENTO: 13 de Diciembre de 1.962.
DOMICILIO: C/ Enrique Larreta, 10 - 5º F, 28036 MADRID

ESTUDIOS

Doctor Ingeniero Agrónomo, Escuela Técnica Superior Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica, Madrid.
3er Curso de Ciencias Empresariales (U.N.E.D.).

OTROS MERITOS

Nombramiento de Caballero de la Orden del Merito Agrícola francés, (julio 2006)
Experto del Grupo de Previsiones de Carne de Vacuno de la Comisión Europea 2002-2007
Experto participante en la elaboración del Libro Blanco "Subproductos de origen animal no destinados a consumo humano"

EXPERIENCIA LABORAL

Ingresa en **NANTA** en Octubre de 1987 y comienza a dirigir su Estación Experimental en Septiembre de 1988, pasando a la plantilla de **TROUW IBÉRICA** en Enero de 1990.
A partir de Diciembre de 1992, se integra en el Departamento Técnico - Comercial, desarrollando el Servicio de **Tecnología**.
Desde Abril de 1995 hasta Marzo de 1996 realiza la parte experimental de sus estudios de doctorado, contratado por la Universidad Politécnica de Madrid, en la explotación cunícola "**El Señorío de Molina**", situada en Molina de Aragón -Guadalajara- (Más de 30.000 madres reproductoras).
En Mayo de 1997 se incorpora a la empresa Micro Bacter S.L. participando en el desarrollo de un proyecto medio ambiental denominado "Desarrollo de una planta piloto de producción de bacterias fijadoras de Nitrógeno", financiado parcialmente por la CEE dentro del marco de los programas LIFE.
En marzo de 1998 se integra en ASOVAC (Asociación Española de Criadores de Vacuno de Carne), como Director Técnico, siendo nombrado Gerente de la misma en enero de 2002.
Actualmente es el Director Gerente de la Asociación Española de Productores de vacuno de carne, ASOPROVAC, organización profesional más representativa del sector productor de carne de vacuno española, copando un 85% de la producción del país y con más de 3.000 asociados en todo el territorio nacional.

CURSOS

Ha asistido a más de 20 cursos sobre distintas materias

CURSOS Y SEMINARIOS IMPARTIDOS

Ponente en el "I Seminario Ancares vacún de carne"
Organizado por el Ilustre Colegio de Veterinarios de Lugo. (Octubre 2004)
Ponente en el curso de postgrado sobre "Valoración de explotaciones en ganado vacuno de carne (1,5 ECTS y código F.52.0250.04), Universidad Politécnica de Madrid (septiembre de 2007)
En el ámbito de la actual actividad profesional y desde el año 1998, numerosas jornadas técnicas relacionadas con el sector vacuno de carne, siendo tanto organizador como ponente

TRABAJOS PUBLICADOS

Ha publicado más de 20 trabajos.



DR. RENY LOTHROP

Nombre: PhD. Reny LOTHROP
Nacionalidad: Canadá
Dirección: RR # 3, 772 Glen Morris Rd. Ayr, Ontario, Canadá
Telefono: 1-519-242-7540
Fax: 1-519-632-1196
E-mail: lothrop@sympatico.ca

FORMACIÓN ACADÉMICA

1966: Doctor en Medicina Veterinaria, por la Fac. de Veterinaria de la Universidad de Guelph (Ontario, Canadá)
1992: Diplomado en Manejo del Vacuno Lechero, por la Fac. de Veterinaria de la Universidad de Guelph (Ontario, Canadá)

MIEMBRO Y FUNCIONES EN ORGANIZACIONES CIENTÍFICAS NACIONALES E INTERNACIONALES.
2001-2007: Director de la Asociación Americana de Veterinarios de Bovino (AABP)
Hasta 2005: Presidente de la Asociación de Veterinarios de Bovino de Ontario (OABP)

PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS CIENTÍFICOS
Ha participado en proyectos de investigación en colaboración con la Agencia Internacional para el Desarrollo en Canadá y con entidades varias en diferentes países.

EXPERIENCIA LABORAL

Trabaja como veterinario en una clínica mixta que lleva tanto animales de producción como pequeños animales. Sin embargo, su práctica diaria se restringe únicamente al sector del ganado vacuno. Sutrabajo va enfocado a dar servicio a las explotaciones de vacuno lechero, principalmente en lo referido a la sanidad animal. Alrededor de la mitad de su actividad laboral va integrada en la producción de terneros. También dentro de su trabajo figuran los acompañamientos de ganado vacuno exportados por mar a otros países, incluído España.



ROBIN NICHOLAS MIBiol PhD MSc FRCPath

Dr Robin Nicholas ha tenido una larga y variada carrera en la Agencia de Laboratorios Veterinarios (Weybridge). Los últimos 15 años ha sido el líder del Grupo de Mycoplasma en el Departamento Legal de Enfermedades Bacterianas exóticas el cual se ha expandido de ser el único miembro a ser un grupo de 12 investigadores y estudiantes de doctorado que trabajan en la investigación y la vigilancia sobre muchos aspectos del micoplasma animal. El Grupo es actualmente un centro de referencia de la OIE para los pequeños rumiantes. Como las principales enfermedades como el micoplasma contagiosa bovina y caprina y la pleuroneumonía contagiosa son exóticas para el Reino Unido, ha viajado mucho al Mediterráneo, en particular altalia, donde mantiene estrechas relaciones con los institutos de veterinaria en Palermo, Teramo y Roma , Y la facultad de veterinaria en Gran Canaria. Él ha proporcionado consultoría sobre mycoplasmoses rumiantes en el Reino Unido y otros gobiernos nacionales, organismos internacionales como la FAO, la OIE y la UE y llevado a cabo misiones técnicas a África, Oriente Medio y Asia. Es miembro de la FAO y de la UE de grupos de expertos sobre la perineumonía contagiosa bovina. También ha aumentado el perfil de la investigación de enfermedades endémicas de las especies ovina y neumonía en Europa. Él ha disertado ampliamente y escrito varios libros incluyendo Mycoplasma Protocolos (1998) y más de 100 ponencias revisadas por pares, capítulos de libros y artículos en el campo para el que fue elegido Miembro del Real Colegio de patólogos por sus obras publicadas en 2006.



DR. STEVE OLIVER

DATOS PERSONALES
Nombre: PhD, Prof. Uni. Steve OLIVER
Nacionalidad: Estados Unidos

FORMACIÓN ACADÉMICA
1980: Doctor en Vacuno Lechero (en Fisiología de la Lactación) por la Universidad de Ohio
1978: Licenciado por la Universidad de Ohio
1976: Diplomado en Ciencias Animales por la Universidad de Carolina del Norte

EXPERIENCIA LABORAL
Profesor en el Departamento de Ciencias Animales de la Universidad de Tennessee (Knoxville)
Director del Laboratorio de Calidad de Leche de Tennesse
Co- director del Centro de Excelencia de Seguridad Alimentaría de la Universidad de Tennesse (Knoxville)

FUNCIONES PRINCIPALES
Investigación de la fisiología, inmunología y microbiología de la glándula mamaria con énfasis en el desarrollo de propuestas para la prevención y control de la mamitis en el vacuno lechero.
Desarrollo y evaluación de estrategias de control en patógenos alimentarios en animales de producción.

MIEMBRO DE ORGANIZACIONES Y COMITÉS CIENTÍFICOS DE INVESTIGACIÓN
Redactor jefe de "Foodborne Pathogens & Disease",
Miembro del Comité Asesor Científico en Tecnología de la Nanodetección
2006-2008: Experto externo del Comité Científico de la Red Canadiense de Investigaciones en Mastitis Bovina

OTROS LOGROS
2006: Premio Pfizer en Fisiología de la Salud Animal de la Asociación Americana de Vacuno Lechero
2003: Premio de la FDA como miembro de la
2002: Premio Land O'Lakes, Inc. de la Asociación Americana de Vacuno Lechero
1998: Premio MerckMerial AgVet al Manejo Lechero Dairy Amnagement Research de la Asociación Americana de Vacuno Lechero
1992: Premio West Agro, Inc. de la Asociación Americana de Vacuno Lechero
1989: Premio Agway Inc. Al joven investigador de la Asociación Americana de Vacuno Lechero



DR. LUIS MIGUEL ORTEGA MORA

Luis Miguel Ortega Mora es Catedrático en el Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Madrid y coordinador del grupo de investigación Complutense SALUVET (Salud Veterinaria y Zoonosis) del que forman parte 25 investigadores de distintos centros. Se licenció en Veterinaria por la UCM, obteniendo el premio extraordinario de Licenciatura y se doctoró por dicha Universidad en 1991. Ha desempeñado su labor profesional, entre otros centros, en la Facultad de Veterinaria de León, en el Moredun Research Institute (Escocia, Reino Unido) y en la New York State University (Facultad de Medicina, campus de Stony Brook). Como docente imparte clases en las asignaturas de Parasitología y Enfermedades parasitarias y Medicina Preventiva y Policía Sanitaria y en diversos cursos de postgrado. En el campo investigador sus estudios se centran en el ámbito de las enfermedades de la reproducción y digestivas de los rumiantes habiéndo dirigido numerosos proyectos de investigación internacionales (V y VI Programa Marco de la UE, programas COST) y nacionales (Proyectos del Plan Nacional). Así mismo, realiza una intensa colaboración en I+D con diversas empresas farmacéuticas. Ha publicado más de 130 artículos de investigación y de divulgación y es co-autor de 6 patentes. Es y ha sido representante del Estado español en diversos comités europeos y es miembro “de facto” del Colegio Europeo de Parasitología Veterinaria.



JUERGEN REHAGE

DATOS PERSONALES
Nombre: Dipl. ECBHM, PhD, Prof. Univ. Juergen REHAGE
Nacionalidad: Alemania

FORMACIÓN ACADÉMICA
1985: Licenciado en Veterinaria por la Universidad de Hannover
1991: Título de Veterinario Especialista de Vacuno
1996: Doctor en Veterinaria (PhD)
1996: Título de Veterinario Especialista en Diagnóstico Laboratorial
2003: Diplomado por el Colegio Europeo de Medicina Bovina (ECBHM)

EXPERIENCIA LABORAL
Desde 1999: Profesor asociado de clínica de vacuno de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Hannover, Alemania
1998-1999: Postdoctorado en el Departamento de Ciencias Animales de la Universidad de Illinois (Urbana_Champaign, IL, EEUU)
1987-1997: Profesor ayudante en la clínica de vacuno de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Hannover, Alemania



DR. CARLOS SAÑUDO ASTIZ

Catedrático de Universidad en el Area de Producción Animal, profesor funcionario de carrera desde 1982.
Doctor PhD en Veterinaria en 1980.
Master in Animal Science (FAO-CIHEAM) y Master en Reproducción animal(CSIC).
Coordinador del Grupo Consolidado de Aragón, con 28 investigadores: Calidad de la Carne y Productos Cárnicos.

Becario del Plan de Formación de Personal Investigador durante el periodo 1977-1981, becario del MEC (INRA-Theix) en 1989, becario del Gobierno de Aragón (INRA-Theix) 1991, becario del MEC (University of Bristol) 1994-1995 y becario de la AECI en diversas ocasiones en Argentina.

Desde 1977 ha trabajado en calidad del producto con más de 80 trabajos publicados en revistas como: Meat Science, Animal Science, Livestock Production, Australian Journal of Agricultural Research, Journal of Sensory Studies, Journal of Muscle Foods, Información Técnica Agrícola, Archivos de Zootecnia, Animal Husbandry of Japan, o el Veterinary Record, y más de 200 participaciones en congresos nacionales e internacionales (ponencias y comunicaciones).

Ha participado como investigador o coordinado numerosos proyectos, tanto locales como nacionales (CICYT, INIA, DGA, PETRI) e internacionales (AECI, UE), relacionados con la calidad de la canal y de la carne en diversas especies ganaderas, principalmente en rumiantes..



DR. JOZEF VERCRUYSSE

DATOS PERSONALES
Nombre: PhD, Prof. Uni. Jozef VERCRUYSSE
Nacionalidad: Bélgica

FORMACIÓN ACADÉMICA Y PROFESIONAL
Desde 2007:
Director de la Escuela de Ciencias Biológicas y Medicina de la Universidad de Ghent
Doctor en Veterinaria en Enfermedades Parasitarias: experto en identificación de parásitos en animales de producción, epidemiología de las enfermedades parasitarias y medicina tropical veterinaria.
1983: Profesor de Parasitología en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Ghent (Bélgica)

INVESTIGACIÓN
Epidemiología y control de los nematodos gastrointestinales en vacuno, ovino y equino
Inmunopatología y diagnóstico de los nematodos gastrointestinales en vacuno
Vacunación contra *Ostertagia*
Epidemiología de la Schistosomosis en animales
Resistencia a antihelmínticos
Scabiosis en suidos
Producción de vacuno en los trópicos
Epidemiología de la esquistosomiasis humana
Director de 24 tesis doctorales
Director del Departamento de Virología, Parasitología e Inmunología, que cuenta con 51 estudiantes realizando su tesis doctoral.

MIEMBRO DE ORGANIZACIONES Y COMITÉS CIENTÍFICOS DE INVESTIGACIÓN
Presidente de la VICH (International Cooperation on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Veterinary Medicinal Products)
Presidente de la Comisión de las Guías de Eficacia de Antihelmínticos
Anterior presidente de la Asociación para el Desarrollo de la Parasitología Veterinaria

PUBLICACIONES
Es autor y coautor de 640 publicaciones y resúmenes científicos
Ha publicado 320 artículos en revistas científicas internacionales revisadas
Es coautor y editor de cinco libros



PIER VEYS

DATOS PERSONALES
Nombre: DVM Pierre VEYS
Nacionalidad: Bélgica

FORMACIÓN ACADÉMICA
1975: Licenciado en Veterinaria (DVM), por la Fac. de Veterinaria de la Universidad de Ghent (Bélgica)
1980: Titulado en bromatología por la Universidad de Ghent (Bélgica)

PARTICIPACIÓN EN PROYECTOS CIENTÍFICOS
Ha colaborado con los parasitólogos más importantes en enfermedades originadas por protozoos en diferenetes universidades europeas.

EXPERIENCIA LABORAL
1980: Empieza su carrera en la industria farmacéutica en Pfizer, donde se especializa en el desarrollo de antibacterianos y antihelmínticos para rumiantes.
1984: Ingresa en Janssen Pharmaceutica, la organización farmacéutica más importante de I + D de la comapñía Johnson & Johson. Comenzó en la división de Salud Animal como Jefe De Desarrollo de Producto para animales de granja
Jugó un papel importante en el desarrollo de varios antiparasitarios y de tecnologías de fármacos, principalmente en vacuno y ovino.
1992: Director de la Unidad de Desarrollo del Producto, para los productos de animales de producción. Entre otros, fue el encargado de desarrollar un compuesto anticoccidios que ha sido comercializado para terneros y corderos.
Durante sus 23 últimos años de carrera en Jannsen, ha sido el responsable de evaluar las oportunidades de desarrollo para su aplicación en medicina veterinaria.
Recientemente, ha decidido convertirse en consultor, para apoyar a la industria veterinaria en el desarrollo de productos animales.



XIII CONGRESO INTERNACIONAL
ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

SALAMANCA del 7 al 10 de mayo de 2008

A la cabeza del conocimiento conectando tradición y futuro

Ponencias



EFICIENCIA DE UTILIZACIÓN DE LA PROTEÍNA EN EL BOVINO LECHERO

A. Bach
1IRTA-Unidad de Rumiantes

Introducción

Los rumiantes utilizan la proteína de la ración con una eficiencia inferior a la de los monogástricos. Esta eficiencia inferior se ha atribuido tradicionalmente a las pérdidas de nitrógeno (**N**) que, supuestamente, ocurren en el rumen. Las vacas, necesitan aminoácidos para sintetizar caseína y otras proteínas, por tanto, si las vacas recibieran la cantidad adecuada de aminoácidos necesaria para suplir sus necesidades, la eficiencia de utilización del N ingerido sería bastante superior.

En rumiantes, la proteína de la ración (**PB**) se ha dividido, tradicionalmente, en proteína degradable (**PDR**) y proteína no degradable (**PND**), en función de si es o no fermentada en el rumen, respectivamente. Por otro lado, la proteína que sale del rumen lo hace en 4 posibles formas: 1) proteína dietaria (en forma de aminoácidos y péptidos), 2) proteína microbiana, 3) proteína endógena, y 4) nitrógeno no proteico (la mayoría, en forma de amoníaco). Si los aportes de PDR exceden los aportes de energía disponible para las bacterias ruminales, entonces, existe el peligro que esa proteína sea convertida en amoníaco, que será absorbido a través de la pared ruminal (y parte en el intestino) y metabolizado a urea por parte del hígado y finalmente eliminado a través de la orina. En cualquier caso, hay que tener presente que no toda la PDR será o bien transformada en proteína microbiana o bien fermentada con una consiguiente producción de amoníaco. Existe una fracción de la PDR que abandonará el rumen en forma de proteína dietaria debido al ritmo de paso. Esta fracción, será mayor cuanto mayor sea el nivel de ingestión del animal, y el ritmo de paso ruminal (Choi et al., 2002).

Uno de los objetivos de cualquier productor lechero debería ser maximizar el margen de beneficio a través de mejorar la conversión de los nutrientes aportados (energía y proteína) a la producción de leche usando herramientas y prácticas que sean aceptables por el consumidor final y con el medio ambiente. La proteína



representa una importante fracción de la ración de la vaca de leche, y por tanto, la optimización de la eficiencia de utilización de ésta debería tener repercusiones económicas importantes.
La eficiencia de utilización de la proteína mejora cuando el perfil de aminoácidos esenciales cubre las necesidades de éstos por parte del animal. El NRC (2001) asume una eficiencia constante (65%) del uso de la proteína absorbida para la síntesis de proteína láctea. Por lo tanto, la única forma aparente de mejorar la eficiencia de utilización de la proteína absorbida sería mediante el aumento de la producción de proteína láctea con el fin de diluir la proporción de proteína usada para el mantenimiento del animal. Sin embargo existe evidencia que esta eficiencia, asumida constante, parece poder variar. Por ejemplo, Dinn et al. (1998) describieron una mejora de la eficiencia de utilización de la proteína de la ración del 26 al 33% al comparar una ración del 18% de PB con una del 15% de PB suplementada con aminoácidos protegidos, respectivamente. La mejora de la eficiencia fue debido a un producción de proteína láctea similar, pero a una meno excreción de nitrógeno en la orina y en las heces con la ración del 15% en comparación con la ración del 18% de PB.
Este artículo revisará los aspectos más importantes del metabolismo del nitrógeno ruminal y post-ruminal, con énfasis en la mejora de la utilización de la proteína por parte del vacuno lechero.

Metabolismo del Nitrógeno a Nivel Ruminal
La degradación de la proteína a nivel ruminal comienza con la adhesión de las bacterias a las partículas de alimento y continua mediante la actividad de las proteasas extracelulares de éstas (Brock et al., 1982). Las proteasas rompen la proteína y producen péptidos y aminoácidos, que podrán ser transportados al interior de la célula bacteriana. Una vez en el interior bacteriano, los péptidos pueden ser degradados mediante peptidasas para producir aminoácidos. Los aminoácidos, hayan sido absorbidos como tal o resultantes de las peptidasas intracelulares, pueden seguir dos rutas metabólicas distintas: 1) incorporados en la síntesis de proteína microbiana, o bien 2) desaminados y fermentados con la consiguiente producción de amoníaco y ácidos grasos volátiles (**AGV**) y CO_2 (Tamminga, 1979). La ruta metabólica que seguirán los aminoácidos (una vez en el interior bacteriano) depende de la disponibilidad de energía (carbohidratos). Si hay energía disponible, los aminoácidos serán incorporados a la proteína microbiana, directamente o mediante transaminaciones. Sin embargo, si la energía limita el crecimiento microbiano, entonces los aminoácidos serán desaminados y sus esqueletos carbonados usados como fuente energética.
La degradación de la proteína a nivel ruminal depende del tipo de proteína, el ritmo de paso ruminal, el pH ruminal, y las interacciones entre nutrientes. La solubilidad de las proteínas, junto el tipo de enlace peptídico (estructura terciaria y cuaternaria) son los factores que más determinan la susceptibilidad de las proteínas a ser degradadas por las proteasas bacterianas extracelulares. El pH ruminal óptimo para la actividad de las proteasas bacterianas oscila entre 5.5 y 7.0 (Kopècy y Wallace, 1983). Aunque la actividad proteolítica de las bacterias amilolíticas suele ser superior a la de las celulolíticas (Siddons y Paradine, 1981; Wallace et al., 1997), la degradación proteica suele ser inferior con raciones altas en carbohidratos, con independencia del pH ruminal alcanzado (Cardozo et al., 2002). Endres y Stern (1993) describieron una reducción de la degradación de la PB y la fibra cuando el pH ruminal descendió de 6.3 a 5.9; sin embargo, la cantidad de bacterias proteolíticas no descendió con el pH, sólo disminuyó (un 50%) la población celulolítica. Esto demuestra la importancia de la interacción que ejercen los distintos nutrientes e ingredientes de una ración sobre la digestión.
Optimización de la Síntesis de Proteína Ruminal
La principal fuente de energía de las bacterias ruminales son los carbohidratos (**CHO**), aunque, en ocasiones las proteínas también puede ser usadas como fuente energética. Por tanto, los CHO rápidamente fermentescibles (carbohidratos no fibrosos (**CNF**) como el almidón o los azúcares) son más eficaces promoviendo el crecimiento microbiano que otros tipos de CHO (como la celulosa, hemicelulosa, etc...). Varios estudios realizadas *in vitro* (Stern et al., 1978; Henning et al., 1991) e *in vivo* (Casper y Schingoethe, 1989; Cameron et al., 1991) han demostrado que la suplementación con CHO fermentescibles disminuye la concentración de amoníaco a nivel ruminal consecuencia de una mejor utilización de la proteína por parte de las bacterias ruminales.
Cuando el ritmo de degradación de la proteína supera al ritmo de degradación de los CHO, las bacterias utilizan la PB como fuente energética y el crecimiento microbiano disminuye sensiblemente (Nocek y Russell,

1988) y se acumula amoníaco en el rumen. Hooever y Stokes (1991) sugirieron que, usando fermentadores de flujo continuo, el crecimiento microbiano máximo se conseguía cuando la relación CNF:PDR era de 2:1. En condiciones prácticas, esto implicaría que con una ración con un 40% de CNF, la cantidad de PDR necesaria para maximizar el crecimiento microbiano debería ser cercana al 20% de la materia seca. Aunque esta relación de CNF:PDR pueda maximizar el crecimiento microbiano *in vitro*, no se puede traducir en una mejora de la producción de leche (como se discutirá más adelante).

En general se asume las bacterias celulolíticas tienen unas necesidades de mantenimiento bajas, crecen lentamente, y utilizan amoníaco como principal fuente de N. En cambio, las bacterias amilolíticas tienen unas necesidades de mantenimiento elevadas, crecen rápidamente, y pueden usar indistintamente amoníaco, péptidos, y aminoácidos como fuente proteica (Russell et al., 1992). Sin embargo, Kernick (1991) describió una mejora del crecimiento microbiano (tanto de las bacterias celulolíticas como de las amilolíticas) al suplementar aminoácidos y péptidos. Otros autores también han descrito mejoras en el crecimiento de las bacterias fibrolíticas al suplementar aminoácidos (Griswold et al., 1996; Carro y Miller, 1999) y péptidos (Cruz Soto et al., 1994). Recientemente, Atasolglu et al. (2001) usando cultivos puros de bacterias celulolíticas describieron que la incorporación de N amoniacal por parte de las bacterias disminuía conforme la proporción de aminoácidos disponibles en el medio de cultivo aumentaba, lo cual demuestra que las bacterias celulolíticas sí son capaces de utilizar aminoácidos como fuente de N, aunque es cierto que prefieren el N amoniacal (aproximadamente un 80% del N es de origen amoniacal y el resto de origen aminoacídico). Estas mejoras en el crecimiento microbiano al proporcionar aminoácidos podrían explicar los resultados de Hoover y Stokes (1991) que sugirieron aportar cerca de un 20% de PDR para maximizar el crecimiento microbiano. En cualquier caso, la proporción óptima de aminoácidos y péptidos libres en el rumen aún no ha sido establecida (NRC, 1996).

El objetivo final de la nutrición del rumen es maximizar el crecimiento microbiano maximizando la cantidad de PDR convertida a proteína microbiana. La maximización de la fijación de PDR en forma de proteína microbiana no sólo mejora el aporte de aminoácidos al intestino delgado, sino que también minimiza las pérdidas de N (y por tanto mejora su eficiencia de utilización). Tradicionalmente, la eficiencia del crecimiento microbiano se ha medido como g de N microbiano por unidad de energía disponible en el rumen (expresada como materia orgánica fermentada). La eficiencia de síntesis de proteína microbiana (**ESPM**) es un indicador fiable de la cantidad de energía que se dirige a la deposición de proteína microbiana, pero no es un buen indicador para determinar la cantidad de PDR capturada por parte de las bacterias ruminales. Bach et al. (2005) demostraron que la ESPM es insensible a la concentración ruminal de N amoniacal. Griswold et al. (2003) sugirieron determinar la eficiencia del crecimiento microbiana como la proporción de N ingerido convertido a N microbiano, y Bach et al. (1999) propusieron expresarla como eficiencia de utilización del N (**EUN**):

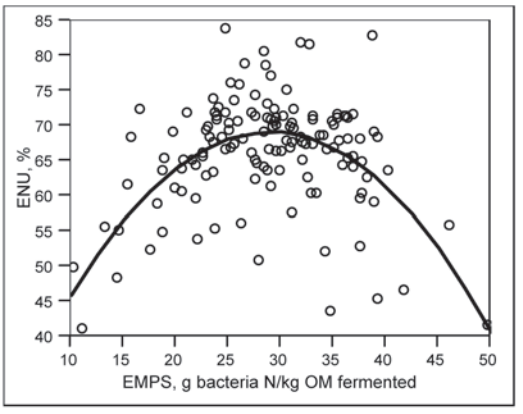
$$\textit{eficiencia de utilización del N} = \frac{\textit{gramos de N bacteriano}}{\textit{gramos de N disponible}} \times 100$$

donde "N disponible) representa el N que potencialmente podría ser utilizado por las bacterias (PDR más proteína endógena). El meta-análisis realizado por Bach et al. (2005) describió que conforme la EUN aumenta, la acumulación de N amoniacal en el rumen disminuye ($R^2 = 0.78$, $P < 0.001$), y por tanto demuestra que EUN es un buen indicador para evaluar la eficiencia de utilización de la proteína. Por lo tanto, ESPM y EUN son indicadores complementarios, el primero es un buen indicador para la eficiencia energética, y el segundo para la eficiencia proteica. El gráfico entre ESPM y EUN (Figura 1) muestra una relación cuadrática con un crecimiento óptimo cuando la ESPM es de 29 g de N bacteriano/kg de materia orgánica fermentada, y la EUN es de 69 g de N bacteriano/100 g de N disponible. Esta relación implica que, bajo condiciones óptimas (máxima eficiencia de la utilización energética y proteica) las bacterias ruminales capturarán el 69% del N disponible y producirán 29 g de N bacteriano por kg de materia orgánica fermentescible. Por lo tanto, un objetivo razonable, sería aportar 42 (29/0.69) g de N disponible a nivel ruminal por cada kg de materia orgánica fermentado en el rumen. El NRC (2001) asume una eficiencia constante de la utilización del N por parte de las bacterias del 85%. Esto implica que las necesidades de N bacteriano se podrían calcular como 1.18xPDRxN microbiano. Usando la relación descrita por Bach et al. (2005) estas necesidades sería de 1.31xN disponiblexN microbiano. Esta estimación no tiene porque



implicar un aporte de PDR superior que el descrito por el NRC (2001), pues el N disponible incluye PDR y N reciclado. Sin embargo, asumiendo que el reciclaje de N es de un 8-10% (NRC, 2001), estos dos valores son muy parecidos (1.18/.9 = 1.31). Por lo tanto, el NRC (2001) estima correctamente las necesidades de N para maximizar el crecimiento microbiano sólo bajo condiciones ruminales óptimas (ESPM = 29 y EUN = 69). Por ejemplo, cuando la ESPM sea de 40 g de N bacteriano/kg de materia orgánica fermentada, la EUN será del 60% (Figura 1) –y no del 69%–, y por tanto, las necesidades de N disponible para mantener el crecimiento microbiana aumentarían a 1.4xN disponiblexN microbiano.

Figura 1. Relación entre la eficiencia de síntesis de proteína microbiana y la eficiencia de utilización del N (Adaptado de Bach et al., 2005).



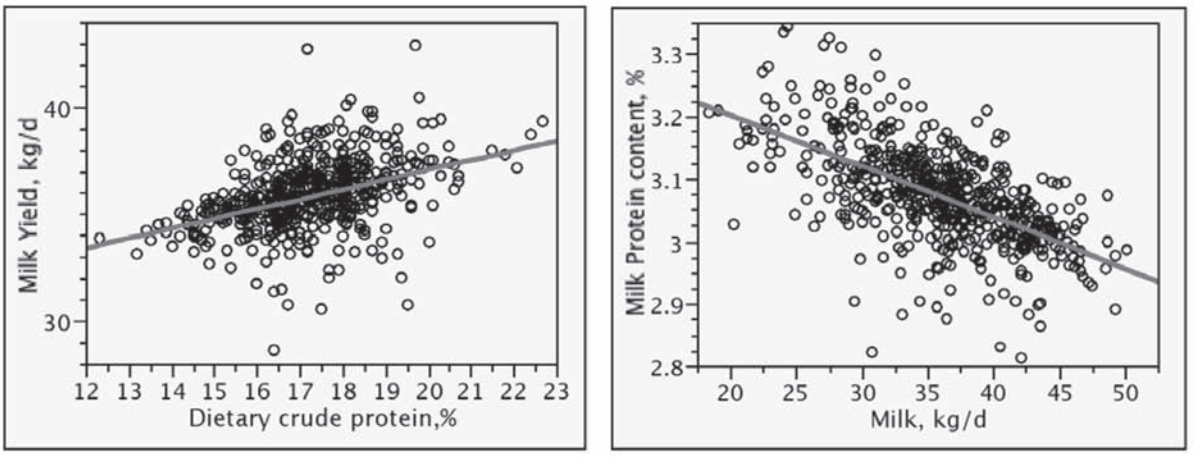
METABOLISMO PROTEICO EN EL VACUNO LECHERO

A diferencia de los CHO o las grasas, que pueden ser almacenadas en el cuerpo del animal, los mamíferos tienen una capacidad limitada para almacenar aminoácidos que hayan sido ingeridos en exceso, y por tanto deben ser desaminados y el N resultante excretado vía orina. Por lo tanto, en teoría, todo aminoácido que sea aportado por encima del ritmo de síntesis proteica dictado por la disponibilidad del aminoácido limitante deberá ser desaminado y excretado. Schwab et al. (1976) fueron los primeros que propusieron que los aminoácidos podían limitar la producción de leche, y sugirieron que la Lys y la Met eran los aminoácidos co-limitantes. Sin embargo, el concepto de aminoácido limitante no es inherente a un aminoácido determinado. La definición de aminoácido limitante es dinámica y no puede ser generalizada. Por ejemplo, la Met no puede ser definida como el aminoácido limitante para la producción de leche, pues en función de la ración base, puede, o no, limitar la producción. Además del tipo de ración base, el tipo de producción (crecimiento, gestación, lactación) también puede afectar la definición de aminoácido limitante. Recientemente, Weekes et al. (2006) realizaron un estudio que rompe con la definición tradicional de aminoácido limitante. Estos autores estudiaron la evolución de la producción de leche cuando varias mezclas de aminoácidos deficientes en His, Met, o Lys fueron inyectadas a través de la vena yugular. De acuerdo con la ley de los aminoácidos limitantes, la producción de leche debería haber disminuido al nivel marcado por el aminoácido limitante en cada infusión (His, Met, o Lys). Los autores describieron sólo un pequeño descenso en la producción de leche cuando la infusión deficitaria en His fue inyectada. Sin embargo, la concentración de His en plasma bajo muy significativamente. Lo más interesante fue que este descenso en la concentración plasmática de His fue debido a un consumo exacerbado de His por parte de los tejidos extramamarios. Estos resultados demuestran la importancia, aunque relativamente desconocida, de las interconexiones entre los distintos tejidos que participan en metabolismo proteico. Cambios en insulina y IGF-I como respuesta a las deficiencias de estos aminoácidos fueron las hormonas responsables de orquestrar los cambios en el metabolismo que permitieron a la glándula mamaria mantener su producción de proteína (y leche) por encima de lo que sería de esperar en base a los aportes de aminoácidos que las vacas recibieron.

Optimización de la Síntensis de Proteína Láctea

En general, el objetivo de los nutrólogos del vacuno lechero es formular raciones que suplan las necesidades de nutrientes para un nivel de producción determinado. Sin embargo, este enfoque suele resultar en aportes excesivos de algunos nutrientes. Entre los nutrientes que comúnmente son aportados en exceso se encuentran los aminoácidos, que se necesitan en cantidades relativamente pequeñas y se encuentran en cantidades relativamente grandes en los ingredientes más comunes (i.e. Asp). Debido a la complejidad de factores que intervienen en el metabolismo proteico del vacuno lechero, resulta difícil estimar los aportes de éstos con suficiente precisión (Bequette et al., 2000; Weekes et al., 2006). Por lo tanto, es difícil predecir si un cambio en la ración corrige o empeora el balance de aminoácidos. Un exceso de algunos aminoácidos puede tener repercusiones negativas sobre la producción y salud de las vacas ya que todos los aminoácidos son potencialmente tóxicos. Un exceso de aminoácidos estimula la síntesis proteica a nivel hepático y el catabolismo de aminoácidos más limitante (Yaun et al., 2000) lo cual exacerba la situación de deficiencia. Este descenso en la proporción del aminoácido limitante será detectado por el córtex del animal y la ingestión será deprimida (Gietzen, 1993). De hecho, en el vacuno lechero, se ha descrito un descenso de unos 2 kg/d de la ingestión de materia seca cuando se han suplementado raciones con Met protegida (Robinson et al., 2000).

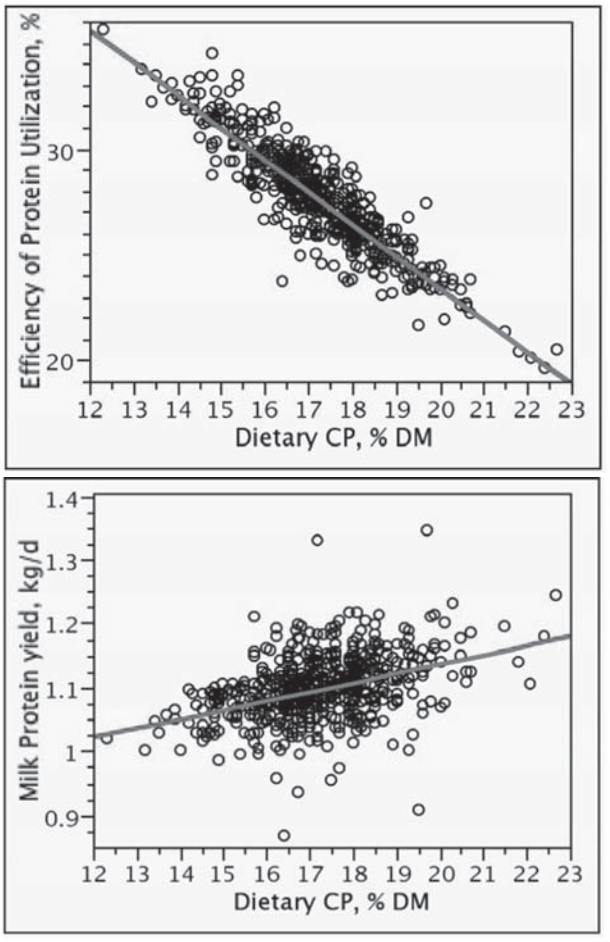
Figura 2. Relación entre la proteína bruta de la ración y la producción de leche y la relación entre la producción de leche y el contenido de proteína en leche.



El NRC (2001) reconoce que existe una moderada relación positiva entre la producción de leche y el contenido de PB de la ración, con aproximadamente un 12% de la variación observada en la producción de leche explicada por el contenido de PB de la ración. La realización de un meta-análisis con datos publicados entre el 2000 y el 2006 de un total de 131 estudios publicados en el *Journal of Dairy Science* demuestra una relación positiva entre la producción de leche y la PB de la ración (Figura 2). Una relación similar (R^2= 0.16; $P < 0.001$) fue encontrada en la PB de la ración y la producción de proteína láctea (kg/d). La relación entre producción de leche y PB de la ración es, posiblemente, el motivo por el que varios nutrólogos optan por aportar niveles de PB por encima de las necesidades de los animales. Sin embargo, conforme la producción de leche aumenta (Figura 2), el contenido de proteína en leche disminuye (r = -0.61; $P < 0.001$), lo que sugiere que el aumento de producción de leche no es paralelo a un aumento de la producción de proteína láctea. Como resultado, la eficiencia de utilización de la proteína (**EUP**) está negativamente (R^2 = 0.81; $P < 0.001$) relacionada con el nivel de PB de la ración (Figura 3). Esta relación negativa puede ser, en parte, explicada matemáticamente, puesto que en la ecuación de la EUP, la ingestión de PB participa como denominador. De todas formas, cuando se usó un modelo de efectos mixtos que incluyó la ingestión de PB y la producción de proteína láctea (para eliminar la dependencia matemática entre la ingestión de PB y EUP) más el contenido de PB de la ración como variables dependientes, la PB de la ración se mostró negativamente relacionada con la EUP y pudo explicar alrededor del un 13% de la variación observada. Por lo tanto, se puede concluir que conforme la PB de la ración aumenta, la proteína ingerida se usa con menor eficiencia. Como la EUP está positivamente relacionada con la producción de leche (r=0.65), parece posible

producir cantidades elevadas de leche con altas EUP.

Figura 3. Relación entre la proteína bruta de la ración y la eficiencia de utilización de proteína para la producción de leche, y entre la proteína bruta de la ración y la producción de proteína láctea.



Una práctica comúnmente usada por muchos nutrólogos para asegurarse que se aportan suficiente cantidad de aminoácidos es formular con un nivel de PB por encima de las necesidades. Pero las necesidades de aminoácidos de las vacas no sólo dependen del nivel de energía de la ración (que dictará el nivel de producción) sino también del tipo de energía que se consuma. Oke y Loerch (1992) y Tamminga (1992) resaltaron la importancia de tener en cuenta la relación entre PB y energía de la ración para maximizar la eficiencia de utilización de nutrientes para la producción de leche. Tamminga (1992) concluyó que aumentar el ratio proteína:energía de la ración disminuía de forma drástica la eficiencia con la se transfería la proteína absorbida a la proteína de la leche durante el inicio de la lactación. Van Straalen et al. (1994) indicaron que el balance energético de la vaca es una factor determinante de la respuesta que genere la proteína absorbida. Estos autores observaron una relación negativa entre el ratio proteína:energía y EUP. De forma similar, el meta-análisis realizado para esta revisión mostró una relación negativa entre el ratio PB de la ración (divido por 10) y el contenido energético de la ración (expresada en Mcal de EN_l/kg) y la EUP (R^2 = 0.85; P < 0.001). De nuevo, esta relación podría explicarse, en parte, por una dependencia matemática. Para eliminar esta dependencia matemática, se utilizó un modelo que incluyó el consumo de PB (kg/d) y los efectos linear y cuadrático del ratio proteína:energía (Figura 4). La relación resultante (R^2 = 0.44; P < 0.001) indica que para maximizar la EUP, el ratio PB:energía debería ser lo más cercano posible a 0.8. En otras palabras, con una ración que aporte 1.7 Mcal de EN_l/kg, el nivel óptimo de PB de ésta debería ser alrededor de 13.6%. Sin embargo, el meta-análisis también indica que para maximizar la

producción de leche, el ratio óptimo de proteína:energía es alrededor de 1.1 (Figura 4); o para una ración con 1.7 Mcal de EN_l/kg, el nivel de PB debería ser de 18.7%. Pero este *óptimo* no tiene porque coincidir con el máximo retorno económico. La Figura 5 muestra la evolución de la producción de proteína láctea, los costes de proteína asociados con ese nivel de producción, y el beneficio neto (considerando sólo los costes de proteína) en función del ratio proteína:energía de la ración. El benefició bruto se calculó usando un precio de la leche de 0.45 €/kg, y el coste de proteína se calculó asumiendo que el contenido de proteína en leche fue constante (al 3.2%) y que se usó una sola fuente proteica (harina de soja) con un precio de 310 €/tm (lo que equivale a 705 €/kg de proteína aportada por la harina de soja). De este análisis se puede concluir que el ratio proteína:energía óptimo para maximizar el beneficio neto, que no la producción de leche, es alrededor de 1.0.

Figura 4. Relación entre el ratio proteína:energía consumido y la eficiencia de utilización de la proteína y la producción de proteína láctea.

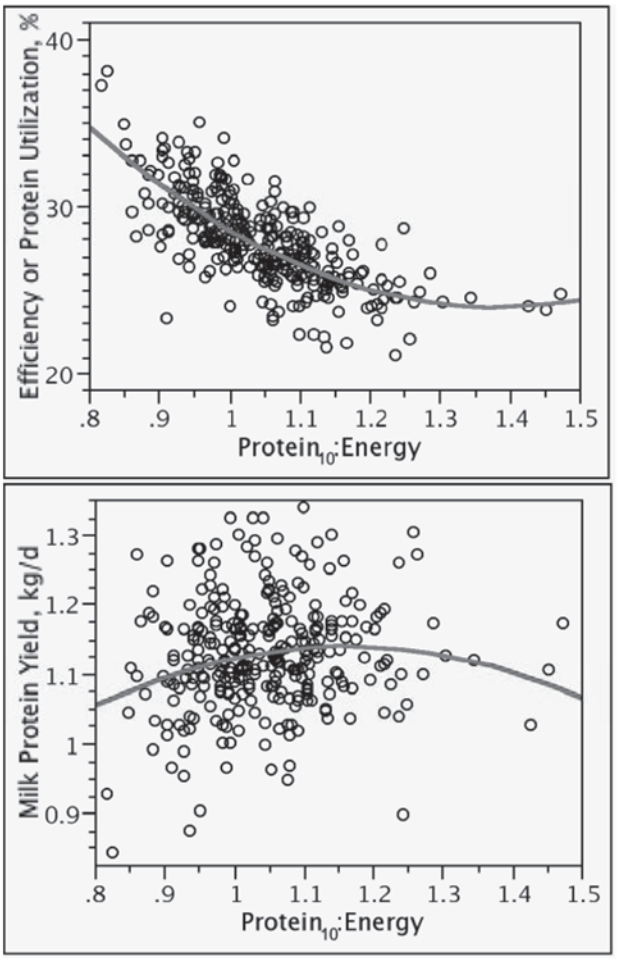
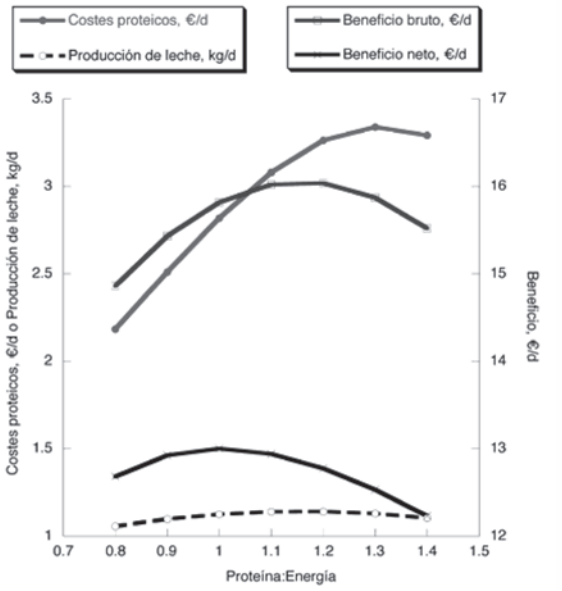
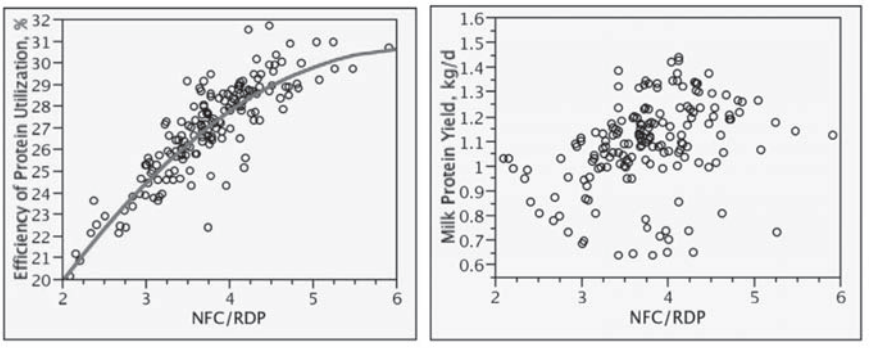


Figura 5. Evolución esperada de la producciónde proteína láctea, beneficio bruto, coste de la proteína de la ración, y beneficio neto (considerando sólo los costes de proteína dietaria) en función del ratio



No se encontró ninguna relación entre el ratio proteína:energía y la eficiencia de producción de leche (**EPL**; expresada como litros de leche corregida por energía divido por la ingestión de materia seca). Sin embargo, y consistente con la necesidad de maximizar los aportes de energía por cada unidad de proteína aportada, el contenido de CNF de la ración estuvo positivamente relacionado con EUP ($R^2 = 0.11$, $P < 0.001$), aunque el incremento marginal fue modesto (0.21 unidades de porcentaje de EUP por cada incremento porcentual de CNFs dietarios). La relación entre CNF:PDR y EUP (Figura 6) fue positiva ($R^2 = 0.76$; $P < 0.001$) y similar a la encontrada entre proteína:energía y EUP. Hoover y Stokes (1991) sugirieron, *in vitro*, que el flujo microbiano ruminal se podía maximizar minimizando el ratio CNF:PDR y concluyeron que el óptimo esta un ratio de 2:1 (CNF:RDP). A pesar que este óptimo pueda ser correcto para situaciones *in vitro* con fermentadores de flujo continuo, de bien seguro no es el óptimo para maximizar la EUP, pues un ratio de este tipo resultaría en un excesivo aporte de N a la vaca. Es más, usando los 131 estudios del meta-análisis no se encontró ninguna relación entre el contenido de PB de la ración, o el ratio CNF:PDR y la EPL. Por lo tanto, parece seguro sugerir una reducción de la cantidad de PB dietaria e incrementar –y no reducir– el ratio CNF:PDR sin incurrir en una pérdida de EPL.

Figura 6. Relación entre el ratio carbohidratos no fibrosos:proteína no degradable y la eficiencia de utilización de la proteína de la ración para producir leche o la producción de proteína láctea.

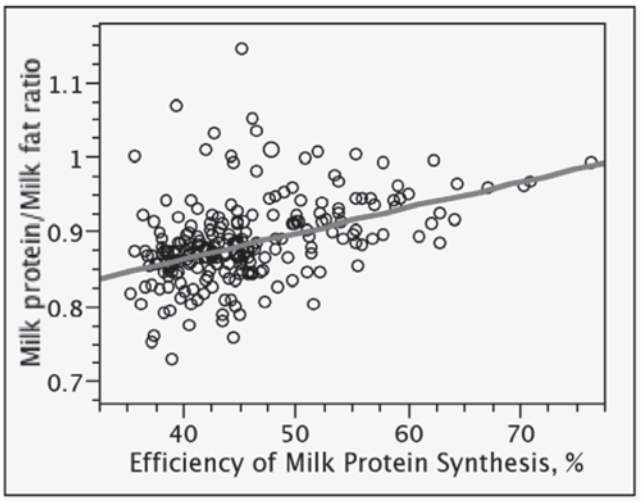


En un intento de aumentar el aporte post-ruminal de aminoácidos, otra práctica común es la suplementación de fuentes de PND. Sin embargo, existen varias revisiones bibliográficas (Akayezu, 1997; Santos et al., 1998; Ipharraguerre y Clark, 2005) que han concluido que la suplementación con PND no mejora la producción de leche de forma consistente. Santos et al. (1998) y Ipharraguerre y Clark (2005) concluyeron que aumentar el contenido de PND de la ración a base de disminuir el contenido de harina de soja suele tener un efecto mínimo sobre los aportes de proteína metabolizable (aminoácidos) debido a una depresión del crecimiento microbiano a nivel ruminal. Para determinar el impacto de la suplementación con PND (expresada como % de la PB de la ración) en las raciones de vacas, se realizó un meta-análisis que incluyó 51 estudios publicados en *Journal of Dairy Science* (*n*=236). Los resultados muestran una tendencia (P = 0.10) de la PND a mejorar modestamente la producción de proteína láctea. Por cada unidad porcentual de incremento de la PND, la producción de proteína láctea aumenta 2.8 g/d. Esta relativa pobre respuesta se puede explicar por los siguientes factores:

1. Suplementar con excesiva cantidad de PND se ha asociado con descensos del crecimiento microbiano ruminal y en consecuencia un descenso del flujo de proteína de alta calidad (bacteriana) al duodeno (Ipharraguerre y Clark, 2005).
2. Posible baja digestión intestinal de la PND que escapa la fermentación ruminal. Howie et al. (1996) mostraron que existe una amplia variación en la digestibilidad de la fracción de la PND que alcanza el duodeno. Por tanto, en el caso que la PND resultara en un aumento del flujo de aminoácidos a nivel duodenal, éstos podrían no ser absorbidos (en función de la fluente suplementada).
3. El perfil de aminoácidos aportado por la PND puede no complementar el perfil de aminoácidos que aportan las bacterias y el animal necesita.
4. El valor *bypass* asignado a la PND puede ser erróneo. Bach et al. (1999) mostraron que a pesar que la mayoría de los valores de PND son determinados mediante la misma técnica (*in situ*), los resultados obtenidos pueden ser muy distintos en función del modelo matemático que se utilice para analizar la cinética de degradación ruminal.

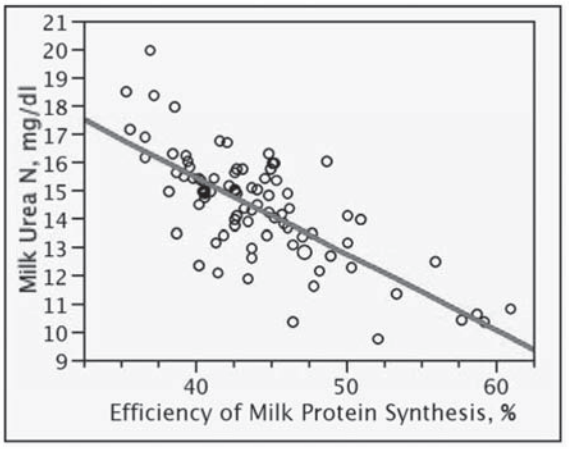
Uno de los retos más difíciles de superar al formular raciones para el vacuno lechero es asegurar un correcto aporte de aminoácidos. La falta de modelos matemáticos que describan los aportes de éstos con suficiente precisión, junto con la gran flexibilidad de la glándula mamaria y el metabolismo sistémico de la proteína en la vaca hacen muy difícil poder saber si el aporte de aminoácidos es correcto. En un estudio realizado por Kim et al. (2001), se describió que la suplementación de varios aminoácidos a una ración basal que era deficiente en His resultó en un descenso del contenido de proteína en leche y aumentó el porcentaje de grasa de ésta. Los autores concluyeron que el ratio proteína:grasa en leche podría ser una buen indicador del balance aminoacídico del vacuno lechero. Recientemente, Weekes et al. (2006) demostraron que una deficiencia de Lys también resultaba en un aumento de grasa en leche y que el ratio proteína:grasa en leche también disminuía. Para evaluar este aspecto, se usó un meta-análisis con 50 estudios (*n*=233) y se encontró una relación positiva (R^2 = 0.19; $P < 0.001$) entre la eficiencia de síntesis de proteína (corregida por las necesidades de mantenimiento del animal) y el ratio proteína:grasa en leche (Figura 7). Este resultado sugiere que mejoras en la eficiencia de síntesis de proteína láctea pueden ocurrir como respuesta a un mejor balance aminoacídico.

Figura 7. Relación entre la eficiencia de síntesis de proteína láctea (corregida por las necesidades de mantenimiento) y el ratio proteína:grasa en leche.



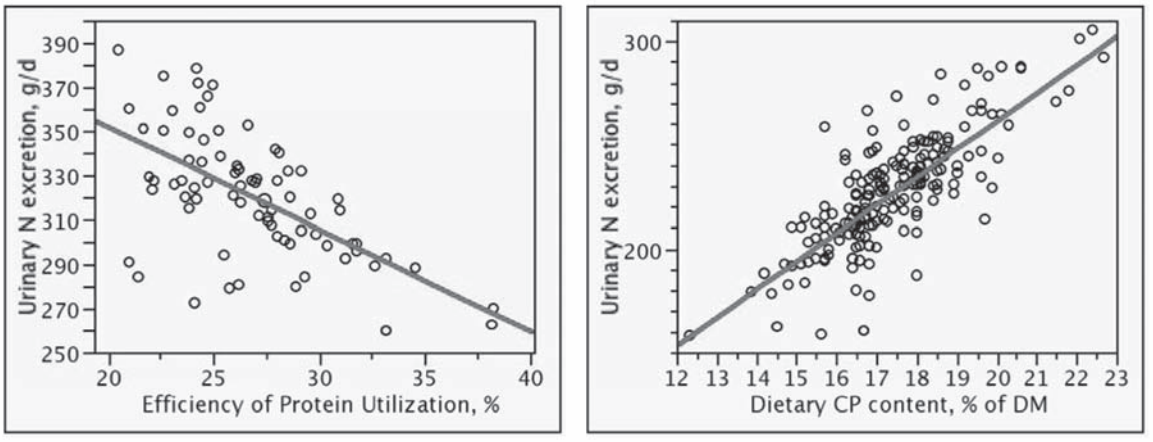
Una posible ventaja de balancear los aportes de aminoácidos adecuadamente (o maximizar la EUP) en las raciones del vacuno lechero es la reducción de la concentración de urea en sangre (y en leche). Dinn et al. (1998) describieron un descenso de la concentración de urea en sangre de 16 a 10 mg/dl, al comparar una ración del 18% de PB desbalanceada por aminoácidos y una ración del 15% de PB balanceada por aminoácidos. Niveles elevados de urea en sangre se han asociado con problemas reproductivos (posiblemente más debido a un balance energético que a cambios de pH uterinos). La producción de urea a nivel hepático tiene un coste energético que puede sustraer recursos que hubieran sido dirigidos a la producción de leche o a la función reproductiva. En el meta-análisis que se realizó, se observó que la eficiencia de síntesis de proteína láctea (corregida por las necesidades de mantenimiento) estaba altamente correlacionada con el nivel de N ureico en leche ($R^2 = 0.54$; $P < 0.001$). Esta observación sugiere que el descenso en la EUP al aumentar el nivel de PB de la ración es consecuencia de un excesivo o inapropiado aporte de aminoácidos que serán convertidos a urea en el hígado. Además, como no se encontró ninguna relación entre la concentración de urea en leche y el nivel de PDR o PND, se podría concluir que un exceso de PB, sea en forma de PDR o en forma de PND, elevará la concentración de urea en leche, puesto que cualquier exceso de PB -ya sea ruminal o post-ruminal- deberá ser desaminado a nivel hepático. De hecho, Broderick et al. (1997) realizaron una revisión bibliográfica sobre este tema y concluyeron que más del 80% de la variación observada en la concentración de urea en leche podría ser explicada por el nivel de PB en la ración. Más recientemente, Godden et al. (2001) en un estudio similar concluyeron que los factores que más intervenían en la concentración de urea en leche son el nivel de PB, la relación forraje:concentrado, y el contenido en CNFs de la ración, mientras que los niveles de PND o PDR no ejercieron ninguna aportación a la variación de urea en leche.

Figura 8. Relación entre la eficiencia de síntesis de proteína láctea (corregida por las necesidades de mantenimiento) y el contenido de urea en leche.



Usando la relación entre urea en leche y excreción de N en la orina propuesta por Jonker et al. (2002) se estimó la excreción de urea vía orina y ésta se usó en una regresión contra la EUP y el nivel de PB de la ración (Figura 9). El análisis muestra una marcada relación negativa entre EUP y la excreción de N (R^2 = 0.38; P < =0.001) y una marcada relación positiva entre el nivel de PB de la ración y la excreción de N (R^2 = 0.63 ; P < 0.001). Estos resultados ilustran la importancia de optimizar la EUP minimizando los aportes de PB en la ración para conseguir disminuir el impacto ambiental de las deyecciones de N asociadas a la producción de leche.

Figura 9. Relación entre la excreción de urea (g/d) y la eficiencia de utilización de la proteína y el contenido de proteína bruta de la ración.



CONCLUSIONES

La degradación de la PB en el rumen depende del tipo de proteína, el ritmo de paso ruminal, el pH ruminal, y las interacciones entre nutrientes/ingredientes. Aunque tradicionalmente se ha pensado que las bacterias celulolíticas usan amoníaco como única fuente de N, existe evidencia clara que el crecimiento de estas bacterias mejora cuando aumenta la disponibilidad de aminoácidos y péptidos libres en el rumen.

Un aporte de grandes cantidades de CNFs junto con una aporte suficiente de PDR (como fuente de aminoácidos y péptidos para las bacterias) debería resultar en un flujo de proteína óptimo a nivel duodenal. Este crecimiento óptimo, se debería conseguir aportando 42 g de N disponible a nivel ruminal por cada kg de materia orgánica que se fermente en el rumen.

Maximizar la fijación de PDR a nivel ruminal, no sólo mejora la calidad de los aminoácidos que alcanza en el duodeno, sino que también disminuye las pérdidas de N. La EUP está negativamente relacionada con el

nivel de PB de la ración.
Un exceso de proteína, ya sea en forma de PDR o en forma de PND, resultará en un aumento de la urea en leche, porque el aporte excesivo de proteína será convertido en urea a nivel hepático.
La relación óptima (económicamente) entre la proteína (%PB/10) y la energía (Mcal de EN_l/kg) de la ración es de 1.0.

BIBLIOGRAFÍA

- Akayezu, J. M. 1997. Influence of dietary protein on growth of young calves and on production performance of lactating dairy cows. Ph.D. Dissertation. Univ. of Minnesota, St. Paul.
- Atasoglu, C., A. Y. Guliye, and R. J. Wallace. 2004. Use of stable isotopes to measure de novo synthesis and turnover of amino acid-C and –N in mixed micro-organisms from the sheep rumen in vitro. Br. J. Nutr. 91:253-261.
- Atasoglu, C., C. J. Newbold, and R. J. Wallace. 2001. Incorporation of [15N]ammonia by cellulolytic ruminal bacterial *Fibrobacter succinogenes* BL2, *Ruminococcus albus* SY3, and *Ruminococcus flavefaciens* 17. Appl. Env. Mic. 67:2819-2822.
- Atasoglu, C., C. Valdes, C. J. Newbold, and R. J. Wallace. 1999. Influence of peptides and amino acids on fermentation rate and de novo synthesis of amino acids by mixed micro-organisms from the sheep rumen. Br. J. Nutr. 81:307-314.
- Bach, A., I. K. Yoon, M. D. Stern, H. G. Jung, and H. Chester-Jones. 1999. Effects of type of carbohydrate supplementation for lush pasture on microbial fermentation in continuous culture. J. Dairy Sci. 82:153-160.
- Bach, A., M. D. Stern, N. R. Merchen, and J. K. Drackley. 1998. Evaluation of selected mathematical approaches used to describe the kinetics of protein degradation in situ. J. Anim. Sci. 76:2885-2893.
- Bach, A., S. Calsamiglia, and M. D. Stern. 2005. Nitrogen metabolism in the rumen. 2005. J. Dairy Sci. 88:(E. Suppl.):E9-E21.
- Bequette, B. J., M. D. Hanigan, A. G. Calder, C. K. Reynolds, G. E. Lobley, and J. C. MacRae. 2000. Amino acid exchange by the mammary gland of lactating goats when histidine limits milk production. J. Dairy Sci. 83:765–775.regulation of milk protein synthesis in dairy cows. J. Dairy Sci. 80:2361–2371.
- Brock, F. M., C. W. Forsberg, and J. G. Buchanan-Smith. 1982. Proteolytic activity of rumen microorganisms and effects of proteinase inhibitors. App. Environ. Microbiol. 44:561-569.
- Broderick, G. A., and M. K. Clayton. 1997. A statistical evaluation of animal and nutritional factors influencing concentrations of milk urea nitrogen. J. Dairy Sci. 80: 2964-2971.
- Bryant, M. P. 1973. Nutritional requirements of the predominant rumen cellulolytic bacteria. Fed. Proc. 32:1809-1813.
- Cameron, M. R., T. H. Klusmeyer, G. L. Lynch, J. H. Clark, and D. R. Nelson. 1991. Effects of urea and starch on rumen fermentation, nutrient passage to the duodenum, and performance of cows. J. Dairy Sci. 74:1321-1336.
- Cardozo, P., S. Calsamiglia, and A. Ferret. 2000. Effect of pH on microbial fermentation and nutrient flow in a dual flow continuous culture system. J. Dairy Sci. 83(Suppl. 1):265.
- Cardozo, P., S. Calsamiglia, and A. Ferret. 2002. Effects of pH on nutrient digestion and microbial fermentation in a dual flow continuous culture system fed a high concentrate diet. J. Dairy Sci. 85(Suppl. 1):182
- Carro, D. M., and E. L. Miller. 1999. Effect of supplementing a fibre basal diet with different nitrogen forms on ruminal fermentation and microbial growth in an in vitro semi-continuous culture system (RUSITEC). Br. J. Nutr. 82:149-157.
- Casper, D. P., and D. J. Schingoethe. 1989. Lactational response of dairy cows to diets varying in ruminal solubilities of carbohydrate and crude protein. J. Dairy Sci. 72:928-941.
- Choi, C. W., A. Vanhatalo, S. Ahvenjarvi, and P. Huhtanen. 2002. Effects of several protein supplements on flow of soluble non-ammonia nitrogen from the forestomach and milk production in dairy cows. Anim. Feed Sci. Technol. 102:15–33.
- Choung, J., and D. G. Chamberlain. 1993. The effects of abomasal infusions of casein or soya-bean-protein isolate on the milk production of dairy cows in mid-lactation. Br. J. Nutr. 69:103-115.
- Cruz Soto, R., S. A. Muhammed, C. J. Newbold, C. S. Stewart, and R. J. Wallace. 1994. Influence of peptides, amino acids and urea on microbial activity in the rumen of sheep receiving grass hay on the growth of rumen bacteria in vitro. Anim. Feed Sci. Technol. 49:151-161.
- Dinn, N. E., J. A. Shelford, and L. J. Fisher. 1998. Use of the Cornell Net Carbohydrate and Protein System and rumen-protected lysine and methionine to reduce nitrogen excretion from lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 81:229–237.
- Endres, M. I., and M. D. Stern. 1993. Effects of pH and diets containing various levels of lignosulfonate-treated soybean meal on microbial fermentation in continuous culture. J. Dairy Sci. (Suppl. 1):177.
- Gietzen, D. W. 1993. Neural mechanisms in the responses to amino acid deficiency. J. Nutr. 123:610–625.

- Godden, S. M., K. D. Lissemore, D. F. Kelton, K. E. Leslie, J. S. Walton, and J. H. Lumsden. 2001. Relationships between milk urea concentrations and nutritional management, production, and economic variables in Ontario dairy herds. J. Dairy Sci. 84:1128-1139.
- Griswold, K. E., G. A. Apgar, J. Bouton, and J. L. Firkins. 2003. Effects of urea infusion and ruminal degradable protein concentration on microbial growth, digestibility, and fermentation in continuous culture. J. Anim. Sci. 81:329-336.
- Griswold, K. E., W. H. Hoover, T. K. Miller, and W. V. Thayne. 1996. Effect of form of nitrogen on growth of ruminal microbes in continuous culture. J. Anim. Sci. 74:483-491.
- Henning, P. H., D. G. Steyn, and H. H. Meissner. 1991. The effect of energy and nitrogen supply pattern on rumen bacterial growth *in vitro*. Anim. Prod. 53:165-175.
- Hoover, W. H., and S. R. Stokes.1991. Balancing carbohydrates and protein for optimum rumen microbial yield. J. Dairy Sci. 74:3630-3644.
- Ipharraguerre, I. R. and J. H. Clark. 2005. Impacts of the Source and Amount of Crude Protein on the Intestinal Supply of Nitrogen Fractions and Performance of Dairy Cows. J Dairy Sci. 88: E22-37E.
- Jonker, J. S., R. A. Kohn, and J. High. 2002. Dairy herd management practices that impact nitrogen utilization efficiency. J. Dairy Sci. 85:1218–1226.
- Kernick, B. L. 1991. The effect of form of nitrogen on the efficiency of protein synthesis by rumen bacteria in continuous culture. Ph.D. Dissertation. University of Natal, Pietermaritzburg, South Africa.
- Kim, C. H., J. J. Choung, and D. G. Chamberlain. 2001. Estimates of the efficiency of transfer of L-histidine from blood to milk when it is the first-limiting amino acid for secretion of milk protein in the dairy cow. J. Sci. Food Agric. 81:1150–1155.
- Kopecny, J., and R. J. Wallace. 1982. Cellular location and some properties of proteolytic enzymes of rumen bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 43:1026-1033.
- Nocek, J. E., and J. B. Russell. 1988. Protein and energy as an integrated system. Relationship of ruminal protein and carbohydrate availability to microbial synthesis and milk production. J. Dairy Sci. 71:2070-2107.
- NRC. 1996. Nutrient Requirements of Beef Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, D.C.
- NRC. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, D.C.
- Oke, O. B., and S. C. Loerch. 1992. Effects of energy and amino acid supply to the small intestine on amino acid metabolism. J. Nutr. Biochem. 3:62-66.
- Robinson, P. H., W. Chalupa, C. J. Sniffen, W. E. Julien, H. Sato, T. Fujieda, T. Ueda, and H. Suzuki. 2000. Influence of abomasal infusion of high levels of lysine or methionine, or both, on ruminal fermentation, eating behavior, and performance of lactating dairy cows. J. Anim. Sci. 78:1067–1077.
- Rogers, Q. R. 1976. The nutritional and metabolic effects of amino acid imbalances. Pages 279–301 in Protein Metabolism and Nutrition. D. J. A. Cole, K. N. Boormann, P. J. Buttery, D. Lewis, R. J. Neale, and H. Swan, ed. Butterworths, London, UK.
- Rulquin, H., and R. Vérité. 1993. Amino acid nutrition of dairy cows: productive effects and animal requirements. Recent Advances in Animal Nutrition. Ed. P. C. Gansworthy and D. J. A. Cole. Nottingham University Press, Nottingham. Pages 55-77.
- Russell, J. B., C. J. Sniffen, and P. J. Van Soest. 1983. Effect of carbohydrate limitation on degradation and utilization of casein by mixed rumen bacteria. J. Dairy Sci. 66:763-775.
- Russell, J. B., J. D. O'Connor, D. G. Fox, P. J. Van Soest, and C. J. Sniffen. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets: I. Ruminal fermentation. J Anim. Sci. 70:3551-3561.
- Santos, F. A. P., J. E. P. Santos, C. B. Theurer, and J. T. Huber. 1998. Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: A 12-year literature review. J. Dairy Sci. 81:3182-3213.
- Schwab, G. C., L. D. Satter, and A. B. Clay. 1976. Response of lactating dairy cows to abomasal infusion of amino acids. J. Dairy Sci. 59:1254-1270.
- Siddons, R. C., and J. Paradine. 1981. Effect of diet on protein degrading activity in the sheep rumen. J. Sci. Food Agric. 32:973-981.
- Stern, M. D., and W. H. Hoover. 1979. Methods for determining and factors affecting rumen microbial protein synthesis: A review. J. Anim. Sci. 49:1590-1603.
- Stern, M. D., H. Hoover, C. J. Sniffen, B. A. Crooker, and P. H. Knowlton. 1978. Effects of nonstructural carbohydrate, urea and soluble protein on microbial protein synthesis in continuous culture of rumen contents. J. Anim. Sci. 47:944-956.
- Tamminga, S. 1979. Protein degradation in the forestomachs of ruminants. J. Anim. Sci. 49:1615-1630.
- Tamminga, S. 1992. Nutrition management of dairy cows as a contribution to pollution control. J. of Dairy Sci. 75:345-357.
- Van Straalen, W. M., J. J. Odinga, and W. Moster. 1997. Digestion of feed amino acids in the rumen and small intestine of dairy cows measured with nylon-bag techniques. Br. J. Nutr. 77:83-97.



- Wallace, R. J., R. Onodera, and M. A. Cotta, 1997. Metabolism of nitrogen-containing compounds. pp. 283-328. *In:* The rumen microbial ecosystem. P.N. Hobson and C. S. Stewart (Eds.). 2nd ed. Chapman & Hall. London.
- Weekes, T. L., P. H. Luimes, and J. P. Cant. 2006. Responses to amino acid imbalances and deficiencies in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 89:2177-2187.
- Yuan, J.-H., A. J. Davis, and R. E. Austic. 2000. Temporal response of hepatic threonine dehydrogenase in chickens to the initial consumption of a threonine-imbalanced diet. J. Nutr. 130:2746–2752.



CNS Disorders in Calves

W. Klee
Clinic for Ruminants
University of Munich
klee@lmu.de

Some CNS disorders in calves are peculiar to their age group, others may occur in cattle of all ages. Their diagnosis is always a challenge, as some are easily cured while others are all but incurable, and hence the affected calves should be relieved of their suffering. In this short overview the following diseases are covered under the aspects of etiology, clinical signs, diagnosis, treatment, and prevention:

Oculo-cerebellar syndrome
Septic meningitis and/or meningoencephalitis
Hypoglycemia
Otitis media
Salt poisoning
CCN/PEM
Lead poisoning

For more extensive information, the reader is referred to
Dirksen et al. (Eds.) (2005) Medicina Interna y Cirugía del Bovino. 4th ed.
Constable (Ed.) Ruminant Neurologic Diseases. Vet Clin. Food Anim. (2004) 20:2, 185-445



Oculo-cerebellar syndrome

Etiology:

This syndrome is usually the result of fetal infection with BVDV between about 75 and 150 days of gestation, at a time when the fetal immune system starts recognizing the virus as "non-self" and attacks infected cells which leads to malformation of various developing organs, among them are the eyes and the cerebellum. Cerebellar hypoplasia also occurs as a congenital disorder in several breeds.

Clinical signs:

The clinical signs are obvious at birth and reflect cerebellar dysfunction: lack of dampening coordination of movements, which can take on rather grotesque forms (extreme opisthotonus, frequent falling and thrashing) or be rather mild and consist of constant intention tremor which increases when the animal moves, and anything in between.

Diagnosis:

The clinical signs are suggestive. Without post-mortem examination, definite diagnosis is possible by serological and virological examination prior to colostrum intake. However, the other virus infections which may cause similar clinical pictures are absent or rare in Europe.

Treatment:

No specific treatment exists. Calves with milder forms can survive until slaughter age with good nursing and care, as they can learn to overcome their "handicap".

Prevention:

In areas with high prevalence of BVDV infections, heifers should be vaccinated well before breeding in order to avoid embryonic or fetal infection following contact of the dam with field virus.

References:

Scaratt, WK. Cerebellar disease and disease characterized by dysmetria or tremors. Vet. Clin. Food Anim. 2004; 20(2):275-286

Septic meningitis/meningo-encephalitis

Etiology:

Very young calves, especially those with failure of passive transfer, are at special risk for systemic bacterial infection with septicemia and the possible consequence of meningo-encephalitis.

Clinical signs:

As bacterial meningitis in calves is usually a complication of sepsis, the signs of meningitis are superimposed on those of sepsis (fever, congestion of the mucosae, especially the muzzle, sometimes a very sharply circumscribed dark red margin around the incisors).

The more specific signs of meningitis include extension of the neck (in order to reduce pain; passive bending of the neck causes pain reactions), depression, hyperesthesia, inadequate wiggling of the tail, bruxism, unilateral or bilateral miosis, sometimes clots of fibrin in the anterior chamber of the eyes (hypopyon), recumbency, tonic-clonic seizures.

Diagnosis:

Clinical signs are very suggestive. Cerebrospinal fluid (CSF) is turbid, and Pandy's test is clearly positive. This test can be performed in the field. Glucose concentration in CSF is lower than in blood. Microscopic examination reveals massive neutrophilic pleocytosis and bacteria.

Treatment:

Not rewarding, when signs are pronounced. Affected animals should be euthanized.

Prevention:

The best and cheapest prevention is a good colostrum program, the success of which should be checked when there is a series of cases of infection-associated disease, e.g. by measuring total protein concentration or GGT activity in serum on the second or third day of life in several calves. Total protein levels should be above 55 g/L, and GGT activity should be above 200 U/L.

References:

Fecteau G, George LW. Bacterial meningitis and encephalitis in ruminants. Vet Clin Food Anim. 2004; 20:363-377

Scott, PR, Penny CD. A field study of meningoencephalitis in calves with particular reference to analysis of cerebrospinal fluid. Vet Rec. 1993; 133:119-21

Hypoglycemia

Etiology:

Hypoglycemia can arise from several causes; the most frequent ones are probably septicemia and inanition. The effect of septicemia on blood glucose levels has been demonstrated experimentally by administration of E. coli endotoxin (Yagi and Nakajima, 1983; Gerros et al., 1995) or experimental infection (Santos et al., 2002).

Inanition may occur because of "diets" diarrheic calves are subjected to as inadequate measure taken by the personnel responsible for the care of calves.

Clinical signs:

Unless hypoglycaemia is severe, it is clinically inapparent, or is masked by the signs of underlying disease (diarrhea and its sequelae, or septicaemia). In extreme cases, calves appear blind, show opisthotonus, may fall, and show convulsions.

Diagnosis:

Blood glucose concentrations can be measured in a sufficiently reliable way in the field by simple methods.

Treatment:

The most obvious intervention is the infusion of glucose which will raise blood glucose levels almost instantly. If relapses occur, underlying disorders must be addresses, as they may determine prognosis.

Prevention:

A good colostrum program and adequate feeding of diarrheic calves (see paper on neonatal diarrhea) will go a long way in preventing hypoglycemia.

References:

Duarte ER, Hamdan JS. Otitis in cattle, an aetiological review. J Vet Med B. 2004; 51:1-7

Foster AP, Naylor RD, Howie NM, Nicholas RA Ayling RD. Mycoplasma bovis and otitis in dairy calves in the United Kingdom. Vet J. 2008 (Epub ahead of print).

Francoz D, Fecteau G, Desrochers A, Fortin M. Otitis in dairy calves: a retrospective study of 15 cases (1987 to 2002). Can Vet J. 2004; 45:661-6

Otitis media

Etiology:

As in other species, the most common path of infection of the middle ear in calves is the Eustachian tube. Mycoplasma and Pasteurella spp, and a number of other species of bacteria . have been isolated from cases.

Feeding

Clinical signs:

Fever, the calves obviously suffer pain, drooping ear(s); sometimes, there is unilateral or bilateral facial paresis. Whether head tilt occurs in cases of otitis media or indicates inner ear involvement, is a matter of debate. It is clear, however, that even severe otitis media may occur without head tilt. Purulent ear discharge indicates perforation of the eardrum.

Diagnosis:

Compression of the base of the ears produces a sloshing sound; this is also indicative of perforation of the eardrum. This can be confirmed by instillation of warm liquid (we use diluted solution of iodine-PVP) into the ear of the affected side, which will flow out of both nostrils. This is also a therapeutic intervention.

Treatment:

In addition to the local treatment by instillation, systemic antibiosis and application of NSAID are indicated.

References:

Duarte ER, Hamdan JS. Otitis in cattle, an aetiological review. J Vet Med B. 2004; 51:1-7

Foster AP, Naylor RD, Howie NM, Nicholas RA Ayling RD. Mycoplasma bovis and otitis in dairy calves in the United Kingdom. Vet J. 2008 (Epub ahead of print).

Francoz D, Fecteau G, Desrochers A, Fortin M. Otitis in dairy calves: a retrospective study of 15 cases (1987 to 2002). Can Vet J. 2004; 45:661-6



Salt poisoning/water deprivation

Etiology:

Excess intake of salt in relation to hypotonic solutions (including water). Usually, salt poisoning in calves occurs because of errors in the mixing of oral rehydration solutions, or because additional salt was added, and the calves have no access to water. Salt poisoning has also been reported in calves fed milk replacer with too high salt concentration.

Clinical signs:

Pushing, and falling backwards, alternating phases of excitement and dullness, hyperesthesia, opisthotonus, nystagmus, muscle twitching and intermittent convulsions.

Diagnosis:

The clinical signs are suggestive. History regarding feeding is indicative, and blood Na concentration >> 155 mmol/L confirms the diagnosis. Blood levels can be above 200 mmol/L.

Treatment:

Treating dehydrated and acidotic calves with salt poisoning is a real challenge, as too rapid correction of the hyperosmolality of body fluids can lead to fatal cerebral edema. Recommmendations for treatment vary considerably. In a recent case report, Abutarbush and Petrie (2007) successfully treated five hypernatremic calves with diarrhea with an initial infusion of hypertonic sodium bicarbonate, and subsequent infusion of either isotonic glucose or isotonic sodium bicarbonate continuous drip infusions. In our clinic, we feed hypernatremic calves whole milk at about 12 to 14 % of body weight in three meals.

References:

Abutarbush, SM, Petrie, L. Treatment of hypernatremia in neonatal calves with diarrhea. Can. Vet. J. 2007; 48:184-7.

Angelos SM, Smith BP, George LW, House JK, Van Metre DC, Fecteau G, Thacker VC, Angelos JA.
Treatment of hypernatremia in an acidotic neonatal calf. J Am Vet Med Assoc. 1999; 214:1364-7

Pringle JK, Berthiaume LM. Hypernatremia in calves. J Vet Intern Med. 1988¸2:66-70

Polioencephalomalacia (PEM) or cerebrocortical necrosis (CCN)

Etiology:

The underlying event is cerebral edema which can have a number of causes: thiamine deficiency, H_2S intoxication (Niles et al., 2002), lead poisoning, and water intoxication. This section deals with thiamine-dependent PEM/CCN.

Thiamine in the form of thiamine pyrophosphate (TPP) is the coenzyme of several enzymes, e.g. transketolase which is the rate-limiting factor in the pentose phosphate cycle. Thiamine deficiency can be primary when there is absolutely too little thiamine in the ration (which is probably a rare occurrence); more frequently, thiamine is destroyed in the rumen by bacterial thiaminases. A third possibility is the presence of substances with similar molecular structure but without the biochemical effects of thiamine, the most well-known example being the coccidiostat amprolium (Tanwar et al., 1994).

Clinical signs:

Central blindness (pupillary light reflex intact), staggering, opisthotonus, rotation of the eyeballs (trochlear paresis), forelimb extensor rigidity in the lying animal.

Diagnosis:

Clinical signs are suggestive enough to warrant immediate treatment. Confirmation of thiamine-dependent PEM/CCN requires the determination of erythrocyte transketolase activity and the effect of TPP thereon; however, this is not a routine method in most diagnostic laboratories, and it takes longer than the animals require to recover if treated early. In the forms of PEM/CCN not caused by thiamine deficiency, with the exception of amprolium intoxication, blood thiamine concentration, erythrocyte transketolase acticity, and TPP effect all are normal, and they do not respond to thiamine administration (Jeffrey et al., 1994; Tanwar et al., 1994)

Treatment:

Early administration of thiamine chloride will be followed by recovery of the animals within a few hours. Thus, the result of treatment aids in the diagnosis.



Prevention:
Occurrence of one clinical case of PEM/CCN should be considered as indication that the entire group is at risk for the disease. Therefore, thiamine should be supplemented, either in pure form, or by adding baker's yeast to the ration.
References:
Jeffrey M, Duff JP, Higgins RJ, Simpson VR, Jackman R, Jones TO, Mechie SC, Livesey CT. Polioencephalomalacia associated with the ingestion of ammonium sulphate by sheep and cattle. Vet Rec 1994; 134:343-8
Niles GA, Morgan S, Edwards WC, Lalman D. Effects of dietary sulphur concentrations on the incidence and pathology of polioencephalopathy in weaned calves. Vet Hum Toxicol. 2002;44: 70-2
Tanwar RK, Malik KS, Gahlot AK. Polioencephalomalacia induced with amprolium in buffalo calves – clinicopathologic findings. Zentralbl. Veterinärmed. A 1994;41: 396-404

Lead poisoning (Plumbism)
Etiology:
It is important to remember that a) lead poisoning is almost always from a point source rather than from general environmental contamination, and b) cattle have a strong craving for lead. The most frequent source of lead in cases of plumbism in calves is paint.
Lead is slowly absorbed from the intestinal tract, and stored in several organs. It inhibits a number of enzymes, among them erythrocyte D-ALAD.
In the acute form, CNS signs are predominant which are due to cerebral edema.
Clinical signs:
Central blindness, pushing, chewing, foamy salivation, aimless wandering, assuming abnormal postures.
Diagnosis:
Central blindness, and continuous chewing movements should alert the veterinarian to the possibility of lead poisoning, and stimulate intensive inquiry for the possible source, and early treatment.
Measurement of the activity of erythrocyte D-ALAD in affected and healthy control animals will reveal the inhibition of this enzyme. Also, lead levels in plasma/serum can be determined. Both methods are not routinely performed in most diagnostic laboratories, however.
In dead animals, lead concentrations in the liver can be used to confirm the clinical diagnosis.
Treatment:
The "traditional" treatment has been the intravenous application of Ca-EDTA (50 - 100 mg/kg twice daily in 5 % glucose), if the local legal situation permits. Recently, it has been shown that meso-2,3-dimercaptosuccinic acid (DMSA) at 25 mg/kg iv is more effective in removing lead from tissues of experimentally infected calves, however. It must be borne in mind, that there may be relapses as lead is released into the blood from stores in bone and organs.
Prevention:
Cattle of all ages should be denied access to all sources of lead (paint, batteries, waste from mines).

References:

- Dey S, Swarup D, Kalicharan , Singh B. Treatment of lead toxicity in calves. Vet Hum Toxicol. 1995;37:230-2
- Meldrum JB, Ko KW. Effects of calcium disodium EDTA and meso-2,3-dimercaptosuccinic acid on tissue concentrations of lead for use in treatment of calves with experimentally induced lead toxicosis. Am J Vet Res. 2003;64:672-6.
- Sydler T, Iten C, Bisig V, Baumgartner MR, Iten PX. [Lead poisoning in calves due to old white lead paint.] Schweiz Arch Tierheilkd. 2001;143:135-9
- Waldner C, Checkley S, Blakley B, Pollock C, Mitchell B. Managing lead exposure and toxicity in cow-calf herds to minimize the potential for food residues. J Vet Diagn Invest. 2002;14:481-6





Estrategias de MANEJO DE LOTES de VACAS Durante el PerÍodo de Transición

Alfonso Lago, LV
Unidad de Medicina de la Producción Lechera
Facultad de Veterinaria de la Universidad de Minnesota
St. Paul, Minnesota, EE.UU.
alago@umn.edu

Es fundamental el conocimiento de la etología y necesidades sociales de los diferentes grupos de animales alojados en una explotación lechera a la hora de manejar y diseñar alojamientos adecuados para estos animales.
La incidencia de enfermedades en el posparto, productividad y longevidad de la vaca lechera van estar influenciados de una manera crítica por el manejo recibido durante el período de transición. Igualmente, la idoneidad del manejo durante el período de transición va influir en el progreso genético de la vaquería en áreas como el manejo del parto y del recién nacido.

Duración mínima del preparto
La mayoría de las vaquerías en Norteamérica manejan las vacas secas en dos grupos, uno con vacas desde aproximadamente los 60 hasta los 21 días previos a la fecha prevista de parto, y un grupo de preparto que incluye vacas 14 a 21 días antes del parto.
No está totalmente dilucidado cual es la duración óptima del preparto. No obstante, tenemos dos experimentos que aportan luz a este dilema. Robinson et al. (2001) alimentó vacas y novillas con varias dietas de preparto en una ganadería comercial y observó en las novillas un incremento en producción y en el contenido graso y proteíco de la leche en la siguiente lactación a medida que incrementaba el número de días que recibían la ración de preparto, teniendo la mayor ventaja novillas que fueron alimentadas de 9 a12 días con esta dieta. Otro estudio incluyendo un mayor número de animales, 13,000 vacas en 5 lecherías,

determinó que la proyección en producción de leche a 305 días era mayor, y la incidencia de desordenes metabólicos menor a medida que se acercaba la estadía en el grupo de preparto a los 21 días, Mashek y Beede (2001) suministraron dietas de preparto en dos ganaderías comerciales por períodos de 18 y 37 días en promedio. El estatus energético de vacas recibiendo la dieta de preparto durante 37 días fue superior, sin embargo no hubo diferencias significativas en producción durante el posparto.
En orden de asegurar que la mayoría de las vacas pasen al menos 10 días en el lote de preparto es necesario que las vacas sean llevadas a este lote 21 días antes de la fecha prevista de parto.

Cambios de grupo e implicaciones sociológicas
Los cambios de grupo implican una alteración en el comportamiento de los animales y un período de elevada interacción entre los animales antes de que se alcance un equilibrio social y se establezca una jerarquía estable. En vacas que se mueven a un nuevo grupo, estos cambios pueden causar una reducción del 2-5% en producción durante un período de tiempo corto. Normalmente, la vaca transferida tiene sobre unas 10 interacciones por hora inmediatamente después del traslado – lo que es aproximadamente el doble a las que tienen el resto de vacas en el grupo (Brakel y Leis, 1976). Estas interacciones pueden ser físicas – incluyendo roces, empujones y peleas, o sin ser físicas – sentimiento de amenaza y evitando interacciones. En un estudio canadiense se comprobó que la frecuencia de estas interacciones agonistas era alta durante las primeras 48 h después de la introducción de animales en un nuevo grupo, y que la naturaleza de estas interacciones iba cambiando con el tiempo. Durante las primeras 48 h, aproximadamente el 65% de las interacciones eran de carácter físico y el 35% non físicas. A partir del segundo día en el grupo, esta proporción se invirtió con el 40% de las interacciones físicas y el 60% non físicas (Kondo y Hurnik, 1990).
Este incremento en el número de interacciones físicas durante las primeras 48 h de acoplarse en un nuevo grupo tiene un impacto en otras actividades a lo largo del día – tales como en el tiempo comiendo o de descanso, lo que se traduce en un descenso en la producción lechera. Otros factores tales como el número de lactación y dominancia juegan un importante papel en este tipo de interacciones. Un estudio Japonés describió esta interacción en vacas de primera lactación dependiendo de su jerarquía social. Animales dominantes mostraron poco cambio en comportamiento o producción, las vacas en un estrato medio y las subordinadas produjeron 3.8-5.5% menos leche y manifestaron un comportamiento alterado en la segunda semana después de ser introducidas en un nuevo grupo (Hasegawa et al., 1997).
Grant y Albright (2001) concluyeron que el impacto social negativo y comportamiento alterado de un cambio de grupo dura sobre unos 3 días y casi siempre menos de 7 días. En términos de producción de leche su efecto es importante pero de corta duración para vacas adultas. Así, un estudio reciente reportó una bajada en producción de casi 4 litros el día del cambio de grupo, pero no en los días posteriores (von Keyserlingk et al., 2008). Los cambios de grupo tienen impactos bien diferentes dependiendo en que fase del ciclo productivo se encuentre el animal, y de que animal se trate. En vacas en su primera lactación y en animales subordinados, en una etapa de alto riesgo como es el período de transición, el efecto negativo de un cambio de grupo puede ser más acentuado y tener una duración mayor.
a) Agrupación durante el preparto
En lecherías comerciales con un sistema de estabulación libre, las vacas durante el período de transición se ven sometidas a muchos cambios de grupo en un período corto de tiempo. La secuencia típica de cambio de grupos se inicia por el paso del grupo de secas al de preparto de 14 a 21 días previos a la fecha prevista de parto. Cuando las vacas presentan signos secundarios de parto se alojan en un área de maternidad con cama caliente hasta que paren. Las estadías en estas áreas de maternidad pueden ser extremamente variables de granja a granja y de vaca a vaca, siendo en promedio de unos 3 días. A continuación las vacas van a un grupo donde pasan 2-4 días mientras la leche no es apta para el consumo, siendo en vaquerías de mediano tamaño una práctica común compartir este lote con vacas más avanzadas en lactación recibiendo algún tipo de tratamiento que impide que su leche sea comercializada. Después las vacas pasan de 2 a 3 semanas en un grupo posparto donde son evaluadas diariamente y frecuentemente reciben dietas más fibrosas que las de alta producción. Finalmente las vacas van al grupo de alta producción habiendo experimentado un total de 5 cambios de grupos en menos de 4 a 6 semanas. Quizás aun más importante, es que dos de estos cambios de grupo son durante los 4-7 días alrededor del parto.
Predecir la fecha de parto en las vacas es complejo debido a la gran variación entre vaca y vaca en el período

de tiempo que transcurre desde la aparición de signos secundarios de parto, relajación de ligamentos, llenado de la ubre, etc., hasta que se desencadena el parto. Así las estancias en estas áreas de maternidad pueden ser muy variables en cuanto a su duración, de horas a semanas, y la mayoría de los animales están en este grupo de 3-7 días en lugar de los 2-3 días predichos inicialmente. Consecuentemente la mayoría de los animales tiene que entrar en un proceso de socialización y establecimiento de jerarquías que genera estrés y un descenso en el consumo de materia seca. Esto aun agrava más la situación de una vaca ya de por sí estresada dada la proximidad al parto, y quizás en algunos casos sea lo que determine que entre en balance energético negativo y desarrolle hígado graso antes del parto.

Información generada en nuestras consultorías en vaquerías comerciales, indica que vacas que pasan tres o más días en estas áreas tienen un riesgo 2.5 veces mayor de ser eliminadas en los primeros 60 días de la lactación que las vacas que paren en uno o dos días. Una mayor proporción de estas vacas que no paren en los dos días siguientes a su traslado a estas maternidades tienen una alta concentración de ácidos grasos no esterificados en plasma y la prevalencia de cetosis subclínica e incidencia de desplazamiento de abomaso es el doble para estas vacas. Diferencias en producción de leche también refuerzan nuestra observación del efecto negativo de esta práctica de manejo tan común. También observamos que vacas en las que el parto se retrasó nueve o más días no se vieron afectadas negativamente por este cambio de grupo, quizás sea debido a que el nivel de estrés sufrido por estas vacas fuera menor.

b) Agrupación durante el posparto

El uso de terapia antibiótica intramamaria de secado es una práctica establecida en la mayoría de las vaquerías europeas y norteamericanas, lo que conlleva que la leche no se pueda comercializar en los días posteriores al parto. En las lecherías de tamaño medio y grande existe un grupo de vacas denominado comúnmente en Estados Unidos "hospital", donde se alojan vacas guardando algún período de supresión debido a residuos antibióticos en leche. Las vacas después de parir van inmediatamente a este grupo, y lo deseable es que pasen en este grupo el mínimo tiempo posible.

Las vacas del hospital son normalmente las últimas en ordeñarse, justo antes de que se lave el sistema de ordeño, debido a que esta leche no va al tanque y a que muchas de las vacas de este grupo padecen mamitis. Además del riesgo de contagio de enfermedades infecciosas debido a que comparten alojamientos con animales enfermos, el ordeño es un riesgo adicional importante para la adquisición de infecciones intramamarias en estas vacas posparturientas – especialmente las causadas por *Micoplasma spp*. Cuando las vacas enfermas se alojan en un grupo diferente a las paridas, las vacas paridas se deberían ordeñar primero. Algunas vaquerías grandes tienen una sala de ordeño específica para ordeñar vacas tratadas y vacas paridas, y aunque ventajosa por permitir una atención más detallada a estos animales, muchas veces se convierte en un foco de propagación de mamitis y de frustración del personal. El uso de antibióticos sin período de supresión en leche y ordeñar vacas con tratamiento antibiótico para una cántara en la sala de ordeño, reduce mucho la carga de animales enfermos en los hospitales.

En la mayoría de las vaquerías grandes, después del hospital las vacas van a continuación a un grupo de posparto y de ahí en adelante se agrupan por días en leche, estatus reproductivo o producción de leche dependiendo de la vaquería. Las vacas en el posparto son especialmente vulnerables a una competición excesiva, ya que se muestran fatigadas y con debilidad en el tercio posterior. El consumo de alimento se ve afectado si tienen que competir por cama, comida o agua con otras vacas más vigorosas o si son trastornadas por vacas en celo. Un grupo de posparto reduce estrés, garantiza un ambiente menos competitivo para las vacas, y permite que se puedan monitorear y tratar de una manera efectiva.

Si los alojamientos y el tamaño del rebaño lo permiten, las vacas primíparas deben estar separadas de las multíparas desde el preparto hasta el final de la primera lactación. Las novillas por lo general tienen un tamaño menor y un puesto más bajo en la jerarquía social, lo que las pone es desventaja a la hora de tener que competir. Además las novillas comen menos por comida pero acceden al pesebre más frecuentemente, tienen necesidades nutritivas extras para continuar creciendo, tardan más en alcanzar el pico de lactación y tienen una curva más persistente. Más novillas que vacas tienen dificultades en el parto y se muestran más agotadas durante el posparto, necesitando más tiempo de descanso.

Se observó que las novillas cuando están separadas del resto de las vacas consumen más materia seca y producen más leche (Phelps, 1992). En otro estudio donde se separaron novillas de vacas, se incremento en un 11.4% el tiempo dedicado a comer, el número de comidas incrementó en un 8.5%, el consumo de



silo incrementó en un 11.8%, pasaron un 8.8% más de tiempo tumbadas, y el número de veces que se tumbaron por día incrementó en un 19% (Konggaard y Krohn, 1978). Bach et al. (2006) en un sistema de robots no observó diferencias en producción de leche cuando se separaban las novillas de las vacas, pero se incrementó la eficiencia en la producción de leche corregida por el contenido graso y las novillas perdieron menos peso en el primer mes de lactación.

Algunos nutrólogos formulan para el grupo de posparto dietas con más forraje y menos concentrado que para el resto de las vacas en lactación. En algunos casos, el heno se añade en el pesebre a la ración de lactación. En estos casos, si el heno es de buena calidad estimula el apetito y también nos puede servir para detectar vacas con algún problema. Sin embargo, esta dieta más baja en energía puede no ser adecuada para vacas multíparas produciendo 50 litros de leche a las dos semanas del parto, ya que puede causar una perdida excesiva de peso y el desarrollo de cetosis. Sin embargo, las primíparas pueden estar en esta dieta más tiempo, ya que el incremento en leche es más gradual. De todas maneras, vacas sanas no deberían estar en este tipo de dietas por más de 21 días.

Tener varios grupos de posparto conlleva compromisos. En vaquerías grandes a menudo los lotes son de 200 o más vacas con lo que puede ser imposible, si no existen pasillos de acceso laterales, tener un grupo de posparto para novillas y otro para vacas ya que no hay suficientes animales en cada categoría para llenar un lote. Una desventaja de tener dos grupos de vacas paridas es que las vacas tienen que cerrarse en la cornaliza, ser evaluadas y ser tratadas en dos lotes, lo cual incrementa el trabajo. Otra desventaja teniendo dos grupos, es que es mucho más difícil ordeñar las novillas cuando entran solas en la sala de ordeño que cuando entran mezcladas con vacas adultas. A los ordeñadores no le gusta ordeñar grupos con solo primíparas. Esto se puede mejorar pasando las novillas por la sala de ordeño regularmente con anterioridad al parto.

Estrategias alternativas

Una estrategia de agrupamiento recomendada que está creciendo en popularidad en lecherías de tamaño mediano a grande incluye el chequeo horario del grupo de preparto. Vacas y novillas son llevadas a la paridera cuando los pies del feto asoman o cuando el parto no progresa. El desarrollo del parto es revisado cada dos horas y se provee asistencia en caso de ser necesario. Una vez parida, cuando la vaca se incorpora y camina sin ataxia, se transfiere al grupo de posparto y el becerro se aloja en su habitáculo definitivo. Así la estancia en el área de maternidad es de horas en vez de días. Esta estrategia reduce el número de cambios de grupo entre los 2 a 5 días anteriores al parto y los 2-3 días posteriores al parto (Figura 1).

Otra estrategia de manejo que eliminaría totalmente el estrés que se genera cuando se mezcla el ganado continuamente, es tener varios lotes de preparto con cama caliente, y seguir la práctica de todo dentro – todo fuera para las vacas en el preparto. Las vacas van en grupos a cada una de estas áreas 2 a 3 semanas antes de la fecha prevista de parto y permanecen en ese grupo hasta que paren. Según las vacas van pariendo, se va moviendo una valla dentro del lote que separa las vacas paridas de las otras para que puedan ir al ordeño y se examinadas durante el posparto. Cuando todas las vacas han parido, el lote se limpia y se añade cama nueva, y otro grupo de vacas entra en ese lote. No obstante, no se elimina la necesidad de revisar el grupo frecuentemente para evitar que el becerro mame de la vaca y de que se vea expuesto a la menor contaminación ambiental posible. Las vacas pueden parir en el grupo o ser llevadas a la paridera como en la estrategia anterior. Esta estrategia es más atractiva en vaquerías con períodos de secados reducidos de 45 días.

Después del parto, lo ideal sería que las vacas fueran directamente al grupo de posparto, lo cual implica que hay que ordeñar estas vacas a una cántara mientras la leche no está libre de residuos antibióticos. Sin embargo, vacas que sufren hipocalcemia o tienen un parto difícil se beneficiarían permaneciendo separadas de las otras vacas. En algunas vaquerías donde se testan antibióticos en leche las vacas permanecen en la paridera u otra área adyacente el tiempo que transcurre hasta que son ordeñadas por primera vez, y el tiempo que se aguarda por los resultados de residuos en leche - por lo general el total es de menos de 12 h. En mi opinión esta práctica es también adecuada.

La vaca permanece en el grupo de posparto por un período de 10-21 días, donde su evolución es monitoreada, y después va a un grupo de producción donde pasará la mayor parte o el resto de su lactación.

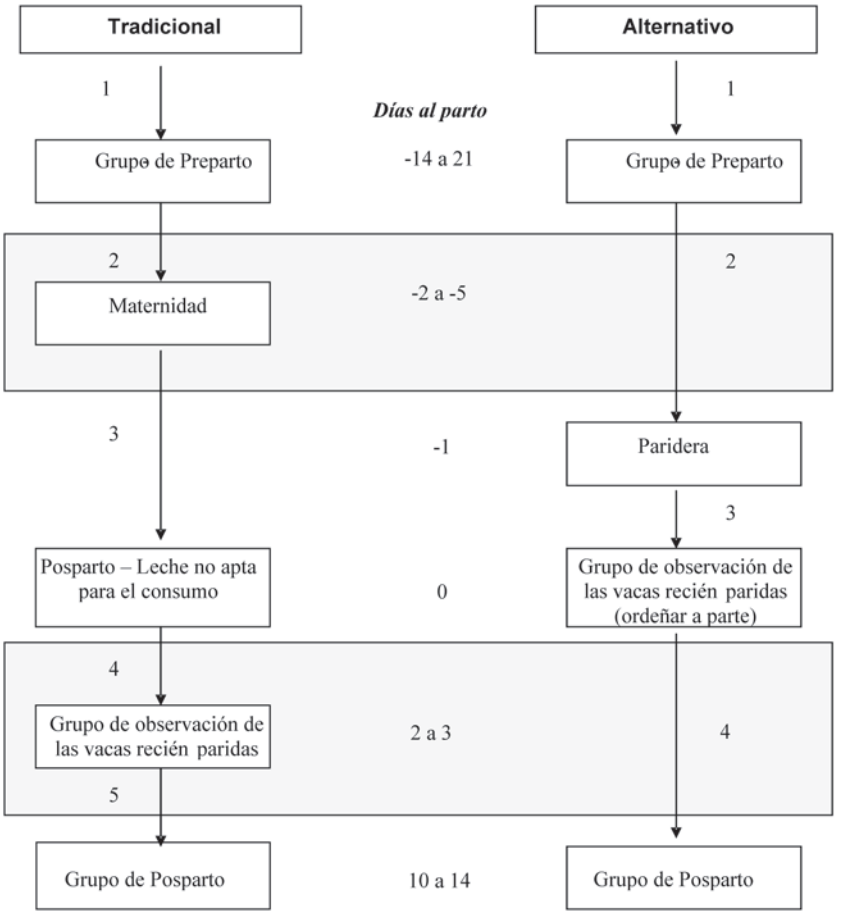


Figura 1. Flujo tradicional de vacas durante el período de transición y estrategia alternativa encaminada a reducir el número de cambios de grupo entre los 2 a 5 días anteriores al parto y los 2-3 días posteriores al parto.

Hacinamiento

Vaquerías en expansión tienden a centrar todo el esfuerzo inversor en instalaciones para vacas lactantes y en la sala de ordeño, sin considerar la necesidad de adecuar las instalaciones de las vacas secas a las nuevas necesidades.

Situaciones de hacinamiento en las vaquerías incrementan la tensión social en el grupo. Hacinamiento se puede referir a situaciones en las que el número de vacas es superior al de cubículos o al de espacios en el comedero. Los etólogos califican el comportamiento de las vacas como alelomimético, ya que por naturaleza se tumban, comen, beben y realizan otras actividades al mismo tiempo (Miller et al., 1991). El hacinamiento interrumpe este comportamiento innato.

Aún considerando que las vacas secas tienen una ingestión de materia seca menor a vacas lactantes, el consumo de alimento se puede ver reducido debido a escasez de espacio en el comedero ya que su comportamiento alelomimético se ve interrumpido. La mayoría de los establos modernos tienen dos o tres hileras de cubículos. Los cubículos tienen generalmente 1.22 m de ancho y las cornalizas 0.6 m de centro a centro. Así en establos de dos hileras tenemos una cornaliza por cubículo, sin embargo en rebaños con 3 hileras el espacio de comedera se ve reducido en un tercio. Este diseño conlleva a situaciones de hacinamiento de una manera premeditada.

Datos de campo recogidos en dos vaquerías de New Mexico donde las vacas secas recibían la misma ración

demuestran que se produce un descenso significativo en el consumo de materia seca cuando el número de vacas excede un 92% respecto al número de cornalizas. Las vacas secas gestantes son más anchas que los típicos 60 cm de la cornaliza por lo que la capacidad máxima es menor al número de cornalizas.

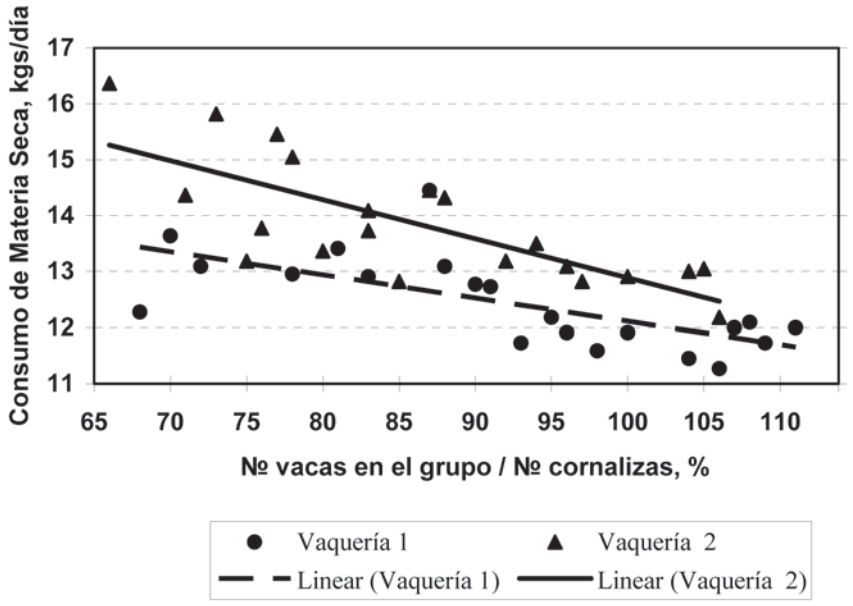


Figura 2. Relación entre el nivel de hacinamiento en el lote de preparto y el consumo de materia seca en dos lecherías de New Mexico. Datos del Dr. Kenn Buelow.

Gary Oetzel (comunicación personal) también observó el efecto negativo del hacinamiento en grupos donde vacas primíparas y multíparas estaban mezcladas durante el preparto en un lote con dos hileras de cubículos en una vaquería de 1600 vacas. Las primerizas produjeron menos leche durante los 83 días del posparto cuando las densidades de ganado respecto al número de cubículos eran superiores al 80%. Por cada incremento de un 10% en densidad de vacas en el grupo preparto por encima del 80%, las primerizas produjeron 0.73 kg de leche por día. Cameron et al. (1998) también demostró que espacios reducidos de comedero tienen un impacto negativo en la incidencia de desplazamiento de abomaso. En un modelo compuesto con información en 67 granjas, el manejo del pesebre tenía un efecto negativo en la incidencia de desplazamiento de abomaso si el espacio de comedera era menor a 0.3 m por vaca, o si el espacio era de 0.3 a 0.6 m con raciones no alimentadas ad libitum.

El hacinamiento no parece afectar por igual a todas las vacas, así las vacas dominantes no alteran sus patrones de consumo independientemente del espacio de comedero, pero las vacas subordinadas se ven desplazadas cuando el espacio de comedero es escaso (DeVries et al., 2004; Huzzey et al., 2006). La presencia de separadores en la comedera reduce la competencia, y favorece a las vacas subordinadas especialmente cuando está hacinadas (Huzzey et al., 2006).

Incluso en alojamientos bien diseñados no es fácil el control del hacinamiento en el grupo de preparto. Es un grupo de vacas que están agrupadas por un período relativamente corto de tiempo y bajo un flujo continuo de animales. Cuando se diseña el establo el tamaño del grupo se basa en una estimación del número de vacas previstas en cada fase de la lactación. Sin embargo sabemos que en las áreas geográficas en que vivimos el número de partos fluctúa a lo largo del año debido a los bajos índices de preñez durante los meses de verano, preñando esas vacas con el retorno de condiciones climáticas más templadas. Esto tiene un impacto significativo en las vacas durante el período de transición ya que tenemos una mayor concentración de partos durante los meses de verano. Además, como parte del ciclo vicioso, debido a que más vacas paren durante le verano y las becerras se cubren por edad con el objetivo que paran con 24

meses, tenemos también más novillas pariendo durante el verano. Todo ello conlleva hacinamiento de los grupos de periparto justo en los meses de más estrés calórico.

Estrategias a seguir

Podemos clasificar en cuatro los tipos de manejo del flujo de vacas que se siguen en las ganaderías lecheras. Algunas ganaderías simplemente cambian vacas siguiendo el calendario, y permiten que el hacinamiento ocurra. Otras reducen el tiempo de duración en el grupo de preparto o de posparto, evitando el hacinamiento pero enfrentándose a otro tipo de consecuencias. Hay otras que crean grupos adicionales en períodos de muchos partos. Esto funciona si el grupo adicional es manejado como un grupo independiente, pero no si todas las vacas tienen que pasar por él. Finalmente, algunas tienen alojamientos que le permiten aumentar el tamaño de determinados grupos, no sobrecargando los lotes de transición, y aumentando la presión en grupos de vacas menos vulnerables. Quizás lo más adecuado es construir unos alojamientos que nos permitan manejar los extremos y no la media.

Diseño de instalaciones

Debemos diseñar los lotes de transición de tal manera que nos permitan hacer frente a las fluctuaciones normales en el número de partos. Los siguientes requerimientos mínimos de espacio se deberían de respetar durante el 90% del tiempo:

1. Al menos un cubículo por vaca.
2. Al menos 76 cm de espacio de comedero durante el pre y el posparto.
3. Al menos 61 cm de espacio de comedero para las vacas secas y las novillas.
4. Al menos 13 m^2 de cama caliente en las parideras.

Durante cinco semanas al año (10% del tiempo), se necesita reducir el tiempo que las vacas pasan en estos lotes para no hacinar los grupos.

Los pasos a seguir para calcular el tamaño de los lotes de transición son:

1.Calcular la media del número de partos semanal para el rebaño.

En ganaderías establecidas que están construyendo / expandiendo los alojamientos de transición podemos usar datos de partos del último año. En ganaderías nuevas podemos estimar que el número de partos será el 104% del tamaño del rebaño, y dividimos por 52 para obtener la media del número de partos semanal.

Por ejemplo, en una ganadería de 1000 vacas paren de media 20 animales por semana [(1000 x 1.04) / 52]

2.Calcular el 90 percentil del número de partos semanales en el rebaño (ganaderías nuevas) o el 140% del promedio semanal (ganaderías nuevas).

Por ejemplo, en una ganadería de 1000 vacas el 140% del promedio semanal serían 28 animales (20 x 1.4).

3.Determinar la estadía media deseada en cada lote de transición.

Factores ha considerar incluyen la duración del período seco, tiempo de incorporación de las novillas al preparto, duración del preparto, tiempo que pasan en las parideras, y duración de la estadía en el lote de posparto.

4.Calcular el número de cubículos en cada lote.

Por ejemplo, una lechería de 1000 vacas deseando alojar 28 animales por semana en un lote de posparto donde las vacas van a estar por 14 días debe de tener 56 cubículos [(28/7) x 14]

5.Calcular el espacio de comedera para el lote.

Sabiendo el número de vacas en cada lote y sabiendo nuestros objetivos de espacio de comedera por vaca, podemos calcular la longitud total del comedero.

Por ejemplo, una lechería de 1000 vacas necesitaría 76 m de comedero en el grupo de posparto.

En una ganadería de 1000 vacas construir instalaciones para alojar vacas durante el período de transición con una capacidad de un 140% requiere 40 cubículos adicionales. A un costo de $2000 por plaza, esto supone una inversión de $80,000 u $80 por vaca. Esta cantidad no es difícil de amortizar bien con una reducción en la tasa de eliminación, un incremento en la producción de leche, o una reducción de gastos de tratamientos. Considero que un tamaño adecuado de las instalaciones de transición es rentable desde un punto de vista económico y de bienestar animal.



Manejo reproductivo

Una estrategia a seguir es modificar el manejo reproductivo del rebaño a lo largo del año. Podemos acortar el tiempo de espera voluntario en vacas que paren al final de la primavera o distribuirlo en vacas que paren en el verano. Otra solución aún más atractiva es cubrir el mayor número de becerras posible durante el verano. Para conseguirlo debemos conocer bien el inventario de novillas, y en vez de tener como meta una edad promedio al primer parto, debemos manejar grupos de animales dependiendo no solo de su edad, sino de su tamaño, estatura y condición corporal. La sincronización de celos en las novillas puede ser también una herramienta útil a la hora de controlar los partos por mes. En situaciones donde el manejo de la recría es adecuado podemos reducir la edad de las novillas al primer parto sin repercusiones en producción.

Bibliografía

1. Brakel WJ, Leis RA. Impact of social disorganization on behavior, milk yield, and body weight of dairy cows. J Dairy Sci 1976; 59(4):716-721.
2. Cameron REB, Dyk PB, Herdt TH, Kaneene JB, Miller R, Bucholtz HF, Liesman JS, Vandehaar MJ, Emery RS. Dry cow diet, management, and energy balance as risk factors for displaced abomasums in high producing dairy herds. J Dairy Sci 1998; 81(1):132-139.
3. Corbett RB. Influence of days fed a close-up dry cow ration and heat stress on subsequent milk production in western dairy herds. J. Dairy Sci 2002; 85(Supl. 1):191-192. (Abstr.)
4. DeVries T J., von Keyserlingk MAG, and Weary DM. 2004. Effect of feeding space on the inter-cow distance, aggression, and feeding behavior of free-stall housed lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 87:1432–1438.
5. Grant RJ, and Albright JL. Effect of animal grouping on feeding behavior and intake of dairy cattle. J Dairy Sci 2001; 84(E. Suppl.):E156-E163.
6. Hasegawa N, Nishiwaki A, Sugawara K, Ito I. The effects of social exchange between two groups of lactating primiparous heifers on milk production, dominance order, behavior and adrenocortical response. Appl Anim Behav Sci 1997; 51(1-2):15-27.
7. Huzzey J M, DeVries TJ, Valois P., and von Keyserlingk MAG. 2006. Stocking density and feed barrier design affect the feeding and social behavior of dairy cattle. J. Dairy Sci. 89:126–133.
8. Kondo S, Hurnik JF. Stabilization of social hierarchy in dairy cows. Appl Anim Behav Sci 1990; 27(2):287-297.
9. Konggaard SP, Krohn CC. Performance of first-calf heifers in two different grouping systems. Rep. Nat. Inst. Anim. Sci. 1978. Copenhagen, Dinamarca.
10. Mashek DG, y Beede DK. Peripartum responses of dairy cows fed energy-dense diets for 3 or 6 weeks prepartum. J. Dairy Sci 2001; 84:115-125.
11. Miller K, Wood-Gush DGM. Some effects of housing on the social behavior of dairy cows. Anim Prod 1991; 53:271-278.
12. Phelps A. Vastly superior first lactations when heifers fed separately. Feedstuffs. Mayo 1992; 11:11-13.
13. Robinson PH, Moorby JM, Arana M, Hinders R, Graham T, Castelanelli L, y Barney N. Influence of close-up dry period protein supplementation on productive and reproductive performance of Holstein cows in their subsequent lactation. J. Dairy Sci 2001; 84:2273-2283.
14. von Keyserlingk MAG, Olenick D, Weary DM. 2008. Acute behavioural effects of regrouping dairy cows. J. Dairy Sci. 91: 1011-1016.

Neonatal calf diarrhea (NCD) and related disorders

Lorenz I., School of Agriculture, Food Science and Veterinary Medicine, University College Dublin, Belfield, Dublin 4, Ireland.
Klee W., Clinic for Ruminants, Ludwig-Maximilians-Universität Munich, Sonnenstr. 16, 85764 Oberschleissheim, Germany.

Epidemiology

Data on the incidence of NCD vary depending on the way diarrhea is defined and detected. In two studies (Katikaridis, 2000; Biewer, 2001) the incidence of NCD reported by farmers in two practice areas in Bavaria was 15.4 and 28.4 %, respectively. In a more recent study, 205 calves in 25 farms in Upper Bavaria were examined daily for the first14 days of their lives by a veterinarian. Incidence of diarrhea (defined as loose feces [flowing through the spread fingers of a gloved hand] on at least one examination) among all calves was 47.8 % (95 % confidence interval 40.8 – 54.9 %). Incidence in individual farms ranged from 0 to over 90 % (Girnus, 2004).
Outbreaks of NCD seem to come and go without apparent reason, but while they last, they can be a severe psychological stress for the personnel concerned, who, instead of looking forward to each new calf, can be full of apprehension and anxiety.

Diagnosis

Clinical diagnosis of NCD seems trivial. However, depending on the housing of the calves, timely detection may not be so trivial, as watery feces may disappear unnoticed in the straw litter in calf boxes. The facts that mixed infections are common, all the agents associated with NCD can also be found in healthy calves (albeit perhaps to lesser degrees), shedding may occur during a short period only, no causal therapy exists for viral infections, and the potentially life-threatening pathophysiological consequences of severe



diarrhea are largely independent of its "cause", make the attempt to establish an etiological diagnosis in the individual sick calf of questionable value. Also, detection of one of the common agents in the feces of one or several diarrheic calves does not mean that a "crypto problem" or a "rotavirus problem" has been confirmed as THE cause of an outbreak of NCD on a farm. Commercial field tests for the rapid detection of E. coli attachment factor K99 (F 5), rotavirus, coronavirus, and cryptosporidia oocysts are available, however.

Fortunately, the English language offers a way to differentiate between really new (in the sense of not having existed before) and novel, meaning newly discovered. The difference between the two is important.

The discovery of viruses, like rotavirus and coronavirus and, more recently, Noroviruses (Oliver et al., 2007) and Bovine Torovirus (Haschek et al., 2006), and the re-discovery of cryptosporidia, that caused neonatal diarrhea in various species caused considerable excitement in the veterinary scientific world until it turned out that they had probably been around forever.

In the last years *Clostridium difficile* was spotlighted, since strains with characteristics that are known to cause severe disease in humans were detected in diarrheic as well as in healthy calves (Rodriguez-Palacios et al., 2006). However, due to the fact that is was not possible to induce diarrhea with this pathogen at least in calves with normal immunity, it can be concluded that calves might serve as a reservoir for *Clostridium difficile*, but that it most probably plays no major role in calf diarrhea (Rodriguez-Palacios et al., 2007).

It does not take a great deal of prophetic talent to predict that microbiologists will continue to detect "new" or "novel" germs "associated" with NCD.

Pathogenesis

While hypersecretion due to the action of E. coli enterotoxins is well known as a pathogenetic mechanism of diarrhea, it had long been assumed that osmotic mechanisms play the major role in viral diarrhea. However, a study by Doll (1992) revealed that hypersecretion plays an important part in diarrhea associated with viral infections, as well. This has practical implications, as "starving" of diarrhea is no therapeutic option, no matter what the cause may be.

Pathophysiology

Dehydration

Depending on the type of dehydration (isotonic or hypotonic) the extracellular space either sustains the full amount of fluid losses, or even loses additional water to the intracellular space. Clinical assessment of the loss of body fluid has been described many times, but studies directed at the quantification of changes occurring in relation to varying degrees of dehydration are rare. Recently, there have been two studies addressing this question. In experimentally dehydrated calves the extent of enophthalmos was found to be the best predictor of dehydration. Degree of dehydration in percent of body weight can be estimated by multiplying the enophthalmos in mm by 1.71 (Constable et al., 1998). In calves with naturally acquired diarrhea Niethammer (2007) found dehydration of 10.0 ± 3.8 % of body weight, with a maximum of 20 %, as assessed by weight gain following infusion of 30 % of body weight within 24 hours. Dehydration correlated best with enophthalmos and with skin tent duration over the thorax.

Acidosis

For decades, loss of bicarbonate from small intestinal secretions was thought to be the most important pathogenetic mechanism of metabolic acidosis in diarrheic calves. This assumption was quite convenient, as correction only required the application of bicarbonate. During the last decade, it has been shown that accumulation of D-lactic acid (produced by ruminal and/or intestinal bacteria, and subsequently absorbed) is a regular occurrence in sick calves with and without diarrhea, and that it contributes heavily to the genesis of (so-called high anion gap) acidosis, and, in particular, to the clinical picture once attributed to acidosis per se (Lorenz, 2004).

Azotemia, or elevation of the blood levels of urea and creatinine, occurs regularly in NCD, and is not a problem in itself, as neither substance is toxic, but rather indicates a situation that requires intervention. There are two mechanisms that increase the levels of both substances (reduction in distribution space and reduction of glomerular filtration rate, both due to dehydration), but a third one that only affects the level of urea (increase in the rate of diffusion of urea molecules out of tubular lumen into the renal interstitium

with low urine flow, also due to dehydration). Therefore, an increase in the urea:creatinine ratio (normally about 50:1, if expressed in µmol/l) is a hallmark of prerenal azotemia. Acute renal failure can be detected in calves with NCD, depending on the criteria used, but it is reversible in many cases, and hence not associated with a particularly bad prognosis (Klee, 1985).

Hyperkalemia

About 98 % of body potassium is intracellular, which makes it the most important intracellular cation by far. Even minor shifts of potassium from the intracellular to the extracellular space, as can occur in response to acidosis, can cause a considerable rise in the extracellular K level, which can have deleterious consequences, because the concentration gradient between intracellular and extracellular potassium concentration is vital for the function of cell membranes. It has been hypothesised that acute hyperkalemia might be a cause of death in neonatal diarrhea (Fisher, 1966; Fisher and McEwan, 1967). Hyperkalemia may exist despite a negative total body potassium balance. Our clinical impression is that calves with hyperkalemia are more excitable than others, and tend to collapse easily when restrained and handled. No clear recommendation exists concerning the inclusion of potassium in infusion solutions for calves with NCD.

Treatment

The aim of therapy is help the calf to survive the episode of diarrhea in as good a shape as possible. Treatment involves replacement of pathological losses, correcting acidosis, meeting nutritional requirements, tender loving care; and, in some instances, the administration of antibiotics.

Fluid therapy

Only a few guidelines will be given here: it is better be on the safe side and administer more fluids than losses estimated on the basis of clinical signs of dehydration. It is better by far to administer an adequate volume of a solution with a less than perfect composition than an insufficient volume of a perfectly balanced solution. Calves tolerate the infusion of 30 % of body weight within 24 hours (Niethammer, 2007), but a volume of 10 to 20 % of body weight can be regarded as effective in most cases. Often, rehydration can be shifted to oral rehydration fluids after an initial infusion of about 2 litres.

Correction of acidosis

Even though central nervous impairment in diarrheic calves is mostly due to D-lactatemia rather than acidosis, fortunately, the degree of acidosis and D-lactate concentration are closely correlated, so that in practice, clinical signs still give valuable information concerning the degree of acidosis.

Administration of sodium bicarbonate is still the treatment of choice, since after correction of acidosis D-lactate values usually drop to clinically insignificant values within one day (Lorenz and Vogt, 2006).

Table 1 shows recommendations for the prediction of severity of acidosis in calves with neonatal diarrhea, and for the required amount of sodium bicarbonate. These figures are based on an assumed factor ("sometimes interpreted as "distribution space", which it cannot be, as empirically determined values are sometimes greater than 1 l/kg) of 0.6 l/kg. The route of administration should be intravenous in severely dehydrated or moderately to severely acidotic calves. Correction of acidosis by infusion can be accomplished in one hour without adverse effects (Haase, 2006). In calves that still drink (or can be safely drenched), correction of acidosis is also possible by oral administration of around 1.5 to 5 g of sodium bicarbonate per kg body weight in warm water (Wulf, 2006; Zimmermann, 2006).



Table 1: Prediction of severity of acidosis on the basis of clinical signs

Clinical signs	Degree of acidosis (Base deficit, BD)	Therapy / required amount of sodium bicarbonate (40 kg calf)
Alert, standing, strong sucking reflex	no acidosis	oral electrolyte solutions
Tired, almost secure standing	mild (BD about 10 mmol/l)	20 – 30 g
Tired or listless, wobbly standing, has to be helped to stand up	moderate (BD 10 – 20 mmol/l)	30 – 40 g
Apathetic to comatose, sternal or lateral recumbency	severe (BD over 20 mmol/l)	40 – 60 g

Meeting nutritional requirements

There is no apparent reason to assume that the nutrient requirements of diarrheic calves are diminished. Since the digestive and absorptive capacity may be reduced in viral diarrhea, it would seem more logical to increase the amount of milk fed. We did precisely that in a study involving 60 calves with neonatal diarrhea aged up to 21 days. One half of the calves were offered milk in three meals with a total of 13 % of body weight, while the other half was offered milk ad libitum in three meals. Both groups received oral rehydration solution at 9.5 % of body weight per day, and infusions, if deemed necessary. There was no difference in the duration of diarrhea, but the calves in the group fed ad lib gained significantly more while in the clinic than the calves of the other group (607 g vs. 230 g per day) (Hinderer et al., 1999).

Healthy calves will drink more than we usually feed them if they have the chance. The highest daily intake in the study mentioned above was 29.6 % of body weight, and the greatest daily volume consumed was 13.2 litres. Those values are certainly extraordinary, but daily milk rations below 14 % of body weight mean that we are partially starving calves, and we have traditionally done so.

Tender loving care (TLC) often has as much importance for the survival of the calf as medical intervention. Diarrheic calves should be kept warm and dry, and be patiently encouraged to drink several times a day. It is not the calf's fault that it fell sick and that the farm's personnel may be overworked already. Calves fed by the owners' wives had a significantly lower incidence of NCD than calves that were fed by different persons (Katikaridis, 2000). Also, incidence of NCD was significantly lower on farms where the temperature of milk to be fed to calves was measured (as opposed to being merely guessed), which can be interpreted as an indicator of the quality of care the calves receive (Katikaridis, 2000, Biewer, 2001).

Antibiotic therapy

Antibiotics are still frequently used for the treatment of uncomplicated and undifferentiated diarrhea in calves. Since indiscriminate use of antibiotics promotes the selection, and subsequent proliferation, of antibiotic-resistant strains of bacteria, this general practice has been scrutinised. The recent detection of calves as a potential reservoir for *Clostridium difficile* adds fuel to this discussion, since the correlation between antibiotic treatment and severe disease in humans is without question.

The benefit of antimicrobial treatment in neonatal calf diarrhea has recently been reviewed (Constable, 2004). Routine use of oral and injectable antibiotics cannot be recommended in calves without systemic illness. In calves with diarrhea and severe systemic involvement antimicrobial therapy must be pondered carefully as intercurrent disease is not uncommon and the risk of bacteremia or septicemia is increased. High risk calves in this respect are under 5 days of age, have failure of passive transfer, are recumbent, and have no sucking reflex (Lofstedt et al., 1999). In this indication parenteral administration of broad-spectrum beta-lactam antimicrobials (ceftiofur, amoxicillin or ampicillin), potentiated sulfonamides, or

fluoroquinolones (where permitted) is recommended (Constable, 2004).

Prevention

Prevention must be aimed at causal factors that can be changed, in particular susceptibility of calves, and infection pressure.

Vaccination of dams during the dry period has been shown to increase the level of specific antibodies in their colostrum. As the success of this strategy depends on intake of adequate volumes of colostrum during the first days of life, its effect is sometimes difficult to separate from that of simple improvement of colostrum management.

Colostrum management

About 40 years ago, Prof. E.W. Fisher made the statement that the only way one can kill a calf that had adequate colostrum intake was to shoot it. We would like to mitigate this assertion by saying that until proven otherwise, any drastic increase in disease incidence and mortality in neonatal calves is most likely an indication of deficiencies in colostrum management. This is a sensitive topic, as it implies serious mistakes on the part of the farm personnel. Therefore monitoring the level of passive immunity in a series of calves is recommended. This can be done in various ways, e.g. by measuring serum protein content with a refractometer (a cut-off of 55 g/l has been suggested) or by measuring serum GGT activity between 48 and 72 hours after birth (any level below 200 U/L should be considered to indicate partial or total failure of passive transfer). Transfusion of 1 litre of maternal blood should be considered for the calves in question, and improvement of colostrum management should be implemented.

The method of colostrum administration has been the subject of some debate, since it was shown that leaving the calf with its mother for some time was no failsafe way to ensure intake of an adequate volume of colostrum, and that drenching of 3 to 4 litres of colostrum soon after birth did provide adequate levels of immunoglobulins in most cases (Besser et al., 1991). This procedure raises at least three questions: 1. Is routine force-feeding of calves justifiable from a medical point of view? (It is against German animal welfare legislation.) Will farmers resort to this procedure in cases of anorexia in older calves, thus inducing ruminal drinking, and adding another problem to the calf's existing one(s), rather than consulting their veterinarian who will diagnose, and treat, the underlying problem? Can adequate levels of immunoglobulins be attained by offering colostrum to neonatal calves in nipple buckets? The last question was addressed in a recent study. Drenched calves attained higher levels of immunoglobulins, but there was no difference in the incidence of the most important diseases between the groups (Ebert, 2007).

The key to *reducing the risk of infection* is cleanliness of the calving area, calf housing, and feeding equipment. So it is not amazing that the use of individual maternity areas and regular removal of bedding from the maternity area between calvings reduces the risk of NCD in the calf (Curtis et al., 1988; Frank & Kaneene, 1993). Leaving a calf with its dam for more than an hour has been found to be associated with an increase in risk of NCD (Trotz-Williams et al., 2007). Calves should be housed individually in the first weeks of life, preferable in fibreglass hutches, where the incidence of diarrhea is lower than in individual calf pens (Biewer, 2001; Girnus, 2004). The advantage of individual hutches is that high-pressure cleaning can easily be performed, and hutches can be moved to new areas between calves. The study of Girnus (2004) has shown that the benefits of housing calves in hutches are easily lost if more than one calf is housed in one hutch.

Complications

Septicemia is an often fatal complication that looms in the background when very young calves suffer from severe diarrhea, but its diagnosis poses considerable difficulties. Risk groups and prevention has been discussed previously in the context of antibiotic treatment.

Calves with obvious involvement of the central nervous system (clots of fibrin in the anterior chambers of the eye, miosis, strabism, opisthotonus, inappropiate tail wiggling are signs of bacterial meningitis) have a poor prognosis, as do those with obvious swelling of several joints.

Ruminal drinking can occur for several reasons. Primary dysfunction of the oesophageal groove reflex is probably rare in very young calves. More frequently, it will occur because of weakness due to an underlying disease. Drenching of inappetent calves induces ruminal drinking. Regardless of the causes, ruminal drinking



can develop into a vicious cycle, and lead to severe ruminitis which is obviously painful, and sometimes fatal. Ruminal acidosis is to be suspected if succussion of the left flank produces splashing sounds that are clearly audible without a stethoscope, and the pH of a sample of ruminal fluid is below 6.0. In those cases, ruminal fluid will usually flow spontaneously from an oesophageal tube passed into the rumen. In many cases, ruminal drinking will stop following successful treatment of the underlying disorder. If ruminal acidosis, and anorexia, persist, and especially if the ruminal fluid contains caseous clots, or even sloughed reticular epithelium, repeated flushing of the rumen with warm water is indicated (Friedrich, 2001).
The degree of *kachexia* in some of the calves can sadden the heart. The belief that diarrhea must be treated by some sort of diet (in the sense that nutrient intake is reduced and/or altered), irrespective of the causes, seems to be deeply entrenched in folk medicine and has led to some very detrimental results in the case of neonatal calf diarrhea. In this context it has to be emphasised that the concept of oral rehydration is one of the most brilliant inventions in the history of medicine. However, the labelling of most of oral rehydration solutions for calves as "diet solutions" to use instead of milk, especially if combined with the erroneous assumption that those solutions are a remedy against diarrhea, has certainly cost many calves' lives. Furthermore, it is probably safe to assume that starving calves can mount less resistance to infections than well nourished ones.

REFERENCES

- **Besser T.E., Gay C.C., Pritchett L.** (1991) Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. J. Am. Vet. Med. Assoc. 198: 419-423
- **Biewer C.** (2201) Epidemiologiosche Erhebungen in einem Praxisgebiet in Franken zu nicht-infektiösen Faktoren mit Einfluss auf Inzidenz und/oder Letalität des akuten Durchfalls junger Kälber (Epidemiological investigations of non-infectious factors with influence on incidence and/or case mortality of acute diarrhea of young calves in a veterinary practice in Frankonia). Thesis, Munich.
- **Constable P.D.** (2004) Antimicrobial use in the treatment of calf diarrhea. J. Vet. Intern. Med. 18: 8-17.
- **Constable P.D., Walker P.G., Morin D.E., Foreman J.H**. (1998) Clinical and laboratory assessment of hydration status of neonatal calves with diarrhea. J. Am. Vet. Med. Assoc. 212, 991-996
- **Curtis C.R., Scarlett J.M., Erb H.N., White M.E.** (1988) Path model of individual-calf risk factors for calfhood morbidity and mortality in New York Holstein herds. Prev. Vet. Med. 643-62.
- **Doll K.** (1992) Untersuchungen über die Bedeutung unspezifischer Faktoren in der Pathogenese der Diarrhoe beim Kalb. (Investigations on the importance of unspecific factors in the pathogenesis of diarrhea in calves) Thesis, Munich.
- **Ebert A.** (2006) Vergleichende Untersuchungen zum Einfluss des Kolostrum.Drenchens bei neugeborenen Kälbern auf Immunstatus und Gesundheit (Comparative studies of the influence of drenching of colostrum on the immune status and health of neonatal calves). Thesis, Munich.
- **Fisher E.W.** (1965) Death in neonatal calf diarrhea. Br. Vet. J. 121: 132-138.
- **Fisher E.W., McEwan A.D.** (1967) Death in neonatal calf diarrhea. Pt. II. The role of oxygen and potassium. Br. Vet. J. 123: 4-7.
- **Frank N.A., Kaneene J.B.** (1993) Management risk factors associated with calf diarrhea in Michigan dairy herds. J. Dairy Sci. 76:1313-1323.
- **Friedrich A.** (2001) Untersuchungen bei Kälbern mit Pansenazidose infolge Pansentrinkens – insbesondere ph-Wert-Dynamik und klinischer Verlauf (Investigations in calves with ruminal acidosis due to ruminal drinking, with special regard to the dynamics of pH and clinical course). Thesis, Munich.
- **Gareis A.** (2003) Die Bedeutung von Glukosezusatz zur Infusionslösung bei Kälbern mit Neugeborenendiarrhoe (The importance of glucose in the infusion for calves with neonatal diarrhea). Thesis, Munich.
- **Girnus, D.** (2004) Inzidenz und Verlauf von Neugeborenendurchfall bei Kälbern in einem Praxisgebiet in Oberbayern (Incidence and course of neonatal calf diarrhea in a veterinary practice in Upper Bavaria). Thesis, Munich.
- **Haase G.** (2006) Vergleich unterschiedlicher Strategien bei der Azidosetherapie von Kälbern mit Neugeborenendurchfall (Comparison of different strategies for correction of acidosis in calves with neonatal dirrhoea). Thesis, Munich.

- **Haschek B., Klein D., Benetka V., Herrera C., Sommerfeld-Stur I., Vilcek S., Moestl K., Baumgartner W.** (2006) Detection of bovine torovirus in neonatal calf diarrhea in Lower Austria and Styria (Austria). J. Vet. Med. B 53:160-165
- **Hinderer A., Seemann G., Klee W.** (1999) Untersuchungen zur Auswirkung von Ad-libitum- und rationierter Milchtränkung auf Krankheitsverlauf und Körpermasseentwicklung bei jungen Kälbern mit Durchfall. (Investigations on the effect of ad lib and restricted milk feeding on the course of illness, and body weight in young calves with diarrhea.) Dtsch. tierärztl. Wschr. 106: 14-17.
- **Joachim A., Krull T., Schwarzkopf J., Daugschies A.** (2003) Prevalence and control of bovine cryptosporidiosis in German dairy herds. Vet. Parasitol. 112:277-288.
- **Katikaridis M**. (2000) Epidemiologische Erhebungen zur Kälberdiarrhoe in einem Praxisgebiet in Oberbayern (Epidemiological investigations of neonatal calf diarrhea in a veterinary practice in Upper Bavaria). Thesis, Munich.
- **Klee W**. (1985) Untersuchungen über die Nierenfunktion bei gesunden und bei an akutem Durchfall erkrankten Kälbern (Investigations of renal function in healthy and diarrheic calves). Thesis, Munich.
- **Lofstedt J., Dohoo I.R., Duizer G.** (1999) Model to predict septicemia in diarrheic calves. J. Vet. Intern. Med. 13:79-80.
- **Lorenz I.** (2004) Investigations on the influence of serum D-lactate levels on clinical signs in calves with metabolic acidosis. Vet. J. 168:323-327.
- **Lorenz I., Vogt S.** (2006) Investigations on the association of D-lactate blood concentrations with the outcome of therapy of acidosis, and with posture and demeanour in young calves with diarrhea. J. Vet. Med. A 53:490-494.
- **Niethammer F.M.** (2007) Untersuchungen zur Dehydratation bei Kälbern mit akuter Diarrhoe unter Berücksichtigung ausgewählter klinischer und labordiagnostischer Parameter (Investigations on dehydration in neonatal calves with acute diarrhea with special regard to selected clinical and laboratory parameters). Thesis, Munich
- **Oliver S.L., Wood E., Asobayire E., Wathes D.C., Brickell J.S., Elschner M., Otto P., Lambden P.R., Clarke I.N., Bridger J.C.** (2007) Serotypes 1 and 2 bovine noroviruses are endemic in UK and German cattle. J. Clin. Microbiol. Jun 27; [Epub ahead of print]
- **Rodriguez-Palacios A., Stämpfli H.R., Duffield T., Peregrine A.S., Trotz-Williams L.A., Arroyo L.G., Brazier J.S., Scott Weese J.** (2006) *Clostridium difficile* PCR Ribotypes in calves, Canada. Emerg. Infect. Dis. 12:1730-1736.
- **Rodriguez-Palacios A., Stämpfli H.R., Stalker M., Duffield T., Scott Weese J.** (2007) Natural and experimental infection of neonatal calves with *Clostridium difficile*. Vet. Microbiol. 124:166-172.
- **Trotz-Williams L.A., Wayne Martin S., Leslie K.E., Duffield T., Nydam D.V., Peregrine A.S. (**2007) Calf-level risk factors for neonatal diarrhea and shedding of Cryptosporidium parvum in Ontario dairy calves. Prev. Vet. Med. Jun 27; [Epub ahead of print]
- **Wulf S.** (2006) Untersuchungen zur oralen Azidosetherapie bei Kälbern mit Neugeborenendurchfall. (Investigations of oral treatment of acidosis in calves with neonatal diarrhea). Thesis, Munich.
- **Zimmermann D.** (2006) Die Behandlung metabolischer Azidose bei Kälbern durch orale Gaben von Natriumbikarbonat unter Berücksichtigung des Pansensaft-pH-Wertes (Treatment of systemic acidosis in calves by oral administration of sodium bicarbonate in consideration of the hydrogen ion concentration of the ruminal fluid). Thesis, Munich.





ACIDOSIS RUMINAL Y TIMPANISMO: ¿QUÉ SABEMOS REALMENTE?

Maria Devant
Unitat de Remugants, IRTA

ACIDOSIS RUMINAL

Definición académica

Desde el punto de vista clínico se pueden diferenciar dos tipos de acidosis: aguda o subclínica. La acidosis clínica suele ser accidental y esporádica; suele presentarse cuando los rumiantes tienen acceso a una gran cantidad de hidratos de carbono de fácil fermentación (HCFF) los cuales no están habituados a consumir. Los síntomas clínicos son deshidratación, diarrea, dolor, y las posibilidades que el animal muera son muy elevadas. La acidosis subclínica como indica su nombre no presenta síntomas aparentes y es difícil de diagnosticarla. A nivel ruminal se diferencian por los valores de pH alcanzados y la concentración de ácido láctico; en la acidosis aguda, el pH ruminal suele ser inferior a 5 y la concentración de ácido láctico elevada (superior a 50 mM), mientras que en la acidosis subclínica el pH ruminal se suele encontrar entre 5 y 5.6 (Nagaraja y Titgemeyer, 2007) y los principales ácidos presentes son los ácidos grasos volátiles (AGV). En la Tabla 1 se resumen los principales parámetros que se pueden observar en ambos casos.

Definición de campo

Como la acidosis aguda es esporádica y accidental, este artículo se centrará en la acidosis ruminal subclínica. El correcto diagnóstico diferencial de la acidosis subclínica es vital para conocer la incidencia y las pérdidas que puede causar.

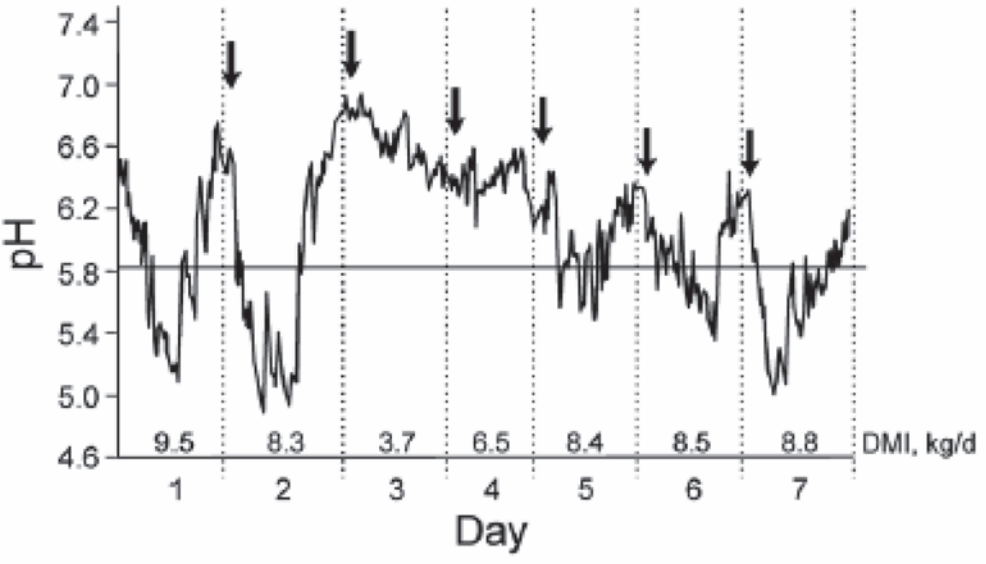
La definición académica de acidosis subclínica es clara, pero teórica, porque en la práctica ¿cómo se diagnostica? Existen un conjunto de indicadores de acidosis subclínica:



-consumo reducido
-producción subóptima
-animal "parado"
-rumenitis y abscesos hepáticos
-heces líquidas, diarreas de poca duración y recidivantes
-caquexia
-laminitis

Todos estos síntomas son difusos e inconsistentes, compatibles con otras patologías, difíciles de medir en la práctica o algunos que se detectan cuando los animales ya están sacrificados.
Fulton et al. (1979) observaron un descenso del consumo a los 4 días de aumentar el aporte de HCFF e indicaron que el consumo de pienso se recuperaba cuando el pH ruminal volvía a superar el valor de 5.6; sin embargo, el elevado efecto que tiene el aumento del consumo de HCFF sobre el descenso del consumo no fue proporcional a los cambios que este provoca en el pH ruminal. Parece ser que el consumo reducido observado cuando aumenta el consumo de HCFF se debe a un aumento de la osmolalidad ruminal, es decir tras la ingestión de una elevada HCFF aumenta la concentración de AGV, minerales, ácido láctico y glucosa en el rumen (Owens et al., 1998). Debido al aumento de la osmolalidad ruminal se estimulan los osmoreceptores de la pared ruminal y en consecuencia el consumo de alimento desciende (Carter y Grovum, 1990), descendiendo la fermentación ruminal y recuperándose la osmolalidad, tras la recuperación de la osmolalidad se recupera en consumo; pero el consumo total en un periodo es menor (Gráfico 1). También se ha observado que cuando aumenta la osmolalidad ruminal desciende la fermentación ruminal, con lo cual también se recupera la osmolalidad (Owens et al., 1998). El descenso del consumo es fácil de observar en animales de estabulación fija o estabulados individualmente, pero muy difícil de detectar en animales en estabulación libre, tal y como se encuentran los terneros de cebo en condiciones comerciales.

Gráfico 1. Evolución del consumo y el pH en terneros alimentados con dietas ricas en cebada (Schwartzkopf-Genswein et al., 2003).



La principal consecuencia del descenso del consumo es la producción subóptima Schwartzkopf-Genswein et al. (2003) estimaron que la acidosis ruminal subclínica causaba pérdidas de 15 a 20 € por animal debido a una reducción de la eficiencia. Sin embargo, muchas veces detectamos este descenso de producción al final del cebo, tras el sacrificio de los animales, pues no se suele monitorizar el peso de los terneros durante el cebo.
La laminitis es un síndrome multifactorial, tradicionalmente se ha asociado a la acidosis ruminal (Nocek,

1997). Cuando el pH desciende se pueden absorber a través de la pared ruminal sustancias vasoactivas como la histamina o endotoxinas bacterianas que causan vasoconstricción y dilatación destruyendo la microcirculación del corion de la pezuña, ello conlleva a una isquemia y necrosis de la unión entre tejidos, incluso puede rotar la falange distal causando problemas podales permanentes. Además cuando la acidosis ruminal desencadena una acidosis metabólica, y aumenta la circulación digital y el pulso sanguíneo. Debido al aumento la osmolalidad ruminal cuando los animales consumen elevadas cantidades de HCFF hay un trasvase de agua al rumen aumentando también el hematocrito. La laminitis difícilmente se ha reproducido experimentalmente con infusiones de ácido láctico en el rumen o con la adición de HCFF directamente en el rumen. Sin embargo, Thoefner et al. (2004) administrando por intubación esofágica oligofructosa observaron un descenso de las contracciones ruminales, un descenso del pH ruminal, síntomas de acidosis metabólica, diarreas, descensos de consumo, y aumentos de consumo de agua y aparición de cojeras y lesiones microscópicas de laminitis. Ello indica que la acidosis ruminal aguda desencadenaría una acidosis metabólica. Lo que no se conoce es el efecto de la acidosis subclínica o el efecto de episodios repetidos donde el pH ruminal baja por debajo de 5 sobre la aparición de laminitis. La laminitis es un grave problema de bienestar (dolor) y reduce el consumo, las laminitis de origen nutricional suelen estar localizadas en las patas delanteras.

Tabla 1. Comparación entre la acidosis aguda y subclínica en terneros de cebo (adaptado Nagaraja y Titgemeyer, 2007).

	Aguda	Subclínica
Síntomas claros	Presentes, intoxicación, deshidratación	Ausentes o confusos
Riesgo mortalidad	Si	No
Cambios ruminales		
pH ruminal	< 5.0	5.0 a 5.6
Ácidos totales	Aumento	Aumento
Ácido láctico	Elevado (50 a 12 m*M*)	Normal (0 a 5 m*M*)
AGV	Bajos (< 100 m*M*)	Elevados (150 a 225 m*M*)
Bacterias Gram-negativas	Descenso	Ningún cambio
Bacterias Gram-positivas	Aumento	Ningún cambio
Streptococcus bovis	Aumento al inicio	Ningún cambio
Lactobacillus spp.	Aumento	Aumento
Bacterias productoras de ácido láctico	Aumento	Aumento
Bacterias utilizadoras de ácido láctico	Descenso	Aumento
Protozoos ciliados	Ausentes o descenso	Ausentes o descenso
Etanol	Aumento	No detectado
Aminas	Aumento	No detectado
Endotoxinas	Aumento	Aumento
Cambios en sangre		
pH	Descenso (< 7.35)	Normal o ligero descenso
Àcido láctico	Aumento (pp D)	Normal
Bicarbonato	Descenso (< 20 mEq/L)	Normal o descenso transitorio
Hematocrito	Aumentado (> 40%)	Normal (30 a 35%)
Endotoxinas	Si	Si
Mediadores inflamación	Si	Si
Secuelas		
Rumenitis	Si	Si
Laminitis	Si	*Si*
Abcesos hepáticos	Si	Si
Polioencefalomalacia	Si	Si

Cuando los animales consumen elevadas cantidades de HCFF pueden estar "parados" o sufrir hipomotilidad ruminal. Dicha hipomotilidad se ha asociado a un descenso del pH ruminal o la producción de endotoxinas, sustancias tóxicas que forman parte de los microorganismos Gram-negativos (Huber, 1976). Gozho et al.



(2005 y 2006) observaron que al aumentar en terneros de cebo la cantidad de concentrado en la ración la concentración de lipopolisacáridos (endotoxinas) en el rumen aumentaba. Estos autores observaron estos aumentos de lipopolisacáridos en el rumen tanto cuando cambiaban bruscamente de una ración de forraje a una de concentrado como cuando el cambio a una ración de concentrado se realizaba de forma gradual. Todo ello parece indicar que terneros que consumen elevadas cantidades de concentrado tienen una elevada concentración de endotoxinas (lipopolisacáridos) que podrían causar hipomotilidad ruminal. Sin embargo, tan sólo existe un trabajo donde se contraste la concentración de endotoxinas con hipomotidad (Eades, 1997), y faltan más evidencias científicas para confirmar dicha relación.

Los abscesos hepáticos causan pérdidas económicas, pues son MER e indirectamente en casos graves pueden reducir la capacidad hepática empeorando el consumo, crecimiento y el índice de conversión (Nagaraja y Chengappa, 1998). La cantidad y número de abscesos hepáticos puede variar. Cuando la integridad física de la pared ruminal se rompe (rumenits o hiperqueratosis) como consecuencia de un elevado consumo de HCFF y su fermentación, bacterias como *Fusobacterium necrophorum* llegan vía porta al hígado y causan abscesos hepáticos. *Fusobacterium necrophorum* suele ser la principal bacteria aislada en los abscesos, aunque suele ir acompañada de otras bacterias. *Fusobacterium necrophorum* forma parte de la flora ruminal, existen cepas con diferentes virulencias, utiliza preferentemente ácido láctico y su concentración ruminal aumenta al pasar de una dieta forrajera a una dieta rica en HCFF, y se ha aislado de paredes ruminales lesionadas. Sorprendentemente es sensible a pH bajos (<5.6), pero parece ser que sobrevive en las paredes ruminales (Nagaraja y Titgemeyer, 2007). La rumenitis, hiperqueratosis y lesiones en la pared ruminal suelen estar asociadas a dietas ricas en HCFF (Nocek et al., 1984) y con la presencia de abscesos hepáticos (Nagaraja y Chengappa, 1998). Emmanuel et al. (2007) observaron que a pH muy bajos (4.5) y elevadas concentraciones de endotoxinas se perdía la integridad de la pared ruminal (absorción de manitol), parece ser que ambos (pH y endotoxinas) aumentan la síntesis de óxido nítrico que causa la muerte celular. Los terneros frisones y los machos tienen mayor incidencia de abscesos hepáticos, hecho que Nagaraja y Chengappa (1998) lo asocian a un mayor consumo de HCFF. Aunque sea a posteriori y a modo de establecer futuras pautas correctoras ir al matadero y analizar la pared ruminal de los animales cebados y relacionarlo con la presencia de abscesos hepáticos puede guiarnos acerca de si los abscesos hepáticos están o no relacionados con la fermentación ruminal, es decir, si son o no de origen nutricional. Sin embargo, Nagaraja y Chengappa (1998) comentan que no se han podido establecer relaciones entre pautas de manejo y nutricionales que teóricamente predisponen a padecer acidosis ruminal y la aparición de abscesos hepáticos. El hecho el que uso de monensina (que teóricamente evita que el pH ruminal descienda) no sea efectivo para reducir los abscesos hepáticos es otra evidencia que la relación entre acidosis ruminal y aparición de abscesos no es clara. Ello plantea que hay que analizar otras posibles causas de abscesos hepáticos.

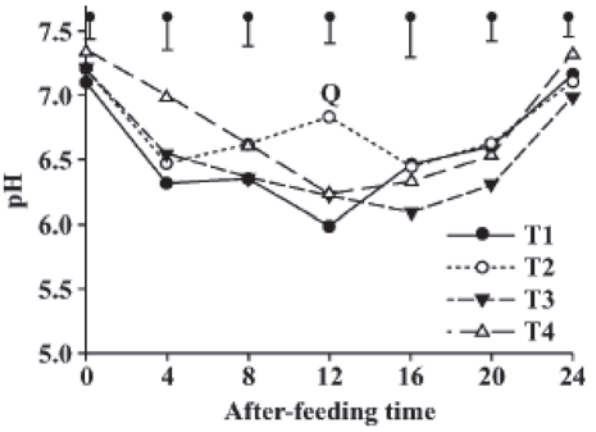
Las diarreas asociadas a acidosis ruminal son diarreas de poca duración y recidivantes, brillantes y acuosas, y cesan cuando el pH ruminal aumenta, y la motilidad ruminal y el consumo se recuperan (Huber, 1976; Thoefner et al, 2004). Thoefner et al. (2004) describieron que en animales que padecían acidosis ruminal aguda también había lesiones en el ciego y en el colon.

Diagnóstico

Para establecer un diagnóstico definitivo se debe confirmar que el pH ruminal es un pH bajo. En condiciones de campo o para estudios donde no se dispone de animales canulados se puede extraer líquido ruminal vía esofágica o a través de una rumenocentesis. El líquido ruminal extraído vía esofágica puede contaminarse con saliva y el pH suele ser 0.44 a 0.35 unidades superiores que los pH obtenidos por rumenocentesis (Duffield et al., 2004), si se realiza la extracción vía esofágica se recomienda descartar los primeros 200 mL. ¿Cuando se debe realizar? ¿A cuantos animales? Entre las 2 y 4 horas postoferta en vacas suele descender el pH del rumen (Nordlund y Garret, 1994) sin embargo, en condiciones comerciales no sabemos cuando han consumido los animales. A pesar de que en condiciones comerciales están *ad libitum* y la ratio animales:comederos no es 1 a 1, es decir, puede haber competencia, suelen seguir la conducta crepuscular, comen a primera hora del día y al final del día (Ray y Roubicek, 1971). Una opción es analizar cuantos más animales mejor, y siempre a la misma hora para poder comparar los datos, por ejemplo a partir de las 4 horas tras salida del sol. Se aconseja analizar el 10% de los animales de un mismo lote con un mínimo de

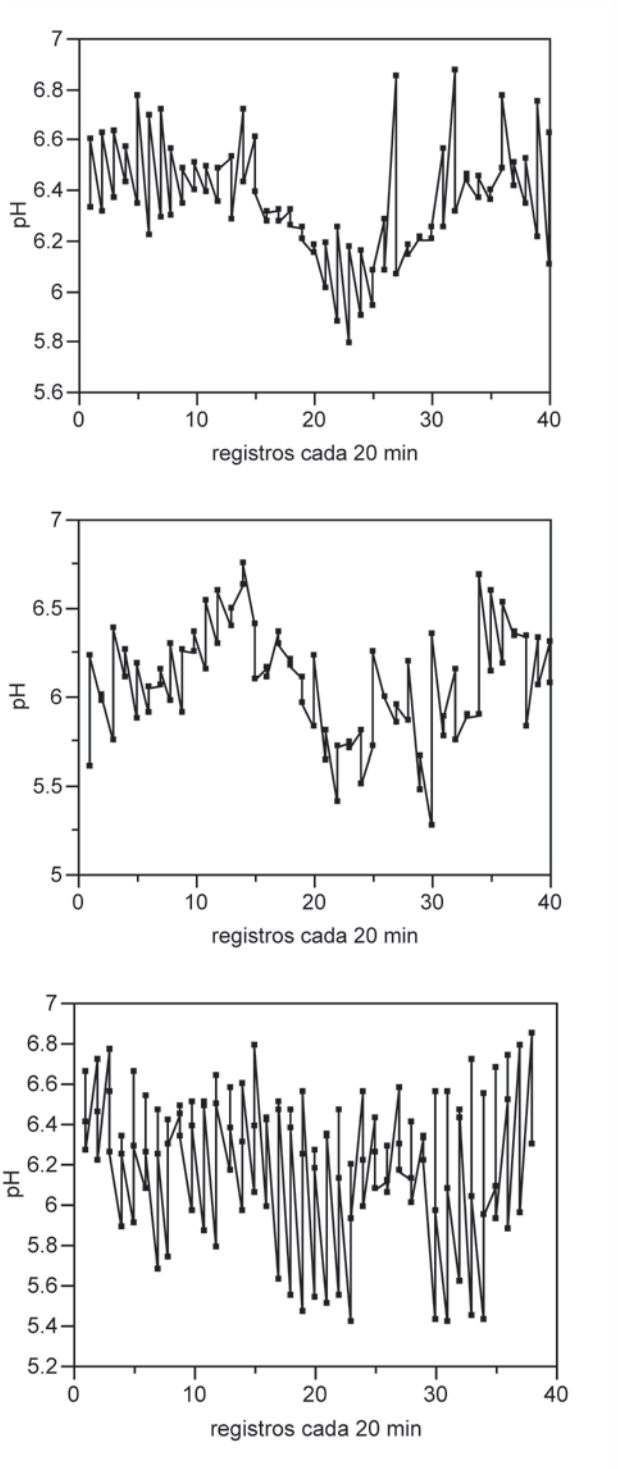
12 animales (Garrett et al., 1999), si el 25% de pH se encuentran entre 5.5 y 5.6 existe acidosis ruminal subclínica en el lote, si entre el 25 y el 30% se encuentran entre 5.6 y 5.8 existe riesgo de padecer acidosis ruminal subclínica (Nordlund y Garret, 1994). Es importante analizar el pH ruminal imediatamente y no esperar a obtener todas las muestras para su registro, así como tener el pHmetro calibrado.
En los estudios se muestrea el líquido ruminal a diferentes horas después de la oferta de alimento a través de una cánula, trócar o sonda (Gráfico2). Se suele calcular el pH mínimo, el pH máximo, pH medio, las horas por debajo de 5.8 y 5.5 y el área por debajo de 5.8 y 5.5 (Rotger et al., 2006, Robles et al., 2007). Es el método más usado hasta el momento, pero debido trabajo que el muestreo implica se suele muestrear un solo día y los animales suelen estar individualizados, con lo que el comportamiento alimentario no es el mismo que el de los animales alojados en grupo (no competencia). Actualmente se introducen sondas de pH de registro continuo (pej cada 20 minutos) y puede registrar varios días continuos (Gráfico 1), este método necesita que el animal esté canulado. Ello nos permite estudiar el efecto de la variación intra-y interdia y estudiar su relación con el consumo de alimento (Schwartzkopf-Genswein et al., 2003).

Gráfico 2. Evolución del pH ruminal en terneras alimentadas con concentrado y paja en condiciones experimentales tras la oferta del alimento (Robles et al., 2007), donde los tratamientos son T1 = distribución alimento 1 vez al día (800), T2 = distribución a las 800 y 2000; T3 = distribución a las 800, 1400 y 2000; T4 = distribución a las 0800, 1200, 1600 y 2000



Schwartzkopf-Genswein et al. (2003) consideran que existe acidosis subclínica cuando el pH se registra continuamente si los animales están más de 12 horas por debajo de 5.8. Este método también ha puesto en evidencia la gran variabilidad individual entre animales consumiendo una misma ración, incluso cuando la cantidad de HCFF suministrada al rumen vía cánula es la misma (Gráfico 3). En el gráfico 3 se observa que aunque los dos primeros terneros (primer y segundo gráfico) consumen la misma cantidad de pienso y paja (8 y 1.5 kg de MS de concentrado y paja, respectivamente), en el primero apenas se observan valores de pH inferiores a 6. El tercero corresponde a un ternero que consume 9 kg de concentrado en MS y 1 kg de paja en MS y tiener la misma área por debajo de 5.8 que el ternero 2. Dicha variación individual se atribuye a diferencias en la estabilidad de la flora ruminal, a la selección de la ración y diferencias en la secreción salivar, aunque realmente no se conoce la importancia de dichos factores (Schwartzkopf-Genswein et al., 2003).

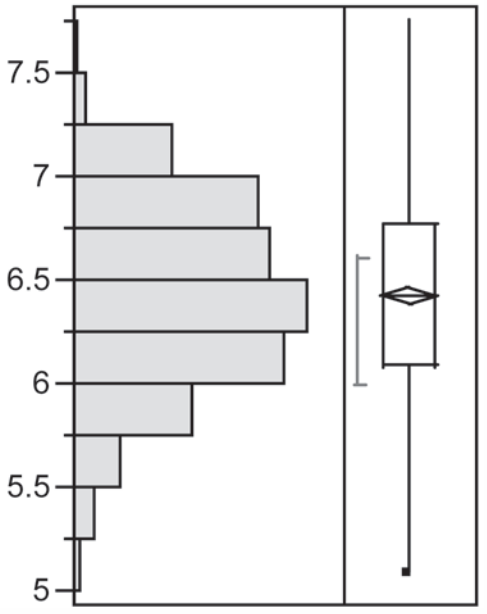
Gráfico 3. Evolución del pH ruminal en3 terneros diferentes alimentados con paja y concentrado *ad libitum* (Bach y Devant, 2008).



Datos

En el gráfico 4 se observa que el pH de rumenocentesis realizadas en condiciones comerciales consumiendo concentrado y paja *ad libitum* (8 kg de MS con un 48% de HCFF) fue de 6.41 ± 0.44, y tan sólo el 10% de los valores se encontraban por debajo de 5.8; es decir, no había acidosis subclínica.

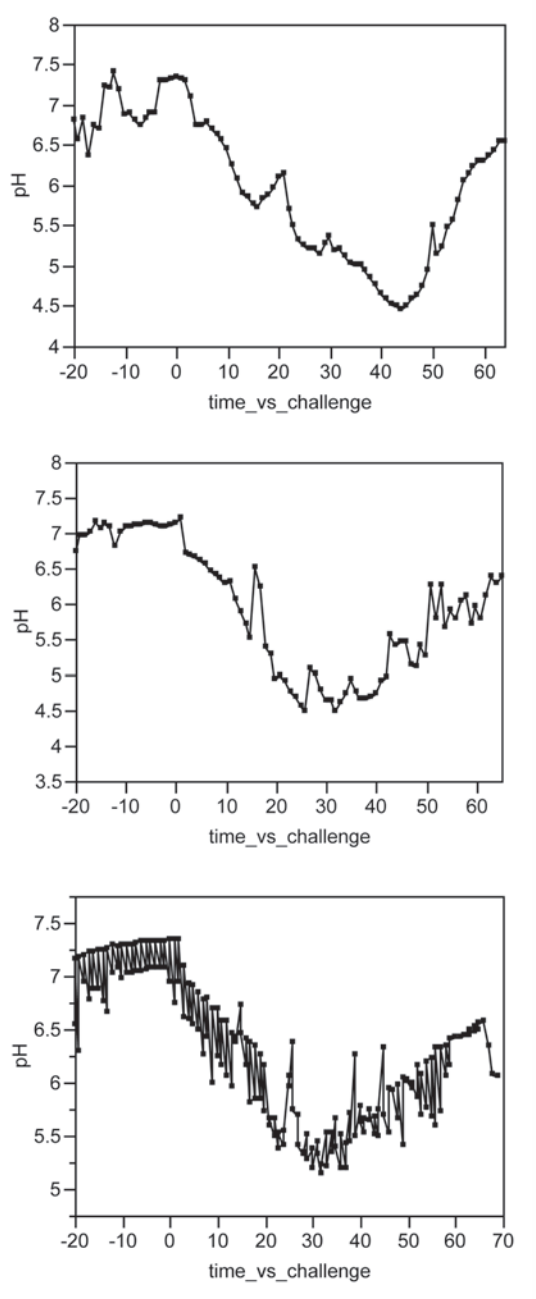
Gráfico 4. Distribución de los pH ruminales obtenidos por rumenocentesis (n = 363) en terneros alimentados con dietas ricas en HCFF.



El gráfico 2 es uno de muchos ejemplos de datos de pH ruminal obtenidos vía trocar en terneros alimentados intensivamente. Los animales *ad libitum* (T1) consumieron unos 9 kg de MS de concentrado (53% HCFF) y 1 kg de MS de paja, su pH medio fue de 6.47 ± 0.12, el pH mínimo de 5.88 ± 0.15, el máximo de 7.29 ± 0.12, las horas por debajo de 5.8 de 0.48 ± 1.2 y el área por debajo de 5.8 de 155.4 ± 2.9. Según Schwartzkopf-Genswein et al. (2003) cuando las horas por debajo de 5.8 son superiores a 12 existe acidosis subclínica, es decir, los animales alimentados *ad libitum* del estudio de Robles et al. (2007) no sufrieron acidosis subclínica.

En terneros alimentados *ad libitum* (8 a 9 kg de MS de pienso con un 59% de HCFF) con registros contínuos de pH ruminal (Gráfico 3) en ningún caso el pH medio fue menor de 6 y las horas por debajo de 5.8 no superaron 12 horas, por lo tanto a pesar del elevado consumo de HCFF no se registró acidosis subclínica. Con tal de estudiar el efecto de diferentes tratamientos sobre la acidosis ruminal es necesariio provocar la acidosis, es decir, por ejemplo se dejan los animales un día en ayunas y se les suministra 4 kg de pienso "acidogénico" (81% de HCFF) y a las 8 horas de nuevo se les suminstra 4 kg de pienso. En el gráfico 5 podemos observar que existe una gran variación animal, e incluso el último animal no tiene acidosis subclínica (pH medio de 6.10 y 8.8 horas por debajo de 5.8). Ello nos confirma en terneros adaptados a consumir dietas ricas en concentrado es necesario provocar experimentalmente la acidosis subclínica para poder registrar valores de pH bajos e incluso cuando la provocamos hay animales que son capaces de superar el exceso de HCFF sin que su pH ruminal descienda por debajo los valores críticos.

Gráfico 5. Evolución del pH ruminal en diferentes terneros tras provocarles un shock acidótico (Bach y Devant, 2008).



En terneros pasteros donde los animales pasan del pasto al cebadero, igual que en los feedlots americanos, puede que encontremos pH ruminales bajos. Dicha acidosis se debe a que la flora ruminal y la pared ruminal se deben adaptar a una dieta rica en HCFF (Nagaraja y Titgemeyer, 2007), y dicha adaptación no es fácil; Bevans et al. (2005) observaron que más que el programa de adaptación, el factor individual era determinante en el establecimiento de cuadros de acidosis subclínica.

Sin embargo, en terneros cebados desde la lactancia hasta el sacrificio alimentados con dietas ricas en concentrados hay animales que muestran síntomas (menor consumo, mal aspecto, laminitis, parada digestiva, diarreas intermintentes….) que se relacionan con un consumo elevado de HCFF. Si analizamos

las causas descritas de los diferentes síntomas inespecíficos mencionados (aumento osmolalidad, aumento toxinas ruminales) y el pH ruminal observamos que el pH sólo, explica el 17% y el 19% de la variación de la osmolalidad ruminal (Gráfico 6 i 7) en dietas ricas en concentrado (Mach et al., 2008) o forrajeras (Bennink et al., 1978). A partir de un pH de 6.3 la relación entre la concentración entre el pH ruminal y la concentración de endotoxinas ruminales ya no es lineal (Gráfico 8) en animales que consumen más de un 80% de concentrado (Gozho et al. ,2006). La escasa relación entre la osmolalidad y la concentración de endotoxinas en animales que consumen dietas ricas en HCFF con el pH ruminal nos explicaría porque en muchos casos donde vemos laminitis, reducción de consumo, diarreas etc no observamos pH ruminales bajos. De hecho, Owens et al. (1998) ya indicaron que el consumo de HCFF tenía mayores efectos sobre la osmolalidad que sobre el pH ruminal. Por lo tanto quizás no se debería hablar de acidosis ruminal subclínica y si de "intoxicación por elevado consumo de HCFF o los derivados de su fermentación".

Gráfico 6. Relación entre el pH ruminal y la osmolalidad ruminal ($R^2 = 17\%$; $P < 0.001$)en terneros alimentados con dietas ricas en concentrado (Mach et al., 2008).

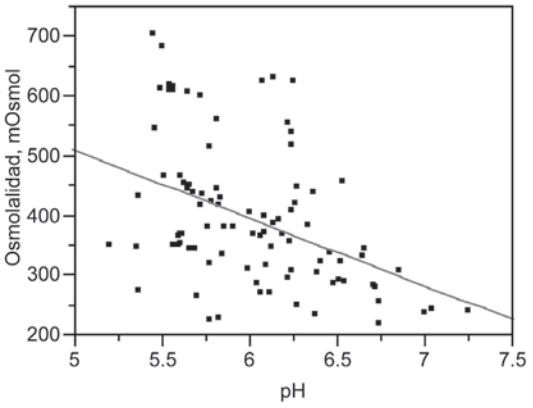


Gráfico 7. Relación entre el pH ruminal y la osmolalidad ruminal ($R^2 = 19\%$; $P < 0.001$) en terneros alimentados con dietas ricas en forraje (Bennink et al., 1978)

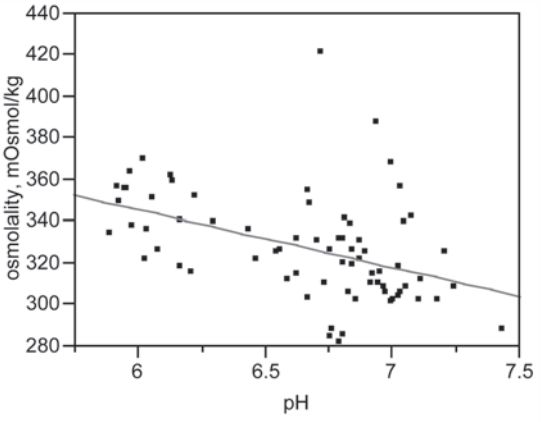
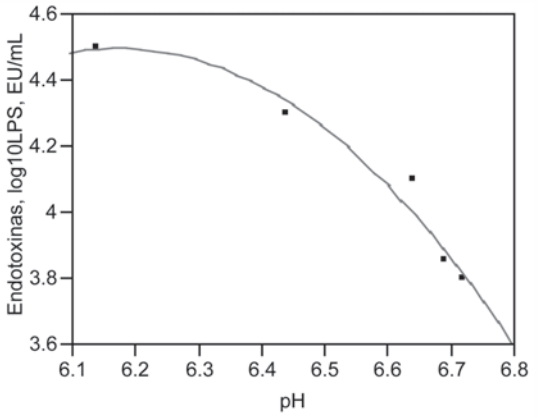


Gráfico 8. Relación entre la concentración de endotoxinas ruminales y el pH ruminal (R^2 = 96%; P < 0.001) en animales alimentados con diferentes niveles de concentrado (Gozho et al., 2006)



Tratamiento y prevención "intoxicación por elevado consumo de HCFF o los derivados de su fermentación"

Parece ser la "intoxicación por elevado consumo de HCFF o los derivados de su fermentación" está mediada por un aumento de la osmolalidad ruminal y a la concentración de toxinas ruminales.

Osmolalidad ruminal

La osmolalidad ruminal estará afectada principalmente por el contenido ruminal de AGV y minerales (Gráfico9 y 10); no se conoce cual es el límite por encima del cual el consumo se reduce.

Gráfico 9. Relación entre la osmolalidad ruminal y la concentración de AGV (R^2 = 39%; P < 0.001) en terneros alimentados con dietas forrajeras (Bennink et al., 1978).

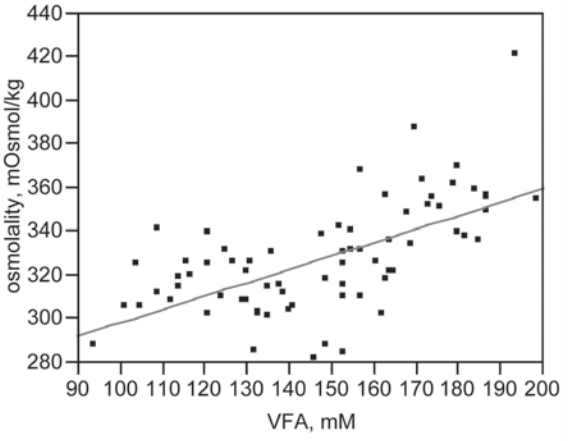
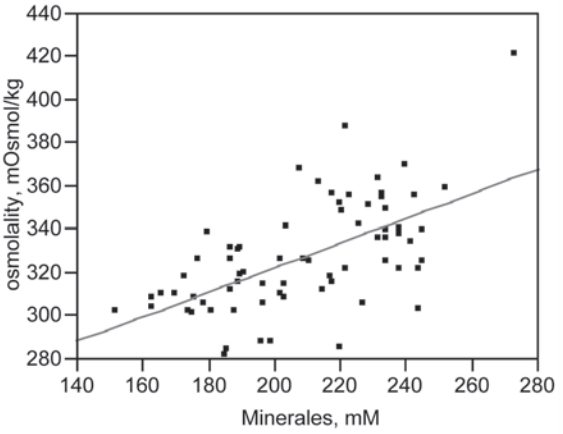


Gráfico 10. Relación entre la osmolalidad ruminal y la concentración de minerales (R^2 = 36%; P < 0.001) en terneros alimentados con dietas forrajeras (Bennink et al., 1978).



La concentración de minerales dependerá de la concentración de minerales de la dieta y del agua. Si el contenido de sal de la dieta es de un 5%, la osmolalidad aumenta a 344 mOsm (Owens et al., 1998).
La concentración de AGV depende de la producción y la desaparición (absorción,
paso a intestino delgado). En cuanto a la producción, el porcentaje HCFF (Mach et al., 2006) más que el tipo de HCFF afectan a la concentración de AGV (Rotger et al., 2006). Reducir los aportes de HCFF sin perjudicar el crecimiento, el consumo y la calidad de al carne es una estrategia a seguir, pej incrementando el contenido de aceite de palma de la ración; los niveles máximos que se suele suplementar el aceite de palma es de un 4%, no existen datos publicados sobre los efectos que pueda tener aumentar el nivel de la suplementación del aceite de palma sobre los parámetros productivos. Cuando se substituye parcialmente soja por urea en terneros que consumen elevadas cantidades de HCFF, la concentración ruminal de AGV desciende (Devant et al., 2001) ya que la urea no tiene esqueleto carbonado precursor de AGV como los aminoácidos, pero el impacto es menor (aprox. 7% de reducción) que cuando se reduce el porcentaje de HCFF de la ración (aprox. 14% de reducción).
La absorción a través de la pared ruminal es el principal mecanismo de desaparición de los AGV del rumen (Allen, 1997). Los AGV, principalmente el propiónico y el butírico, estimulan el crecimiento de las papilas ruminales (Lane et al., 2000) y la absorción de los AGV, así como el pH ruminal bajo estimula la absorción de AGV. Pero donde está el límite entre estimular la fermentación y absorción (más AGV y menos pH) y que el establecimiento de una hiperqueratosis, una lesión de la pared ruminal y que conllevaría una menor absorción? Krehbiel et al. (1995) observaron en corderos que una acidosis aguda y corta reduce en un 36-43% la absorción de AGV en el rumen, incluso tras pasar 6 meses desde el descenso del pH. Ello se explicaría por una hiperqueratosis que reduce de un 30 a un 63% la absorción de AGV (Hinders y Owens, 1965).
Si la concentración ruminal de ácido láctico aumenta, la osmolalidad ruminal puede aumentar. Existen diferentes estrategias preventivas para evitar el aumento de la concentración de ácido láctico:
-Evitar reducción pH ruminal con bicarbonato sódico y óxido de magnesio, su eficacia sobre el pH es controvertida y podría aumentar la osmolalidad.
-Reducción flora productora de ácido láctico: monensina y otros antimicrobianos
-Aumento flora consumidora de ácido láctico: levaduras, malato
La saliva, la principal entrada de agua en el rumen (Allen, 1997) tiene una osmolalidad de 255 mOsm, la estimulación de la salivación reduce la osmolalidad ruminal (Owens et al., 1998). El consumo de agua, en principio, si su salinidad es baja, podría reducir la osmolalidad ruminal, pero suele estar asociado al consumo de concentrado; tras el consumo de alimento la osmolalidad aumenta, y el efecto del agua de bebida sobre la osmolalidad ruminal no está claro.

Toxinas ruminales
Las principales toxinas producidas en el rumen y conocidas son el etanol, las aminas y las endotoxinas (Nagaraja y Titgemeyer, 2007). El etanol es producto principalmente de la fermentación heterofermentativa

de los lactobacilos, pero su concentración ruminal es muy baja y las bacterias lo pueden utilizar o se puede absorber. Las aminas farmacológicamente activas como la histamina, tiramina y triptaminasa producen por descarboxilación de aminoácidos como la histidina (Garner et al., 2002). La histamina es la más estudiada por su relación con la patogenia de la laminitis. La concentración de histamina es muy variable y se ha encontrado en condiciones no-acidóticas, aunque la concentración es muy superior en animales que consumen concentrado que en animales que consumen forraje (Garner et al., 2002). Un punto crítico es la absorción de la histamina, Aschenbach y Gabel (2000) observaron en cuando el pH ruminal era bajo (5.1) aumentaba la absorción de ruminal de histamina, ya fuere por un aumento de la permeabilidad epitelial o un descenso del catabolismo de la histamina de la las células epiteliales. Utilizar urea en vez de fuentes proteicas vegetales podría ser una estrategia a estudiar para reducir la concentración de aminas ruminales.

Las endotoxinas o lipopolisacáridos forman parte de las paredes celulares de todas las bacterias Gram-negativas independientemente de su patogeneidad. Las bacterias ruminales son predominantemente Gram-negativas y debido a la regeneración bacteriana no es sorprendente encontrar endotoxinas en el rumen. En animales que consumen elevadas cantidades de HCFF se encuentran concentraciones de endotoxinas ruminales que en animales que consumen forraje (Andersen et al., 1994), ello puede ser porque hay mayor número de bacterias Gram-negativas o bien porque hay mayor liberación (lisis bacteriana) de endotoxinas. No todos los estudios donde se ha inducido acidosis ruminal han encontrado un aumento de endotoxinas ruminales, así pues los factores que aumentan la concentración de endotoxinas en el rumen no están muy claros (Nagaraja y Titgemeyer, 2007). Tal y como se muestra en el Gráfico 8, puede ser que a partir de un pH cercano a 6.3 la concentración ya no aumente más. Se ha observado una reducción de la motilidad ruminal cuando las endotoxinas ruminales aumentan (Eades, 1997). Recientemente se ha demostrado que las endotoxinas se pueden absorber (Emmanuel et al., 2007), es más aumentan la absorción de sustancias que no se absorberían en condiciones normales. Pero este último punto aún es controvertido y está en debate.

El análisis de toxinas es complejo y caro, ello dificulta su estudio. ¿Qué se puede hacer para reducir la concentración de toxinas ruminales? Reducir su producción reduciendo el aporte de HCFF, aportando urea en lugar de proteína verdadera y/o usando antimicrobianos como la monensina o aditivos naturales que reduzcan la flora ruminal (Calsamiglia et al., 2007). Si se suministran antimicrobianos vía pienso cabe la posibilidad de que las bacterias ruminales se adapten y sean resistentes, aplicaciones de antimicrobianos a través de blanqueos (vía im cada 4 o 6 semanas) o piensos medicados alternados con piensos no medicados serían una alternativa y aumentaría el abanico de antibióticos que se pueden utilizar.

Conclusiones

Se debe avanzar en el diagnóstico diferencial, descartar otras causas de caquexia, diarrea, cojeras, abscesos hepáticos etc. Para estar seguros que estamos ante un cuadro de acidosis ruminal subclínica se pueden realizar rumenocentesis o extracciones de líquido ruminal vía esofágica.

A pesar de que los terneros cebados en nuestras condiciones intensivas consuman elevadas cantidades de HCFF no suelen observarse pH ruminales bajos, pero si retrasos en el crecimiento, descensos de consumo, laminitis, y diarreas intermitentes. Todos estos síntomas parecen estar relacionados con aumentos de la osmolalidad ruminal y de toxinas ruminales que aumentan con el consumo de HCFF y por ello se podría hablar de "intoxicación por elevado consumo de HCFF o los derivados de su fermentación".

Se conoce poco los factores que afectan a la osmolalidad ruminal y a la concentración de toxinas ruminales, se debe profundizar en su estudio, pero reducir el aporte de HCFF y/o sustituir parcialmente fuentes proteicas vegetales por urea sin empeorar el crecimiento y la calidad de la canal y/o suplementar a los animales (vía pienso/blanqueo) con antimicrobianos pueden ser estrategias a estudiar. Tampoco hay que olvidar en estimular la rumia, la cual está muy relacionada con el confort animal y un buen acceso a la paja.



TIMPANISMO

1. Definición académica

Cuando los gases producidos durante la fermentación microbiana en el rumen no se eliminan o el ritmo de acumulación supera al ritmo de eliminación se produce una excesiva retención de los gases en el rumen, causando una excesiva distensión en el retículo-rumen. Si el gas se acumula, la elevada presión ejercida por el rumen en expansión sobre el diafragma y pulmones, puede provocar la muerte por insuficiencia cardiorespiratoria.

2. Tipos de timpanismos

a) Gaseoso
Acumulación de gas libre, se asocia a una obstrucción del esófago o cardias. Hay un llenado excesivo del rumen y suele ir acompañado de hipomotilidad. Es poco frecuente, accidental y si se llega a tiempo fácil de resolver; el gas sale fácilmente a través de un trocar ruminal o por intubación esofágica.

Las principales causas son:
1. Obstrucción mecánica por un alimento insuficientemente masticado o ingestión cuerpo extraño, más frecuente cuando los animales están en posiciones laterales como por ejemplo durante un transporte.
2. Obstrucción patológica puede ser causada por una parálisis faríngea (listeriosis/botulismo), espasmos esofágicos (tétanos), lesión nervio vago, inflamación crónica torácica/abdominal que deforme el esófago.

b) Espumoso
El 90% de los animales que sufren timpanismo es de tipo espumoso. El gas no puede ser eliminado porque queda retenido en la espuma que se forma, el contenido ruminal está lleno de burbujas muy pequeñas. Los animales que sufren este tipo de timpanismo no suelen deshincharse fácilmente a través de una ruminotomía o de un sondaje gástrico. Suelen dividirse en dos bloques: causados por la paso de leguminosas o cereales como el trigo o los relacionados con el cebo de terneros con dietas ricas en concentrados. La composición de la espuma es diferente, mientras que en los primeros los componentes de las plantas son los principales componentes de la espuma, en los segundos los componentes de la espuma son de origen microbiano (Clarke y Reid, 1974). Puede haber animales con contenidos ruminales espumosos que no manifiestan timpanismo, en matadero se observan rumenes con contenidos espumosos sin que *in vivo* se observaron timpanizados. Existen 3 vías de eliminación de gases del rumen, la absorción vía pared ruminal, el paso al tracto digestivo posterior y el eructo (Clarke y Reid, 1974). De las tres el eructo es la más importante, pues si falla, las demás no pueden compensar el fallo y el animal se timpaniza. Cuando los animales sufren timpanismos espumosos el gas no puede contactar ni presionar el cardias porque no se halla formando una gran burbuja, si no mezclado con el resto del contenido formando espuma, el cardias no se relaja y no se elimina gas vía eructo (Dougherty y Habel, 1955). Sin embargo, muchas veces terneros que sufren timpanismo espumoso también tienen bolsas de gas. Existen dos orígenes de timpanismos, los causados por pastos de leguminosas y cereales y los causados elevadas cantidades de concentrado.

b.1) Pasto de leguminosas y de cereales
No todas los pastos de leguminosas están relacionados con timpanismos espumosos, el pasto de plantas ricas en taninos y pobres en saponinas (esparceta/lotus) produce menos formación de gas y la incidencia de timpanismos es escasa (D'Mello, 2000). Las proteínas solubles de la alfalfa (Majak et al., 1995) han demostrado ser las responsables del timpanismo en animales que pastan alfalfa. La incidencia de meteorismo disminuye según avanza con el estado de madurez de la planta, ya que decrece su contenido de dichas proteínas solubles. También se ha observado una relación entre el contenido proteico y el contenido de proteína soluble de los pastos y la aparición de timpanismos en animales que pastan cultivos de trigo (Bartley et al., 1975). Cuando avanza la madurez la pastura de trigo también se reduce la incidencia de

timpanismos (Min et al., 2005; Min et al., 2006 a). El elevado contenido de proteínas soluble de los forrajes aumenta la fermentación ruminal, la producción de gas y de mucopolisacáridos causantes del timpanismo (Min et al., 2006b).

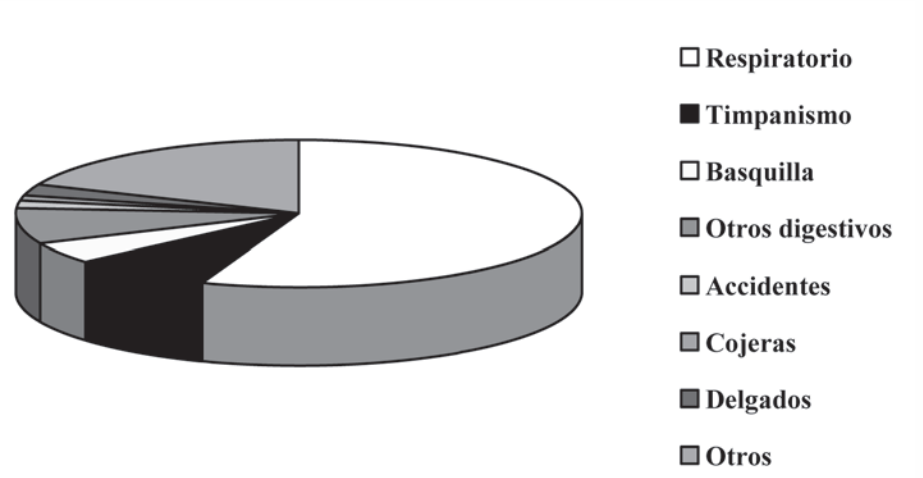
b.2) Ingestión de hidratos de carbono de fácil fermentación
Al aumentar el consumo de hidratos de carbono de fácil fermentación (HCFF), aumenta la fermentación ruminal y en consecuencia aumenta la producción de gases, y la concentración de mucopolisacáridos bacterianos y la liberación de macromoléculas de la lisis celular (Cheng et al. 1976), ello aumenta la viscosidad que permite la estabilización de la espuma (Cheng et al., 1998). Otro aspecto importante en el desarrollo del timpanismo es la hipomotilidad ruminal que puede establecerse cuando los animales consumen elevadas cantidades de HCFF. El eructo, la apertura del cardias, está relacionado con las contraciones ruminales (Clarke y Reid, 1974). Se ha observado que las endotoxinas, sustancias tóxicas que forman parte de los microorganismos Gram-negativos, causan hipomotilidad digestiva a través del óxido nítrico (Quintana et al., 2004; Watanabe et al., 2004). El óxido nítrico reduce la concentración de calcio en las células musculares lisas, es decir tiene un efecto inhibitorio sobre la contracción muscular (Karaki et al., 1997; Lim et al., 2005), dicho efecto se ha demostrado en el rumen y retículo (Schneider y Eades, 1998). Las endotoxinas también pueden causar hipocalcemia, una causa predisponente de timpanismo. Gozho et al. (2005 y 2006) observaron que al aumentar en terneros de cebo la cantidad de concentrado en la ración la concentración de lipopolisacáridos (endotoxinas) en el rumen aumentaba. Estos autores observaron estos aumentos de lipopolisacáridos en el rumen tanto cuando cambiaban bruscamente de una ración de forraje a una de concentrado como cuando el cambio a una ración de concentrado se realizaba de forma gradual. Todo ello parece indicar que terneros que consumen elevadas cantidades de concentrado tienen una elevada concentración de endotoxinas (lipopolisacáridos) que podrían causar hipomotilidad ruminal.

(1) Definición de campo y prevalencia de timpanismo por ingestión elevada de HCFF

El timpanismo es muy fácil de diagnosticar cuando el animal está vivo, pero es muy difícil diagnosticarlo tras la muerte del animal, ya que es difícil diferenciarlo de enterotoxemias u otras causas que causan la muerte del animal, pues tras la muerte el rumen se hincha por la fermentación microbiana que continua tras la muerte del animal.
Dado que es difícil diagnosticarlo postmortem y a falta de registros en los cebaderos es difícil de conocer la prevalencia. En un intento de acercarnos a datos reales de campo se han analizado los registros de las bajas correspondientes al cebo de 70800 terneros entre los año 2001-2008 en la zona geográfica de Lleida. Sin embargo, hay que ser precavido en su análisis; primero, se basa en las bajas, no en la incidencia *in vivo* y además muchas bajas registradas como timpanismos pueden ser falsos positivos, es decir, la muerte puede tener otra causa, o bien pueden haber falsos negativos (p. ej. diagnosticados como basquilla). Un buen diagnóstico diferencial de las patologías digestivas y unos buenos registros de las patologías serían la mejor herramienta para poder analizar las causas y poder implementar pautas correctoras (Miles et al., 1998).

El porcentaje medio de bajas fue de 3.93% (de mamones al final del cebo); más del 50% fueron por problemas respiratorios, seguido por los timpanismos, basquilla y otros problemas digestivos (Gráfico 11). La frecuencia (nº casos/ total terneros cebados) de terneros diagnosticados como hinchados fue de un 0.31% y la edad media fue de 250 días (8 meses).

Gráfico 11. Distribución de las causas de las bajas.



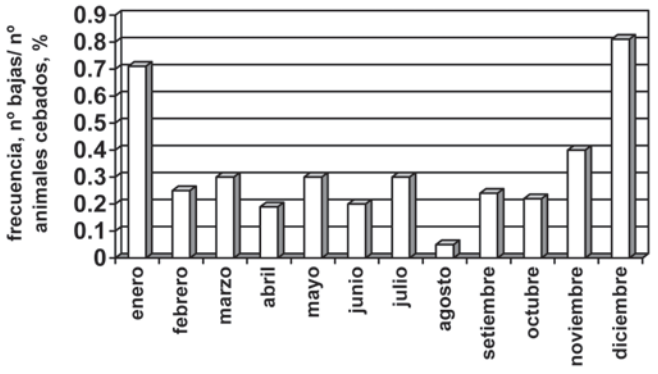
Al analizar los datos es importante expresarlos en función del total de animales cebados (Miles et al., 1998). Por ejemplo, si analizamos el efecto de la raza utilizando el porcentaje (nº bajas/ total bajas), los animales frisones padecieron más bajas por timpanismo que los terneros de otras razas (Tabla 2), pero si analizamos la frecuencia (nº bajas/ total cebados), observamos que los animales de raza Bruna y los Cruzados también registraban muchas bajas por timpanismo, es decir, como se cebaron más frisones se registraron más bajas por timpanismo y la percepción, errónea, fue que los animales frisones son los más sensibles a padecer timpanismo.

Tabla 2. Distribución de las bajas de timpanismo en función de las razas

Raza	Nº bajas por timpanismo	Porcentaje (nº bajas por timpanismo s/nº total bajas por timpanismo), %	Nº animales cebados	Frecuencia (nº bajas por timpanismo /nº animales cebados), %
Bruna	25	11.31	7518	0.33
Blanco Belga	1	0.45	524	0.20
Cruzado	21	9.5	6483	0.32
Frisón	141	63.8	37097	0.38
Fleckvieh	33	14.93	19069	0.17
Total	**221**		**70691**	**0.31**

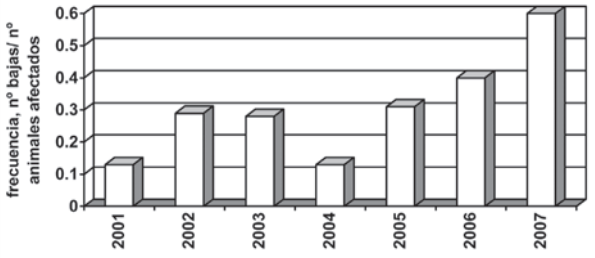
Para analizar el efecto raza se eliminaron los datos correspondientes a los frisones y a los terneros Blanco Belga pues en un 98% y un 2% eran machos, respectivamente, y al incluir dichos datos el efecto raza y sexo estarían confundidos. Tras el análisis sin animales de la raza Frisón y Blanco Belga se observó que los machos tuvieron una mayor frecuencia de timpanismos que las hembras (0.45 vs 0.20 %).
La frecuencia de bajas por timpanismo se duplicó en los meses de enero y febrero y en agosto disminuyó por debajo de un 0.1% (Gráfico 12).

Gráfico 12. Distribución por meses de la frecuencia de bajas por timpanismo.



En el 2007, el primer año desde la retirada de la monensina, la frecuencia de bajas por timpanismos se duplicó (Gráfica 13). En el año 2008 (de enero a marzo) la frecuencia de bajas por timpanismo está alrededor del 1%, es una frecuencia elevada a pesar de estos primeros meses tienen frecuencia elevada (Gráfica 12).

Gráfica 13. Distribución por años de la frecuencia de bajas por timpanismo.



Hubo granjas sin bajas por timpanismos y otras donde la frecuencia de bajas por timpanismos superó el 2%. La correlación observada entre la frecuencia de bajas por timpanismo y por patologías respiratorias fue cercana a cero.

(2) Diagnóstico, tratamiento y prevención

El diagnóstico diferencial entre un timpanismo gaseoso y uno espumoso se puede realizar por intubación gástrica, o si la sonda no pasa suele haber una obstrucción y si pasa y el gas sale fácilmente, es un timpanismos gaseoso.

En el caso del timpanismo espumoso la sonda pasa fácilmente pero el gas prácticamente no sale. Se pueden administrar desestabilizadores de espuma vía sonda (agentes surfactantes como poloxaleno, etoxilato, metilsilicona, aceite mineral), aunque dichos detergentes que producen poca espuma y espuma poco estable, son poco efectivos en timpanismos por elevado consumo de HCFF (Cheng et al., 1998). Es decir, el efecto del tratamiento no suele ser rápido. Por ello, se suele, si las instalaciones lo permiten, retirar el pinso y ofrecerle al animal forraje y administrarle un colinérgico (neostigmina) que aumenta la motilidad y ayuda a la eliminación de los gases. En casos donde el animal ya está desarrollando una insuficiencia cardiorrespiratoria, o a veces si la retirada del pienso o pinchar el animal es laborioso, directamente se realiza una fístula ruminal o se coloca un trócar ruminal. Los animales que padecen timpanismos no suelen tener el pH bajo, es decir no suelen tener acidosis ruminal (Clarke y Reid, 1974), aunque ambas patologías puedan estar relacionadas con un elevado consumo de HCFF.

En cuanto a la prevención, el timpanismo espumoso causado por un elevado consumo de HCFF es el más frecuente en nuestro sistema de cebo, y por ello tan sólo analizaremos este tipo de timpanismos.

Prevención timpanismo por elevado consumo de HCFF
Hay tres puntos interrelacionados en el establecimiento de este tipo de timpanismos que debemos analizar: producción de gas, retención de gas (espuma), y hipomotilidad.

Producción de gas
El gas del rumen está formado principalmente por anhídrido carbónico (65-67 %) y metano (22-27 %) (Hungate et al., 1955) resultantes mayoritariamente de la fermentación de la glucosa (Wolin, 1960). La producción de gas en un animal en ayunas es de 0.2 L/min y de 2.0 L/min después de comer (Clarke y Reid, 1974). ¿Qué factores aumentan la producción de gas?
Un aumento del consumo a un mismo porcentaje de HCFF aumenta la fermentación ruminal, y con ello la producción de gases, aunque aumentos de consumo pueden aumentar el ritmo de paso del rumen y con ello reducir la digestibilidad ruminal, la cantidad de HCFF fermentados en el rumen será superior (Zinn et al., 1995). Sin embargo, *in vivo*, no existen datos de la producción total de gas de origen ruminal, pero sí de metano. Si asumimos que los animales que consumen un mismo nivel de HCFF, a pesar de que varíe el consumo total, la relación entre la producción total de gases y de metano es lineal, la producción de metano en esas condiciones puede ser un indicador de la producción total de gases. Kleiber et al. (1943) analizaron la composición de gases de animales timpanizados por el consumo de alfalfa y animales no timpanizados y la ratio anhídrido carbónico: metano no variaba.
Nkrumah et al. (2006) midieron la emisión de metano en terneros alojados en cámaras para estudiar las causas de ineficiencia. Existe una gran variación individual en la eficiencia de transformación; terneros que crecen lo mismo, pueden tener diferencias diarias de hasta 2 kg de consumo (Tabla 3). Estos autores observaron que la producción de metano era inferior, los terneros consumían menos. De hecho Ellis et al. (2007) desarrollaron una ecuación para la predicción de la producción de metano, donde el consumo de energía metabolizable (positivamente) y el contenido de lignina (negativamente) son los parámetros necesarios para su predicción.

Tabla 3. Efecto del nivel de consumo sobre la producción de metano (adaptada de Nkrumah et al., 2006)

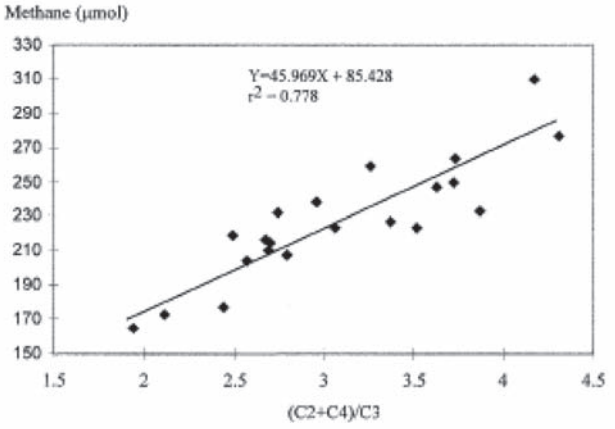
Nivel de ingestión	Medio	Bajo	Estadísticamente significativo
PV, kg	529	501	
Ingestión MS, kg/d	11.07	9.62	*
GMD, kg/d	1.51	1.48	
Tiempo dedicado a comer, min/d	65	48	*
Visitas comedero, nº/d	29	18	*
DMD total aparente, %	73	75	*
Metano, L/kg $PV^{0.75}$	1.68	1.28	*
Metano*, L/d	185	135	
Metano*, L/kg MS	17	14	
HCFF intake*, kg/d	5.92	5.15	

* estimado a partir de sus datos
Los subproductos de una fermentación ruminal pueden afectar a la producción de gases. Cuando se sintetiza acetato y butirato se libera anhídrico carbónico, que junto al hidrógeno formará metano. Además la síntesis de propionato consume hidrógenos; la producción de propionato y la metanogenesis son dos procesos que compiten por los hidrógenos (Moss et al., 2000; Gráfica 14).



hexosa → 2 piruvatos + 4 H
piruvato → acetato + CO_2 + 2 H
2 piruvato → butirato + 2 CO_2
piruvato + 4 H → propionato + H_2O
CO_2 + 8 H → metano + 2 H_2O

Gráfica 14. Relación entre la producción de metano y la relación (acetato+butirato) / propionato (Moss et al., 2000).



Dentro de un mismo porcentaje de HCFF, ¿cuales pueden ser las estrategias para aumentar la proporción de propionato en el rumen? ¿Van dichas estrategias acompañadas de un aumento de fermentación, y por lo tanto de un aumento de producción total de gases?

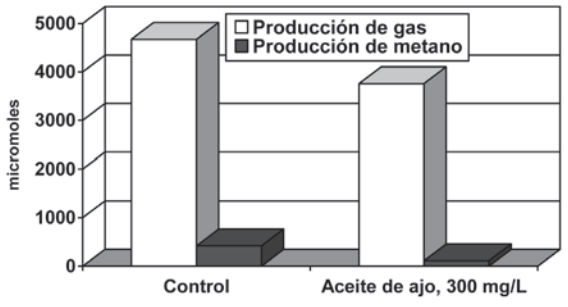
Beauchemin y McGinn (2005) observaron en terneros durante la fase de acabado consumiendo altos niveles de concentrado que la producción de metano se redujo cuando la fuente de HCFF era maíz (9.2 g/kg de MS) en lugar de cebada (13.1 g/kg de MS). Sin embargo, dichos autores no pudieron atribuir el descenso de la producción del metano observado en los animales que consumían maíz a una mayor producción ruminal de propionato; dichos autores sugieren que el menor pH ruminal observado en los animales que consumían maíz (al contrario de lo esperado) puede haber sido tóxico para algunas bacterias metanógenas (Van Kessel y Russell, 1996). Probablemente, al reducirse la producción de metano en animales que consumían maíz, la producción ruminal de gas fue menor, pero es difícil de afirmar, pues los animales que consumían maíz tenían un mayor consumo. Este es un buen ejemplo para ver la dificultad que existe cuando se quiere extrapolar datos teóricos (Gráfico 3) a situaciones *in vivo*. Cheng et al. (1998) comentan que existe la percepción, no evidencia científica, que en dietas donde el cereal predominante es el trigo, el riesgo que los animales sufran timpanismo es mayor. Lindahl et al. (1957) no observaron una mayor incidencia de timpanismos cuando substituían el maíz por la cebada. De igual forma, el tratamiento del cereal para facilitar la digestión (molturación, extrusión) aumenta la fermentación ruminal y en teoría el riesgo de que los terneros a sufrir timpanismos, pero dicha relación no ha podido ser probada. Probablemente al ser una patología multifactorial es difícil establecer relaciones lineales entre dos factores.

Se ha observado que la monensina, no autorizada como promotor del crecimiento desde el 2006, puede reducir la incidencia de timpanismos (Bartley et al., 1983). *In vitro* Busquet et al. (2005) observaron en raciones con un 50% forraje y un 50% concentrado que la adición de monensina disminuía la producción de gas, de metano y aumentaba la proporción de propionato. McGinn et al. (2004) observaron un descenso de la producción de metano y un aumento de la proporción ruminal de propionato en animales alimentados a base de forraje cuando se suplementaba con monensina. El aumento de la producción de propionato ruminal cuando se suplementa monensina se explica por el aumento de la flora Gram-negativa y el descenso de la flora Gram-positiva, aunque se cree que también altera el metabolismo de la flora Gram-negativa (McGuffey et al., 2001).

El fumarato es un precursor del propionato, por ello se cree que la adición de fumarato puede aumentar la síntesis de propionato, y consecuentemente reducir la producción de metano (Asamuna et al., 1999;

López et al., 1999; Bayaru et al., 2001), pero parece ser que la respuesta es dosis dependiente (McGinn et al., 2004). Trabajos *in vitro* han demostrado que la adición de DL-malato estimula la fermentación ruminal incrementando la concentración de propionato y ácidos grasos volátiles totales (Martin y Streeter, 1995; Carro et al., 1999). El malato es un producto intermediario en la síntesis de succinato o propionato de ciertas bacterias ruminales, ello explica que se estimule la producción de propionato. Sin embargo, no existen trabajos publicados que indiquen que la suplementación con malato reduce la incidencia de timpanismos. McGinn et al. (2004) testaron en terneros la suplementación de diferentes levaduras en dietas forrajeras y no observaron efectos positivos sobre la producción de metano. De nuevo, no existe evidencia bibliográfica del efecto de las levaduras sobre la incidencia de timpanismos.
Busquet et al. (2005) observaron *in vitro* que el aceite de ajo inhibía la producción de gas y de metano (Gráfico 5). Estos autores hipotetizan que el mecanismo de acción del aceite de ajo es la inhibición de las bacterias metanógenas, pero también se observa un aumento de la proporción de propionato cuando se añadía aceite de ajo *in vitro*. Sin embargo, faltan trabajos in vivo para estudiar la dosis y efectividad del aceite de ajo sobre la producción de metano y timpanismos en animales que consumen elevadas cantidades de HCFF.

Gráfico 15. Efecto de la adición del aceite de ajo sobre la producción de gas y metano *in vitro* (Busquet et al., 2005).



Los taninos pueden formar complejos con carbohidratos y proteínas, reducir los enzimas proteolíticos o reducir el número de protozoos en el rumen. *In vitro* Min et al. (2005) observaron que la adición de taninos condensados a heno procedente de un pasto de trigo disminuyó la producción de gas. Se cree que el principal modo de acción es una disminución de la digestibilidad de la fibra y la proteína (Hess et al., 2006), sin embargo no se descarta que los taninos también tengan un efecto inhibitorio de las bacterias metanógenas (Min et al., 2006b). Min et al. (2005; 2006b) observaron un descenso de la incidencia de timpanismos en animales que pastan trigo cuando se les suplementa con taninos condensados. Sin embargo, en dichos trabajos no se registra el consumo de los animales, y los taninos podrían descender el consumo y/o cambiar la pauta de ingestión, hecho también podría explicar parcialmente el descenso de timpanismos cuando consumen taninos condensados (Landau et al., 2000). No existen datos publicados del efecto de la suplementación de taninos en terneros cebados con pienso y paja *ad libitum,* y dado que el tipo de ración es muy diferente es difícil extrapolar los resultados.

Otra estrategia para reducir la producción de metano es la adición de grasas insaturadas, ya que la metanogenesis y la biohidrogenación ruminal de las grasas compiten por los hidrógenos. Además parece ser que los ácidos grasos insaturados son tóxicos para los protozoos (Vogels et al., 1980) y las bacterias metanógenas están íntimamente relacionadas con los protozoos (Chagan et al. 1999). Los ácidos grasos poliinsaturados también tienen un efecto tóxico directo sobre las bacterias metanógenas (Henderson, 1973). McGinn et al. (2004) observaron una reducción de un 17% en la producción de metano cuando añadían 400 g/d aceite de girasol a una dieta forrajera en terneros. Dichos autores indican que el descenso en la producción de metano observado se podía atribuir además al hecho que en dietas forrajeras la adición de grasas poliinsaturadas reduce la relación de acetato:propionato como consecuencia de una

menor digestibilidad ruminal de la fibra, disminuyendo también los hidrógenos disponibles para la síntesis de metano. Min et al. (2007) en terneros que pastaban trigo observaron que la adición de 15g/kg de MS ingerida en forma de aceite de maíz directamente administrado vía cánula en el rumen disminuía la incidencia de timpanismos y disminuía la estabilidad de la espuma. Sin embargo, Elam y Davis (1962) en terneros alimentados con dietas ricas en cebada y substituyendo parcialmente cebada por un 8% de aceite de soja observaron que la incidencia de timpanismos aumentaba y la proporción de propionato no se alteraba. Contrariamente, dichos autores observaron que cuando el aporte de aceite de soja era vía oral (aprox 450 g/d) en lugar de su inclusión en el pienso, se reducía la incidencia de timpanismos y aumentaba la proporción de propionato en el rumen. Quizás cuando la grasa es añadida se pueden observar los efectos positivos que el aceite pueda ejercer sobre la fermentación ruminal de HCFF y la aparición de timpanismos, y cuando substituye parcialmente por un cereal, a pesar de que la fermentación pueda ser menor por un menor aporte de HCFF, la suplementación con aceite aumenta la producción de gas como se observa *in vitro* (Elam y Davis, 1962; Getachew et al., 2001). El aumento de producción de gas observado *in vitro* se podría deber a la fermentación del glicerol de los triglicéridos tras su lipólisis a piruvato (Czerkawsli y Breckenridge et al., 1972; Czerkawski, 1972) y la síntesis de AGV a partir de piruvato daría lugar a anhídrico carbónico y metano. Quizás la aparente contradicción entre los datos *in vitro* (producción de gas) y los datos *in vivo* (reducción de timpanismos) podría explicarse por el consumo, pues la adición de grasas insaturadas no protegidas puede descender el consumo, sobretodo en dietas forrajeras (Chilliard, 1993; NRC, 2001; Hess et al., 2008) reduciendo así el aporte de HCFF en el rumen de los animales suplementados con aceite y su consecuente fermentación y producción de gas. Sin embargo, ni el los estudios de Min et al. (2007) y ni en los de Elam y Davis (1962) se reportan los consumos.

Otra estrategia podría ser sustituir parte de los HCFF por grasas poliinsaturadas protegidas como semillas de lino, colza, soja, etc manteniendo el nivel energético de la ración. De este modo se reduciría la fermentabilidad de la ración, se evitaría posibles efectos negativos de los ácidos polinsaturados sobre el consumo, y dado que parcialmente se liberarían ácidos poliinsaturados en el rumen (la protección no es total) habría biohidrogenización reduciendo la producción de metano. Se puede suplementar hasta un 10% de semillas de lino o colza con niveles de un 9% de grasa total en el concentrado sin observar descensos en el consumo ni en la GMD en terneros alimentados con dietas ricas en concentrado (Mach et al., 2006). Sin embargo, a nivel comercial la mezcla de la semillas en el pienso puede ser poco homogénea y quizás la extrusión de dichas semillas puede ser una buena alternativa, ya que la exposición de las grasas poliinsaturadas a la acción microbiana es algo superior a la de las semillas. El efecto del uso de semillas o de su extrusión en sustitución de cereales en las raciones de cebo sobre la producción de gases, metano y aparición de timpanismos no está documentado. Otras fuentes de grasas saturadas como el aceite de palma también se deberían de contemplar para sustituir parcialmente a los HCFF, pero estas no afectan a la biohidrogenación ruminal reduciendo el metano.

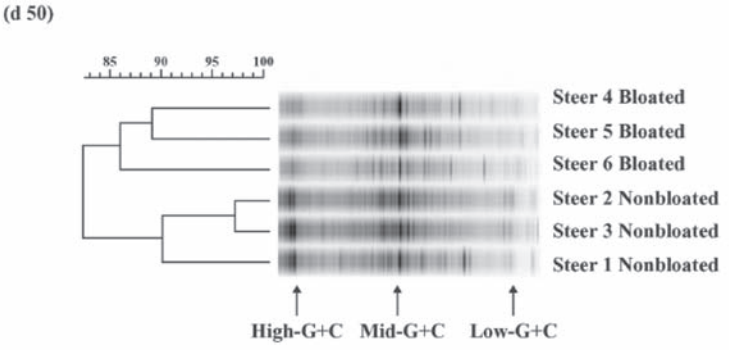
Otras posibles fuentes de gas en el rumen la adición de bicarbonato y la desaminación de aminoácidos, ambos aumentarían la producción de anhídrico carbónico. El bicarbonato sódico a pH bajos puede formar anhídrico carbónico y aumentar así la producción de gases (Wolin, 1960; Kohn y Dunlap, 1998). Sin embargo, en terneros que consumen elevadas cantidades de HCFF adaptados a la dieta y con un buen manejo no tienen pH ruminales bajos (ver artículo anterior). Además, Mendel y Boda (1962) observaron que animales que padecían timpanismo secretaban menos saliva durante el descanso y la comida, y aunque la concentración de bicarbonato sódico de la saliva era superior, la cantidad de bicarbonato que entraba en el rumen era menor. La proteolisis es el primer paso para liberar los aminoácidos y que estos sean desaminados; la proteolisis de las fuentes proteicas vegetales en animales que consumen dietas ricas en concentrado está reducida (Ganev et al., 1979), probablemente porque la actividad celulolítica en el rumen necesaria para lisar los polisacáridos que protegen a la proteína vegetal está reducida (Hoover, 1986). Por lo tanto, tanto la adición de bicarbonato (vía pienso/saliva) como la desaminación en terneros que consumen elevadas cantidades de HCFF probablemente no sean una fuente importante de producción de anhídrico carbónico, es decir gas.

$HCO_3^- + H^+ \leftrightarrow H_2CO_3 \leftrightarrow CO_2 + H_2O$

Cuando aumenta el consumo de agua, el agua al llegar al rumen podría reducir la concentración de anhídrico carbónico para formar HCO_3^- y liberar iones hidrógeno (Russell y Chow, 1993), lo cual reduciría la producción de gas. Una estrategia para reducir la incidencia de timpanismos sería estimular el consumo de agua, pero podría aumentar el riesgo de acidosis ruminal. Sin embargo, Mendel y Boda (1962) no observaron diferencias en el consumo de agua entre animales timpanizados y no timpanizados.

Retención gas (formación de espuma)
En timpanismos causados por elevados consumos de HCFF la principal fuente de sustancias favorecedoras de la formación de espuma son de origen bacteriano (Clarke and Reid, 1974). Bartley y Bassette (1961) observaron que la espuma ruminal de animales consumían elevadas cantidades de HCFF contenían más DNA y menos fracción proteica que la espuma ruminal de los animales que pastaban. *In vitro* la suplementación con glutamato, sucrosa, glucosa, fructosa, y etanol aumenta la producción de biofilm bacteriano en diferentes cepas como *Azobacter vinelandii, Staphylococcus aureus, Streptococcus bovis in vitro* (Cohen y Johnstone, 1964, Cheng et al., 1976; Stringfellow et al., 1991). La producción de biofilm varia en función de la especie bacteriana (Min et al., 2006b). Se cree que la monensina reduce la incidencia de timpanismos porqué inhibe las bacterias Gram-positivas (Dennis *et al.*, 1981; Nagaraja *et al.*, 1982), entre ellas *Streptococcus bovis* y *Lactobacillus*, bacterias productoras de mucopolisacáridos. En animales susceptibles a padecer timpanismo al suministrarles monensina el grado de viscosidad ruminal alcanza valores similares a los animales que no padecen timpanismos (Sakauchi y Hoshino et al., 1981, citado por McGuffey et al., 2001). Min et al. (2006b) observaron un cambio en la flora microbiana en los animales timpanizados respecto a los animales no timpanizados cuando pastaban trigo; es más, observaron que los animales timpanizados tenían una flora ruminal más heterogénea que los animales no timpanizados (Gráfico 16). A pesar que estos estudios están realizados en animales que pastan trigo, indican que existen cambios en la flora ruminal relacionados con el timpanismo y que ciertas especies bacterianas aumentan y que la heterogeneidad es un factor relacionado con el timpanismo; conocer dichas cepas es fundamental para proponer estrategias de prevención. Es más, los animales timpanizados rumiaban menos respecto a los animales no timpanizados (Min et al., 2006b). La menor rumia, probablemente redujo la producción de saliva alterando la flora ruminal y/o afectando la secreción de diferentes sustancias salivares relacionadas con la formación de la espuma.

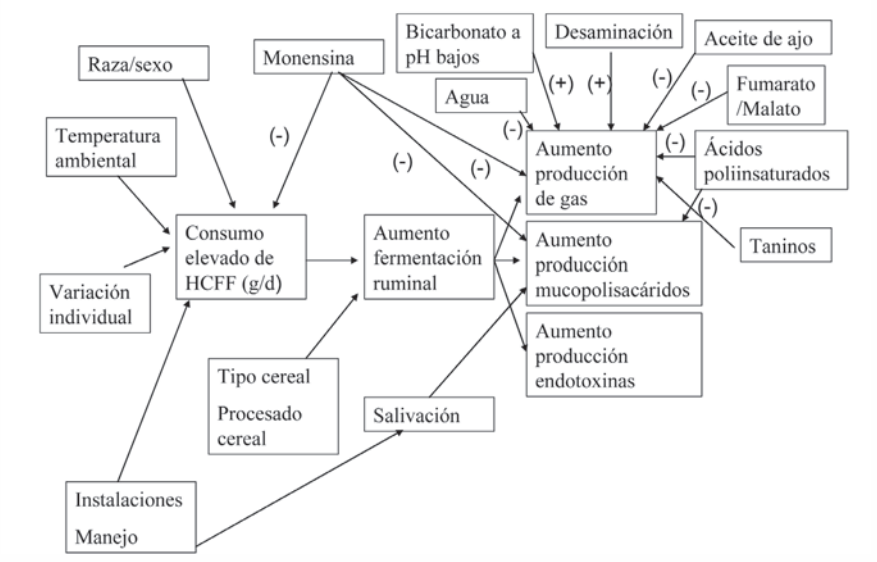
Gráfico 16. Gradiente de un gel de electroforesis del 16SrDNA de bacterias ruminales de animales timpanizados (bloated) y no timpanizados (nonbloated), los datos están agrupados según similitudes (Min et al., 2006b).



En la saliva se encuentran sustancias que favorecen la formación de espuma (mucoproteínas ricas en ácido sialico) y sustancias antiespumantes como la mucina (Clarke y Reid, 1974). Mendel y Boda (1962) en terneros que consumían alfalfa observaron que animales que padecían timpanismo secretaban menos saliva durante el descanso y la comida, pero la concentración de mucina era la misma, resultando en una cantidad de mucina al día inferior. Ello no ha sido demostrado en animales que padecen timpanismo por un elevado consumo de HCFF, pero explicaría porqué en algunas granjas donde el confort es inferior, la

incidencia de timpanismos es superior. Faleiro et el. (2007) observaron que los terneros con paja dedicaban más tiempo a la rumia y tenían más estereotipias que cuando no tenían paja y consumían el mismo pienso. Además entre un animal timpanizado y otro no timpanizado puede variar la población microbiana capaz de lisar la mucina (Mishra et al., 1967; 1968).
Elam y Davis (1962) observaron que el aporte de aceite de soja vía oral reducía la incidencia de timpanismos y sugieren que parte de dicho efecto se podría atribuir a un efecto antiespumante de la propia grasa, pues cuando lo suministraban aceites minerales (sin valor nutritivo) tenían claros efectos antitimpanicos. Min et al. (2007) también observaron que la adición de 15 g/kg de MS consumida de aceite de maíz o de aceite mineral en terneros que pastaban reducía la altura y la estabilidad de la espuma ruminal.

Eliminación gases (estimular el eructo)
El eructo está relacionado con las contracciones ruminales y puede verse inhibido por la presencia de líquido o espuma en el cardias o una distención del retículo (Clarke y Reid, 1974). Mendel y Boda (1962) observaron que la amplitud de las contraciones era inferior en los animales timpanizados que no timpanizados. Causas de hipomotilidad ruminal son dietas ricas en HCFF donde se liberan endotoxinas, hipocalcemia, cianuro potásico, atropina y pneumonía crónica, fibroma área cardial, lesión nervio vago.
Esquema resumen



5. ¿Existe un nexo entre los datos de campo y la bibliografía?
Se podría especular que las diferencias en la incidencia de timpanismos observadas entre animales, razas, y épocas del año podrían obedecer a diferencias en el consumo total de HCFF. A más consumo de HHFF, más generación de gas, mucopolisacáridos y factores inhibidores de la motilidad. Lindahl et al. (1957) observaron un coeficiente de correlación (r = 0.4) entre el consumo corregido por el PV y la incidencia de timpanismos. Razas como la Frisona, son razas con un elevado consumo de alimento, sobretodo al final del cebo (Hicks et al., 1990a). Curiosamente, la producción de metano es heredable en humanos (Flatz et al., 1985), y Cockrem et al (1987) obtuvieron una línea de animales altamente sensible al meterorimso causado leguminosas y otra resistente. Según Hackstein et al. (1996) existe una relación entre las bacterias metanógenas y el animal. Si la heredabilidad a padecer meteorismo está relacionada con el consumo o no, no se sabe. En épocas frías (diciembre y enero) el consumo es más elevado, o a veces consumos irregulares (Hicks et al., 1990b). También el consumo podría explicar parcialmente la reducción de la incidencia de timpanismos en terneros suplementados con monensina, pues parece ser que la monensina disminuye el consumo (Bergen y Bates, 1984) y la variación en el consumo(Chiriase et al., 1991; Larson et al., 1991; Stock et al., 1995). Los efectos de la adición de la monensin descritos anteriormente, reducción relación acetato:propionato en el rumen e inhibición bacterias Gram-positivas productoras de mucopolisacáridos,

pueden explicar también el efecto positivo de la monensina sobre la reducción de los timpanismos. Fox et al. (1988) proponen una serie de factores de corrector para estimar el consumo de los terneros, entre ellos está aumentar en un 8% la predicción del consumo de los terneros cuando estos son frisones, reducir la predicción del consumo en un 10% cuando se añade monensina, o bien aumentar el consumo cuando la temperatura ambiental está por debajo de 5 ºC. El manejo en granja y las instalaciones pueden afectar también al acceso del alimento; situaciones estresantes pueden aumentar la variabilidad en el consumo, es decir, puede haber animales que consuman cantidades más elevadas que otros; o bien afectar a la rumia y a la producción de saliva; ello explicaría que haya granjas con mayor o menor incidencia de timpanismos. Cuando la oferta de alimento es restringida en lugar de *ad libitum*, situación cercana a situaciones de competencia, algunos terneros consumen gran parte de la oferta (Schwartzkopf-Genswein et al., 2003). En terneras alimentadas *ad libitum* con dietas ricas en concentrado cuando el número de comederos se redujo de 4 a 8 por animal se observó un descenso de un 5% del consumo (González et al., 2008), sin embargo aumentó la velocidad de consumo del pienso y el tiempo dedicado a comer y a estar tumbadas (rumia, salivación) descendió y finalmente aumentó el número de decomisos de hígado. Así pues la relación 4 comederos por animal parece la óptima en terneras, pues el animal está más tiempo tumbado (secreción saliva) y el aumento de consumo es ligero (300 g/d) y no se observó un aumento de timpanismos. Se debería profundizar sobre el hipotético efecto que pueda tener el consumo, o el comportamiento alimentario, sobre la incidencia de timpanismos, sin embargo la dificultad de reproducir timpanismos a nivel experimental o de registrar el consumo dificultan dichos estudios.

Otro aspecto muy importante es la elevada una variabilidad animal que existe a padecer timpanismo, se cree se debe a diferencias anatómicas en el rumen, la aptitud de eructar, la producción saliva, la producción de epinefrinas, las pautas consumo alimento,-al ritmo de paso más lento, etc…(Cheng et al., 1998). Todo ello podría estar relacionado con diferencias en la capacidad de ingestión y el comportamiento alimentario de los animales, en los cuales se ha descrito una gran variabilidad (Schwartzkopf-Genswein et al., 2003).

En resumen:

El hecho que a nivel experimental no seamos capaces de provocar la aparición timpanismos nos indica que no conocemos bien los factores desencadenantes, y ello dificulta su estudio. Sin embargo, se pueden contrastar los cambios a nivel ruminal de la viscosidad, estabilidad de la espuma, o heterogeneidad de la flora ruminal en animales bajo diferentes estrategias alimentarias o de manejo. A nivel de campo, se deben mejorar los registros y en caso de muerte intentar realizar un buen diagnóstico diferencial. Sin embargo, si revisamos los datos, parece que existen unos factores de riesgo que predisponen a padecer timpanismo; la raza (Frisón, Bruna y cruzados), el sexo (macho), la temperatura ambiental (meses fríos), y la retirada de aditivos como la monensina.

En estos casos (Frisón, invierno) se podría plantear el uso de grasas poliinsaturadas protegidas o extrusionadas, el uso de algunos aditivos como taninos y aceite de ajo, se debe ser cuidadoso con el manejo (ratio comederos, disponibilidad de paja). Sin embargo, todo ello se debe contrastar y cuantificar para poder proponer estrategias y estimar su coste económico. Y finalmente, debemos asumir en nuestros costes que el cebo de terneros con dietas ricas en concentrado tiene un porcentaje de bajas debidas a los timpanismos. Sólo cuando encontramos una estrategia que económicamente tenga un coste inferior a las bajas debemos pensar en implementarla.

Referencias bibliográficas

- Allen, M. S. 1997. J. Dairy Sci. 80: 1447-1462.
- Asamuna, N. M. et al. 1999. J. Dairy Sci. 82: 780-787.
- Aschenbach, J. R. y G. Gabel. 2000. J. Anim. Sci. 78: 464-470.
- Baldwin, R. L. y M.J. Allison. 1983. J. Anim. Sci. 57: 461-477.
- Bartley E. E., y R. Váhasete. 1961. J. Dairy Sci. 44: 1365.
- Bartley E. E. et al.1975. J. Anim. Sci. 56: 1400-1406.
- Bayaru, E. S. et al. 2001. Anim. Sci. J. 72: 139-146.
- Beauchemin, K. A., y S. M. McGinn. 2005. J. Anim. Sci. 83: 653-661.
- Bennink, M. R. 1978. J. Dairy Sci. 61: 315-323.
- Bergen, W. G. y M. T. Yokohama. 1977. J. Anim. Sci. 45: 573-584.



- Bergen, W. G. y D. B. Bates. 1984. J. Anim Sci. 58: 1465-1483.
- Bevans, D. W. et al. 2005. J. Anim. Sci. 83: 1116-1132.
- Busquet, M. et al. 2005.J. Dairy Sci. 88:4393-4404.
- Calsamiglia, S. et al. 2007. J. Dairy Sci. 90: 2580-2595.
- Carter, R. R. y W. L. Grovum. 1990. J. Anim. Sci. 68: 2811-2832.
- Carro, M. D. et al. 1999. Anim. Feed Sci. Technol. 79: 279-288.
- Chagan, I. et al. 1999. J. Gen. Appl. Microbiol. 45: 305-306.
- Cheng K. J. et al.. 1976. Can. J. Microbiol. 22: 450-459.
- Cheng, K. J. et al. 1998. J. Anim. Sci. 76: 299-308.
- Chiriase, N.K. et al. 1991. J. Anim. Sci (Suppl. 1):61.
- Chilliard, Y. 1993. J. Dairy Sci. 76: 3897-3931.
- Cohen, G. H. et al. 1964. J. Bacteriol. 88: 329-338.
- Clarke, R. T. J. y C. S. W. Reid. 1974. J. Dairy Sci. 57: 753-785.
- Czerkawski, J. W., y G. Breckenridge. 1972. Br. J. Nutr. 27: 131-145.
- Czerkawski, J. W. 1972. Proc. Nutr. Soc. 31: 141-146.
- Dennis, S. M. et al. 1981. J. Anim. Sci. 52: 418-426.
- Devant, M. et al. 2001. J. Anim. Sci. 79: 1944-1954.
- D'Mello, J. R. F. 2000. CABI, Wallingford, Oxon, UK, pp 383-403.
- Dougherty, R. W. y C. D. Habel. 1955. Amer. J. Vet. Res. 16: 96.
- Duffield, T. et al. 2004. J. Dairy Sci. 87: 59-66.
- Eades, S. C. 1997. Vet. J. 53: 312-327.
- Elam, C. J. y R. E. Davis. 1962. J. Anim. Sci. 21: 568-574.
- Ellis, J. L. et al. 2007. J. Dairy Sci. 90: 3456-3467.
- Emmanuel, D. G. V. et al. 2007. J. Dairy Sci. 90: 5552-5557.
- Faleiro, A.G. et al. 2007. ITEA. Volumen Extra. 165-168.
- Flatz, G. A., et al. 1985. J. Pedriatr. Gastroenter. Nutr. 4: 936-941.
- Fox, D. G. et al. 1988. J. Anim. Sci. 66: 1475-1495.
- Fulton, W. R. et al. 1979. J. Anim. Sci. 49: 775-784.
- Garner, M. R. et al. 2002. Syst. Appl. Microbiol. 25: 498-506.
- Garret, E. F., et al. 1999. J. Dairy Sci. 82: 1170-1178.
- Getachew, G. 2001. Ani. Feed Sci. Technol. 93: 1-15.
- Ganev, G. et al. 1979. J. Agri. Sci. 93: 651-656.
- González, L. A. et al. 2008. J. Anim. Sci. online
- Gozho, G. N. et al. 2005. J. Dairy Sci. 88: 1399-1403.
- Gozho, G. N. et al. 2006. J. Dairy Sci. 88: 4404-4413.
- Irwin, L. N. et al. 1979. J. Anim. Sci. 48: 367-374.
- Hackstein, J. H. P., et al. 1996. J. H. P. Environ. Monit. Assess. 42: 39-56.
- Henderson, C. 1973. J. Agric. Sci. (Cambridge). 81: 107-112.
- Hess, B. W. et al. 2008. J. Anim. Sci. 86: E188-E204.
- Hicks, R. B. et al. 1990. 68: 245-253. (breed/gender).
- Hicks, R. B. et al. 1990. 68: 254-265. (season).
- Hinders, R. G., y F. G. Owens. 1965. J. Dairy Sci. 48:1069-1073.
- Hoover, W. H. 1986. J. Dairy Sci. 69: 2755-2766.
- Huber, T. L. 1976. J. Anim. Sci. 43: 902-909.
- Hungate, R. E. et al., 1955. Appl. Microbiol. 3:161-173.
- Kohn, R.A. y T. F. Dunlap. J. Anim. Sci. 76: 1702-1709.
- Karaki, H. et al. 1997. Phamacological Rev. 49: 157-230.
- Krehbiel C. R. et al. 1995. J. Anim. Sci. 73: 3111-3121.
- Kleiber, M. et al. 1943. J. Dairy Sci. 26: 929-933.
- Landau, S. et al. 2000. Appl. Anim. Behav. Sci. 69: 199-203.
- Lane, M. A. et al. 2000. J. Anim. Sci. 78: 1990-1996-
- Larson, E. et al. 1991. J. Anim. Sci. (Suppl. 1): 555.



- Lim, I. et al. 2005. Am. J. Physiol Gastrointest. Liver Physiol. 288: 7-14.
- Lindahl, I. L. et al. 1957. J. Anim. Sci. 16: 165-178.
- López, S. C. et al. 1999. Br. J. Nutr. 81: 59-64.
- Mach, N. et al. 2006. J. Anim. Sci. 84: 3039-3048.
- Majak, W. et al. 1995. J.Dairy Sci. 73: 1493-1498.
- Martin, S. A. y M. N. Streeter. 1995. J. Anim. Sci. 73: 2141-2145.
- McGinn, S. M. et al. 2004. J. Anim. Sci. 82: 3346-3356.
- McGuffey, R. K. et al. 2001. J. Dairy Sci. 84 (E. Suppl.): E194-E203.
- Mendel, V. E., y J. M. Boda. 1961. J. Dairy Sci. 44: 1881-1898.
- Miles, D. G. et al. 1998. J. Anim. Sci. 76: 320-322.
- Min, B. R. et al. 2005. J. Anim. Sci. 83:1322-1331.
- Min, B. R. et al. 2006a. J. Anim. Sci. 84:2546-2554.
- Min, B. R. et al. 2006b. J. Anim. Sci. 84:2873-2882.
- Min, B. R. et al. 2007. Ani. Feed Sci. Technol. 133: 192-205.
- Moss, A. R. et al. 2000. Ann. Zootech. 49: 231-253.
- Nagaraja, T. G. et al. 1982. J. Anim. Sci. 54: 649-658.
- Nagaraja, T.G. y M. M. Chengappa. 1998. J. Anim. Sci. 76: 287-298.
- Nagaraja, T. G. y E. C. Titgemeyer. 2007. J. Dairy Sci. (E. Suppl.): E17-E38.
- Nkrumah, J. D. et al. 2006. J. Anim. Sci. 84: 145-153.
- Nocek, J. E. et al. 1984. J. Dairy Sci. 67: 334-343.
- Nocek, J. E. 1997. J. Dairy Sci. 80: 1005-1028.
- Nordlund, K, V. y E. F. Garret. 1994. Bovine Pract. 28: 109-122.
- NRC, 2001. 7th Edition. Natl. Acad. Sci., Washington, D.C.
- Owens, F. N. et al. 1998. J. Anim. Sci. 76: 275-286.
- Quintana, E. et al. 2004: FASEB Journal. Online January 8.
- Ray, D. E. y C. B. Roubicek. 1971. J. Anim. Sci. 33: 72-76.
- Robles, V. et al. 2007. J. Anim. Sci. 85: 2538-2547.
- Rotger. A. et al. 2006. J. Anim. Sci. 84: 1188-1196.
- Russell, J. B. y J. M. Chow. 1993. J. Dairy Sci. 76: 826-830.
- Stringfellow, W. T. et al. 1991. Appl. Environ. Microbiol. 57: 618-621.
- Schneider, D.A. y S. C. Eades 1998. J. Dairy Sci. 81: 2588-2594.
- Schwartzkopf-Genswein, K. S. et al. 2003. J. Anim. Sci. 81: E149-158.
- Stock, R. A. et al. 1995. J. Anim. Sci. 73: 39-44.
- Thoefner, M. B. et al. 2004. J. Dairy Sci. 87:2932-2940.
- Van Kessel, J. A. y J. B. Russell. 1996. FEMS Microbiol. Ecol. 20: 205-210.
- Vogels , G. D. et al. 1980. Appl. Environ. Microbiol. 40: 608: 612.
- Watanabe, T. et al. 2004. Digestive Diseases and Sciences. 77: 1284-1289.
- Wolin, M. J. 1960. J. Dairy Sci. 42: 1452-1459.
- Zinn, R. A. et al. 1995. J. Anim. Sci. 73: 1239-1245.





Feed Additives: Which, When, and Why

Michael F. Hutjens
Department of Animal Sciences
University of Illinois
hutjensm@uiuc.edu

Introduction

Feeding high producing cows continues to challenge dairy farmers and nutritionists. Also, dairy profit margins vary as milk prices and feed costs shift yearly. Feed costs represent the largest input cost to produce milk (estimated to be 35 to 50 percent). Feed additives are a group of feed ingredients that can cause a desired animal response in a non-nutrient role such as pH shift, growth, or metabolic modifier (Hutjens, 1991). Several feed additives contain nutrients such as sodium in sodium bicarbonate or protein in yeast culture. Feed additives are not a requirement or guarantee for high productivity or profitability.

Evaluating Feed Additives at the Farm Level (4 R's)

Four factors can be considered to determine if a feed additive should be used: anticipated response, economic return, available research, and field responses (Hutjens, 1991). **Response** refers to expected performance changes the user could expect or anticipate when a feed additive is included. Examples include higher milk yield (peak milk and/or milk persistency), increase in milk components (protein and/or fat), greater dry matter intake, stimulate rumen microbial growth, increase digestion, stabilize rumen environment and pH, improve feed efficiency, minimize weight loss, reduce heat stress effects, and/or improve health (such as less ketosis, reduce acidosis, or improve immune response).

Returns reflect the profitability of using a selected additive. If milk improvement is the measurable response, a breakeven point can be calculated. For example, a consultant recommends an additive that raises feed cost



10¢ per day. If milk is valued at 12¢ per .45 kg, every cow must produce .38 kg more milk to cover the added cost associated with the additive. Another consideration is if all cows receive the additive, but only cows fresh less than 100 days respond. Responding cows must cover the additive costs for all cows (responsive and non-responsive cows). One guideline is an additive should return two dollars or more for each dollar invested to cover non-responsive cows and field conditions which could minimize the anticipated response. **Research** is essential to determine if experimentally measured responses can be expected in the field. Studies should be conducted under controlled and unbiased conditions, have statistically analyzed results (determines if the differences are repeatable), and have been conducted under experimental designs that would be similar to field situations. **Results** obtained on individual farms are the economic payoff. Dairy managers and nutritionists must have data to compare and measure responses. Several tools to measure results (to evaluate responses on a farm) include DHI milk records (peak milk, persistency, milk components, and milk curves), reproductive summaries, somatic cell count data, dry matter intake, heifer growth charts, body condition graphs, and herd health profiles which will allow critical evaluation of a selected additive.

Evaluating Feed Additives at the Industry Level (7 R's)
Feed industry personnel and consultants may evaluate feed additive using a slightly different approach; the seven "R's including and basic four R's as listed above plus reliability, repeatability, and relativity. **Reliability** is based on the research data base that has been published on a feed additive.

- the ability to predictable that the product can have a positive response of a wide range of feeding
- establish a normal curve of response in various studies
- minimize the risk of not obtaining a positive benefit to cost ration

Repeatability represents the statistical data results (mean and standard deviation). Each feed consultant must determine what level of risk she or he will assume when selecting each feed additive. The bottom line is the probability of a profitable response. **Relativity** refers to other products, management changes, or on-farm practices that could replace the feed additive being used. For example, an anionic product could be removed if the nutritionist could reduce close ration levels of potassium to less than one percent (ration change), adapt a "no dry period" for third and over lactation cows (management change), and/or drench each three lactation cows with a calcium gel product (on-farm practice change).
A second aspect of industry selection of a feed additive is which commercial product should be purchased. "Me too syndrome" is a term referring to a products that have limited research, but marketed on the concept that their product is similar or identical to the industry base standard additive. Conducting unbiased research that can be published in a technical journal can cost $15,000 to $50,000 per trial and require one to three years to complete Three different types of "me too" situations can exist in the field.

Situation 1: "Me Too" Same Product
Sodium bicarbonate is an example of this type of product. The "me too" product may be structurally or chemically identical. The initial commercial product has conducted extensive studies, published in scientific journals, and established a solid basis for field applications. A second product appears on the market indicating their product is the same. Sodium bicarbonate is a chemically-defined product. The dilemma is critical to future product development if dairy managers and nutritionists shift to the new and cheaper product.

Situation 2: "Me Too" Similar Product
Yeast cultures are examples of this type of comparison. The "me too" product functions in a similar manner, but are not identical (as in situation one). Dairy farmers and nutritionists can ask for product specific research data to determine if the feed additive has been evaluated in controlled studies.

Situation 3: "Me Too" General Product
Silage inoculants are examples of this type of type. The "me too" concept products claim similar benefits and results, but have different components, microbes, enzymes, and/or ingredients. In the case of silage inoculants, these products can have variable bacterial counts (colony forming units), different bacteria,

viability, and/or recommended ways of storing and applying. Dairy farmers and nutritionist need to ask for specific research data for the product.

Updates on Selected Feed Additives
Biotin
Biotin has been associated with formation of hoof horn. Deficiency signs in calves include soft hooves, skin lesions, and hair loss. In swine and horses, a deficiency has resulted in cracks and fissures in the foot and toe. Biotin is required by ruminants and is synthesized by rumen bacteria. If rations are high in concentrate, the synthesis of biotin in the rumen is reduced due to the acid environment and shift in rumen microbes. Recent studies with beef and dairy cattle fed supplemental biotin are summarized below (Seymour, 1998).

- White line separation was reduced by 17 percent (27 verse 10 percent) in the rear lateral claw and 18 percent (20 verse 2 percent) in the rear medial claw when 20 mg of biotin was fed to first lactation Holstein cows after 100 days of supplementation.

- Sole ulcers were reduced in 180 dairy cows receiving 10 mg per day of biotin by 2.6 percent (3.3 verses 0.7 percent) compared to unsupplemented cows after 24 months of supplementation.
- Heel warts were reduced 20.2 (after 11 months) to 37.3 (after 4 months) percent in 56 dairy cows fed 20 mg of supplemental biotin per head per day during an 11 month study.

- Claw lesions (236 claws in 160 cows in 82 dairy herds) were improved and short term healing was enhanced when 20 mg of biotin were fed per day. Plasma biotin concentrations were correlated with faster new horn formation over lesions in biotin-supplemented cows.

- Vertical fissures or sand cracks were reduced 15.1 percent (29.4 verses 14.3) in 265 Hereford cows fed 10 mg per cow per day. Biotin-supplemented cows were 2.5 times less likely to develop sand cracks compared to unsupplemented cows.

Besides the improvement in foot health, an Ohio study reported 314 kilograms more milk (11,794 kg in control cows versus 12,108 kg in biotin-supplemented cows) ($P< 0.05$). In another study, biotin supplemented cows experienced fewer days to conception (116 versus 99) and services per conception (3.02 versus 2.69). In a second Ohio State study, a milk increase of 2.3 kilograms of milk per day was reported suggesting the role of biotin may enhance a metabolic route mediated by enzymes, increased glucose synthesis, and/or improved fiber digestion (Weiss and Zimmerly, 2000).
The recommended level for biotin supplementation is 10-20 mg per day starting at 15 months of age for heifers. Cows should be supplemented with 20 mg per day throughout lactation and 10 mg per day during the dry period. Target animals include chronic hoof problems cows, high producing cows, cows fed high grain rations, and heifers from breeding to calving. The cost is typically 8 to 10 cents per cow per day. The benefit to cost ratio is 3:1 based on a milk yield increase of two kilograms. The economics is more favorable if reproduction improves and lameness is reduced. Foot-related response to biotin supplementation may take several months before changes and improvements occur.

Protected Choline
Choline is usually classified as a B vitamin, but does not fit in the traditional role of a vitamin. Its roles in dairy nutrition include minimizing fatty liver formation, improving neurotransmission, and serving as a methyl donor. The lack of response to dietary choline is due to extensive rumen degradation estimated to be 85 to 95 percent of supplemental choline. When choline was infused postruminal (15 to 90 grams per day), the average milk response to choline was 1 kg milk per day, .17 percent fat, and 1.5 kg fat corrected milk per day (Erdman, 1990). The primary mechanism of interest in dairy cows is choline's effect on triglyceride transfer from the liver, especially in early lactation when free fatty acids from adipose tissue are mobilized and formed into lipoproteins requiring a methyl donor (Erdman, 1990). Choline could also spare methionine (10g of choline would provide the equivalent methyl groups found in 44g of methionine). Diets low in methionine may be improved by adding 30g of rumen-protected choline (Grummer et al, 1987). Choline is more



difficult to protect in the rumen than amino acids because it is extremely hygroscopic.

Recently sources of rumen-protected choline have been manufactured by encapsulation and fat coating. Cornell workers have reported rumen-protected choline significantly reduced NEFA conversion to stored triglyceride and increased glycogen in livers of dairy cows at calving and in early lactation (Overton et al, 2000). These metabolic changes can reduce the risk of clinical ketosis. New York field studies have also measured an average increase of 2.2 kg of milk per cow per day during the postpartum feeding period. One commercial product is feed at the rate of 15 gram of protected choline (in a 60 gram encapsulated product) starting 21 days prepartum to 50 days postpartum at a cost of 30 cents per cow per day. Improved encapsulation allows protected choline to be mixed with dry feed ingredients without loss of protection.

Anionic Salts and Products

Anionic salts and products (ammonium chloride, ammonium sulfate, aluminum sulfate, magnesium sulfate, calcium chloride, and commercial acid treated feeds) cause rations to be more acidic, increasing absorption of dietary calcium, and stimulating mobilization of bone calcium due to improvement in parathyroid hormone receptor sites (NRC 2001). When more calcium is available, the cow is able to maintain blood calcium levels caused by the calcium drain due to milk synthesis. Canadian workers (Block, 1984) reported 48 percent milk fever when cationic (control) diets were fed and no milk fever with anionic diets. Colorado researchers (Oetzel, 1988) reported a 13 percent decrease (from 17 to 4 percent) in milk fever when cows received anionic salts with calcium intakes as high as 150 grams per day. Feeding 100 grams of ammonium chloride and 100 grams of magnesium sulfate for 2 to 3 weeks prepartum has resulted in favorable responses reducing milk fever and hypocalemia, lowering retained placenta, and increasing dry matter intake postpartum (Beede et al, 1991). Anionic salts are unpalatable and should be mixed with 1 to 2 kg of a palatable carrier (such as distillers grain, molasses, or heated soybeans), and pelleted to avoid separation (Oetzel et al, 1992). Additional research is needed to determine optimal combinations of anionic salts, levels, and length of feeding. Monitoring urine pH is an effective way to determine if adequate levels of anionic product are being consumed relative to dietary potassium levels (Jardon, 1995). Target values for Holsteins are a pH from 6.2 to 6.8. For Jerseys, a pH from 5.5 to 6.0 may be needed for optimal response. If urine pH is over 7, the benefit of anionic products is not occurring. If urine pH is too low, excessive metabolic acidosis is occurring which can lead to kidney and health problems. Recently chlorine sources of anionic salts have proven to be more aggressive acidifiers compared to sulfates when monitoring urine pH. Hydrochloric acid (sprayed on feed) improves feed palatability compared to salts while reducing urine pH. Several commercial products are available with field reports of improved palatability.

Yeast Culture

Yeast culture is a live culture of yeast (a fungus) and the media on which it was grown and dried so as to preserve the yeast's fermenting capacity. Several other types of yeast products are available from fermentation processes (such as brewers and distillers yeast). A summary of 7 yeast studies concluded cows fed yeast averaged 25.1 kg of 4% FCM compared to control cows at 23.5 kg (Hutjens, 1991). Early lactation cows had a significant increase in milk yield while mid lactation cows had no response (Harris and Lobo, 1988). Milk composition (fat and protein levels) response is also variable. Illinois (Dann et al, 2000) and Canadian workers (Robinson and Garrett, 1999) have reported significant increases in dry matter intake when yeast culture was fed to transition cows resulting in higher milk yields and less weight loss postpartum.

The main effect of yeast culture is to stabilize the rumen environment. Concentrations of cellulolytic and anaerobic bacteria were higher in vitro and in vivo systems. Rumen pH has been elevated in some studies with yeast cultures, but pH changes are not consistent. A reduction in rumen lactic acid concentrations has been reported (Williams, 1989). Yeast cultures are being studied to determine mode of action, optimum level, and correct stage of lactation to feed. Early lactation (2 weeks prepartum to 4 weeks post partum) appears to be an optimum time to feed yeast culture to stabilize the rumen environment as cows are shifted from dry cow to high-energy diets. Various forms and concentrations of yeast culture products are commercially available.

Evaluating Feed Additives

Interest in feed additives will continue and will be influenced by new research results, advertising, and profit margins. Table 1 outlines additives in six categories that will assist dairy farmers, consultants, feed company nutritionists, and veterinarians in deciding if an additive should be included. Current status is classified in the following ways.

* Recommended: Include as needed
* Experimental: Additional research and study are needed
* Evaluative: Monitor on individual and specific situations
* Not recommended: Lacks economic responses to currently use.

Summary

- Feed additives can be evaluated using the seven R's for nutritionists and the four R's for dairy managers.
- Variation in feed additives can be evaluated using repeatability, reliability and relativity.
- Application of the "me too" syndrome is important to future research and product development.
- An update on anionic products, biotin, and yeast culture illustrate the importance of applying variation principles.
- Nineteen dairy feed additives for dry and lactating cows are outlined with recommendations and guidelines using the four R's.

Literature Cited

- Beede, D. K., C. Wang, G. A. Donovan, L. F. Archbald, and W. K. Sanchez. 1991. Dietary cation-anion difference (electrolyte balance) in late pregnancy. In Proc. FL Dairy Prod. Conf. p. 1.
- Dann, H.M., J.KI. Drackley, G.C. McCoy, M.F. Hutjens, and J.E. Garrett. 2000. Effects of yeast culture on prepartum intake and postpartum intake and milk production of Jersey cows. J. Dairy Sci. 83: 123.
- Drackley, J.K. 1999. Biology of dairy cows during the transition period: the new frontier? J. Dairy Sci. 82:2259.
- Downer, J. F, and K. R. Cummings. 1987. A ten-year review of lactation studies with sodium bicarbonate. J. Dairy Sci. 70 (Suppl 1): 198.
- Duffield, T.F., D. Sandals, K.E. Leslie, K Lissemore, B.W. McBride, J.H. Lumsden, P. Dick, and R. Bagg. 1998. Efficacy of monensin for the prevention of subclinical ketosis in lactating cows. J. Dairy Sci. 81:2866
- Erdman, R. A. 1988. Dietary buffering requirements of the lactating dairy cow. J. Dairy Sci. 71:3246.
- Erdman, R. A. 1990. Choline nutrition in dairy cattle. In NFIA Nut. Inst. Proc. Kansas City, MO.
- Grummer, R. R., L. E. Armentano, and M. S. Marcus. 1987. Lactation response to short-term abomasal infusion of choline, inositol, and soy lecithin. J. Dairy Sci. 70:2518.
- Heinrichs, A. J., D. A. Todhunter, F. A. Murray, A. P. Grifo, Jr., J. H. Harrison, and H. R. Conrad. 1984. Zinc-methionine supplementation for dairy cows--a study of effects on plasma zinc, wound healing, mammary health, and immune response. Ohio State Res. Circ. 231.
- Hutjens, M. F. 1991. Feed additives. Vet Clinics North Am.: Food Animal Practice. 7:2:525.
- Jardon, P.W. 1995. Using urine pH to monitor anionic salt programs. Compend. Contin. Educ. Pract. Vet. 17:860.
- Jaster, E. H. 1988. Nicotinic acid or nicotinamide for lactating dairy cows. In Proc. Degussa Tech. Symp. Atlanta, GA. p. 3.
- 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.
- Kung, L. Jr., and R.E. Muck. 1997. Animal responses to silage additives. In Silage; Field to Feedbunk. NRAES-99. p. 175
- National Research Council. 2001. Nutrient Requirement of Dairy Cattle, 7th edition. National Academy Press. Washington, D.C. p. 192.
- Oetzel, G. R., J. D. Olson, C. R. Curtis, and M. J. Fettman. 1988. Ammonium chloride and ammonium sulfate for prevention of parturient paresis in dairy cows. J. Dairy Sci. 71:3302.
- Overton, T.R, M.S Piepenbrink, and M.R. Waldron. 2000. Interactions of liver metabolism and health in transition dairy cows. Cornell Nutrition Conf. Proc. Cornell Univ, p. 251.



- Riddell, D.., E. E. Bartley, and A. D. Dayton. 1981. Effect of nicotinic acid on microbial protein synthesis in vitro and on dairy cattle growth and milk production. J. Dairy Sci. 64:782.
- Robinson, P.H., and J.E. Garrett. 1999. Effect of yeast culture on adaptation of cows to postpartum diets and on lactational performance. J. Animal Sci. 77:988.
- Rodes, L.M., and K.A. Beauchemin. 1998. Enzymes to enhance utilization of feed in dairy cows. Western Canadian Dairy Seminar Proc. Volume 10. p. 167
- Seymour, W.M. 1998. Role of biotin in ruminant nutrition examined. Feedstuffs. 70:19:1.
- Schwab, C. G. 1983. Supplemental niacin for lactating dairy cows. In Proc. 24th New England Dairy Feed Conf. Concord, NH.
- Sharma, B. K., and R. A. Erdman. 1984. In vitro degradation of choline from selected feedstuffs and choline supplements. J. Dairy Sci. 72:2772.
- Skaar, T. C., R. R. Grummer, M. R. Dentine, and R. H. Stauffacher. 1989. Seasons effects on prepartum and postpartum fat and niacin feeding on lactating performance and lipid metabolism. J. Dairy Sci. 72:2028.
- Symanowski, J.T., H.B. Green, J.R. Wagner, J.I.D. Wilkinson, J.S. Davis, M.R. Himstedt, M.S. Allen, E. Block, J.J. Brennen, H.H. Head, J.J. Kennelly, J.N. Nielsen, J.E. Nocek, J.J. Vand Der List, and L.W. Whitlow. 1999. Milk production and efficiency of cows fed monensin. J. Dairy Sci. 82 (suppl.1):75 (Abstr).
- Weiss, W.P., and C. A. Zimmerly. 2000. Effects of biotin on metabolism and milk yield of dairy cows. Cornell Nutrition Conf. Proc. Cornell University. p. 22.
- Williams, P. E. V. 1989. The mode of action of yeast culture in ruminant diets: A review of the effect on rumen fermentation patterns. In Biotech. Feed Ind. Alltech Tech. Fifth Proc. Lexington, KY. p. 65.

Table 1. Feed additive guidelines for dairy cows.

Anionic salts and products
1. Function: Cause the diet to be more acidic increasing blood calcium levels by stimulating bone mobilization of calcium and calcium absorption from the small intestine
2. Level: Reduce DCAD to –50 meq/kg using chloride sources (calcium chloride, ammonium chloride, Bio Chlor, Animate, Soy Chlor, Nutra Chlor, and hydrochloric acid treated feeds)
3. Cost: 40 to 75 cents per dry cow per day depending on product used
4. Benefit to Cost Ratio: 10:1
5. Feeding strategy: Feed to dry cows two to three weeks before calving. Adjust dietary calcium levels to 150 g per day (50 g inorganic). Raise dietary magnesium levels to 0.4 percent.
6. Status: Recommended

Aspergillus oryzae
1. Function: Stimulate fiber-digesting bacteria, stabilize rumen pH, and reduce heat stress.
2. Level: 3 g per day
3. Cost: 3 cents per cow per day
4. Benefit to Cost Ratio: 6:1
5. Feeding Strategy: High grain diets, low rumen pH conditions, and under heat stress (cows) and calves receiving a liquid diet
6. Status: Evaluative

Biotin
1. Function: Improve hooves by reducing heel warts, claw lesions, white line separations, sand cracks, and sole ulcers and increase milk yield through a metabolic route
2. Level: 10 to 20 milligrams per cow per day for 6 months to one year
3. Cost: 8 to 10 cents per cow per day
4. Benefit to Cost Ratio: 4:1
5. Feeding Strategy: Herds with chronic foot problems, may require supplementation for 6 months before evaluation, and company recommends beginning supplementation at 15 months of age.
6. Status: Recommended

Beta-carotene
1. Function: Improve reproductive performance, immune response, and mastitis control
2. Level: 200 to 300 mg per day
3. Cost: 30 cents per cow per day
4. Benefit to Cost Ratio: Not available
5. Feeding Strategy: In early lactation and during mastitis-prone time periods
6. Status: Not recommended

Calcium propionate
1. Function: Increase blood glucose and calcium levels
2. Level: 120 to 225 grams
2. Cost: 80 cents per pound
4. Benefit to cost ratio: Not available
5. Feeding Strategy: Feed 7 days prepartum to 7 days postpartum or until appetite responds; unpalatable
6. Status: Recommended

Protected choline
1. Function: A methyl donor used to minimize fatty liver formation and to improve fat mobilization
2. Level: 15 to 30 g per day
3. Cost: Not available
4. Benefit to Cost Ratio: 2:1 (when protected)
5. Feeding Strategy: Feed two weeks prepartum to eight weeks postpartum to cows experiencing ketosis, weight loss, and high milk yield
6. Status: Experimental (rumen protected)

Enzymes (fibrolytic)
1. Function: Increase fiber digestibility by reducing fiber (cellulase and xylanase enzymes) and DM intake
2. Level: Not clearly defined (enzymatic units per unit of feed dry matter)
3. Cost: 15 to 25 cents per cow per day
4. Benefit to Cost Ratio: 2 to 3:1 (Canadian data)
5. Feeding Strategy: Increase fiber digestibility, treated 12 hours before feeding, spray on product more effective when applied to dry diets, and may be diet specific
6. Status: Experimental

Essential oil compounds (cinnamon oil, clove oil, and/or garlic oil)
1. Function: Improve rumen fermentation by reducing protein deamination, increase propionate production, increase feed efficiency, and/or improve hydrogen status
2. Level: 0.5 to 1.5 grams per cow per day (higher levels may have a negative impact
3. Cost: Varies, six cents per cow per day
4. Benefit to Cost Ratio: 7:1 (Wisconsin data)
5. Feeding strategy: Increase propionate production in the rumen and feed efficiency
6. Status: Experimental

Magnesium oxide
1. Function: Alkalinizer (raises rumen pH) and increases uptake of blood metabolites by the mammary gland raising fat test
2. Level: 45 to 90 g per day
3. Cost: 21 cents per pound
4. Benefit to Cost Ratio: Not available
5. Feeding Strategy: With sodium-based buffers (ratio of 2 to 3 parts sodium bicarbonate to 1 part magnesium oxide)
6. Status: Recommended



Methionine hydryoxy analog
1. Function: Minimize fatty liver formation, control ketosis, and improve milk fat test
2. Level: 30 g
3. Cost: 10 cents per cow per day $1.60 per pound)
4. Benefit to Cost Ratio: 2:1
5. Feeding Strategy: Feed to cows in early lactation receiving high levels of concentrate and limited dietary protein
6. Status: Evaluative

Monensin
1. Function: Improve feed efficiency for lactating cow, reduce ketosis and displaced abomasums in transition cows by shifting rumen fermentation and microbial selection
2. Level: 11 g to 22 g per ton of total ration dry matter consumed (250 to 400 mg / cow / day)
3. Cost: 2 cents per cow per day
4. Benefit to Cost Ratio: 5 to 1
5. Feeding Strategy: Feed to dry cows (reduce metabolic disorders) and lactating cow (feed efficiency) while monitoring milk components to evaluate optimal levels of monensin.
6. Status: Recommended

Niacin (B_3, nicotinic acid, and nicotinamide)
1. Function: Coenzyme systems in biological reactions, improve energy balance in early lactation cows, control ketosis, and stimulate rumen protozoa
2. Level: 6 g unprotected per cow (prepartum), 12 g unprotected per cow (postpartum), or 3 grams of rumen protected and 3 grams of unprotected
3. Cost: One cent per gram (6 to 12 cents per cow per day)
4. Benefit to Cost Ratio: 6:1 (6 grams level)
5. Feeding Strategy: High producing cows in negative energy balance, heavy dry cows, and ketotic-prone cows fed two weeks prepartum to peak dry matter intake (10-12 weeks postpartum)
6. Status: Evaluative

Probiotics (Bacterial direct-fed microbes)
1. Function: Produce metabolic compounds that destroy undesirable organism, provide enzymes improving nutrient availability, or detoxify harmful metabolites
2. Level: Not clearly defined
3. Cost: 5 to 15 cents per cow per day
4. Benefit to Cost Ratio: Not available
5. Feeding Strategy: Feed to calves on liquid diet, transition cows, and during stress conditions
6. Status: Evaluative for cows; recommended for milk fed calves

Propylene glycol
1. Function: Source of blood glucose, stimulate an insulin response, and reducing fat mobilization
2. Level: 8 to 16 ounces per cow per day
3. Cost: $1.25 per pint or pound
4. Benefit to Cost Ratio: Not available
5. Feeding Strategy: Drench cow starting at one week prepartum (preventative role) or after calving when signs of ketosis are observed (treatment role). Feeding not as effective as drenching.
6. Status: Recommended

Silage bacterial inoculants
1. Function: To stimulate silage fermentation, reduce dry matter loss, decrease ensiling temperature, increase feed digestibility, improve forage surface stability, and increase VFA (lactate) production
2. Level: 100,000 colony forming units (CFU) per gram of wet silage. Recommended bacteria include Lactobacillus plantarium, Lactobacillus buchneri, Lactobacillus acidilacti, Pediococcus cereviseai, Pediococcus pentacoccus, and/or Streptococcus faecium.
3. Cost: $0.60 to $2.00 per treated ton of silage
4. Benefit to Cost Ratio: 3:1 (feed recovery) to 7:1 (milk improvement)
5. Feeding Strategy: Apply to wet silage (over 60 percent moisture); corn silage, haylage, and high moisture

corn; low natural bacteria counts (first and last legume/grass silage and frost damaged corn silage); and under poor fermentation situations
6. Status: Recommended

Sodium bentonite
1. Function: A clay mineral used as a binder, shifts VFA patterns, slows rate of passage, and exchanges mineral ions. Field claims to tie up mycotoxins have been reported
2. Level: 450 to 700 g per day (rumen effect), 110 grams for mycotoxin effect
3. Cost: 15 cents per pound
4. Benefit to Cost Ratio: Not available
5. Feeding Strategy: With high grain diets, loose stool conditions, presence of mold, low fat test, and dirt eating
6. Status: Evaluative

Sodium bicarbonate/sodium sesquicarbonate (buffer)
1. Function: Increase dry matter intake and stabilize rumen pH.
2. Level: .75 percent of total ration dry matter intake
3. Cost: 6¢ per cow per day (bicarb = $0.19/lb; S Carb = $0.18/lb)
4. Benefit to Cost Ratio: 4:1 to 12:1
5. Feeding Strategy: Feed 120 days postpartum with diets that are high in corn silage (over 50%), wet rations (over 55% moisture), lower fiber ration (<19% ADF), little hay (<5 lb), finely chopped forage, pelleted grain, slug feeding, and heat stress conditions.
6. Status: Recommended

Yeast culture and yeast
1. Function: Stimulate fiber-digesting bacteria, stabilize rumen environment, and utilize lactic acid.
2. Level: 10 to 120 g depending on yeast culture concentration
3. Cost: 4 to 6 cents per cow per day
4. Benefit to Cost Ratio: 4:1
5. Feeding Strategy: Two weeks prepartum to ten weeks postpartum and during off-feed conditions and stress
6. Status: Recommended

Yucca extract
1. Function: Decrease urea nitrogen in plasma and milk by binding ammonia to the glycofraction extract of Yucca shidigera plant improving nitrogen efficiency in ruminant animals.
2.Level: 800 milligrams to 9 grams per day (depending on source)
3. Cost: 2 to 4 cents per cow per day ($1.28/ lb for Micro Aid 1X)
4.Benefit to Cost Ratio: Not available
5.Feeding strategy: To cows with high BUN and MUN levels
6.Status: Evaluative

Zinc methionine
1. Function: Improve immune response, harden hooves, and lower somatic cell counts.
2. Level: 9 g per day (Zinpro 40 trademark product)
3. Cost: 2 to 3 cents per cow per day
4. Benefit to Cost Ratio: 14:1
5. Feeding Strategy: To cows experiencing foot disorders, high somatic cell counts, and wet environment
6. Status: Recommended





Neonatal Intensive Care of the Calf

Reny Lothrop D.V.M.
RR # 3, 772 Glen Morris Rd.
Ayr, Ontario, Canada
Tel 1-519-242-7540
Email: lothrop@sympatico.ca

Introduction

The time from birth to three weeks of age is assigned the period of the neonate. The calf passes from the sheltered uterine environment into a world that can be hostile to the calf. During the process of birth the calf must transition from a supported in utero to an independent existence, begin breathing on its own, regulate its own metabolism, ingest food for maintenance of life and growth, develop its immune system by passive transfer of colostral immunoglobulins.

The purpose of this report will be:

- Show that rates of still birth and calf mortality to 48 hours of age is unacceptably high on dairy farms.
- Provide and understanding of what can go wrong during a difficult birth and how the compromised newborn calf can be better managed.
- Provide guidance on how to improve calf survivability in the period from birth to 48 hours of age.

Stillborn Mortality and Death of the Dairy Calf Before 2 Days of Age

A review of the scientific literature has defined stillborn mortality as born dead or dying within 24-48 hours of life. The following selected studies illustrate the magnitude of the problem of stillbirth in dairy cattle (predominately the Holstein breed).



Study:	% of calf deaths birth to 48 hours
National Animal Health Monitoring USDA 2007[1]	6.5 %
Vernooy et al. Canada 2006[2]	7.6%
Osteras et al. Denmark 2006[3]	7.8%
Meyer et al. USA 1996[4]	6.6% multiparous 13.2% primiparous
Mee et al. Ireland 2007[5]	3.5% multiparous 7.7% primiparous

These surveys show stillborn deaths are significant financial and welfare concerns for the dairy producer. There is a large variation in incidence of stillborn deaths on farms. Close observation of the calving cow appears to reduce the stillborn losses (Vernooy et al[ii]).

The Influence of Dystocia on Calf Survival

Most of the calves that show signs of compromise are the survivors of a difficult calving. Those calves although delivered alive continue to be at risk. A field study by Tomlinson et al[6] demonstrated that dystocia was both a significant cause of stillbirth and a predictor of subsequent preweaning mortality. In this report of 6684 calves there were 8.4% calves dying before 48 hours of age and 8.8% dying from two days of age to weaning. In this report there was almost a 50% increase in calf mortality attributed to dystocia. This demonstrates that calves that survive a hard calving continue to be at risk.

The Physiologic Changes of Normal Birth
- The fetal lung is normally slightly hypoxic.
- The umbilical vein delivers oxygenated blood from the placenta to the fetus. Most of the oxygenated blood is diverted through the foramen ovale and through the patent ductus arteriosus into the aorta bypassing the lung.
- Two large arteries off the lumbar aorta return blood back to the placenta.
- Upon separation of the umbilicus at birth the fetus becomes asphyxic.

The Physiologic Changes of Normal Birth (Cont'd)
- This asphyxia causes reflex gasping respiration with expansion of the lung, increasing vascular supply to the lung.
- The persistent ductus arteriosus and foramen ovale close when there is increasing vascular blood flow back to the heart from the lungs.
- The lung expansion forces fluids out of the alveoli to facilitate oxygenation.

Kasari et al[7]and Harvey[8] et al provide reviews of physiologic changes of normal birth in the calf.

The Pathophysiology of Abnormal Birth
If the initial asphyxia that occurs at the time of birth is not corrected by onset of respiration there may ensue a cascade of events:
- If prolonged asphyxia is not compensated for by respiration and oxygen exchange the calf will rapidly develop respiratory acidosis.
- If the lungs fail to inflate there will be continued vascular resistance in the pulmonary artery thus blood may continue to bypass the lungs through the foramen ovale and the ductus arteriosus confounding the need for oxygen transfer from the lungs.
- Metabolic acidosis quickly occurs with increases probability of death.
- Those calves that survive dystocia or delayed onset of breathing continue to have problems with metabolic acidosis and thermoregulation.



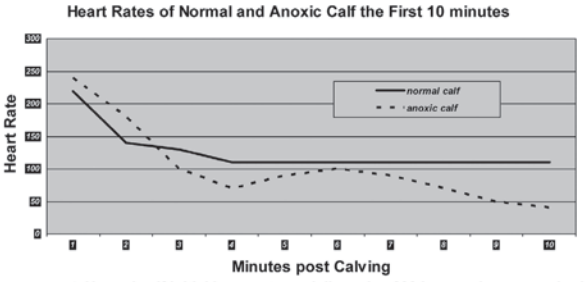
- Those calves that do survive may present in a weakened state and not have the ability to ingest or assimilate colostrum in a timely way.

Assessment of the Viability of the Newborn Calf
The systematic examination of the newborn calf has to be done quickly so that if needed intervention can be timely. It is not difficult for a veterinary clinician or a producer to determine if the calf has complications at calving. In the following chart there are five essential observations that will categorize whether the newly born calf is normal or abnormal.

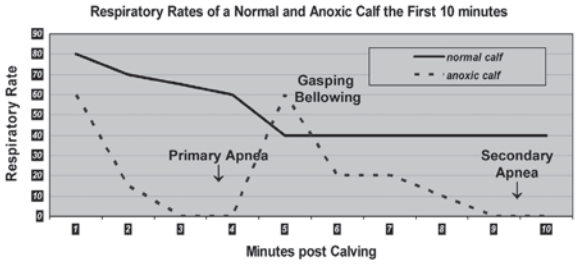
Observations	Normal	Abnormal
Appearance	Pink mucous membranes *Measures blood pressure and oxygenation of blood*	Pale mucous membranes
Heart Rate	At birth rapid/irregular ~200 bpm Normal rate 100-140 bpm	Absent <60 bpm and irregular
Response to stimuli -nasal pinch -slapping of thorax	Sneezing, head shake Attempt to stand	No response No response
Muscle Activity	Righting of the head immediately at birth Sternal position within 3-4 minutes of birth Standing within 15-60 minutes Suckling within 60-90 minutes	Slow response Poor jaw muscle tone Delay in achieving sternal position or remains in lateral recumbency Delayed standing Delayed suckling
Respiration	>30 respirations per minute	<30 respirations per minute Irregular gasping, bellowing Absent



Cardiovascular and Respiratory Changes Associated with Asphyxia in the Calf
The following charts illustrate the dynamics of a calf undergoing profound asphyxia after parturition:



- Normal calf initial heart rate on delivery is ~200 bpm and once respiration is normal it settles to ~100-130 bpm
- Anoxic calf has a higher heart rate on delivery 220 and if the calf develops a primary apnea will quickly fall within 3-4 minutes to 50-60 bpm followed by an slight increase to over 100 bpm coincident with a renewed attempt to breath. If the calf goes on to develop secondary apnea the heart rate will slowly fade



- The anoxic calf may initially try to breathe followed by a period of apnea or they can be delivered already in a state of primary apnea at the time of delivery
- Many of these calves seem to try to breathe and some will gasp or bleat with effort followed by secondary apnea and death

Neonatal Calf Resuscitation
The specific response made to revive a calf suffering from the effects of asphyxia depends upon the status of the calf on presentation. The approach to resuscitation is much different whether the calf is presenting in the stage of primary or secondary apnea. A calf with primary apnea may simply be anoxic and require only stimulation of respiration. A calf with secondary apnea will usually require assisted ventilation.

Primary apnea
Normal calves just at birth present with a primary apnea. The mucous membranes are pink, the calf will respond to a nasal tickle with a sneeze, the calf has strong jaw muscle tone and importantly the heart rate is rapid (180-200). These calves tend to have irregular and incomplete attempts at respiration or may not be breathing. The following are the appropriate procedures:

- Tickle the nasal passage with a piece of straw. This procedure will often induce a sneeze and subsequent respiration.
- The application of cold water onto the calf will often induce a `gasp` reflex and subsequent breathing.
- Clean the oral cavity with a towel or suction. Avoid over suctioning of the pharynx.
- The procedure of suspending the calf is ineffective in drainage of fluids from the lower airway. The fluids expelled by this procedure come from the stomach and not the lungs. Do not suspend the calf over a gate. Do not be overly concerned about removing fluid from the lungs as the volume of fluids is very small compared to the volume of an inflated lung.
- The use of drugs to stimulate respiration is debatable. If respiratory stimulants are used they should

only be used in a calf with a rapid heart rate. Doxapram (1 mg/kg sublingual). The duration of effect is 10-15 minutes. Doxapram does stimulate respiration but it also increases tissue oxygen demand. If the calf is in secondary apnea Doxapram can produce irreversible neurologic and myocardial tissue damage. It is difficult to distinguish between primary and secondary apnea so it is prudent to provide assisted ventilation rather than use pharmacologics.

Secondary Apnea

The distinguishing characteristics of a calf presenting with secondary apnea are decreasing heart rates, pale mucous membranes and poor muscle tone. Calves may be asphyxic at birth and be already presenting in secondary apnea because of dystocia. Besides the problems of anoxia these calves have serious complications of metabolic and respiratory acidosis. In order to effect survival of these calves they are going to need to have ventilatory support. The following are the appropriate procedures:

- Use a nasal cone to assist ventilation (Kruuse Calf Resuscitator or Ambu bag). The esophagus must be pinched off so the air is not forced into the stomach but inflates the lung. These devices are difficult to manage with one person.
- The preferred method to establish airway ventilation is to intubate the calves. Calves presenting with secondary apnea are relatively easily intubated with a 7-9 mm endotracheal tube. The calf is placed in lateral recumbency. The tube is passed through the mouth to the pharynx and the larynx is lifted from the outside onto the endotracheal tube. Some clinicians prefer to use a guided wire passed down the endotracheal tube and visualize the larynx with a laryngoscope for intubation.
- Once the calf is intubated the lung can be inflated by use of the devices such as the Kruuse calf resuscitator or Ambu bag). Oxygen can be used but room air is satisfactory. The most important point is to inflate the lung. Continuous supported ventilation at the rate of 30-40 breaths per minute is required until the calf is breathing on its own.
- Respiratory support is the principle action required in a calf presenting with secondary apnea but unfortunately many of these calves have poor cardiac function as well. Calves with a heart rate that decreases to less than 50 per minute may benefit from epinephrine at .1 mg/kg IV.

The Fading Calf Syndrome

Calves that spontaneously survive asphyxia at calving or those calves that required resuscitation continue to be at risk for the first few days of life. Many of these calves have a persistent metabolic and respiratory acidosis. These calves also have difficulty with thermoregulation. Many are slow to stand and to suckle. Some calves may not assimilate colostral immunoglobulins even if provided. These calves are at risk of dying from those complications. These are the calves that initially appear to be fully recovered after a dystocia only to go onto die a few hours later.

Metabolic and Respiratory Acidosis

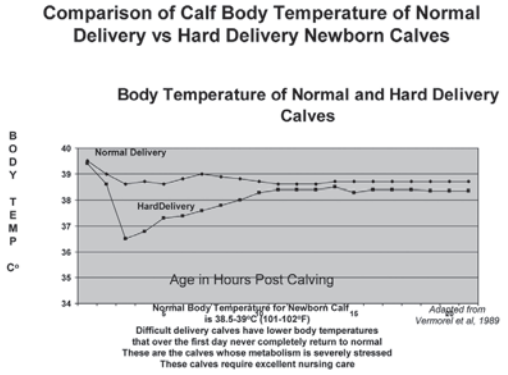
It is highly unlikely that clinicians or producers will have the facility to measure blood pH or CO_2. The clinical signs of acidosis are profound muscular weakness, poor anal tone, slow eye menace and weak suck reflex. These calves are difficult to arouse. They may have a rapid respiratory rate. Their body temperature is often less than 38°C. The treatment is administration of sodium bicarbonate (1-2 mEq/kg) intravenously as a bolus injection repeated every 4-6 hours. It is also important to provide colostrum as the first source of highly digestible energy. Frequently, the administration of sodium bicarbonate intravenously to these calves will result in an immediate response. Many treated calves will begin immediately brighten and begin nursing. An excellent review of therapy is provided by Kasari[9]

Thermoregulation

The normal newborn calf has a temperature that is higher than normal at calving (38.5-39° C) which gradually drops to normal within 3-5 hours. Calves that have had a protracted delivery at birth have lowered body temperatures which are very slow to return to normal. The assessment of body temperature of the neonatal calf is an excellent determinant of its health status. These calves are at risk if the environment is cold (less than 15°C), wet or drafty, or not dried off or not provided sufficient bedding. The priorities for



the at risk newborn are to be dried, to obtain the first feeding of colostrum to fuel its metabolism and to provide shelter. Calves that do not achieve these necessities are susceptible to metabolic acidosis and are less able to absorb colostral immunoglobulins.



This graph adapted from Vermoral et al[x] illustrates the temperature differences between eutocial and dystocial calves.

Colostrum and Survival of the Neonatal Calf

There are many literature reviews describing the essential management role of colostrum for the survivability and growth of the calf.(Tyler et al[10], Quigley[11], Wells et al[12], and Besser et al[13]). Most of these reports focus on the advantages of sufficiency of passive transfer of antibodies. Less well appreciated are the nutritional benefits provided from colostrum to the newborn calf. For the compromised newborn calf the nutritional value of colostrum may be more important than immunoglobulin transfer.

Composition of Colostrum

Milking Number				
	1	2	3	Milk
Specific Gravity	1.056	1.040	1.035	1.032
Solids	23.9	17.9	14.1	12.9
Protein %	14.0	8.4	5.1	3.1
Casein %	4.8	4.3	3.8	2.5
IgG, mg/ml	48	25	15	.6
Fat %	6.7	5.4	2.9	3.7
Lactose %	2.7	3.9	4.4	5.0
Vitamin A μg/l	2950	1900	1130	340

Foley et al[14]

This table serves to highlight important qualities of colostrum:

- Colostrum has twice the solids as milk.
- Colostrum has 4 times the concentration of protein; much of which are immunoglobulins but the balance of the protein represents highly digestible casein and lactoglobulin.
- Colostrum has twice the level of fat as milk. This fat is important for the calf's early energy requirements.
- Colostrum has one half the level of lactose as normal milk. The newborn calf has a shortage of the milk digestion enzyme lactase. The calf quickly begins to develop the lactase enzymes so that by 2-3 days of age it is capable of digesting the normal amounts of lactose available from milk.

- Colostrum has very high levels of immunoglobulins in the first milking but subsequent is quickly depleted by subsequent milkings.
- Colostrum has very high levels of fat soluble Vitamins A (D & E also).
- Transition colostrum is present for only three milkings.

The newborn calf has limited energy reserves present to support the calf in the event it does not ingest nourishment. Those energy stores are in the form of glycogen (~180 g and 300-600 g of brown adipose tissue)[15]. Young calves have very high rates of metabolism the first 3-4 days of life. The available energy reserve in the newborn calf is sufficient for maintenance of the calf for only 1 to 2 days in the absence of feeding. It is vital that a newborn calf be provided high quality colostrum to support metabolism. The very survival of a compromised calf to 48 hours of age is dependent upon the feeding of high quality colostrum. In the first two days the energy provided from colostrum is more important for the compromised calf than transfer of immunoglobulins.

The value of colostrum as a source of nutrition for the newborn calf whether compromised or normal should not be underestimated.

Summary

The death loss of newborn calves is unacceptably high in dairy calves. A major cause of calf loss from birth to weaning is a difficult calving. These are the compromised calves that require intensive monitoring and treatment. Initially, the priority after a hard calving is to sustain life. Many calves that otherwise would die can benefit from measures to resuscitate them. However, these are the calves that continue to have challenges in the first 48 hours of life. Their metabolic disorders, acidosis, immune function, energy needs and thermoregulation need to be addressed to improve the calf's chances of survival.

(Endnotes)

1. United States Department of Agriculture, National Animal Health Monitoring System. Dairy 2007. Part 1: Reference of Dairy Cattle Health and Management Practices in the United States.
2. E. Vernooy*, K. E. Leslie, B. Muir, D. Kelton and T. Duffield. Farm level risk factors associated with stillbirth in dairy cattle. (Canada). Thesis. (in publication).
3. O. Osteras, M.S. Gjestvang, S.Vatn and L. Solverod. 2006. Perinatal death in production animals in the Nordic countries – incidence and cost. Acta Veterinaria Scandinavica. Vol 49, Suppl 1, 2007. The 20th Symposium of the Nordic Committee for Veterinary Scientific Cooperation (NKVet)
4. C. L. Meyer et al. Phenotypic trends in incidence of stillbirth for Holsteins in the United States. 2001 **Dairy Sci. 84:515–523**
5. J. F. Mee et al. Prevalence of, and risk factors associated with perinatal calf mortality in pasture based Holstein-Friesian cows. Cambridge University Press. 2008 2:613-620
6. S. Tomlinson et al. The relationship between dystocia and dairy calf morbidity and mortality. 2003. www.cvmbs.colostate.edu
7. T. R. Kasari. Physiologic mechanisms of adaptation in the fetal calf at birth. Perinatal mortality in beef herds. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 1994. 10:127-136
8. D. Harvey et al. Adaptations physiologiques, examen clinique réanimation néonatal chez le veau. Med. Vet. Quebec 1989. 19:114-120
9. T. R. Kasari. Weakness in the newborn calf. Perinatal mortality in beef herds. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 1994. 10:167-178
10. M. Vermorel et al. Energy metabolism and thermoregulation in the newborn calf; effect of calving conditions. 1982. Can. J. Anim. Sci. 69: 113-122
11. J. Quigley. Calf Notes : www.calfnotes.com
12. S. J. Wells et al. Factors associated with mortality to 21 days of life in dairy heifers in the United States. 1996. Prev. Vet. Med. 29:9-19
13. T. E. Besser et al. Comparison of three methods of feeding colostrum to dairy calves. 1991. J. Am. Vet. Med. Assoc. 198:419-422
14. G. A. Foley et al. Availability, storage, treatment, composition and feeding value of surplus colostrum: A review. 1978. J. Dairy Sci. 61;1033-1060
15. M. J. Okamoto. Summit metabolism of newborn calves newborn calves with and without colostrum feeding. 1986. Can. J. Anim. Sci. 66:937-944





FEEDING STRATEGIES WITH HIGH FEED COSTS

Michael F. Hutjens
Extension Dairy Specialist and Professor of Animal Sciences
Department of Animal Sciences
Urbana, IL 61801
hutjensm@uiuc.edu

With the U.S. milk to feed ratio at 2.36 in February, 2008, dairy managers must carefully reviewing feed inputs relative to milk yield. A milk to feed ratio under 3 is a signal to reduce feed inputs on U.S. dairy farms. Monitoring feed efficiency (FE) in the dairy industry has not been used as a common benchmark for monitoring profitability and evaluating dry matter intake relative to milk yield. This paper will focus on factors and decisions that can optimize profitability related to feeding programs and approaches.

Feeding Economics

A key consideration when evaluating feeding changes is the impact on profitability. Several measurements are listed below for consideration. Each value can have advantages and disadvantages.

Feed cost per cow per day does not reflect milk yield, stage of lactation, or nutrient requirements. A target value in Illinois is less than $5.50 per cow per day for Holstein cows at 31.8 kg (70 lb) of milk. An application of this value is divide the feed components to determine if your costs are optimal for your herd's production and local feed costs (Table 1).

Feed cost per pounds of dry matter is a useful term when comparing similar regions, breeds, and levels of milk production. A target value in Illinois is 10 to 11 cents per 0.45 kg (1 lb) of dry matter. In the example in Table 1 for Holstein cows at 31.8 kg (70 lb) of milk, the cost is $0.096 per 0.45 kg (1 lb) of dry matter.

Feed cost per 45 kg (100 lb) of milk has the advantage of standardizing milk yield allowing for comparisons

between groups and farms within a region. Milk yield per cow and feed costs will impact this value. A target value in Illinois is less than $7.00 per 45 kg (100 lb) for Holstein cows (the example in Table 1 is $6.84).

Income over feed costs (IOFC) is a popular value as it provides a benchmark for herd or groups of cows reflecting profitability, current feed prices, and actual milk prices. If dairy managers have calculated fix costs and other variable costs, IOFC can be used to determine breakeven prices, optimal dry off time, and culling strategies. A target value in Illinois is over $11 per cow per day ($18 per 45 kg of milk). The example in Table 1 is $11.16 per cow per day.

Marginal milk response reflects the profit if additional pounds of milk can be achieved. Generally, this approach is profitable if cows respond to the feeding change because maintenance costs and fixed costs have been covered by previous production. For example if adding one kg of dry matter increases milk yield by two kg with milk valued at $0.18 per 0. 45 kg (1 lb) and dry matter at 10 cents per 0.45 kg, the marginal milk profit is 26 cents.

Cost per unit of nutrient allows dairy managers to compare the relative cost of a nutrient. If corn is priced at nine cents per pound (dry matter basis), one unit of net energy is worth $0.099 cents per Mcal of net energy. If corn is the base energy feed resource; forages, by-product feeds, and other cereal grains can be compared on their cost per unit of nutrient.

Feed efficiency can be defined as pounds of milk produced per pound of dry matter intake (DMI) consumed. Guidelines for FE are listed in Table 2. In the example in Table 1, the value was 1.4 kg of milk per kg of feed dry matter.

Economically Incorrect Decisions

When making feed decisions, economically incorrect results can occur. Several decision made by U.S. dairy managers are listed below that may seem logical, but can lead to undesirable impact.

Decision: Lowering feed costs must be done.

Impact: With current milk prices and milk component values, do not sacrifice milk production. In Illinois, the cost of 0. 45 kg (1 lb)of dry matter varies from 9 to 11 cents per pound. Dairy cows can produce two pounds of milk per pound of dry matter consumed. A decision is to reduce feed intake by 0.45 kg (1 lb) of dry matter saves 10 cents and lose 36 to 40 cents a day in lower milk income. Dropping 0.1 percent point protein `can cost 41 cents lower milk price per 45 kg (100 lb) of milk.

Decision: Feed additives add to feed costs.

Impact: It is important to evaluate if feed additives are economical effective herds. The key question is the expected response to these additive(s) will do in a herd. For example, published research results with yeast/yeast culture products report a benefit to cost return of 5:1. If yeast products cost 6 cents per cow, the research predicts a 30 cent return can be expected due to higher feed intake during the transition period, higher milk yield, improved rumen environment, and/or less metabolic problems. Recommended feed additives include buffers, yeast culture/yeast products, silage inoculants, organic trace minerals, and biotin. Suggested additives to consider "on an as needed basis" include protected choline, niacin, direct-fed microbial, mycotoxin binders, and propylene glycol.

Decision: Fuzzy cottonseed is too high!

Impact: Using computer-based breakeven prices software programs, fuzzy cottonseed is too expensive based on it nutrient profile and nutrients delivered. But, fuzzy cottonseed provides other important factors that computers do not consider including functional fiber (estimated to be 75% of the total NDF as forage NDF), slower release of unsaturated oil (reduces negative effects in the rumen), and compliments high corn silage based rations. Be sure to replace oil and NDF that is removed when removing fuzzy cottonseed and cows do not "read" the paper-based ration. Dairy farmers have reported pulling fuzzy cottonseed in February and not seeing a drop in milk yield. Monitor body condition score, thin cows may not breed as

efficiently and milk as well in the next lactation.

Decision: I am going to add five pounds straw to the ration to reduce forage levels.
Impact: Straw can replace long forage and provide functional fiber (rumen mat formation and cud chewing). One guideline is one pound of straw dry matter can replace three pounds of hay/haylage dry matter due to its higher lignin content and longer rumen retention time. But, if too much straw is added, it will reduce total dry matter intake reducing nutrient levels and milk yield. Before adding straw, evaluate the current ration levels of NDF, lignin, and ADF and what the straw will add. Generally, adding one half pound of straw to the ration and monitoring cow response (milk yield, milk components, and manure score) for one to two week. If the response is favorable, considering adding another half pound of straw. Adding over two pounds of straw may be too high for your farm.

Decision: Hay at $260 a ton is too expensive; I am going to pull it out?
Impact: While hay prices are high, be aware that hay can improve rumen digestion and microbial growth. Adding five pounds of high quality hay (170 RFV or relative feed value) could increased milk yield by three to five pounds. If milk is worth 18 cents a pound, each pound of hay was worth 11 to 18 cents a pound or $220 to $360 a ton. Monitor responses in your herd when adding or removing hay gradually by one pound increments.

Decision: Urea is cheaper than vegetable protein; how much can I feed?
Impact: Urea will be cheaper per unit of nitrogen compared to vegetable protein sources, but rumen bacteria must convert urea nitrogen to microbial protein. The following factors should be considered before shifting to urea.

- Check the level of soluble protein in your ration. If the level of soluble protein is over 34 percent of total protein, the substituted urea will be excreted in the cow's urine. If the level of soluble protein is less than 30 percent of the total protein, urea can be beneficial while reducing feed costs
- The level of added urea should be less than 0.25 pound per cow per day.
- To capture the nitrogen as microbial protein, adequate rumen fermentable carbohydrates must be fed (25 percent starch, 5 percent sugar, and/or 10 percent fermentable fiber such as pectin). One guideline is one pound of urea plus six pounds of shelled corn equals seven pounds of soybean meal based on energy and protein content.
- Monitor milk urea nitrogen (MUN) levels to determine if the urea is captured as microbial protein. MUN should not increase more than two to three units.
- Another alternative is to use a slow release urea commercial product to improve nitrogen capture.

Decision: I am going to split my herd and mix a lower cost TMR for the lower producing cows.
Impact: To respond to this decision, two rations were balanced at 80 and 60 pounds of milk using a ration balancing program with current Illinois feed prices. For cows producing 80 pounds of milk, daily feed costs were $5.10 per cow per day, cows consumed for 49.6 pounds of dry matter, and the cost was 10.2 cents per pound of dry matter. For cows balanced at 60 pounds of milk, the feed cost was $4.01 per cow per day, cows consumed 44.9 pounds of dry matter, and ration costs were 9 cents per pound of dry matter. Based on these computer results, saving can occur **if cows DO NOT drop in milk yield when moving lower producing cow to another group.** The following guidelines should be considered.

- Cows may drop 4 to 7 pounds of milk when shifting cows in mid-lactation due to social interaction of cows and lower feed intake (these cows do not return to their earlier higher milk yield). This lower milk yield can cost $0.80 to $1.20 less income per cow per day.
- Cows eat less with lower milk yield results in savings without a second ration (fewer pounds of the expensive 80 pound milk ration are consumed). In our example, the 4.6 pounds less dry matter consumed could save 46 cents a day due to less feed intake compared to the $1.09 savings by shifting cows to the lower nutrient ration with correcting for potential milk yield.



- High producing cows will need extra nutrients to regain lost body weight and allow younger cows to grow.
- Body condition score (BCS) should be considered; cows that exceed 3.5 BCS in mid-lactation will need to be moved to a lower diet to avoid metabolic risks in the next lactation. Generally, 10 percent of cows may be in this category.

High Energy and Corn Prices

As corn prices hover near $5.00 per bushel in the U.S., feed cost per cow per day increased over $1.25 per 45 kg (100 pounds) along with higher hay, cottonseed, and corn silage prices as acreage shifts to more corn grain. Dairy nutritionists recommend 22 to 26 percent total starch in the ration dry matter with a range from 18 to 32 percent reported in the field. Rumen fermentable carbohydrate is critical to optimize rumen microbial fermentation, maintain microbial amino acid production (can supply over 60 percent of amino acid needs), and produce over 80 percent of energy for high producing cows. Several strategies can be considered by dairy managers when corn grain prices are high.

Strategy 1. Reducing starch level
If the target level is 25 percent starch for high producing cows, can starch levels be lowered by 1 to 5 percentage points while maintaining performance? The key factor is to evaluate the level and rate of fermentable carbohydrate that is currently available including forage quality, dry matter intake, digestibility of neutral detergent fiber (NDF), availability of starch for rumen fermentation and lower gut enzymatic digestion, rate of passage, and complementary aspects of other feed ingredients. Each herd may have a different starch optimal level that can be lowered. If a dairy nutritionist decides to lower starch levels, the signs of "cheating" starch levels too low are listed below.

- Decline milk peak milk production
- Lower milk yield in the herd in general, especially early lactation cows
- Drop in milk protein test and yield (drop in microbial amino acid yield)
- Lower milk fat test (less rumen volatile fatty acids or VFA)
- Increase in milk urea nitrogen (MUN) by more than 3 mg/dl from the herd's normal baseline value
- Increase in manure scores over 3.5 (stiffer manure)
- Decline in dry matter intake
- Thinner cows (less energy available)

Strategy 2. Increasing starch availability in the rumen
Plant processing of corn silage can reduce the passage of partial or whole kernels of corn allowing for improved rumen fermentation of starch. The corn plant is also reduced in particle size increasing surface area for microbial fermentation of fiber. Guidelines of plant processing are chopping at 18 cm (0.75 inch) theoretical length of chop with 2 to 3 millimeter openings between rollers. The processed corn silage should have 10 to 15 percent on the top box of the Penn State Particle Size Box, over 50 percent in the second box, and less than 35 percent the bottom two boxes (all values on expressed on a wet or as-is basis).

Selected References
Hutjens, M.F. 2006. http://ilift.traill.uiuc.edu/distillers/
Hutjens, M.F. 2004. Feed efficiency for large dairy herds. Southwest Nutrition Conference. Phoenix, Arizona.
Hutjens, M.F. and H.M. Dann. 2000. Grain processing: is it too coarse or too fine?
http://www.livestocktrail.uiuc.edu/dairynet/paperDisplay.cfm?ContentID=588
Kalscheur, K.F. 2005. Impact of feeding distillers grains on milk fat, protein, and yield. Proc. Distillers Grain Tech Council. 10th Annual Symp. Louisville, KY.

Lohrmann, T. 2006. Rethinking ethanol co-products. Distillers Grains Quarterly. Fourth Quarter. P. 23.
Meier, B.J., M. Hutjens, H.M. Dann, and R.D. Shanks. 2003. Manure evaluation field study. Illinois Dairy Report. P. 24.
National Research Council. 1989. Nutrient requirements for dairy cattle. 6th rev. ed Natl. Acad. Sci. Washington, DC.

Table 1. Illinois feed costs for a herd or group of cows averaging 32 kg (70 lb) of milk.

Feed	DMI (kg/day)	Cost ($/lb DM)	Total cost ($/day)
Forages	12.7	0.176	2.24
Grain energy	4.5	0.198	0.90
Protein supplement	2.3	0264	0.60
By-product feeds	2.7	0.220	0.60
Min/vitamin feed	0.45	0.770	0.35
Feed consultant			0.10
Totals	22.7		$4.79

Table 2. Benchmarks for feed efficiency comparisons (Hutjens, 2004).

Group	Days in milk	FE (kg milk/kg DM)
One group, all cows	150 to 225	1.4 to 1.6
1st lactation group	< 90	1.5 to 1.7
1st lactation group,	> 200	1.2 to 1.4
2nd + lactation group	< 90	1.6 to 1.8
2nd + lactation group	> 200	1.3 to 1.5
Fresh cow group	< 21	1.3 to 1.6
Problem herds/groups	150 to 200	< 1.3

Table 3. Energy content of shelled corn related to processing effects (NRC, 1989).

Corn process	Mcal/kg dry matter	Mcal / lb dry matter
Cracked corn	1.84	0.84
Ground corn	1.96	0.89
High moisture corn	2.05	0.93
Steam flaked corn	2.05	0.93
High lysine corn (floury)	2.07	0.94
Finely ground corn	2.11	0.96

Table 4. Impact of corn degradation rate on milk production and rumen characteristics (Hutjens, 2000).

Component	Slow	Moderate	Fast
Degradation rate (%/hr)	6.04	6.98	7.94
Rumen pH	6.43	6.30	6.19
Rumen acetate:propionate	3.12	2.90	2.60
Total VFA (umol/ml)	134	135	138
Blood urea nitrogen (mg/dl)	14.6	14.2	12.8
NEFA (umeq/liter)	128.2	115.8	103.4
Milk (kg /day)	42.9	43.3	45.6
Milk fat (%)	3.49	3.42	3.37
Milk protein (%)	2.83	2.86	2.89
4% fat-correct milk (kg)	39.3	39.2	41.3
MUN (mg/dl)	16.2	15.4	13.7
Dry matter intake (kg)	26.5	26.6	26.3



Table 5. Fecal measurements in thirteen early lactation cows (Meier et al, 2002).

Measurement	Range
pH	5.44 to 6.63
Fecal starch (% dry matter)	2.3 to 22.4
Manure dry matter (%)	14.8 to 19.2
Dry matter intake (kg/day)	20 to 27.7
Dry matter (% of body weight)	3.1 to 4.5
Milk yield (lb/day)	35.0 to 54.1

Table 6. Comparison of starch and sugar levels of various feed ingredients.

Feed ingredient	Starch	Sugar	Soluble Fiber
	---------- (%) ----------		
Wheat grain	64	2	3
Barley grain	58	2	3
Bakery waste	45	8	2
Corn distiller grain	3	4	8
Corn gluten feed	20	2	3
Hominy	49	4	2
Wheat midds	22	5	6
Molasses	0	61	0
Whey	0	69	0
Beet pulp	1	8-20	21
Citrus pulp	2	24	34

Table 7. Dry matter intake (DMI), milk yield, and milk fat and protein percentages from cows fed diets containing various levels of DDG with solubles (Kalscheur, 2005)

Inclusion rate (% DM)	DMI ----------(kg/day) --------	Milk --------(%)------	Fat	Protein
None	22.2b	33.1ab	3.39	2.95a
4 to 10	23.7a	33.5a	3.43	2.96a
10 to 20	23.4ab	32.8ab	3.41	2.94a
20 to 30	22.9ab	33.6a	3.33	2.97a
> 30	20.9c	32.3b	3.47	2.82b

Values within column followed by a different letter differ ($P < 0.05$)



New diagnostic tools for helminth infections in cattle

Jozef Vercruysse & Johannes Charlier
Ghent university, faculty of Veterinary Medicine, Merelbeke, Belgium

Veterinary medicine is co-evolving with the evolution in the cattle industry. In the last 25 years, there has been a paradigm shift from treatment of clinical illness to disease prevention on a herd level. Health management has become characterized by an integrated, holistic, data-based and economically-framed approach to prevent disease and enhance performance. Another major evolution has been redefining disease more broadly, to include subclinical conditions. This expansion has resulted both from the application of improved diagnostics and from the evolution of health management in which any factor that limits animal or herd performance might be considered as a component of disease.

Under temperate conditions, clinical parasitic and especially helminth infections in cattle are more and more uncommon, mainly due to methods of husbandry that limit exposure and to frequent treatments. However, subclinical parasite infections can be an important cause of lost productivity in cattle but, by definition, the levels of infection and magnitude of potential losses cannot be determined by routine diagnostic observations. There is therefore a clear role for diagnostic markers for individual animals or herds that can determine if the levels of subclinical parasitism present are likely to compromise productivity.

Some parasites, for example the abomasal nematode *Ostertagia ostertagi*, are ubiquitous and occur wherever cattle are grazed in temperate regions of the world, hence in such areas, there is little value in a diagnostic test for presence or absence of the parasite. On the other hand any test that can quantify the level of *O. ostertagi* infection and/or its impact on health or production at the farm level would be of value in determining the need for, and potential benefits of, control. Equally though, in fluke-endemic farms and regions, there is little benefit in a presence/absence test, but quantification of the level of infection and its effects would be useful. Finally, there is a rationale for monitoring helminth infections, either: 1)

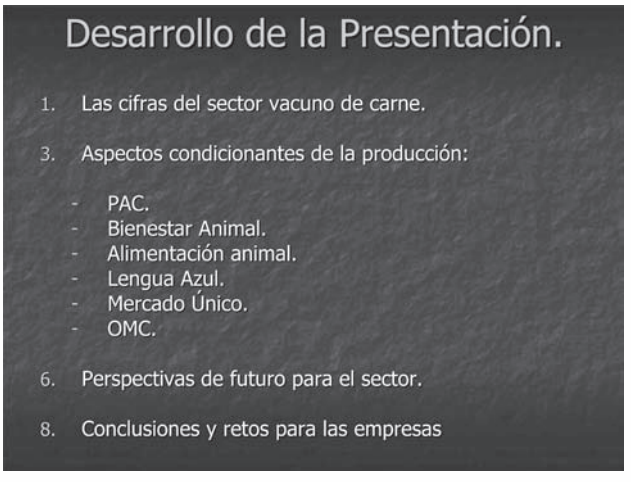


prospectively to determine the control programme approach to install, or 2) retrospectively to determine the level of infection to which animals have been exposed, and to evaluate the effectiveness of any control programme.

In the presentation diagnostic biomarkers for helminth infections in cattle as level of serum pepsinogen, milkantobodies, γ GT, automatic body scoring, which are easily applicable in practical farm situations, are discussed.

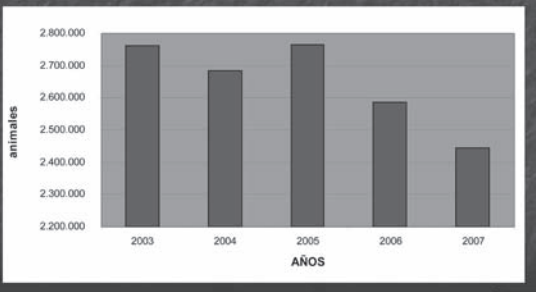
Perspectivas de futuro en el sector vacuno de carne.

Javier López López.
Salamanca, 9 de mayo 2008



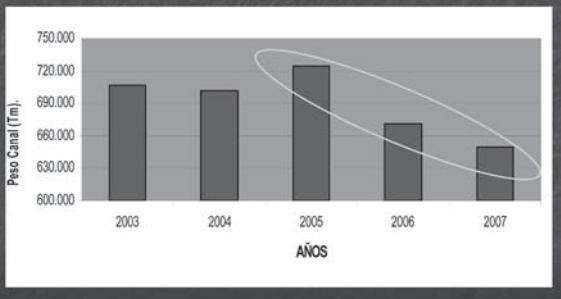
Las cifras del sector vacuno de carne

EVOLUCIÓN DEL NÚMERO DE ANIMALES SACRIFICADOS EN ESPAÑA.



El análisis de un sector concreto: vacuno de carne.

EVOLUCION DE LOS PRODUCCION NETA DE BOVINO EN ESPAÑA



Evolución del comercio exterior animales vivos en España.

Importación de Animales procedentes de la UE, 2005-2007

PARTIDAS	Enero – Diciembre		
	2005	2006	2007
Menos de 80 Kg. Peso Vivo	327.345	353.592	319.853
De 80 - 160 Kg. de Peso Vivo	94.485	95.329	101.969
Entre 160 y 300 Kg. Peso Vivo. (*)	121.083	97.912	122.079
Más de 300 Kg. de Peso vivo	53.955	55.319	55.626
TOTAL	**596.868**	**602.152**	**591.392**

El análisis de un sector concreto: vacuno de carne.

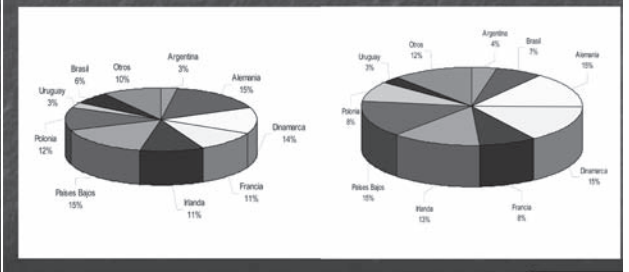
Comercio exterior de carne

Partida		2005	2006	2007
Carne fresca (Tn.)	Importaciones	66.370	78.527	98.963
	Exportaciones	116.816	99.844	91.507
Carne congelada (Tn.)	Importaciones	28.669	27.202	30.678
	Exportaciones	28.669	21.658	18.155

El análisis de un sector concreto: vacuno de carne.

ORIGEN DE LAS IMPORTACIONES (Carne fresca)

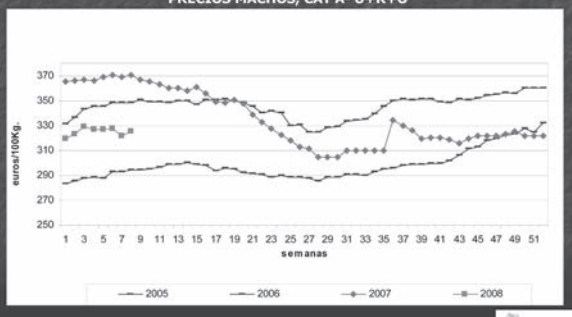
Año 2007. **Año 2006.**



El análisis de un sector concreto: vacuno de carne.

Evolución de precios de carne de vacuno en España

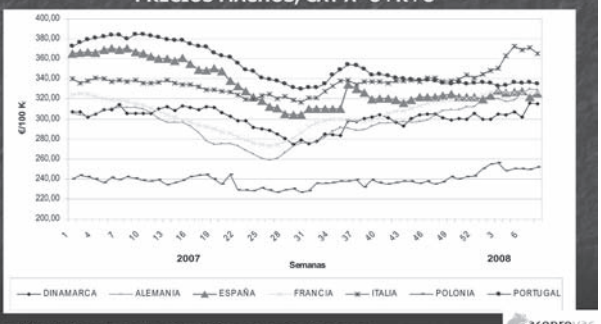
PRECIOS MACHOS, CAT A- U+R+O



El análisis de un sector concreto: vacuno de carne.

Evolución de precios de carne en distintos Estados miembro.

PRECIOS MACHOS, CAT A- U+R+O

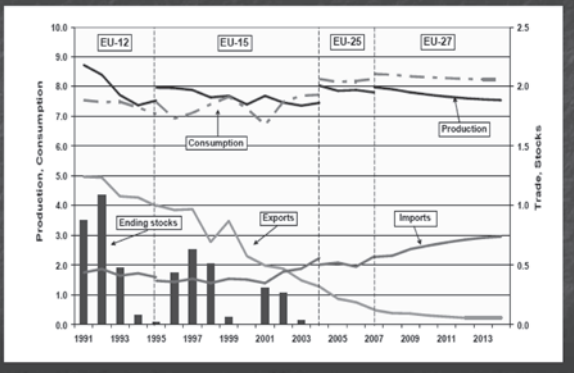


El análisis de un sector concreto: vacuno de carne.

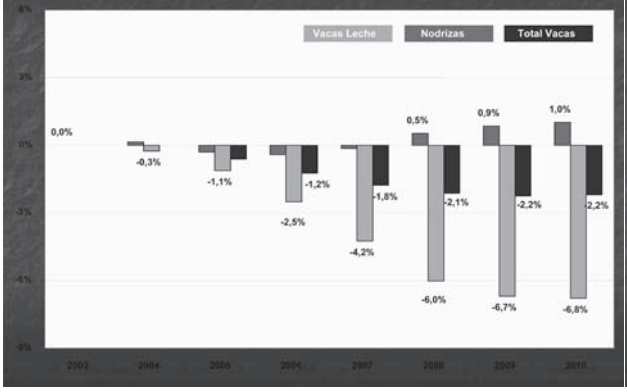
Diferenciales de precio en los EEMM.

País	Año 2008		Diferencia
	Semana 1	Semana 10	
DINAMARCA	299,75	326,83	9,0%
ALEMANIA	320,03	322,78	0,9%
ESPAÑA	319,30	322,39	1,0%
FRANCIA	324,27	327,35	0,9%
ITALIA	344,33	364,07	5,7%
HOLANDA	273,55	277,49	1,4%
POLONIA	250,46	254,81	1,7%
PORTUGAL	336,63	332,98	-1,1%

HORIZONTE EUROPEO 2007 – 2014.



Horizonte Europeo. EVOLUCIÓN CENSOS REPRODUCTORAS.



Índices productivos que muestran la ineficiencia del sector.

INDICES	DATOS ANUALES		
	Objetivo	Realidad	Diferencial
Censo de reproductoras	0,9 millón de Leche 2 millones de Carne		
Fertilidad (%) [Supuesto de IPP 12-13 meses]	80- 85	55- 60 aprox.	25-30
Reposición	20 %		
Terneros destetados para actividad de cebo	**1, 7 – 1,9 mill.**	**1,1 – 1,3 mill.**	**600.000**
Total pérdidas	**600.000 * 450 €**		**270 mill. €**



2. Aspectos condicionantes de la producción.

La Política agraria y sus reformas continuas.

1. Claves del chequeo médico PAC.

- Simplificar RPU: eliminación derechos históricos.
- Revisión de los elementos de control de la Condicionalidad.
- Debate sobre eliminación de las ayudas acopladas.
- Modulaciones adicionales para dotar de fondos a DR.
- Establecimiento de reducciones por superación de importes.
- Eliminación de sistemas de intervención y barbechos obligatorios.

La Política agraria y sus reformas continuas.

2. **¿PAC ambiciosa o realmente inmaterializable?**

- La PAC modifica periódicamente las reglas de juego.
- No tienen en cuenta la peculiaridad de las regiones europeas.
- No se podrán afrontar las medias apuntadas (se requieren más fondos que los planteados)
- ¿Dónde queda el espíritu de la PAC de orientar la producción al mercado?
- Desarrollo Rural no puede conseguirse a costa de la transferencia de fondos desde el primer pilar.

La Política agraria y sus reformas continuas.

3. Demandas del sector para la Reforma de la PAC.

- Política agraria específica para ganadería.
- Rechazo de reparto de ayudas por superficie.
- No modulaciones adicionales para fomentar y subvencionar las políticas del Desarrollo Rural.
- No retenciones adicionales por superar diversos importes.
- Reparto del art. 69: revisión en profundidad, sin retenciones adicionales y dejando libertad a los EEMM para su reparto.
- Acoplamiento de la vaca nodriza.
- Necesidad de garantizar seguridad y soberanía de la UE.

Bienestar Animal

1. Estado Actual de la cuestión.

- Normativa horizontal sobre protección de animales en la explotación.

5. Normativa específica para terneros: animales de menos de 6 meses.

7. Reglamento de Transporte.

9. Protección de animales para el sacrificio.

Bienestar Animal

2. Problemática para el sistema español.

Estamos en el sur de la UE y somos un país importador y exportador.

CON UNA DISTANCIA MAXIMA DE TRANSPORTE DE 500 Km., LOS PAISES BAJOS, PUEDEN LLEGAR A BELGICA, FRANCIA Y ALEMANIA

CON UNA DISTANCIA MAXIMA DE TRANSPORTE DE 500 Km., DESDE MURCIA, NO PODEMOS LLEGAR NI A CATALUÑA NI SIQUIERA A PORTUGAL

Bienestar Animal

3. Aspectos problemáticos de Bienestar animal.

- Depende de cuestiones políticas que se aprueban por mayoría en UE.
- La normativa no tiene en cuenta:
  - Sistema de producción español: no existen el mismo tipo de explotaciones en Europa.
  - Condiciones climáticas de España: problemas con los trayectos y explotaciones por Tª.
  - Diversidad de zonas geográficas y climáticas.
  - Particularidades de las razas españolas.

asoprovac

Alimentación animal

1. Hechos.

- Sistema de producción único a nivel UE, donde el tipo de alimentación tiene mayor repercusión que en otros EEMM.
- Dependiente de mercados exteriores: 10 millones toneladas materias primas.
- Costes de producción: + 25 %. Valor de la materias primas: incrementos de precios constantes en toda la campaña

asoprovac

Alimentación animal.

2. Política de la UE sobre OGM:

- Impide el uso en alimentación del maíz USA, el maíz Argentino, el gluten feed USA y los DDG USA.
- Supone un encarecimiento de precios de cereales en la UE de 40 euros / tn.
- Cada vez nos resultará más costoso y difícil encontrar abastecimiento con la restrictiva legislación europea.
- De seguir esta situación en la UE:
  - Pérdida del mercado interno de carne, por corte de fuentes de suministro de materias primas y subproductos del maíz.
  - Se dejaría el abastecimiento de alimentos en manos de terceros países que reniegan de la política de la UE en estas materias.

Alimentación animal.

3. Impacto de los Biocombustibles:

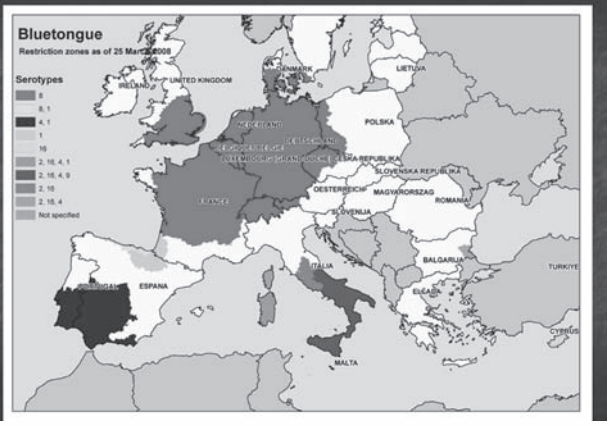
- Interferencia directa con alimentación animal, por uso y por EXPECTATIVAS de mercado que han supuesto un incremento de precios de las materias primas.
- Se precisa:
  - Desarrollo de las políticas de biocombustibles que no supongan una competencia con los alimentos.
  - Estudio detallado sobre efectos de los biocombustibles.
  - Paralización de las autorizaciones a nuevas plantas de biocombustibles.
  - Moratoria para la aplicación de la estrategia europea.

Influencia de la Lengua Azul en la producción española

- Es una enfermedad que actualmente afecta a toda Europa.
- Es imprescindible la elaboración estrategias claras, preventivas y armonizadas vs. Actuaciones unilaterales de los EEMM
- La actuación de la Comisión Europea ha sido deficiente:
  - Llega dos años tarde.
  - No puede plantearse vacunaciones facultativas si se quiere erradicar la enfermedad.
- La producción española se verá afectada por la restricción de movimientos planteados para la primavera- verano de 2008.
- La Sanidad Animal se esta utilizando como una nueva barrera comercial en el territorio europeo.

asoprovac

Lengua Azul



Mercado Único

- Las oportunidades y amenazas de este estatus y nuestra integración en la UE se reparten por igual: Coherencia en las demandas
- Algunos EEMM son más competitivos que el sector español.
- Si se cumplen los requisitos establecidos por la UE no pueden imponerse restricciones.
- Países como Polonia y Rumanía, cada vez exportan más cantidad a nuestro país.
- Además, hacen que perdamos mercado externo.

OMC

- **Antecedentes:** A la UE se le acusa de proporcionar ayudas a los productores que distorsionan el mercado.
- Nuestros legisladores europeos no han sabido transmitir los condicionantes de nuestra producción. Se desarmaron antes de comenzar las negociaciones.
- Se mezclan en las negociaciones realidades distintas: agrícola vs. ganadera.
- Estado de la cuestión:
  - Negociaciones paralizadas, ante la propuesta de reducción de un 75 % del arancel a las importaciones de carne de vacuno.
  - Se tendrá que llegar a un acuerdo aún cuando se siga considerando la carne de vacuno como producto sensible.

OMC

La OMC no tiene en cuenta el Estándar Europeo de Producción Alimentaria.

Aspectos diferenciadores con terceros países	Producciones afectadas	
	Terneros (CB)	Ganado adulto
Prohibición del uso de anabolizantes y finalizadores	XX	XX
Prohibición del uso de promotores de crecimiento y antibióticos.	X	X
Distintos requisitos sobre bienestar animal en instalaciones y transporte	X	XX
Medidas medioambientales en las explotaciones	X	X
Destrucción de subproductos (animales muertos, MER, etc)	X	XX
Identificación animal	X	X
Trazabilidad total	X	XX
XX: **Impacto fuerte**	**∑ = 0,6 €/ kg canal**	

Fuente: Instituto de L´Elevage

asoprovac

Perspectivas de futuro del sector

1. La descapitalización de las explotaciones llevará a:
   - Abandono de titulares de explotación que no tengan ligado su negocio al siguiente eslabón de la cadena.
   - Concentración de la oferta: explotaciones orientadas al mercado antes de realizar la producción.
   - Eslabones adyacentes afectados por la reconversión del sector (industria cárnica, fábricas de piensos, industrias farmaceúticas, subsector vacas nodrizas, etc.).
   - Concursos de acreedores (suspensiones de pago por cierre de industrias o intermediarios).

asoprovac

Perspectivas de futuro del sector

1. Precios sostenidos de los piensos a medio plazo.
3. ¿Precios de venta más elevados consecuencia de menos oferta?.

   3.1 Actualmente no se han recuperado a los ritmos esperados.

   3.2 En los próximos meses podrían incrementarse como consecuencia de descenso productivo, tanto en España como en la UE (descenso interno y restricciones a importaciones de terceros países).

asoprovac

Perspectivas de futuro del sector

2. En todo caso, la evolución del sector dependerá de políticas distintas de la propia de la producción: OMC, Sanidad Animal, Seguridad Alimentaria, teniendo en cuenta que seremos cada vez más dependientes del mercado exterior = menos opciones de exigir "reglas de juego"
4. Horizonte sin ayudas o muy reducidas en todo caso, limitadas a cuestiones medioambientales.
6. De lo que suceda en este año dependerá el volumen de actividad del sector a nivel español.

Perspectivas de futuro del sector

1. ¿Recuperación del ritmo productivo a medio plazo?

   6.1. Siempre que los precios percibidos se ajusten a los costes.

   6.2. Será viable fruto de la concentración de la oferta.

   6.3. Siempre que los productores y eslabones adyacentes se orienten a las demandas del mercado y trabajen en conjunto.

CONCLUSIONES:

1. El sector en su conjunto esta modificando profundamente su estructura: contracción y concentración.

2. De la rentabilidad del sector productor dependerá la de todos los eslabones de la cadena.

CONCLUSIONES:

3. Clara orientación del sector productor al mercado → satisfacer las demandas del cliente-consumidor

4. Atención a nichos de mercado diferenciado.

CONCLUSIONES:

5. Incremento de la capacidad técnica del sector productor (propia o externa)

6. Incremento de la profesionalidad del sector → GESTIÓN.

Retos de las empresas que trabajan para el sector vacuno.

- **Entorno más duro y competitivo**.
- **Titulares de explotación con más formación**, requieren un servicio especializado para su explotación.
- **Labor de concienciación**: Técnicos de producción animal deben ser una pieza esencial en el proceso productivo.
- El objetivo final debe ser hacer que **la actividad en el sector sea rentable.**

asoprovac



SITUACIÓN Y PERSPECTIVAS DE LOS MERCADOS INTERNACIONALES DE LECHE Y GRANOS Y SU INFLUENCIA EN LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN DE LECHE [1]

Alejandro Galetto
(Argentina)

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de ganado bovino constituyen la base de sustentación de unas 1400 millones de personas en todo el mundo, y representan aproximadamente el 40 % del producto bruto agropecuario global. En la otra punta de la cadena, los derivados de la producción bovina, principalmente carne y leche, son un componente básico de la dieta de una alta proporción de la población mundial, y su consumo está positivamente correlacionado con el aumento del ingreso que se ha acelerado en los últimos años. Por último, pero no menos importante, los sistemas de producción bovinos tienen un impacto importante sobre la producción de gases que inciden sobre el calentamiento global.

Los tres puntos mencionados en el párrafo anterior resaltan la importancia de los sistemas de producción de ganado bovino, que además se encuentran en un permanente estado de cambio estructural, como reflejo de modificaciones profundas en la economía de los países, en sus formas de producción y en los hábitos de consumo. Así, hoy en día coexisten las explotaciones ganaderas "industriales" del Hemisferio Norte (por ejemplo, lecherías de miles de vacas en California) junto al pequeño productor nómada de Africa, que practica una economía de subsistencia.

Esta multiplicidad de sistemas de producción, tanto en el caso de la carne como de la leche, reacciona de diferentes maneras frente a los cambios en el entorno de los mercados. Precisamente, la explicación de la interacción entre sistema y mercado adquiere gran importancia en un contexto como el que se vive actualmente, con precios internacionales que duplican holgadamente la media histórica de todo el período de la posguerra.

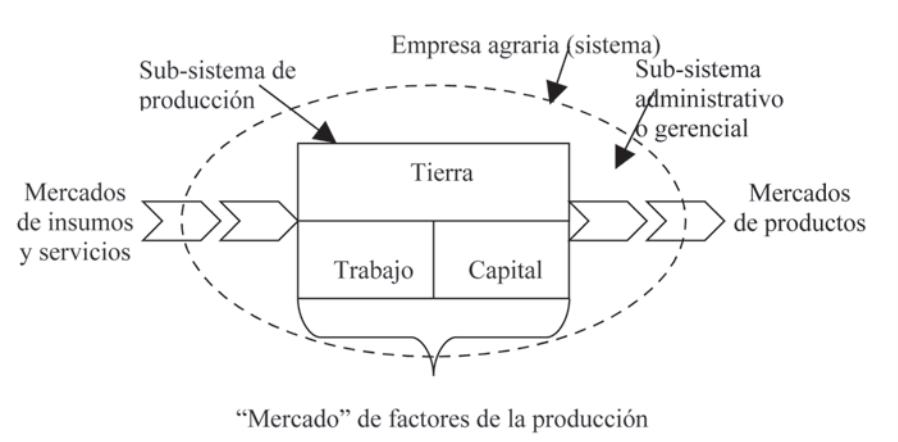


El objetivo de esta presentación consiste en presentar algunos hechos fundamentales respecto de la situación actual y perspectivas de los mercados internacionales, y en particular, cómo se espera que los cambios previstos modifiquen los sistemas de producción de leche (desde la perspectiva las producciones pastoriles y semi-pastoriles del Hemisferio Sur). Como elemento adicional, se presentará también un breve análisis de los cambios que están ocurriendo en los "mercados de factores de la producción", y se dejará planteada la hipótesis que estos mercados inciden también con mucha fuerza en la configuración de los sistemas productivos del futuro.

LA INTERACCIÓN DEL SISTEMA DE PRODUCCIÓN Y LOS MERCADOS

El sistema de producción agropecuario puede ser definido con diferentes niveles de agregación, que incluyen desde el concepto de "empresa familiar" (household) hasta las relaciones técnicas entre insumos y productos. En este trabajo se adopta una perspectiva ecléctica de sistema de producción, como el conjunto de relaciones físicas entre los insumos y factores de producción y la cantidad y calidad del producto obtenido. En función de esto, y como se describe en el Gráfico N° 1, la empresa agraria puede ser vista como un sistema de orden superior al sistema de producción propiamente dicho, ya que incluye también un componente fundamental que es el "sistema administrativo" (toma de decisiones, roles, valores, etc.).

Gráfico N° 1. El sistema de producción y los mercados de productos, insumos y factores productivos.



Lo que es más importante para los fines de este trabajo es que la relación entre el sistema de producción y los mercados no es una relación directa, sino que se da a través de un sistema administrativo o gerencial, que según su diseño y capacidades puede modificar la naturaleza de la interacción entre sistema de producción y ambiente externo. Probablemente el concepto es simple y obvio, pero nunca está demás reforzar la idea que entre el componente biológico de la empresa (el sub-sistema de producción) y los mercados, se encuentra un factor gerencial que toma decisiones de articulación con los mercados.

El concepto de "sistema" o empresa también nos sirve para plantear la existencia de un "objetivo", que normalmente es la maximización del beneficio, entendido como la diferencia entre el valor de los productos vendidos y los insumos comprados, ya sea como valor absoluto o en relación con el valor (imputado) de los recursos propios.

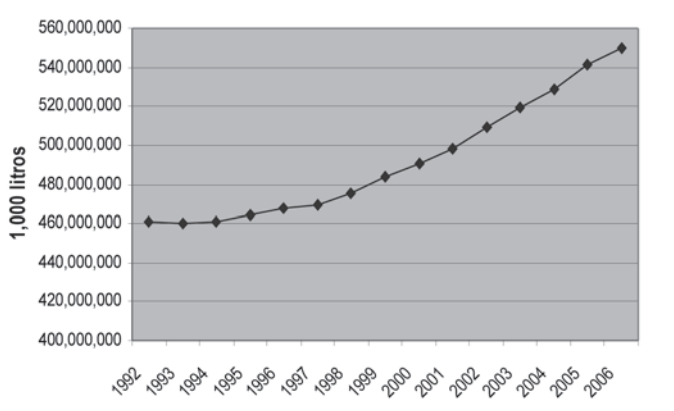
Las relaciones de la empresa agropecuaria y del sistema de producción con los mercados se dan en tres ámbitos diferentes: en los mercados de productos (leche, carne, granos, etc.), en los mercados de insumos y servicios y en los "mercados" de factores. Entre estos dos últimos además hay relaciones particulares que dependen de la propiedad de los factores de la producción, con casos polares en los que todos los factores (tierra, capital y trabajo) son aportados por el productor y su familia, hasta el extremo en que todos estos

factores productivos son rentados a los propietarios y puestos al servicio de una unidad productiva bajo la dirección de un empresario.

EL MERCADO INTERNACIONAL DE PRODUCTOS LÁCTEOS

La oferta de productos lácteos para consumo está directamente vinculada con la producción de leche a nivel de finca, al punto que en una gran parte del mundo la mayor proporción del consumo se hace del producto tal como se produce, sin pasar por procesos intermedios, ya sean industriales y/o comerciales. Según se observa en el Gráfico 2, la producción mundial de leche de vaca ha crecido en los últimos 15 años (1992-2006) de 460 a 550 millones de toneladas (1 ton aprox. 1,000 litros), es decir, a una tasa anual acumulativa del 1.27 %.

Gráfico 2. Evolución de la producción mundial de leche de vaca, 1992-2006



Fuente: FAOSTAT

Este aumento de producción no ha sido uniforme en todos los países, tal como se puede observar en el Cuadro 1, donde se presentan los 25 principales países (que representan el 80 % del total mundial) ordenados por producción de leche en el año 2006 y su comparación con el año 1997 (10 años). El crecimiento global del grupo ha sido del 1.80 % anual (similar a la evolución de la producción mundial) pero con grandes disparidades, que van desde el 408.5 % de China (19.8 % anual) hasta un grupo de países (Rusia, Francia, Reino Unido, etc.) cuya producción disminuyó en el período analizado.

Cuadro 1. Producción de leche en los 25 principales países productores, 1997 y 2006.

PAIS	Producción 1997 (1,000 lts)	Producción 2006 (1,000 lts)	Cambio 1997-2006 (1,000 lts)	Cambio 1997-2006 (%)
Estados Unidos	70,801,000	82,463,031	11,662,031	16.5%
India	29,128,000	39,775,000	10,647,000	36.6%
China	6,341,684	32,249,100	25,907,416	408.5%
Rusia	33,834,848	31,074,000	-2,760,848	-8.2%
Alemania	28,701,906	28,452,950	-248,956	-0.9%
Brasil	19,244,656	25,333,254	6,088,598	31.6%
Francia	24,916,700	24,194,707	-721,993	-2.9%
Reino Unido	14,841,000	14,577,000	-264,000	-1.8%
Nueva Zelanda	11,058,000	14,498,000	3,440,000	31.1%
Ucrania	13,539,600	12,988,000	-551,600	-4.1%
Polonia	12,123,333	11,982,393	-140,940	-1.2%
Italia	11,752,300	11,012,957	-739,343	-6.3%
Holanda	10,922,310	10,531,800	-390,510	-3.6%
Australia	9,316,000	10,250,000	934,000	10.0%
Mexico	8,091,400	10,029,274	1,937,874	23.9%
Turquía	8,914,176	10,026,202	1,112,026	12.5%
Pakistan	7,604,000	9,404,000	1,800,000	23.7%
Japon	8,645,455	8,133,907	-511,548	-5.9%
Argentina	9,090,000	10,372,000	1,282,000	14.1%
Canada	8,100,000	8,100,000	0	0.0%
Colombia	5,492,034	6,770,000	1,277,966	23.3%
España	5,837,242	6,552,662	715,420	12.3%
Iran	3,897,000	6,242,383	2,345,383	60.2%
Bielorusia	5,132,500	5,869,900	737,400	14.4%
Rumania	4,637,954	5,704,935	1,066,981	23.0%
TOTAL	371,963,098	436,587,455	64,624,357	17.4%

Fuente: FAOSTAT

Otra característica de la oferta mundial de leche es la heterogeneidad de los sistemas de producción, tanto en estructura y tamaño como en el tipo de tecnología utilizada. De acuerdo con un estudio preparado por Hemme y col., el 30 % de la oferta mundial de leche se produce a menos de 0.20 US$/litro (básicamente en el hemisferio sur, en el este de Europa y en algunos países de Asia). En otro nivel, el 25 % de la producción mundial (ejemplo, India y Reino Unido) se puede producir a un costo de 0.20 – 0.30 US$/litro, seguido por un grupo de países como Estados Unidos y algunos de la Unión Europea (30 % de la oferta) con un costo de 0.30 – 0.40 US$/litro, y por último, el 15 % restante de la oferta tiene costos de producción superiores a los 0.40 US$/litro.

El consumo de lácteos es muy heterogéneo según los diferentes países y regiones y ello obedece tanto a patrones culturales como a niveles de ingreso de la población. En general, en los países de Europa y de

América del Norte (Canadá y Estados Unidos) es donde se dan los mayores niveles de consumo global, entre 200 y 300 litros de leche-equivalente[1], aunque la importancia relativa de cada tipo de productos es diferente. Por ejemplo, en el norte de Europa, América del Norte y Oceanía es muy alto el consumo relativo de leche líquida (pasteurizada o UAT, según los países), mientras que los países mediterráneos (Francia, Italia, España) se distinguen por la alta participación del queso en la dieta láctea.
América Latina y el Caribe –seguramente como consecuencia de la colonización europea- es una región con un consumo relativamente alto de leche y de productos lácteos, que oscila entre 40-60 litros por año en algunos países de América Central y del Caribe, hasta 200 y 250 litros de leche-equivalente por persona y por año en Argentina y Uruguay, respectivamente. En general, el consumo del resto de los países de la región sur de América Latina también es alto (por ejemplo, alrededor de 140 litros per cápita en Chile y Brasil).
También en América Latina existen importantes diferentes en los patrones de consumo a nivel de productos individuales. Por ejemplo, en Argentina prevalece el consumo de quesos, que representan el 45 % del total de la leche que se destina al mercado doméstico. En otros países, como Chile y Brasil, por ejemplo, el consumo relativo de leche en polvo es mayor, lo que se explica por el desarrollo de la lechería en esos países, que en muchos casos se originó en cuencas de producción alejadas de las zonas de mayor consumo, lo que requería sistemas de conservación del producto por mayor tiempo (leche en polvo, y originalmente, leche condensada o evaporada).
En el resto del mundo el consumo de productos lácteos es relativamente importante en algunos países de Asia y el Medio Oriente, mientras que en otros países de Asia y en el Africa Sub-sahariana los niveles de consumo son más bajas.
Globalmente, el consumo de productos lácteos en el mundo responde a dos influencias clave, como se mencionó, que son los patrones culturales y los niveles de ingreso. Respecto de la cuestión cultural, o de estilos de vida, existe cada vez más evidencia que respalda la hipótesis de una fuerte convergencia hacia dietas características, ya que no solamente se observa que las dietas de los países de ingresos medios se parecen cada vez más a las de los países de alto ingresos, sino además se notan rasgos similares respecto de los atributos de los nuevos productos que se introducen al mercado, respaldando la hipótesis de la convergencia cultural (Regmi y col., 2008).
En realidad, la hipótesis de convergencia de estilos de vida y patrones de consumo obedece en gran parte al crecimiento del ingreso que se registra en muchos países del mundo y en la economía global en general, ya que el consumo de productos lácteos responde positivamente al crecimiento del ingreso. Así, no sólo se observa una alta correlación entre el PBI mundial y el precio de los productos lácteos (reflejo de mayor demanda) sino también una fuerte correlación entre niveles de consumo per cápita y el ingreso medio de diferentes países (Bollard y Jones, 2007).

Tendencias en el comercio internacional

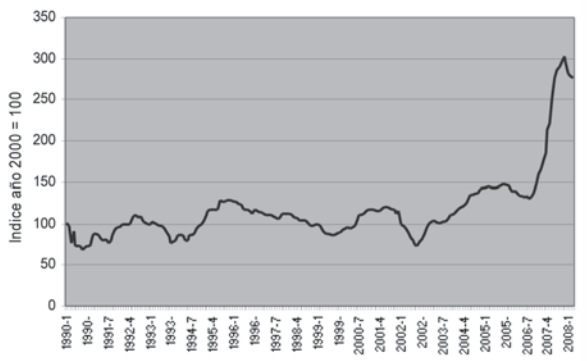
El mercado internacional de lácteos de la posguerra (particularmente entre fines de la década del ´60 y fines del ´90) estuvo dominado por dos hechos fundamentales. En primer lugar, porque el volumen comercializado internacionalmente era (y sigue siendo) una parte muy pequeña de la producción global, ya que apenas el 6-7 % de la leche producida se exporta o importa bajo la forma de productos procesados. En segundo lugar, en los países desarrollados del Hemisferio Norte, que representan la mayor parte de la producción, consumo y comercio de leche y productos lácteos, el funcionamiento del mercado fue reemplazado por una masiva intervención gubernamental, que con diferentes modalidades, tomó tres formas básicas: control de importaciones, subsidios a las exportaciones y ayudas de mercado interno. Estas dos características determinaron en gran medida el desempeño del mercado internacional de las últimas 3-4 décadas, caracterizado por recurrentes excedentes y precios deprimidos.
Durante el período mencionado se consolidó la presencia como exportador dominante de la Unión Europea (en sus varias versiones, UE-9, UE-10, UE-12, etc.), cuyas exportaciones representaban alrededor 45 % del

1 El concepto de "leche-equivalente" (o equivalente-leche, como a veces se lo menciona) hace referencia a la cantidad de leche que hay en una determinada cantidad de derivados lácteos. Por ejemplo, 10 litros de leche pasteurizada, 5 kg de queso semi-duro tipo holandés y 2 kg de leche en polvo entera, representan 10x1 + 5x10 + 2x8.5 = 77 litros de leche-equivalente, que se obtiene multiplicando la cantidad de producto por los litros de leche que se requieren para elaborar una unidad de cada uno de ellos (por ejemplo, en el caso de la leche en polvo entera, 8.5 litros de leche por kg de producto).



total mundial, seguida por Nueva Zelanda con el 18-20 %, Australia y Estados Unidos, con el 8-12 % cada uno, y el resto del mundo con el porcentaje restante, incluyendo, entre otros, la esporádica presencia de países como Argentina, Uruguay y Polonia.
A mediados de la década del ´90, en la llamada Ronda Uruguay, se creó la Organización Mundial del Comercio (OMC, seguidora del GATT), en lo que fue el mayor intento de las últimas décadas para crear un mercado internacional más transparente y basado en "reglas" para el comercio agropecuario internacional.

Gráfico 3. Evolución del precio internacional de los principales productos lácteos.
Indice año 2000 = 100.



Fuente: FAO

En los años post-acuerdo OMC el mercado internacional de productos lácteos ha cambiado, pudiéndose definir tres subperíodos diferentes. El primero de ellos arranca entre el año 1995 y fines del 2003, el segundo subperíodo incluye los años 2004, 2005 y 2006, y el tercero desde el año 2007 en adelante. Como siempre, las divisiones tienen algo de subjetivas, e intentan solamente identificar hechos más relevantes.
Entre los años 1995 y 2003 el patrón de precios en el mercado internacional de productos lácteos fue bastante similar al que caracterizó a los años pre-OMC (especialmente si se corrigen los precios por la variación del poder de compra del dólar, que es la moneda de referencia en este mercado). Aunque los precios aumentaron entre los años 1995 y 1996, e incluso se llegó a especular de un impacto positivo de la Ronda Uruguay (RU), estos volvieron a caer a partir de 1997-1998. Probablemente, la causa de dicho aumento fueron las importaciones de Brasil, que en el año 1996 alcanzaron el equivalente de 2300 millones de litros de leche, además del comportamiento del dólar (y su relación con el euro o el marco alemán, según los años) y del precio del petróleo.
El cambio más importante en el sub-período inmediatamente posterior a la RU fue en la participación relativa de los distintos exportadores en el mercado internacional, pues la UE perdió importancia, pasando del 45 a menos del 30 % de las exportaciones (en equivalente-leche) y Nueva Zelanda afianzó su condición de liderazgo, alcanzando casi a la UE, mientras que Australia mantuvo prácticamente su participación, lo mismo que Estados Unidos. Incipientemente, en este sub-período, aumentó también la participación de Argentina.
En el segundo sub-período, entre 2004 y 2006, los precios internacionales se mantuvieron por encima de los valores medios del período anterior (ver Gráfico 3). En ese subperíodo se hizo cada vez más evidente la influencia que ejercen sobre el precio internacional de los productos lácteos las siguientes variables: la relación de cambio entre el dólar y el euro, el precio del petróleo y el nivel de ingresos de la población.
La relación dólar : euro se explica porque la primera de estas monedas sigue siendo la referencia para las cotizaciones internacionales, mientras que la UE (junto con NZ) sigue siendo el exportador de mayor importancia, y conserva cierta capacidad de fijación de precios. Entonces, cuando el dólar pierde valor frente al euro, los precios internacionales de los productos lácteos aumentan.
El precio del petróleo y el precio internacional de los productos lácteos también tienen una fuerte correlación positiva. La causalidad no es tan simple como en el caso monetario, pero seguramente obedece a una cuestión de demanda (y no tanto de costos), ya que muchos países exportadores de petróleo son fuertes

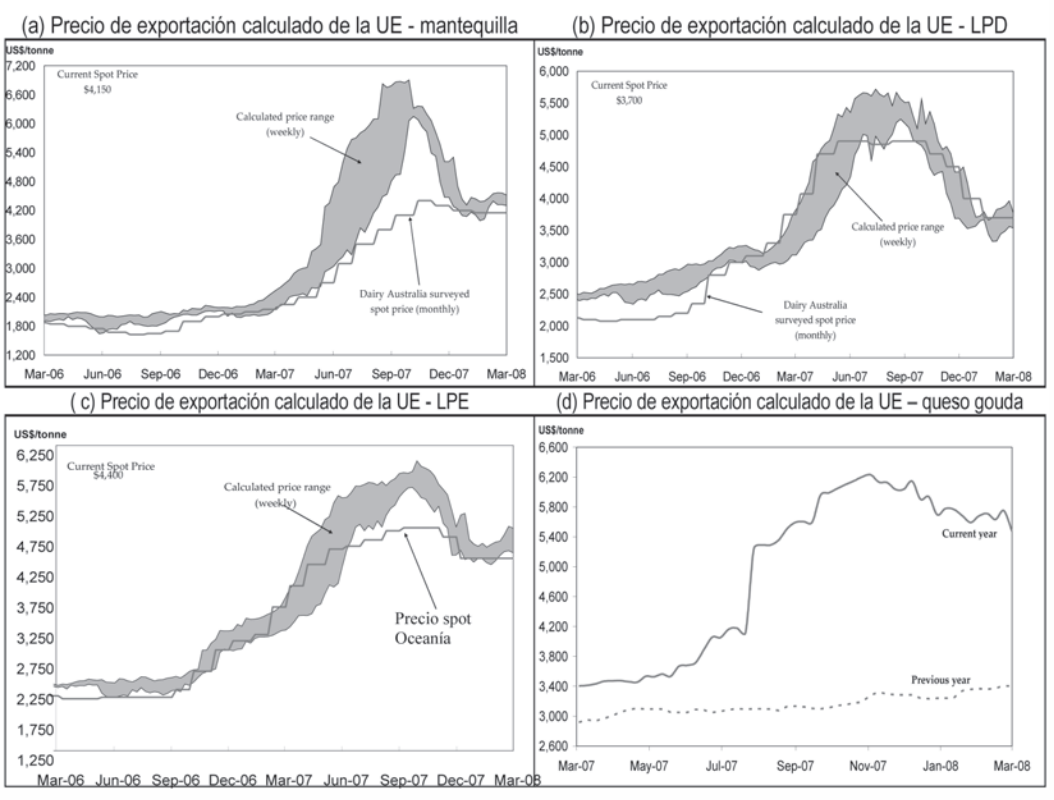
importadores de productos lácteos, como Rusia, Argelia, México, los países del Medio Oriente, algunos países del oeste de Africa, entre otros.

Finalmente, la fortaleza de la economía mundial en lo que va del nuevo siglo, caracterizada principalmente por un aumento de ingresos en las denominadas economías emergentes, se ha traducido en un fuerte incremento del consumo de lácteos, lo que refleja la alta elasticidad-ingreso[2] de estos productos. Por ejemplo, el consumo per cápita de productos lácteos (medido como litros de leche equivalente) en China, entre los años 1990 y 2005, aumento de 5 a 18 litros en el sector urbano, y de 1 a 3 litros en el sector rural.

Estas tres fuerzas se combinaron en los últimos 18 meses y a partir de diciembre de 2006 comenzó un ciclo que ha llevado el precio de los productos lácteos a niveles impensados, aún en términos reales, como se observa en el Gráfico 3 y se reproduce en el Gráfico 4, para los principales productos de exportación: leche en polvo entera (LPE), leche en polvo descremada (LPD), mantequilla y queso (tipo gouda).

En el Gráfico 4 se observa en primer lugar que no todos los productos tienen el mismo comportamiento, ya que mientras la LPE aumentó y prácticamente mantuvo su precio, el de la LPD experimentó un importante retroceso, producto en gran parte de la aparición de Estados Unidos como exportador competitivo. También se ve que el precio de los productos lácteos tienen diferente comportamiento según el origen (Europa y Oceanía). Finalmente, cabe mencionar que el precio del queso de exportación estuvo rezagado en relación con las otras commodities y recién a mediados de 2007 mostró una recuperación similar al resto.

Gráfico 4. Precios internacionales de los principales productos lácteos de exportación, 2005-2008



Estos precios internacionales, a lo largo del año 2007, se han traducido en importantes aumentos del precio en tranquera en muchos países del mundo, como se indica en el Cuadro 2, donde se compara la evolución del precio recibido por el productor, en dólares norteamericanos por litro, entre el primer semestre de

2 La elasticidad-ingreso mide la respuesta del consumo de un bien ante modificaciones en el ingreso del consumidor.

2006 y el primer trimestre de 2008, con rangos de aumento que oscilan entre 50 y 100 %. Aún cuando la comparación se haga en euros, y no en dólares, el aumento de los precios al productor oscila entre 30 y 60 %, según los países.

Cuadro 2. Cambios en el precio de la leche (US$/litro) en la finca en un grupo de países seleccionados, entre 2006 y 2008.

País/región	2006	2008	Diferencia (%)
Estados Unidos	0.28	0.42	50 %
Unión Europea	0.40	0.60	50 %
Australia	0.25	0.39	56 %
Nueva Zelanda	0.20	0.40	100 %
Argentina	0.16	0.26	62 %
Brasil	0.22	0.39	77 %
Chile	0.25	0.42	68 %

Fuente: Estadísticas oficiales y privadas.

La perspectiva para el resto del 2008 de los tres factores de formación del precio internacional de los productos lácteos (relación dólar:euro, precio del petróleo y PBI mundial, especialmente de países emergentes) indica que estas variables no tendrán cambios de magnitud respecto del año 2007, por lo que en el corto plazo no se esperan grandes cambios en el mercado, aunque si se toma como referencia un plazo más largo habría que tener en cuenta el posible impacto de la crisis financiera en varios países industrializados y su efecto en el resto de la economía internacional.

EL MERCADO INTERNACIONAL DE GRANOS Y OLEAGINOSOS

El mercado internacional de granos y oleaginosos también ha experimentado importantes cambios en los últimos tres años, entre 2006 y 2008, aunque no tan pronunciados como en el caso de los lácteos (FAO, 2008). Según los índices de precios de la FAO, el incremento entre diciembre de 2006 y diciembre de 2007 ha sido del 50 % en el caso de las oleaginosas y 42 % para los granos (básicamente trigo, arroz y granos forrajeros).

Si bien el mercado internacional productos de origen agropecuario ha experimentado fuertes alzas y bajas de precios en el pasado, lo común ha sido que se registren picos repentinos de precios seguidos por períodos más prolongados de precios deprimidos. En esta oportunidad, sin embargo, este patrón de comportamiento parece haberse modificado de tres maneras significativas: es de orden más general (sólo el azúcar escapa a esta tendencia), el período de alza se está prolongando más de lo habitual, y la volatilidad de precios (en un promedio más elevado) es mayor.

Las causas de este comportamiento del mercado internacional de granos y oleaginosos estarían tanto por el lado de la oferta como de la demanda. En el primer caso, los problemas de oferta se deben a su vez a cuestiones climáticas, reducción de los stocks internacionales y aumentos de costos.

Los eventos climáticos adversos (sequía prolongada en Australia, el peor invierno en China en los últimos 50 años, etc.) han jugado un rol importante en la producción agropecuaria en los últimos 3-4 años. Como se muestra en el Cuadro N° 3, en 2005 y 2006 se observó una reducción en la producción de cereales en los principales exportadores, y aunque se recuperó en 2007, ello se habría logrado –aparentemente- a costa de una reducción en la producción de oleaginosos[3], acentuando el efecto de volatilidad de precios ya mencionado.

Cuadro N° 3. Producción de cereales y oleaginosos en los principales exportadores.

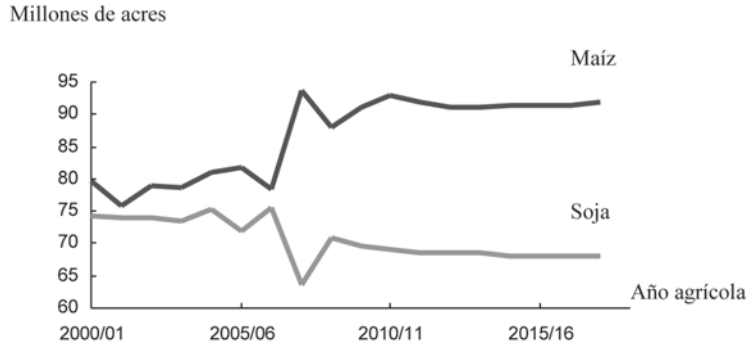
3 En lo que ha sido denominado en Estados Unidos “fight for acres” (lucha por superficie), especialmente entre maíz, soja y trigo de primavera.

Producto		2004	2005	2006	2007
Cereales (1)	´000 ton.	1,038,325	1,001,221	932,527	1,041,992
	cambio (%)		-3.6	- 6.9	11.7
Oleaginosos (2)	´000 ton.	281,589	293,097	306,387	288,762
	cambio (%)		4.1	4.5	- 5.8

(1) Argentina, Australia, Canadá, UE, India, Pakistán, Tailandia y Estados Unidos.
(2) Argentina, Australia, Bangladesh, Canadá, China, UE, India, Pakistán, Rusia, Sudáfrica, Turquía y Estados Unidos.
Fuente: FAO (2008)

Esta reducción en la oferta primaria se ha traducido en una disminución de los stocks, que ha sido además reforzada por tendencias en el ambiente comercial internacional de los últimos años, la mejora en los transportes y el almacenamiento, la reducción en las reservas de las instituciones públicas, el incremento de la cantidad de países en condiciones de exportar, y la aparición de nuevos instrumentos financieros para la administración del riesgo, que redujeron la necesidad de contar con reservas físicas de productos. El último factor que explica los problemas de oferta es el aumento de los costos, en particular, el costo de los combustibles (que también tiene incidencia en el costo de los fletes) y de los fertilizantes.
Por el lado de la demanda también hay importantes cambios, entre los que cabe mencionar la estructura del consumo, el uso alternativo por los biocombustibles y las operaciones con productos derivados en mercados financieros. El consumo de alimentos de la población mundial está cambiando, no sólo por la mejora de los ingresos especialmente en los países del sur y del este de Asia, sino además por los cambios derivados de la urbanización. En el período 1980-2007 la producción de granos aumentó a una tasa del 2 % anual, mientras que el uso de los mismos creció a razón del 3.5 % anual (FAO, 2008). Sin embargo, estos cambios (también influye el aumento de la población) suceden gradualmente, y probablemente no expliquen el repentino aumento de los precios a partir de 2006.
El factor "biocombustibles" (etanol en Estados Unidos y Brasil, biodiesel en la UE) probablemente tenga mayor capacidad explicativa del reciente incremento de los precios en los mercados internacionales, especialmente a partir de la consolidación de un nuevo nivel de precios en el petróleo, y el apoyo público con subsidios masivos para el desarrollo de estos combustibles alternativos. Como se muestra en el Gráfico 5, para el caso de Estados Unidos, el aumento de la superficie sembrada con maíz (con destino a etanol) se hace a expensas de la superficie –y la producción- de soja.

Gráfico 5. Evolución y proyecciones del área sembrada con maíz y soja en Estados Unidos, 2000/01 a 2015/16 (millones de acres).



Fuente: Bohman, M. 2008.

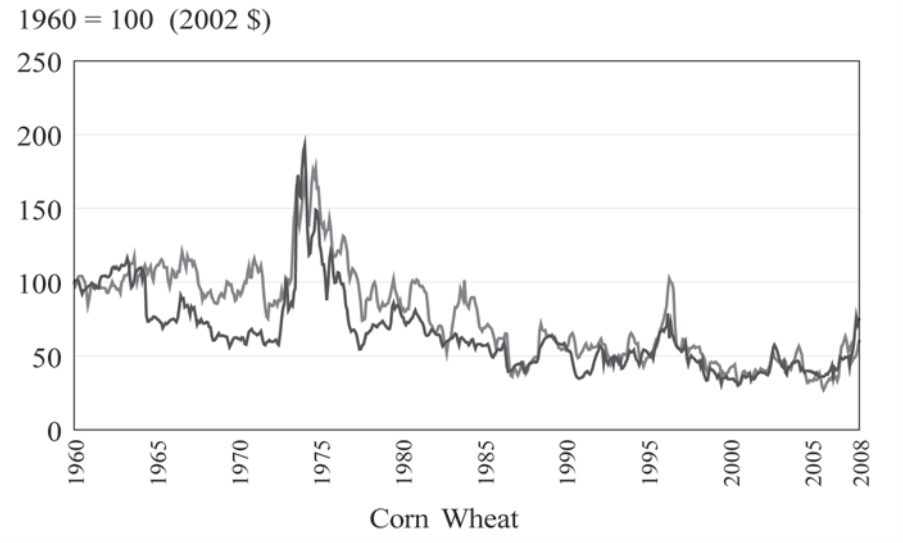
Finalmente, la expansión de los mercados de productos financieros derivados, en un contexto de alta liquidez internacional ha sido también un factor clave para explicar el comportamiento de los mercados agroalimentarios en los últimos meses de 2007 y el primer cuatrimestre de 2008, especialmente los evidentes signos de mayor volatilidad.

¿Qué se puede esperar para estos mercados en los próximos años?. Parafraseando a Niels Bohr, siempre es difícil hacer proyecciones, especialmente si son sobre el futuro, pero el primer punto a destacar es que podemos esperar que se mantenga la relación positiva de precios entre el mercado agroalimentario y el del petróleo, por las influencias en la demanda (mayor capacidad de compra de países petroleros), por la interacción a través de la producción de biocombustibles, y por el aumento en los costos de producción. En el pasado existió también una relación negativa entre el precio del petróleo y el crecimiento del PBI mundial, lo que moderaba la demanda de alimentos, especialmente los de mayor elasticidad ingreso, como la carne y los lácteos. Pero aparentemente –sólo aparentemente- el crecimiento de la importancia relativa de las economías emergentes ha generado el famoso "decoupling" entre petróleo y crecimiento, por lo que a futuro podría argumentarse que el costo de la energía fósil sólo tendrá una influencia unidireccional en el mercado de agroalimentos.

A futuro, el otro factor de importancia es el cambio climático. El impacto a nivel mundial sería relativamente suave, incluso con regiones beneficiadas, como el caso de los países más desarrollados y de América Latina, hasta otras regiones, como el Sur y el Sudeste de Asia, y el Africa Subsahariana, que resultarán afectadas negativamente, estimándose una disminución media de entre el 3.3 y 7.2 % de la producción de granos en el conjunto de países en desarrollo para el año 2080 (von Braun, 2007).

Para finalizar con este análisis de los precios internacionales, y especialmente como reflexión sobre lo que podemos esperar en los próximos años, en el Gráfico 6 se muestra la evolución de los precios reales (es decir, corregidos por el efecto de la inflación) del trigo y del maíz (en Estados Unidos).

Gráfico 6. Evolución del precio real del trigo y del maíz en Estados Unidos, 1960-2008



A pesar de que es una foto del pasado, el Gráfico 6 nos ofrece una perspectiva muy interesante sobre lo que puede ocurrir en el futuro, pero allí se observan dos cosas, aparentemente contradictorias. En primer lugar, que a pesar de los recientes incrementos de precios en los mercados de agro-alimentos, ello no es suficiente como para revertir una tendencia decreciente de largo plazo. En segundo lugar, sin embargo, también se nota que el margen de incremento –al menos en función de lo ocurrido en la crisis del petróleo de 1973-74- es aún muy importante, y que los precios actuales, en términos históricos, no son muy altos.

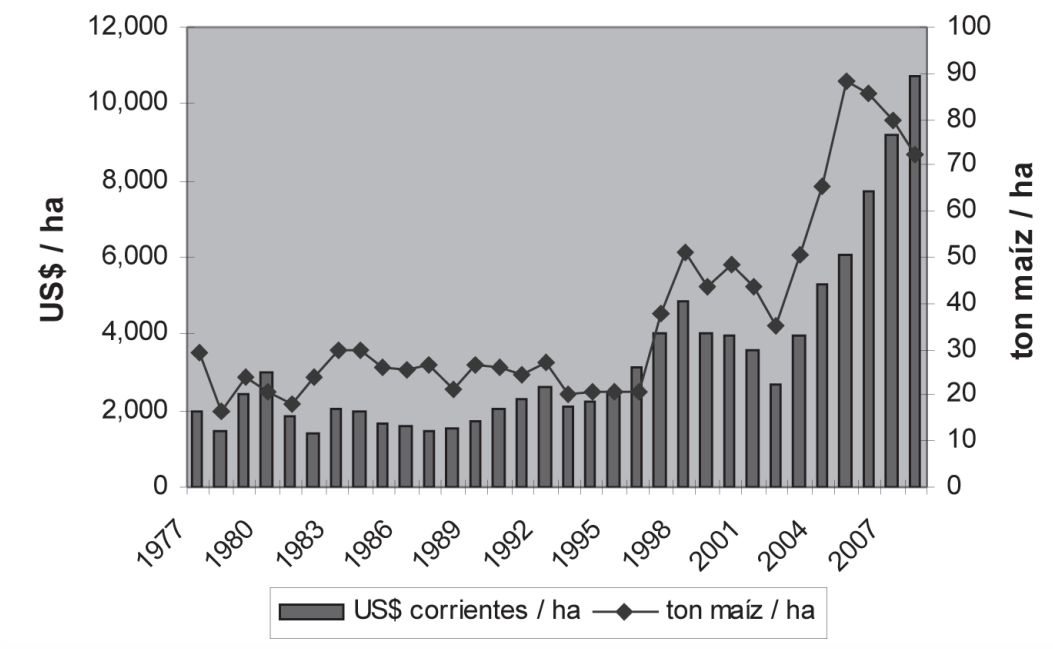
EL "MERCADO" DE LOS FACTORES DE LA PRODUCCIÓN

Como en otros órdenes de la vida, el productor agropecuario le pone gran atención a los movimientos (tanto de alzas como de bajas, muchas veces repentinos) que ocurren en los mercados de productos, no sólo los derivados de la actividad que desarrolla sino también de otras actividades que podrían desarrollarse en la finca, o de productos que resultan ser insumos importantes para el proceso productivo. Sin embargo, no se le pone la misma atención a los cambios que ocurren en los "mercados de factores" (tierra, trabajo y capital).

El uso de comillas se justifica, en primer lugar, porque estos mercados tienen características institucionales muy especiales,. Por ejemplo, no es lo mismo el caso del maíz que el del trabajo, pues la interacción entre la oferta y la demanda, es totalmente diferente, con intervenciones públicas que suelen ser masivas. Además, y en los casos en que el sistema de producción toma la forma de la típica empresa familiar, gran parte de los factores son propiedad del productor, y su articulación con el mercado de factores es débil, salvo en el caso de los países de mayor desarrollo relativo, donde el uso de endeudamiento y la relación con el sistema bancario es más estrecha. Estas dos características (cuestión institucional y empresa familiar) le confieren características muy particulares a la relación entre sistema y mercado de factores, pero no por ello menos importante, por razones que se establecen más adelante.

El caso más evidente de cambios en los factores de la producción es el de la tierra de uso agropecuario, cuya disponibilidad, condiciones de uso y precio están experimentando cambios de gran magnitud, a escala mundial. En el Gráfico 7 se observa la evolución del precio de la tierra en Argentina, en la denominada "zona maicera" del norte de la provincia de Buenos Aires, en el núcleo de la región pampeana, desde el año 1977.

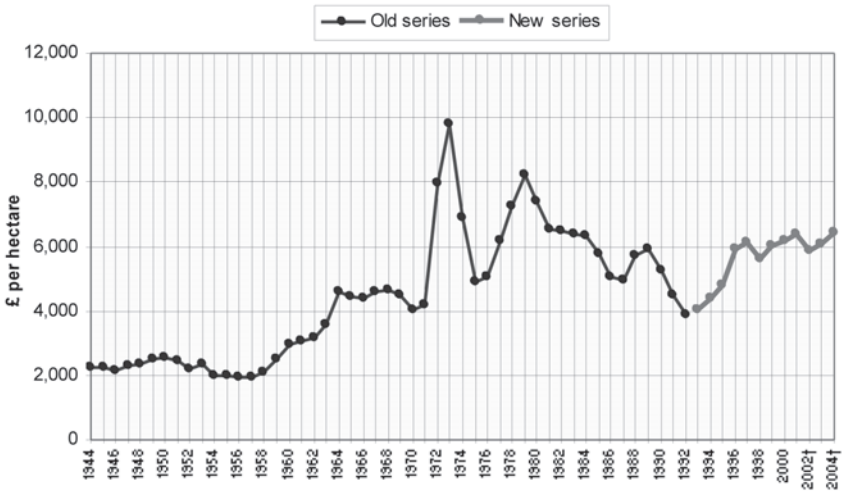
Gráfico 7. Evolución del precio de la tierra en Argentina, 1977-2008.



Fuente: Revista Márgenes Agropecuarios, marzo 2008.

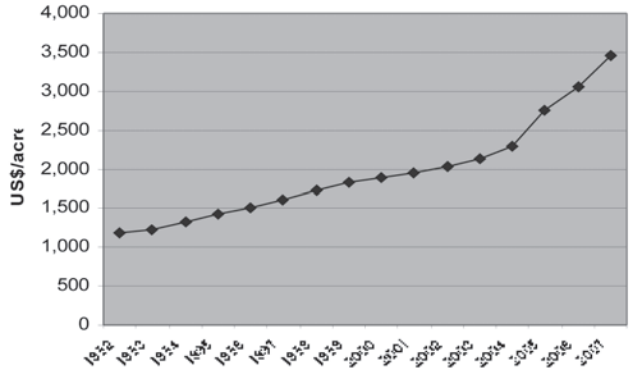
El precio de la tierra (medido en dólares corrientes) se mantuvo relativamente estable durante el período 1977-2000 (aproximadamente), pero desde el año 2003 en adelante comenzó un proceso de alza que cuadruplicó los valores en muy poco tiempo. Este aumento no sólo se da en términos monetarios sino que también aumentó más de un 100 % cuando se mide el precio en toneladas de maíz (el cultivo predominante en la región), aún con los elevados precios actuales. Este fenómeno se da también en otros países, como lo demuestran los Gráficos 8 y 9 para el caso de Inglaterra y Estados Unidos.

Gráfico 8. Evolución del precio de la tierra agrícola (en libras de poder adquisitivo constante de 1995 por hectárea) en Inglaterra, 1944-2004.



Fuente: DEFRA

Gráfico 9. Evolución del precio de la tierra agrícola (en dólares corrientes por acre) en la región del Corn Belt, 1992-2007.



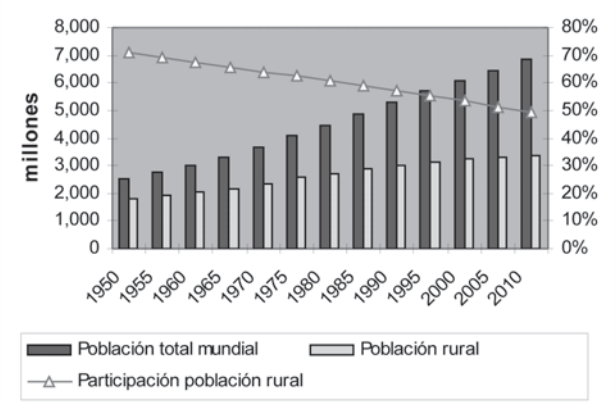
Fuente: USDA-NASS

La información presentada en los Gráficos 8 y 9 refleja una tendencia similar a la que se vio para el caso argentino, y que se confirma por la observación empírica en varios países del mundo, que es la aceleración del aumento del precio de la tierra, incluso en términos reales, en los últimos 10 años, a partir de mediados de la década del ´90. En el caso de España, por ejemplo, según datos del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, el precio medio de la tierra de uso agrícola pasó de 6.125 euros por hectárea en 1998 a 10.402 euros por hectárea en 2006.

En los países que tienen un sector agropecuario más desarrollado se nota también una creciente escasez de trabajo, que se manifiesta de varias maneras. En la producción lechera, por ejemplo, se observa la presencia cada vez mayor de trabajadores migrantes, o el desarrollo de sistemas automatizados de ordeño, o incluso de sistemas de producción con un solo ordeño, como en Nueva Zelanda. Sin embargo, en el caso del trabajo no se trata de una cuestión estrictamente vinculada al costo monetario de la mano de obra, sino que probablemente es mejor explicada por el concepto de "costo de oportunidad" del trabajo, a partir de

las tendencias a la urbanización y a los cambios en los estilos de vida de la población.
En general, la tendencia a la disminución de la población rural se da en todo el mundo, como se muestra en el Gráfico 10, y es un fenómeno que probablemente se esté acelerando, especialmente a partir de los cambios económicos que se registran en el sur y en el este de Asia. En los países desarrollados estos cambios son "enmascarados" por los procesos de migración, pero ello no alcanza a revertir una tendencia de largo plazo de mayor escasez de trabajo para las actividades agropecuarias.

Gráfico 10. Evolución de la población mundial urbana y rural.



Fuente: Naciones Unidas

Además de la tierra y el trabajo, el restante factor de producción es el capital, que tiene características muy especiales que hacen difícil hablar "del precio del capital". Es decir, la tasa de interés no alcanza a representar el conocimiento acumulado que existe en un bien de capital, y que no permite la comparación de precios a lo largo del tiempo. En todo caso, la problemática del capital requiere de una profundización conceptual que está fuera del propósito y posibilidades de este trabajo, pero desde un punto de vista práctico es innegable que existe una tendencia a una disponibilidad cada vez mayor de capital, en sus distintas formas, en la empresa agraria, lo que no sólo provoca cambios en la combinación de factores sino también en las formas de organización y en la selección de las tecnologías más apropiadas.

CAMBIOS EN LOS MERCADOS Y SU IMPACTO EN LOS SISTEMAS

En las secciones anteriores se comentaron tendencias que nos muestran que en los últimos años se han producido cambios importantes en el contexto donde operan los sistemas de producción ganaderos. Estos cambios no afectan solamente a los mercados de productos e insumos, sino que se notan también en el caso de los factores de la producción, especialmente la tierra y la mano de obra. En lo que sigue se discute de qué manera podemos esperar que estos cambios influyan en el sistema de producción, con énfasis en los sistemas de producción ganaderos de base pastoril o semi-pastoril.
El sistema de producción pastoril está considerado como de los más "competitivos", especialmente en el caso de la producción lechera. Prueba de ello, lo constituyen el modelo emblemático neocelandés, los bajos costos de producción de Argentina o Uruguay, o incluso el mismo caso de la UE, donde los sistemas de menor costo son aquellos que incluyen una proporción importante de pasto en sus dietas, como por ejemplo en Irlanda.
Es muy probable que el progresivo aumento del costo de la tierra le haga perder competitividad al clásico sistema de producción pastoril, y ello se puede ilustrar con un ejemplo, como se observa en el Cuadro 4, a continuación, con datos de la región central de Santa Fe, Argentina.. En primer lugar, se observa que el costo de la tierra se ha incrementado 4 veces entre 1995 y 2008, lo que incide directamente en su costo de oportunidad (4 % anual), y por lo tanto, el costo total para los cuatro años de duración de una pastura pasa de 720 a 1680 dólares por hectárea.

Cuadro 4. Estimación de los costos comparativos de la energía de pasturas y de maíz (ejemplo con valores de la región lechera argentina).

RENDIMIENTOS Y COSTOS	UNIDAD	1995	2008
Precio de la tierra	US$/ha	2.000	8.000
Costo de oportunidad de la tierra	US$/ha/año	80	320
Costos de implantación y protección	US$/ha	400	400
Costo total (4 años)	US$/ha	720	1.680
Productividad pastura (1)	Kg MS/ha	36.000	36.000
Eficiencia de cosecha en pastoreo	%	75	75
Concentración energética pastura	MCal EM/kg MS	2,80	2,80
Consumo total de energía	MCal EM	75.600	75.600
Costo por unidad de energía consumida	**US$/MCal EM**	**0,0095**	**0,022**
Precio del maíz	US$/ton	110	180
Concentración energética maíz	MCal EM/kg	3,20	3,20
Costo por unidad de energía consumida	**US$/MCal EM**	**0,0382**	**0,0625**
Relación de costo maíz : pastura		**4 : 1**	**2,8 : 1**

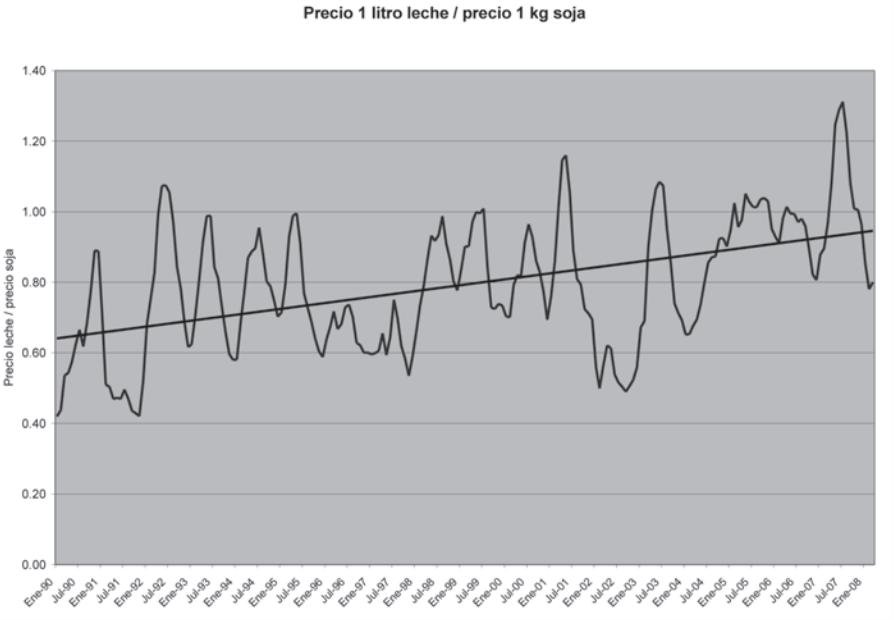
(1) 8.000, 12.000, 10.000 y 6.000 kg de MS por año.
Fuente: estimaciones del autor

Teniendo en cuenta una eficiencia de pastoreo del 75 %, el consumo total de energía es de 75.600 MCal por hectárea y el costo de esa energía pasó de algo menos de un centavo (0,0095 US$/MCal) a algo más de dos (0,0222 US$/MCal). El caso del maíz, que aumentó su precio de 110 a 180 dólares por tonelada, y tiene una concentración energética un poco mayor (3,20 MCal EM/kg MS), con una eficiencia de utilización del 90 %, tenía en 1995 un costo de 0,0382 US$/MCal y pasó a 0,0625 US$/MCal en 2008.
Entonces, en el caso de los sistemas pastoriles donde la tierra tiene usos alternativos (como es la situación de la región pampeana argentina), y por lo tanto corresponde tener en cuenta su costo de oportunidad, se observa que si bien la energía que proviene del pasto sigue siendo la más barata, la relación de costo se ha modificado a favor del maíz, a pesar de haber aumentado su precio en más del 60 %.
Este simple ejemplo numérico sirve para ilustrar la principal hipótesis de este trabajo, en el sentido que a pesar de los profundos cambios que se observan en los mercados de productos, que inciden con fuerza en los ingresos y costos de los insumos de alimentación, el futuro de los sistemas de producción pastoriles y semi-pastoriles dependerá más de los cambios que se producen en el mercado de factores. En el ejemplo anterior, es obvio que la señal de mercado apunta en dirección a un sistema que use menos tierra y más concentrado energético, comprado o –en los casos que es posible- producido en el mismo predio.
El efecto de los cambios en la disponibilidad y costo de oportunidad del trabajo se puede ejemplificar a partir de la situación que se observa en Argentina[4] con la competitividad relativa de la producción lechera y la producción agrícola. A pesar de que la relación de precios entre la leche y la soja (principal exponente del rubro) a mejorado sistemáticamente a favor de la leche (ver Gráfico 11), y que también se registran aumentos de productividad lechera que son iguales o superiores a los que se observan en la producción de

4 El ejemplo es válido en la medida que la región pampeana argentina, unas 33 millones de hectáreas, tiene características agroecológicas que permiten una fácil sustitución de actividades, y por lo tanto muestra claramente el impacto de las fuerzas de mercado sobre el sistema de producción.

soja, esta actividad sigue ganando terreno, en muchos casos a expensas de la superficie dedicada a pasturas y producción de leche.

Gráfico 11. Evolución de la relación de precios entre la leche y la soja en Argentina, 1990-2008.



Fuente: Bolsa de Cereales de Rosario y SAGPyA.

Es evidente entonces que si el precio relativo y la productividad[5] no explican la evolución de la competitividad, hay que buscar otras razones. En esta dirección, cabe comentar que la "segunda revolución agrícola" que comenzó en Argentina a mediados de los años ´90 estuvo basada principalmente en la siembra directa y en el uso de variedades e híbridos resistentes a herbicidas selectivos, principalmente el glifosato. El uso de la siembra directa permitió desarrollar un modelo de organización empresaria que aumentó significativamente la productividad del trabajo.

En esta línea, se analizó información proveniente de dos muestreos muy representativos realizados a la misma población de fincas lecheras de la cuenca central de Santa Fe y Córdoba, en los años 1999 y 2006, comparándose la evolución de la productividad de la tierra (litros por hectárea destinada a vacas masa) y del trabajo (litros por equivalente-hombre empleado en la finca), como se observa en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Evolución de la productividad de la tierra y del trabajo en una muestra representativa de tambos de la cuenca lechera central, 1999 y 2006.

Cuartil	1999		2006	
	Lt/haVM	Lt/EH	Lt/haVM	Lt/EH
1	100	100	162	146
2	100	100	150	146
3	100	100	152	135
4	100	100	155	156

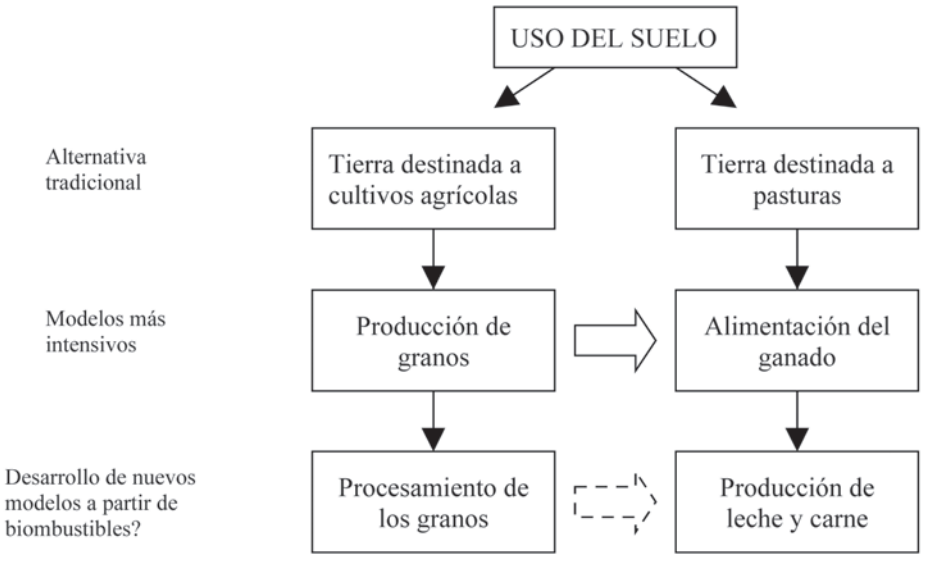
Fuente: estimaciones del autor.

Los datos en ambas muestras se ordenaron en cuatro "cuartiles" ordenados según el nivel de productividad de la tierra. Para facilitar la comparación, los valores del año 1999 tomaron una base igual a 100 y los valores del año 2006 muestran el crecimiento a partir de dicha base. Allí se observa que mientras la productividad

5 En el análisis tradicional de los especialistas en agronomía y producción animal la productividad se refiere básicamente a los rendimientos por unidad de tierra, o incluso más acotado, rendimientos por vaca. Es obvio, sin embargo, que el concepto de productividad abarca a todos los factores de la producción, y así podemos hablar de productividad del trabajo y del capital.

de la tierra creció en forma bastante homogénea, la evolución de la productividad del trabajo es más heterogénea y sobre todo, inferior al aumento de la productividad de la tierra, salvo en el cuartil superior. En el caso particular del tercer cuartil, y en un terreno especulativo, podría argumentarse que los productores han hecho un buen esfuerzo para mejorar la productividad de la tierra, pero se han quedado muy atrás en la mejora de la productividad del trabajo, comprometiendo su competitividad frente a la producción agrícola (que sí aumentó notablemente la productividad del trabajo).
El aumento del precio de la tierra (que implica una señal de mercado para ahorrar este factor de producción) y la necesidad de equiparar la productividad del trabajo con otras actividades agropecuarias y con cambios en la disponibilidad de este factor, está llevando a reconsiderar la competitividad de los sistemas clásicos pastoriles y semi-pastoriles y obligando a un rediseño de los mismos, básicamente con nuevos modelos de alimentación y organización del trabajo, donde el confinamiento parcial o total de los animales juega un rol cada vez más importante.
A modo de síntesis sobre la posible evolución de los sistemas de producción de leche y carne en función de los cambios en los mercados de productos y factores, se presenta el Gráfico 12, que trata de caracterizar los interrogantes tecnológicos que se presentan (repetimos, principalmente en los sistemas de producción pastoriles o semi-pastoriles) a partir de los cambios que ocurren en los mercados internacionales de agroalimentos y biocombustibles.

Gráfico 12. Caracterización de la evolución de los sistemas de producción de leche y carne.



Fuente: elaboración del autor a partir de varias fuentes.

Aunque no está explícitamente mencionado en el Gráfico 12, los sistemas de producción más intensivos (ahorran tierra, especialmente la destinada a pasturas) implican nuevos modelos de organización que también tienen un efecto positivo sobre la productividad del trabajo. Adicionalmente, y también a modo de hipótesis, es muy probable que estos nuevos sistemas permitan modificar la naturaleza de la respuesta productiva de los sistemas pastoriles, caracterizada por la presencia de rendimientos decrecientes, lo que genera costos marginales crecientes y pérdida de competitividad frente a la producción más intensiva.

Otro factor que no ha sido tenido en cuenta en esta presentación, pero que sin duda tiene cada vez más importancia para definir la competitividad de los sistemas ganaderos, es que a medida que los modelos se hacen menos pastoriles permiten es posible desarrollar formas de organización de la producción que generan economías de escala y reducen sensiblemente los costos de producción (MacDonald y otros, 2007).

BIBLIOGRAFÍA

- Bollard, A. y M. Jones. *Commodities, Dairy Prices and the New Zealand Economy*. Reserve Bank of New Zealand. Presentation to the Waikato Grasshooppers. 12 June 2007.
- Bohman, M. Biofuels and Grains Markets. Presentation to the 2008 ABARE Outlook, Australia, Camberra, 4-5 March 2008.
- Dairy Australia. *Dairy Weekly*. Report N° 12. 28 March 2008.
- FAO. *Growing demand on agriculture and rising prices of commodities: An opportunity for smallholders in low-income agricultural-based countries?*. Paper prepared for the Round Table organized during the 31st session of IFAD´s Governing Council, 14 February 2008.
- Hemme, T., A. Weers y K. Christoffers. A Global Review. The Supply of Milk and Dairy Products. IFCN. Paper prepared for the UK Department of the Environment, Food and Rural Affairs(www.defra.gov.uk/foodrin/milk/documents/globalmilksupply.htm)
- McConnell, D. y J. Dillon. *Farm Management for Asia : a Systems Approach.* FAO Farm Systems Management Series N° 13. FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Roma. 233 p. 1997.
- MacDonald, J.; E.. O´Donoghue, W. McBride, R. Nehring, C. Sandretto and R. Mosheim. *Profits, Costs, and the Changing Structure of Dairy Farming*. USDA. ERS. Economic Research Report N° 47, September 2007.
- Rabobank. *Australia & New Zealand Agribusiness Review*. Rabobank Group. Food & Agribusiness Research and Advisory (FAR). February 2008.
- Regmi, A.; H. Takeshima y L. Unnevehr. *Convegence in Global Food Demand and Delivery.* USDA. ERS. Economic Research Report N° 56, 39 p. March 2008.
- USDA-FAS. *Dairy: World Markets and Trade*. Circular Series FD 2-07, December 2007.
- von Braun, J. *The World Food Situation: New Driving Forces and Required Actions.* International Food Policy Research Institute. Washington, D.C.. December 2007.





What is improved dairy cattle reproductive performance worth?

Albert De Vries
Department of Animal Sciences, University of Florida
P.O. Box 110910, Gainesville, FL 32611, USA
devries@ufl.edu

Introduction

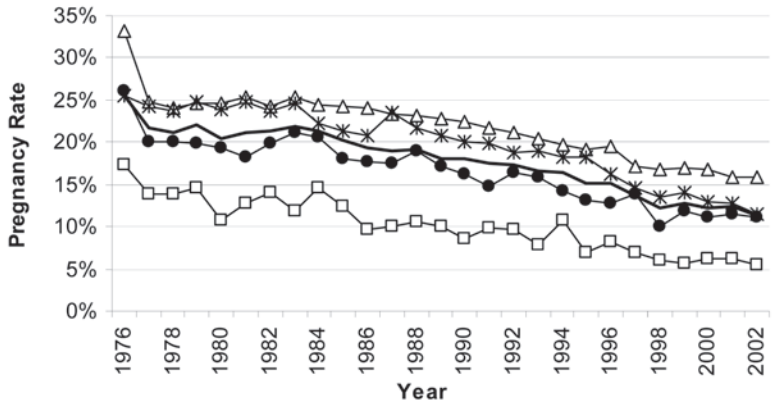
The reproductive performance of dairy cattle has a major effect on the profitability of the dairy herd. Common measures of reproductive performance are days to first service, days to conception, calving interval, services per conception, non-return rate, conception risk, estrus detection rate, and pregnancy rate.

Pregnancy rate is a good overall measure of reproductive performance. It is the favorite reproductive measure of the dairy industry in the USA. Pregnancy rate is calculated as the number of cows that got pregnant in a 21-day period divided by the number of cows that were eligible to get pregnant in that period. It is a measure of the speed by which cows get pregnant after the voluntary waiting period for first breeding after calving. Pregnancy rate can be estimated as the conception risk x estrus detection rate if those are known. Estrus detection rate is referred to as 21-day service rate because in herds that use timed-AI, breeding is not based on estrus detection. It measures the probability that an open cow that is eligible for breeding is bred within a 21-day period. The 21 days refers to the standardized time between ovulations. For example, a 50% 21-day service rate and a 40% conception risk result in a 50% x 40% = 20% pregnancy rate; every 4 out of 5 eligible open cows with a breeding opportunity did not get pregnant.

An analysis of all Holstein herds in Florida and Georgia that participated in DHIA (Dairy Herd Improvement Association) showed that average pregnancy rates dropped from approximately 25% in



1976 to 13% in 2002 (De Vries and Risco, 2005), with considerable seasonal variation (Figure 1). Others have observed similar reductions in reproductive performance (Washburn et al., 2002). Preliminary observations suggest that the decline in reproductive performance has slowed down the last 3 or 4 years and actually might be improving again. This reversal in the trend is probably due to an increased emphasis on reproductive performance, both by management and through genetic selection.



This paper provides some estimates of the economic benefits of improved reproductive performance through increasing pregnancy rates in dairy herds. After a short literature review, the paper focuses on new estimates under not-uncommon circumstances in the USA. At the herd level, the economic value of an improvement in pregnancy rate and the cost of an additional day open are estimated. Sensitivity analysis show how the value of improved reproductive performance varies when some major inputs like heifer prices are changed. Finally, an illustration of a seasonal herd shows how the value of improved reproductive performance is greater in the cooler winter than in the hotter summer.

Economic estimates from the literature

Realistic economic benefits of improved reproductive performance are not simple to obtain. When reproductive performance improves, all changes in cash flows that result from the improvement must be accounted for. For a good analysis, we need at least realistic estimates of milk production curves, feed intake, the risk of culling, and prices such as for milk, feed, labor, semen, possibly fertility drugs, calves, replacement heifers and cull cows.

Cows that become pregnant faster will spend on average more time in the early part of the lactation (higher milk sales) and are less likely to be culled for reproductive failure. But they have also more days dry per year and are more often at risk for involuntary culling due to fresh cow problems. Furthermore, the breeding and culling policy can have a significant effect. In addition, the performance of replacement heifers should be included in the analysis.

For these reasons, researchers have built and used computer programs or spreadsheets to integrate the effects of all these different factors and come up with the best possible economic estimates of improved reproductive performance. Still, the economic estimates of improved reproductive performance from these studies differ due to variations in prices, milk production curves and feed intake, the risk of involuntary culling, breeding and culling policy, and method of calculation.

Some studies evaluated reproductive performance by estimating the additional cost per day open, expressed per cow per year. Days open are days from calving to conception, and usually an adjustment is made for cows that failed to get pregnant.

For example, Plaizier et al. (1997) reviewed the literature and found the average cost of a one day longer calving interval (one additional day open) to range from -$0.29 to $2.60. Their own estimate was a cost of approximately $3.36 per extra day (1997 US dollars). Among many factors, the cost per extra day open depends on the actual days open. Using their spreadsheet model, French and Nebel (2003) estimated the cost of an additional day open from $0.42 at 100 days open to $4.95 at 175 days open (2003 US dollars). Thus, the cost per extra day open increases when cows are longer in milk. Meadows

et al. (2005) estimated a loss of $0.44 per cow per year for a one day increase in days open at 130 days and $1.71 for a 1-day increase at 190 days open (2005 US dollars). Therefore, these estimates varied considerably.

Other studies looked at the value of a marginal increase in estrus detection rate, conception risk, or pregnancy rate. Marsh et al. (1985) found the value of a one percentage point increase in estrus detection rate (e.g. from 40% to 41%) to range from $1.15 to $1.66 and the value of a one percentage point increase in conception risk to be $1.92 to $2.61 per cow per year using four different culling and rebreeding policies (1987 US dollars).

Pecsok et al. (1994) found that the value of a one percentage point increase in pregnancy rate was worth about $0.86 per cow per year when pregnancy rate was approximately 45% (1994 US dollars). At a lower pregnancy rate (13%), a one percentage point increase was worth approximately $16.60.

A decrease in the value of a marginal increase in pregnancy rate at higher pregnancy rates was also found by Risco et al. (1998) for conditions in Florida. They found no economic benefits from increasing pregnancy rate above 45%.

Plaizier et al. (1998) studied the literature and found that values of a one percentage point increase in estrus detection rate had been estimated from a loss of $2 to a gain of more than $16 (1998 US dollars). Their results also showed that improving poor reproductive performance was more valuable than improving already good reproductive performance.

Improvement of the trait daughter pregnancy rate through dairy cattle genetics was valued at $21 lifetime (3 lactations) in the 2006 revision of the net merit selection index published by the US Department of Agriculture (VanRaden et al., 2006). Net merit is a combination of breeding values and their economic weights of 10 dairy cattle traits. It is the expected extra lifetime profit of an animal's offspring compared to the breed average. The $21 lifetime equals approximately $7 per cow per year. However, this value does not include savings associated with reduced culling when pregnancy rate increases. Culling is accounted for in the trait productive life, which was valued at $29 per month longer productive life in the 2006 net merit revision. The $21 value of daughter pregnancy rate is independent of the level of pregnancy rate. Thus, improvements in low pregnancy rates are considered not more valuable than improvements in already high pregnancy rates.

Many of these findings were summarized by LeBlanc (2007). Collectively, the literature shows that the economic value of an improvement in reproductive efficiency is greater when reproductive efficiency is low. And further, that recent estimates of the value of changes in pregnancy rates are scarce. Therefore, the DairyVIP computer program was developed to evaluate the economic and technical effects of changes in dairy herd management, such as in reproductive efficiency (De Vries, 2006a).

DairyVIP computer program

DairyVIP (dairy value iteration program) is an economic modeling computer program that allows users to evaluate the economic benefits of changes in dairy management (De Vries, 2004, 2006a, 2006b). With it, the economic value of improvements in reproductive performance can be calculated. DairyVIP first calculates optimal breeding and replacement decisions for individual dairy cows (using the dynamic programming method) and then calculates many technical and financial herd statistics for a herd of dairy cows that are managed following the calculated breeding and replacement decisions (using the Markov chain method). There are many inputs that the user can change. For example, the user can enter and change milk production curves, body weights, estrus detection rates and conception risks, the risk of involuntary culling, labor needs, feed intake, and many prices such as for milk, feed, sold calves, purchased heifers, culled cows, labor, veterinary expenses, semen, and fertility drugs. Milk production curves, reproductive inputs, and the risk of involuntary culling can be entered for each of 12 months of the year to mimic seasonal conditions. The program assumes that culled cows are replaced with purchased heifers. After DairyVIP has calculated the consequences of a set of input data, the user-interface shows over 40 statistics such as profit per cow per year, average days to conception, pregnancy rate, cull rate, etc. It also displays over 50 graphs showing herd statistics over time, by days in lactation, by month of the year, by lactation number, or by level of milk production. Two sets of inputs and their results can be compared simultaneously. The optimal breeding and replacement decisions for each individual cow can also be viewed.



Default assumptions

In the default situation, key assumptions were a milk price of $40 / 100kg, a calf price of $300, a cull price of $90 per 100kg of body weight, and a heifer price of $2000. Body weight and feed intake were taken from the 2001 NRC recommendations (NRC, 2001). The default situation also assumed a 55% 21-day service rate and a conception risk that peaked at 37% on day 91 after calving and then gradually declined to 23% on day 456. The relative risk of conception reclined from 100% in first lactation cows to 78% in eighth lactation cows or older. The risk of abortion during the gestation after the first month of pregnancy was 8.2%. Breeding cost was $20. Open cows were eligible to be bred up to 456 days in milk (15 months) if not involuntary or voluntary culled earlier in lactation. Minimum voluntary waiting period was 60 days but DairyVIP might decide to postpone breeding of some cows if that is economically advantageous. Labor time spent and cost depended on the time from calving and whether the cow was milking or dry. Veterinary costs were $38 per cow in the first month after calving and declined to $1 per month after 4 months after calving.

Milk production curves for average first lactation cows peaked at 36.6 kg/day on day 137 after calving. Total 305-day milk yield was 10,055 kg. Average second lactation cows peaked at 45.0 kg/day on day 76 with 11,844 kg in 305 days. Average third and later lactation cows peaked also at 76 days but with 47.5 kg and with 12,408 kg in 305 days. Thus, milk production curves for first lactation cows peaked later, were lower, and were more persistent than those for older cows. Milk production was reduced by 5%, 10%, and 15% for months five through seven of gestation. The length of the dry period was two months (last 2 months of gestation). Individual cows varied their milk production from 70% to 130% from the average milk production.

Although DairyVIP optimized voluntary replacement and breeding decisions, every cow was still at risk for involuntary culling (essentially, a risk for a change in nature that made immediate culling unavoidable). The basic risk of involuntary culling declined from 2.6% in the first month after calving to 0.9% per month from approximately day 137 to day 350 after calving. After day 350, the risk increased again. The relative risk of involuntary culling increased with lactation number, from 100% of the basic risk for first lactation cows to 552% for cows in their eighth or later lactation.

With the default inputs, **Table 1** shows the resulting cost and revenues per cow per year and per 100 kg and some other herd statistics. Breeding supply costs include the cost of semen only. These results are in agreement with results that could be expected on reasonably progressive dairy farms in the US. Together, they lend credibility to the set of chosen default assumptions.

Table 1. Herd statistics in the default situation.

Variable	Per cow per year	Per 100 kg	Variable	
milk sales ($)	4646	40.00	days to first service	76
cow sales ($)	186	1.60	days to conception	143
calf sales ($)	311	2.68	days to last service	303
total revenue ($)	5143	44.28	calving interval (months)	13.7
feed cost ($)	1954	16.82	pregnancy rate	18%
breeding supply cost ($)	55	0.47	overall cull rate	34%
heifer purchase cost ($)	682	5.88	involuntary cull rate	24%
veterinary cost ($)	79	0.68	voluntary cull rate	10%
variable labor cost ($)	402	3.46	milk / cow / yr (lbs)	11,614
variable other cost ($)	343	2.95	total cost / pregnancy ($)	62
fixed cost ($)	1095	9.42	value of new pregnancy ($)	284
total costs ($)	4609	39.69	cull price ($)	545
profit ($)	534	4.60	income over feed cost ($/day)	7.38

Economic value of a change in pregnancy rate

DairyVIP was used to evaluate the economic effects of a change in pregnancy rate. 21-day service rate

and conception rate were simultaneously varied from -15 percentage points to +20 percentage points with increments of 5 percentage points. This resulted in pregnancy rates from 7% to 38%. **Table 2** shows some selected herd statistics for various pregnancy rates. Increasing pregnancy rates lead to fewer cows in lactations 1 and 2 and a lower cull rate. This trend can be seen in reduced cow sales and reduced heifer purchase costs. A greater pregnancy rate results in shorter lactations as can be seen by more milk per lactating cow, and fewer cows lactating. Collectively, milk sales do not increase very much because the increase in milk per lactating cow is offset by fewer cows lactating because cows are more often dry. Feed costs do not vary much. Profit per slot per year increased from $255 to $658 with greater pregnancy rate, but the rate of increase declined. Average days open decreased from 172 to 111. The value of a marginal increase in pregnancy rate (say from 15% to 16%) is the change of profit per slot per year when pregnancy rate changes one percentage unit. **Figure 2** shows that the marginal value is more than $40 per cow per year in herds with low pregnancy rates to less than $5 per cow per year in herds with greater than 30% pregnancy rates. For the average pregnancy rate in the USA, which is approximately 16%, the marginal value under the default assumptions is $16.41. When there is a cost associated with improving pregnancy rate, these marginal values will be smaller.

Table 2. Effect of pregnancy rate on selected herd statistics under the default assumptions.

Herd statistic	---- Pregnancy rate ----							
	7%	10%	14%	18%	22%	27%	32%	38%
21-day service risk	40%	45%	50%	55%	60%	65%	70%	75%
Conception risk	18%	23%	28%	32%	37%	41%	46%	50%
% cows in lactation 1	52	44	39	36	34	33	32	31
% cows in lactation 2	28	28	27	27	26	25	25	25
% cows lactating	92	90	89	88	88	87	87	86
Milk yield lactating cows (kg/day)	34.5	35.2	35.7	36.1	36.5	36.7	36.9	37.1
Milk yield all cows (kg/day)	31.6	31.7	31.8	31.8	31.9	32.0	32.0	32.1
Average days in milk	232	234	233	231	229	226	224	222
Annual cull rate (%)	48	41	37	34	32	31	31	30
Days to conception	172	162	152	143	136	130	124	120
Value of new pregnancy ($)	646	494	375	284	216	166	128	102
Breeding cost per pregnancy ($)	110	87	73	62	54	48	44	40
Milk sales ($/slot/year)	4614	4626	4635	4646	4656	4666	4673	4680
Cow sales ($/slot/year)	260	225	201	186	176	170	167	164
Calf sales ($/slot/year)	293	299	305	311	316	321	325	328
Feed cost ($/slot/year)	1957	1957	1955	1954	1953	1953	1952	1952
Heifer purchase cost ($/slot/year)	958	825	737	682	647	627	614	606
Profit ($/slot/year)	255	380	469	534	580	614	640	658



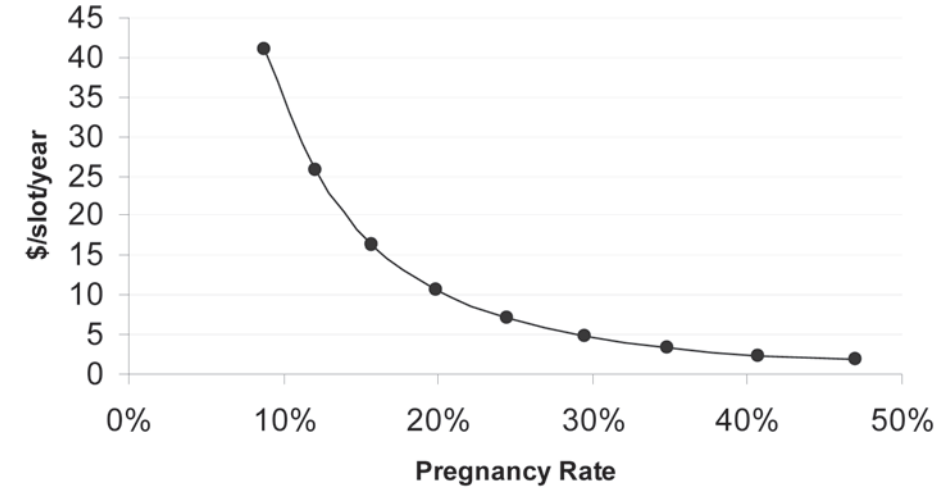


Figure 3 shows how cash flows change after a 5 percentage unit increase in conception risk. Early after the improvement, heifer purchase costs are reduced because fewer cows are culled for failure to get pregnant. After the initial extra calves are born, starting 9 months after the implemented improvement, milk sales increase as well. The increase in profit per cow then is approximately $3 to $4 per month. After approximately 4 years, the herd has reached steady state again at the higher conception risk level.

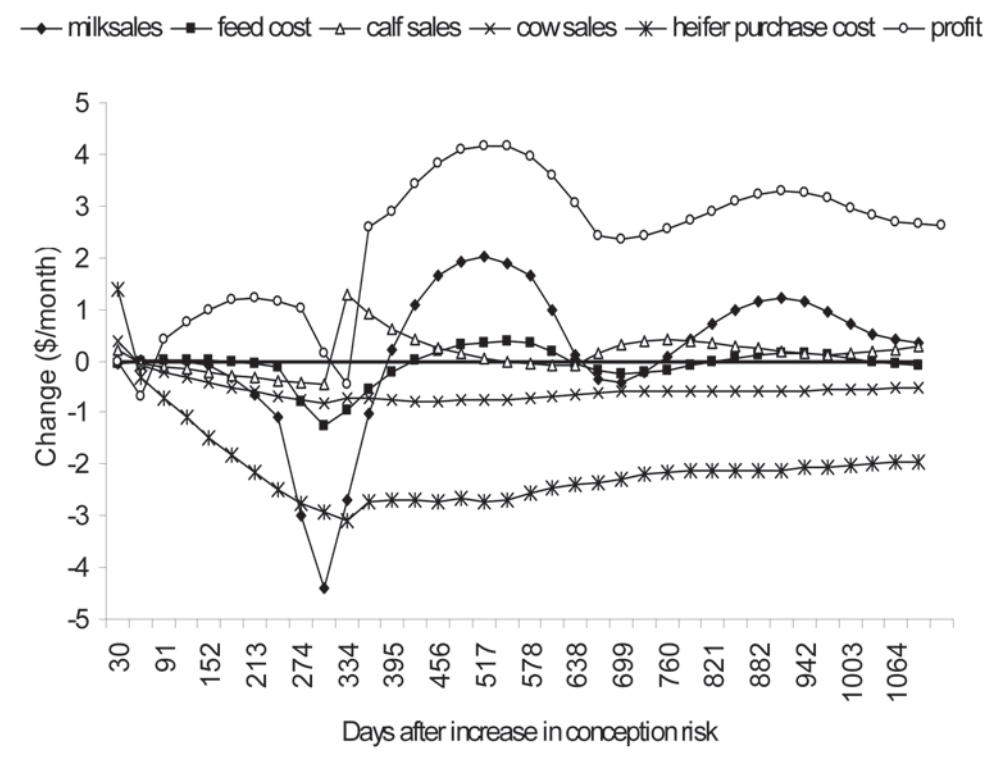


Table 3. Effect of a 5 percentage point increase in conception risk during short stages of lactation.

Stage of lactation	Herd pregnancy rate	Change in profit ($/slot/year)	Probability cow is bred in stage of lactation	Change in profit per breeding ($/ year)
Default	17.7%	0.00	-	-
Day 61-90	18.2%	4.16	59%	6.99
Day 91-121	18.2%	5.23	56%	9.38
Day 122-151	18.1%	4.84	41%	11.69
Day 152-181	18.0%	4.40	31%	14.34
Day 182-212	17.9%	3.90	23%	16.78
Day 213-243	17.9%	3.28	18%	18.50
Day 243-273	17.8%	2.69	14%	19.79

Increases in conception risks during short stages of lactation, for example during the first month of the eligible breeding period, results in small increases in overall herd pregnancy rate and profit per cow per year (**Table 3**). In this example, the conception risk was increased by 5 percentage points during 30 day intervals in various stages of the lactation. The change in profit per cow per year was the greatest ($5.23 compared to the default scenario) when conception risk in days 91-121 was increased. On average, a cow had a 56% chance that she was bred between days 91 and 121. The probability of breeding later in lactation decreased because a cow was less likely to be still open. Profit per breeding increased later in lactation. Therefore, although improvement in reproductive efficiency early in lactation was more profitable for the herd, improvement in reproductive efficiency later in lactation was more profitable per open cow that was bred later in lactation.

Sensitivity analysis

Variations in inputs lead to different values of a marginal change in pregnancy rate as is seen in **Table 4**. Especially, a marginal increase in pregnancy rate is worth more when the heifer price is high or cows are given fewer breeding opportunities. Both effects illustrate the importance of culling on the value of a marginal change in pregnancy rate. Increases in milk price and herd milk production have smaller effects.

Table 4. Effects of variations in some inputs on the value of a marginal change in pregnancy rate.

Inputs	---- Pregnancy rate ----							
	9%	12%	16%	20%	24%	29%	35%	41%
Default	41.00	25.69	16.41	10.69	7.11	4.82	3.36	2.37
Heifer price $2400	49.59	30.44	19.00	12.13	7.93	5.28	3.55	2.53
Heifer price $1600	31.46	20.30	13.35	8.95	6.11	4.21	3.01	2.18
Milk price $34 / 100kg	40.39	25.20	15.91	10.28	6.84	4.61	3.15	2.27
Milk price $46 / 100kg	41.12	25.98	16.77	11.03	7.36	5.03	3.51	2.45
Max. 8 months breeding	45.39	33.48	23.48	16.02	10.55	7.03	4.85	3.38
Max. 12 months breeding	42.42	27.35	17.34	11.35	7.54	5.10	3.53	2.51
Milk yield +30%	41.00	26.18	16.95	11.31	7.49	5.11	3.58	2.55
Inv. cull rate –30%	44.03	27.62	17.72	11.62	7.77	5.30	3.67	2.66
Inv. cull rate +30%	38.36	24.25	15.40	9.98	6.63	4.47	3.09	2.17



Cost per day open

The average cost per day open per month after calving for the default inputs in shown in **Figure 4**. These costs were calculated as the average cost per day open from all cows that were open at the particular days after calving. These cows differ by lactation number and level of milk production and individually have quite different cost per day open (De Vries, 2007). The negative cost per day open on day 61 illustrates that on average the optimal day to conception is not yet reached: a day later pregnant would actually increase profitability. Further, cost per day open increases by days after calving, similarly to what was observed by for example French and Nebel (2003) and Meadows et al. (2005). Differences in the actual cost per day open are largely influenced by the culling policy.

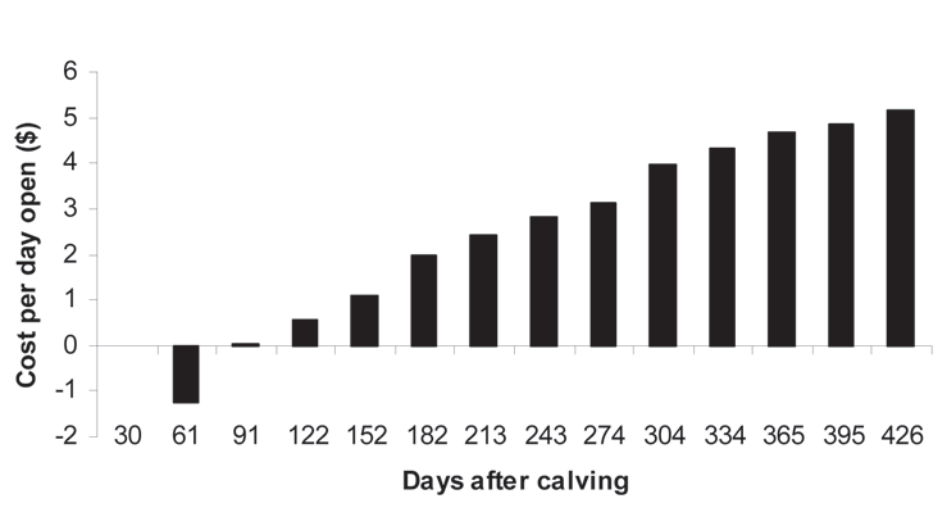


Figure 4. Herd average cost per day open by day after calving for the default situation

Seasonality

In most of the USA, milk production and reproductive efficiency are reduced in the summer months which are hot and sometimes humid. For example in Florida, milk production may decrease by 25% in the summer whereas pregnancy rate can decrease by 50% compared to the winter. Consequently, much effort is focused on improving reproductive efficiency in the summer.

To mimic a seasonal herd, seasonality in milk production was modeled after De Vries (2004) where cows that calved in the spring and summer peak lower and produced less milk than cows that calved in the fall and winter. Conception risk was set at a high of 44% in February and a low of 20% in August. Further, conception risk decreased by days after calving. Fixed costs were reduced throughout the year. To investigate the value of increasing reproductive efficiency in the hot season (June through November) vs. the cool season (December through May), conception risk was increased by 5 percentage points in either season. **Table 5** lists the economic results of the default situation and the improvement in reproductive efficiency in either the cool season or the hot season.

It is clear that for the same amount of improvement in conception risk, the increase in reproductive efficiency in the cool season is more profitable ($417 vs. $405 per cow per year). This somewhat surprising result is primarily caused by a shift in calving to the fall and winter. Consequently, the herd is more seasonal. More cows are producing milk in the winter when they are relatively fresh. These results assume that there are no constraints to increased seasonal production such as limited parlor capacity, the availability of replacement heifers or forage growth. The results illustrate the importance of considering the seasonality of milk production when reproductive efficiency is improved during certain time periods of the year.

Table 5. Effect of a 5 percentage point increase in conception risk in the hot season vs. the cold season.

Variable[1]	Default	Hot season increase	Cool season Increase
milk sales	4070	4061	4073
cow sales	202	196	197
calf sales	310	312	314
total revenue	4583	4569	4584
feed cost	1831	1828	1830
breeding supply cost	64	61	60
heifer purchase cost	743	720	722
veterinary cost	79	79	79
variable labor cost	404	403	403
variable other cost	344	344	343
fixed labor cost	365	365	365
fixed other cost	365	365	365
total costs	4193	4164	4167
profit	390	405	417
pregnancy rate (%)	14	16	16
milk yield (kg/year)	10,176	10,151	10,182

[1] Results in $/slot/year, unless noted otherwise.

References

- De Vries, A. 2004. Economic value of delayed replacement when cow performance is seasonal. Journal of Dairy Science 87: 2947-2958.
- De Vries, A. 2006a. The DairyVIP program to evaluate the consequences of changes in herd management and prices on dairy farms. University of Florida Extension Document AN177.
- De Vries, A. 2006b. Economic value of pregnancy in dairy cattle. Journal of Dairy Science 89:3876–3885.
- De Vries, A. 2007. Economics of the voluntary waiting period and value of a pregnancy. Pages 1-9 in: Proceedings of the Dairy Cattle Reproduction Conference, November 2-3, Denver, CO. (sponsored by Dairy Cattle Reproduction Council)
- De Vries, A. and C.A. Risco. 2005. Trends and seasonality of reproductive performance in Florida and Georgia dairy herds from 1976 to 2002. Journal of Dairy Science 88:3155-3165.
- French, P. D. and R. L. Nebel. 2003. The simulated economic cost of extended calving intervals in dairy herds and comparison of reproductive management programs. Journal of Dairy Science 86 (Suppl. 1):54 (abstract).
- LeBlanc, S. 2007. Economics of improving reproductive performance in dairy herds. Proceedings of the Western Canadian Dairy Seminar. Advances in Dairy Technology 19:201-214.
- Marsh, W. E., A. A. Dijkhuizen, and R. S. Morris. 1987. An economic comparison of four culling decision rules for reproductive failure in the US dairy herds using Dairy ORACLE. Journal of Dairy Science 70:1274-1280.
- National Research Council. 2001. Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th rev. ed. Natl. Acad. Sci., Washington, D.C.
- Pecsok, S. R., M. L. McGilliard, and R. L. Nebel. 1994. Conception rates: Derivation and estimates for effects of estrus detection on cow profitability. Journal of Dairy Science 77:3008-3015.
- Plaizier, J. C. B., G. J. King, J. C. M. Dekkers, and K. Lissemore. 1997. Estimation of economic values of indices for reproductive performance in dairy herds using computer simulation. Journal of Dairy Science 80: 2775-2783.
- Plaizier, J. C. B., G. J. King, J. C. M. Dekkers, and K. Lissemore. 1998. Modeling the relationship between reproductive performance and net-revenue in dairy herds. Agricultural Systems 56: 305-322.
- Risco, C. A., F. Moreira, M. DeLorenzo and W. W. Thatcher. 1998. Timed artificial insemination in dairy cattle - part II. The Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian 20: 1284-1289.
- Van Arendonk, J. A. M. 1984. Studies on the replacement policies in dairy cattle. I. Evaluation of techniques to determine the optimum time for replacement and to rank cows on future profitability. Zeitschrift fuer Tierzuechtung and Zuechtungsbiologie 101:330-340.
- VanRaden, P. M. and Multi-State Project S-1008. 2008. Net merit as a measure of lifetime profit: 2006 revision. USDA-AIPL Research Report NM$3 (7-06).
- Washburn, S. P., W. J. Silvia, C. H. Brown, B. T. McDaniel, and A. J. McAllister. 2002. Trends in reproductive performance in Southeastern Holstein and Jersey DHI herds. Journal of Dairy Science 85:244–251.





Management of Hepatic lipidosis in Dairy cows

PJ Rehage, A Starke, M Heppelmann, H Meier, M Höltershinken
Clinic for Cattle, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany
Bischofsholer Damm 15, D-30173 Hannover, Germany
juergen.rehage@tiho-hannover.de

Introduction:
Over the last decades intense genetic selection, improved nutrition and cow management increased annual milk yield of HF dairy cows significantly. Unfortunately, the increase in the genetic merit of milk yield is only partly compensated by an increase in maximal feed intake (Veerkamp et al., 2000). Thus, a negative energy balance (NEB) is a common feature in high yielding fresh cows due to a high initial milk yield in face of delayed increase of dry matter intake. In order to adjust to the imbalance in nutritional energy intake and energy expenditure for maintenance and milk yield low plasma concentrations of insulin, IGF-1 and thyroxin and high plasma levels of glucagon, growth hormone and Cortisol allow increased hepatic gluconeogenesis and mobilization of lipids and protein from adipose and muscular tissues, resp. In consequence high plasma levels of nonesterified fatty acids (NEFA) are measured in cows during early lactation (Baumann & Currie, 1980, Hart, 1983, Vernon & Sasaki, 1991, Ingvartsen & Andersen, 2000).
Fatty liver develops when the hepatic availability of lipogenic and glucogenic products is imbalanced. Thereby the capacity of complete oxidation of fatty acids is exceeded and the alternative pathways of ketogenesis or re-esterification of NEFA to triacylglycerol (TAG) are used. Since hepatic secretion of lipids by very low density lipoproteins (VLDL) is inherited low in bovines excess hepatic lipids are stored as TAG in the liver tissue (Katoh, 2002, van Knegsel et al., 2005). Accordingly, fatty liver occurs predominately in the first month of lactation. Approximately 25% of dairy cows develop severe and 35% moderate fatty liver (Jorritsma et al., 2001). Fatty liver is associated with decreased health status, well-being, milk yield, reproductive performance and reduced immune response. Therefore fatty liver is a major risk factor for



decreased average life time of cows (Gerloff et al., 1986, Rehage et al., 1996, Wensing et al., 1997, Jorritsma et al., 2000, Zerbe et al., 2000).

Clinical pathology

Classical parameter of clinical biochemistry, such as plasma activities of liver enzymes, bilirubin or bile acid concentrations do not allow a reliably discrimination between mild (< 50mg TAG/g FW) or moderate (50-100mg TAG/g FW), moderate and severe (> 100mg TAG/g FW) and even not between mild and severe fatty liver (Rehage et al., 1999). The degree of hepatic lipidosis can only be diagnosed by taking liver biopsies with subsequent histological or biochemical examination for total fat or TAG content. As a non-invasive technique sonographic examination of the liver may be promising in this regard (Thijsen et al., 2008, Bobe et al., 2008).

Recent studies showed that there is no linear relationship between liver function and the liver fat content. The majority of cows even with severe fatty liver showed in tests of clinical biochemistry no indication of impaired liver function. However, the risk of liver failure increased fivefold in cows with severe fatty liver compared to cows with mild fatty liver. Studied tests included hepatic excretion (Bilirubin subfractioning by HPLC, BSP clearance, bile acids, ammonia), hepatic production capacity (proteins, clotting factors, cholesterol, gluconeogenesis) and homeostasis (amino acids, acid base; Rehage, 1996, Rehage et al., 2001, Mudron et al., 2004).

While high hepatic fat content was identified as a significant risk factor for the development of liver failure there was no indication that this is also true for low hepatic glycogen content (Rehage, 1996, Rehage et al., 2001). However, peroxidative processes were detected in the liver tissue due to low vitamin E availability and were assumed to contribute to the development of liver failure in cows with fatty liver (Mudron et al., 1997, Mudron et al., 1999).

During episodes of hepatic failure predominantly an imbalance in the amino acid homeostasis and elevated ammonia concentrations in plasma and cerebro spinal fluid (CSF) contribute to the development of the clinical syndrome of hepatic encephalopathy (absence of appetite, ataxia, recumbency and coma; Rehage, 1996, Rehage et al., 2001).

In obese cows, cows with fatty liver and ketosis and in those with liver failure insulin resistance was found in studies using hyperglycaemic-hyperinsulinemic and euglycaemic-hyperinsulinaemic glucose clamps (Kaske et al., 2001). Insulin resistance is associated with enhanced lipomobilization and is seen as a major risk factor for fatty liver.

Treatment

Since the pathogenesis of the development of fatty liver is not sufficiently understood therapeutic measures are less causative than symptomatic. A major goal must be to improve feed intake, since negative energy balance and subsequently lipomobilization is one of the major causes of fatty liver (Drackley, 1999, Herdt, 2000). Additionally, cows need to be animated to consume feed and excessive dietary protein must be avoided and sufficient amounts of easily fermentable carbohydrates provided to reduce the ammonia load to the liver (Rehage, 1996).

Reduction of lipomobilization can be achieved by all measures which lead to increased insulin plasma levels, either by insulin administration (not approved as legal drug within the EU) or by bolus or better by continuous glucose infusions (Bobe et al., 2004). Since insulin sensitivity of tissues is reduced during episodes of fatty liver (Kaske et al., 2001) continuous glucose infusions should not exceed about 2.0 g glucose / kg BW / 24h. Also oral treatment with glucoplastic substances, such as propionate, propylenglycol, glycerol or glucoplastic amino acids will provide at least small amounts of energy but will also lead to increased insulin plasma levels (Grummer, 1993, Bobe et al., 2004). Repeated oral application of sodium propionate or propylenglycol in isoenergetic dosages to continuous glucose infusions appears to be of similar efficacy. However, it must be considered that higher dosages of sodium propionate (bolus of > 250g) will decrease significantly feed intake and hepatic ureagenesis and will induce metabolic alcalosis (Rehage et al., 1994).

Hepatic lipoperoxidative processes are assumed to play a negative role in the pathogenesis of hepatic failure in cows with fatty liver. Thus, administration of high dosages of vitamin E and selenium or other antioxidative substances is recommended (Mudron et al., 1997 and 1999, Abd Ellah et al., 2004).

Although there are promising reports about the application of glucagon in cows with fatty liver in terms of enhancement of hepatic gluconeogenesis and reduction of liver fat content (Hippen et al., 1999, Bobe et al., 2003), the use in practise is still constricted, since there is still no appropriate galenism available to solve the problem of the short half life time of glucagon and it is at least in Europe not approved as a legal drug.
Dexamethasone is assumed to increase gluconeogenesis, which is concluded from raised plasma glucose levels. However, there are indications that elevated plasma glucose levels are more due to increased peripheral insulin resistance than to enhanced gluconeogenesis. However, recent studies showed several positive effects of dexamethasone in dairy cows with fatty liver: reduction in plasma ketone body levels and hepatic triglyceride content, increased plasma insulin, reduced plasma non esterified fatty acids and ammonia concentrations, and a restoration of plasma amino acid homeostasis (Shigel et al., 1996, Rehage et al., 2002, Jorritsma et al., 2004). In particular the capacity of dexamethasone to decrease plasma ammonia levels and to increase plasma concentrations of branched chain amino acids needs to be emphasized. Ammonia as well as the imbalance in amino acid homeorrhesis is assumed to play an important role in the development of severe clinical CNS signs in cows with liver failure (Rehage et al., 2002).

Prevention
Dry cow management:
The most important risk factor for excessive lipomobilization and thereby fatty liver and ketosis around calving and during early lactation in dairy cows is obesity due to overfeeding during the far off and close up period (Drackley, 1999, Bobe et al., 2004). Thus one of the primary aims of the dry period must be avoidance over conditioning by adequate restriction of feed intake. There is also evidence that large drops in dry matter intake around the days of calving need to be prevented in order to prevent start of excessive lipomobilization already at the start of lactation. Therefore feed components of excellent quality should be offered, abrupt changes in the diet immediately before calving should be avoided and overcrowding of dry pens, insufficient bunk space, not feeding ad libitum around calving or heat stress must be excluded. There is little evidence that steam feeding during the close-up period by including high amounts of easily fermentable carbohydrates into the diet will prepare dairy cows better for subsequent lactation (Grummer et al., 2007). However, the close-up period should include feed components of the lactation diet to avoid abrupt changes in the diet. Milk fever prevention is of essential importance as well, since milk fever is an fundamental risk factor for may other production diseases such as retained placenta, mastitis or abomasal displacement which all go along with reduced feed intake in early lactation and thereby increased lipomobilization. Administartion of propylenglycol or other glucoplastic substances may also contribute to reduced lipid mobilization around calving (Drackley, 1999).
Lactation period
There is general agreement that maximizing feed intake as quick as possible from the day of calving on is an essential precondition in the prevention of fatty liver. This is in particular true for the first days after calving (Bobe et al. 2005, Grummer et al., 2007). However, balanced rations will not only meet energy requirements but will provide also sufficient amounts of fiber in order to avoid subclinical ruminal acidosis which also leads to disturbances of energy metabolism (Kleen et al., 2003). Only feed stuffs of high quality should be offered and enough bunk space and intensive bunk management will allow cows to maximize feed intake and thereby to minimize negative energy balance during early lactation (Drackley, 1999, Kleen et al. 2003, Vernon, 2005). Early and resolute treatment of all diseases which commonly go along with ketosis and fatty liver, such as abomasal displacement, mastitis, endometritis, and lameness is required (Bobe et al., 2004). Avoiding social and environmental stress, clean and comfortable housing conditions, regular exercise and good micro climate conditions are also important measures in the prevention of lipomobilization (Drackley, 1999). Drenching Propylenglycol, oral administration of glycerol or sodium or calcium propionate and provision of sufficient amounts of antioxidative substances in the diet are recommended (Grummer, 1993, Abd Ellah et al., 2004, Bobe et al., 2004). Efficacy of fat supplements to the ration of dry or lactating cows is discussed controversially (Grummer, 1993, Drackley, 1999, Bobe et al., 2004, Vernon, 2005, Van Knegsel et al., 2005). Providing ionophores such as monensin as feed additives appears to be effective in prevention of ketosis and fatty liver in particular in obese cows (Duffield, 2000, Duffield et al. 2003). However, monensin is not approved as a legal drug in the European Union in dairy cows.



References

- Abd Ellah MR, Niishimori K, Goryo M, et al - Glutathion Peroxidase and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Activities in Bovine Blood and Liver. J. Vet. Med. Sci., 2004, 66:1219-1221
- Baumann DE, Currie E - Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: A review of mechanism involving homeostasis and homeorhesis. J. Dairy Sci., 1980, 63:1514-1529
- Bobe G, Ametaj BN, Young JW, et al - Potential treatment of fatty liver with 14-day subcutaneous injections of glucagon. J. Dairy Sci., 2003, 86:3138-3147
- Bobe G, Young JW, Beitz DC - Invited review: Pathology, Etiolgy, Prevention and Treatment of Fatty Liver in Dairy Cows. J. Dairy Sci., 2004, 87:3105-3124
- Bobe G, Amin VR, Hippen AR, et al - Non-invasive detection of fatty liver in dairy cows by digital analyses of hepatic ultrasonograms. J. Dairy Res., 2008, 75: 84–89.
- Drackley JK - Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier? J. Dairy Sci., 1999, 82:2259-2273
- Duffield TF - Subclinical ketosis in lactating dairy cows. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract., 2000, 16:231-253
- Duffield TF, LeBlanc S, Bagg R, et al - Effect of monensin controlled release capsule on metabolic parameters in transition dairy cows. J. Dairy Sci., 2003, 86:1171-1176
- Gerloff BJ, Herdt TH, Emery RS - Relationship of hepatic lipidosis to health and performance in dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1986, 188:845-850
- Grummer RR - Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. J. Dairy Sci., 1993, 76:3882–3896
- Grummer RR, Brickner A, Silva-del-Rio N – High forage or high grain for dry cows: What is best for animal health and production? Proc. 13th Int. Conf. Production Diseases in Farm Animals, Leipzig, 29th July – 4th August 2007, 187-195
- Hart IC - Endocrine control of nutrient partition in lactating ruminants. Proc. Nutr. Soc., 1983, 42:181-194
- Hippen AR, She P, Young JW, et al - Alleviation of fatty liver in dairy cows by 14-day intravenous infusions of glucagon. J. Dairy Sci., 1999, 82:1139-1152
- Herdt TH - Ruminant adaption to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. Vet. Clin. North. Am. Food. Anim. Pract., 2000, 16:215-230
- Ingvartsen KL, Andersen JB - Integration of metabolism and intake regulation: a review focussing on periparturient animals. J. Dairy Sci., 2000, 83:1573–1597
- Jorritsma R, Jorritsma H, Schukken YH, Wentink GH: Relationship between fatty liver and fertility and some periparturient diseases in commercial Dutch dairy herds. Theriogenology, 2000, 54:1065-1074
- Jorritsma R, Jorritsma H, Schukken et al.: Prevalence and indicators of post partum fatty infiltration of the liver in nine commercial dairy herds in the Netherlands. Livest. Prod. Sci., 2001, 68:53–60.
- Jorritsma R, Thanasak J, Holweling M, et al - Effects of a single dose of dexamethasone-21-isonicotinate on the metabolism of heifers in early lactation. Vet. Rec., 2004, 155:521-523
- Kaske M, Herzog K, Kraeft S, Rehage J - Pancreatic insulin response and tissue responsiveness to insulin in dry, lactating cows and cows with fatty liver: results of hyperglycaemic and hyperinsulinemic euglycemic clamp experiments. J. Dairy Sci., 2001, 84: Suppl. 1, 118
- Katoh N - Relevance of Apoliproteins in the Development of Fatty Liver and Fatty Liver-Related Peripartum Diseases in Dairy Cows. J. Vet. Med. Sci., 2002, 64:293-307
- Kleen JL, Hooijer GA, Rehage J, et al - Subacute ruminal acidosis (SARA) - a review. J. Vet. Med. A, 2003, 50:406-414
- Mudron P, Rehage J, Holtershinken M, et al - Venous and arterial ammonia in dairy cows with fatty liver and hepatic failure. Veterinarni Medicina, 2004, 49:187-190
- Mudron P, Rehage J, Sallmann HP, et al - Plasma and liver alpha tocopherol in dairy cows with left abomasal displacement and fatty liver. J. Vet. Med. A, 1997, 44:91-97
- Mudron P, Rehage J, Qualmann K, et al - A study of lipid peroxidation and vitamin E in dairy cows with hepatic insufficiency. J. Vet. Med. A, 1999, 46:219-224
- Rehage J: Habil-Thesis, 1996, School of Veterinary Medicine Hannover, Germany
- Rehage J, Schulze-Zumloh B, Scholz H - Hyperammonia, hypoxia, metabolic alcalosis and hypotonia after propionate loading in cows. Proc. 5th Congr. of the Int. Soc. for Animal Clinical Biochemistry, 2.-6. Aug. 1994, Guelph, Ontario, Canada, 77
- Rehage J, Mertens M, Stockhofe-Zurwieden N, et al - Postsurgical convalescence of dairy cows with left abomasal displacement in relation to fatty liver. Schweiz. Arch. Tierheilk., 1996, 138:361-368
- Rehage J, Qualmann K, Meier C, et al - Total serum bile acid concentrations in dairy cows with fatty liver and lliver failure. Dtsch. Tieraerztl. Wochenschr., 1999, 106:26-29
- Rehage J, Meier C, Kaske M, et al - Changes in the Amino Acid ratio and Ammonia Concentration in Plasma and Cerebrospinal Fluid of Dairy Cows suffering from Hepatosteatosis and Liver Failure. J. Dairy Sci., 2001, 84: Suppl. 1, 152
- Rehage, J., Mutius von V, Heimberg P, et al - Efficacy of Dexamethasone treatment in cows with fatty liver and abomasal displacement. Proc. XXII World Buiatrics Congress, 18.–23. August 2002, Hannover, Germany, 67
- Shigel N, Chen R, Avidar Y, et al - Use of corticosteroids alone or combined with glucose to treat ketosis in dairy cows. J. Am. Vet. Med. Assoc., 1996, 208:1702-1704
- Thijssen JM, Starke A, Weijers G, Haudum A, Herzog K, Wohlsein P, Rehage J, De Korte CL – Computer aided B-mode ultrasound diagnosis of hepatic steatosis: a feasibility study. IEEE TMI 2007 (accepted for publication)
- Van Knegsel ATM, Van Den Brand H, Dijkstra J, et al – Effect of dietary energy source on energy balance, production, metabolic disorders and reproduction in lactating dairy cattle. Reprod. Nutr. Dev., 2005, 45:665-688
- Veerkamp RF, Oldenbroek JK, Van Der Gaast HJ, et al - Genetic correlation between days until start of luteal activity and milk yiled, energy balance, and live weights. J. Dairy Sci., 2000, 83:577-583
- Vernon RG, Sasaki S - Control of responsiveness of tissues to hormones. In: Physiological Aspects of Digestion and Metabolism in Ruminants. [Tsuda T et al, eds.], Academic Press New York/Boston/London, 1991, 155-168
- Wensing T, Krui M, Geelen MJH, et al - Postpartum fatty liver in high-producing dairy cows in practice and in animal studies. The connection with health, production and reproduction problems. Comp. Haematol. Int., 1997, 53:77-83
- Zerbe H, Schneider N, Leibold W, et al - Altered functional and immunophenotypical properties of neutrophilic granulocytes in postpartum cows associated with fatty liver. Theriogenology, 2000, 54:771-786
- Vernon RG - Lipid metabolism during lactation: a review of adipose tissue-liver interactions and the development of fatty liver. J. Dairy Res., 2005, 72:1-10



Coccidiosis in Cattle
Current Understanding

Pierre Veys DVM, Vosselaar, Belgium

Introduction
Coccidia of the genus *Eimeria* are known to be one of the most important protozoal parasite species causing enteritis in various animal species. In cattle there is an increasing recognition of the impact on the growth performances of calves. The subclinical disease is economically more important than the clinical disease in a herd. Metaphylactic treatment is a justified approach in modern cattle management on farms with a history of coccidiosis.

Etiology
The causative agent of the disease is a protozoan of the genus *Eimeria.* Oocysts are ubiquitously present in the environment. There are more than 20 *Eimeria* spp. described in cattle. The parasite is host specific. Most species can be considered as harmless. Two species, *Eimeria bovis* and *Eimeria zuernii* are particularly pathogenic to housed calves. *Eimeria alabamensis* is reported to induce clinical coccidiosis in young calves within the first weeks after turn-out to pasture. Mixed infections are the rule. Other species such as *Eimeria auburnensis, Eimeria ellipsoidalis, Eimeria canadensis, Eimeria cylindrica* are the other most common species found in the faeces.

Life cycle of the parasite
Bovine coccidia have stages within the host animal as well as outside the calf in the environment. The endogenous (internal) phase starts with the merogony (2 asexual cycles) followed by the gametogony, the sexual cycle. The exogenous phase (external) is called sporogony. Infected animals shed large amounts of non sporulated oocysts in the faeces. With favorable environmental conditions of temperature and moisture



the oocysts will sporulate. This process takes place in about one week. This stage, called sporocyst, is infective to cattle. Oocysts are very resistant to physical and chemical action. Coccidia oocysts are ingested with the feed or water. Contaminated pastures or licking a dirty coat are other ways of getting infected. The sporulated oocysts release their sporozoites. In the natural host sporozoites traverse mucosal cells without considerably alterations and finally invade the endothelial cells of the central lymph capillaries of the ileal villi. Sporozoites transform to trophozoites and then to the first generation of meronts. These globular stages are sufficiently large to be diagnosed with the naked eye in case of *E. bovis* and *E. zuernii*. Each sporozoite follows two asexual cycles. The life cycle is complex with several stages of the parasite occurring simultaneously in the host cells of the intestine. More than 100.000 merozoites are formed by this asexual multiplication. The parasitized cells rupture and release their merozoites which are mobile and invade neighboring mucosal cells where they initiate the sexual cycle. Macrogamonts are fertilized by microgametes. This process eventually results in the formation of oocysts. A new life cycle can begin. It has been estimated that 125 sporulated oocysts will subsequently cause damage to more than 6 billion intestinal cells. The prepatent period of *E. bovis* is between 17 and 22 days. The life cycle of *E. zuernii* is slightly shorter: 16 to 19 days.

Prevalence

There are very few studies available on the prevalence of coccidiosis. Anyhow, in the US coccidiosis is considered to be one of the top five most important diseases in the cattle industry. In the beef cattle industry this parasitic disease is estimated to cost several hundred million dollars annually.

To determine the prevalence of *Eimeria* spp. is of no interest as most pathogens are non pathogenic. However, the occurrence of the pathogenic species, *E. bovis* and/or *E. zuernii* should always be considered. A study on the prevalence conducted in Belgium (Geurden et al., 2006) showed that 52 % of 100 farms, selected at random, were positive for the presence of oocysts. Of the 460 investigated calves under the age of 10 weeks 18 % excreted oocysts. In 90 % of the infected calves pathogen species were found. 56 % of these calves excreted *E. bovis*, 18 % *E. zuernii* and in 16 % both species were found. Further identification demonstrated a total of 11 different species. The first oocyst appear in the faeces from the age of 2 to 3 weeks. The number of ooccyst per gram faeces can increase up to several hundred of thousands, but the number should not be considered as relevant. The excretion will progressively diminish with the age. Highest infections and susceptibility for the disease is noticed in calves between 1 and 6 months of age. Although clinical outbreaks are rather rare they also exist in yearlings and even adult cattle.

Clinical and subclinical coccidiosis

Coccidiosis is a self limiting disease. Most *Eimeria* spp. and low infection pressure of the pathogenic species induce subclinical coccidiosis or moderate diarrhea. Under crowded housing conditions large number of oocysts can be ingested. If the infection pressure with pathogen species is high, clinical outbreaks in one or more animals of the pen can occur. Clinical signs may appear following a stress period. Weather changes, weaning, change of feed, unsanitary conditions trigger the potential risk for outbreaks. Coccidiosis is often referred to as an opportunist, a disease that will only develop if other stress factors are present.

The most characteristic sign of clinical coccidiosis is watery faeces, with little or no blood. The animals show only slight discomfort for a few days. High infection of naïve calves with large number of oocysts of *E. bovis* or *E. zuernii* may result in severe diarrhea with faeces containing blood, fibrin and intestinal tissue for several days. These calves often have fever, abdominal pain and sometimes tenesmus. They show anemia, dehydration, weakness, anorexia, weight loss and may eventually die. Survivors may never fully recover to their full potential and increased susceptibility to other pathogens may worsen their condition. In literature nervous coccidiosis is reported to occur, mainly in Northern America. The syndrome is usually observed in feedlot operations, especially during severe winters. The clinical signs vary in intensity from minor incoordination, loss of balance, to intermittent or continuous seizures.

But in the large majority of the cases the disease remains subclinical. Cattle appear normal, although somewhat unthrifty. Some have faecal-stained perineal areas. Oocysts are present in normally formed faeces, but the feed efficiency is reduced. Nevertheless, this form of the disease should not be neglected. Indeed, they affect the majority of the calves in a herd on farms with a history of coccidiosis. Large scale

comparative studies have clearly demonstrated that the economical losses due to subclinical coccidiosis are substantially more important than those caused in the few animals that are clinically affected.
Most calves recovering from coccidiosis usually become immune to later infections. But they can continue to shed oocysts, providing a source of infection for susceptible calves.

Pathophysiology
Artificial infection by oral administration of 50,000 oocysts of *E. bovis* to naïve calves induce diarrhea, while 100,000 oocysts may result in severe haemorrhagic scours. Extensively histological changes of the intestinal mucosa are mainly due to the sexual stages of the parasite and are explained by the enormous reproduction numbers. Severe impairment of the large number of intestinal cells leading to enteritis is seen in distal part of the ileum, the caecum and the colon. Loss of fluid, plasma proteins and electrolytes are the logical consequences of diarrhea. Diseases associated with reduced feed intake put the animal in a catabolic state and consequently proteins and fat are increasingly mobilized. Nervous coccidiosis is attributed probably to impaired electrolyte balance.

Epidemiology
Eimeria spp. are ubiquitous parasites, present on nearly all farms. Although infections take place soon after birth, the risks for clinical disease increase until the age of 3 months. The prevalence and infection pressure, the occurrence of multiple or single *Eimeria* species varies considerably between animals, farms, regions, season and age groups. On some farms only *E. bovis* is found as pathogenic species, in others *E. zuernii* is the dominant one. So far there is no explanation to determine the predominance of a species. From studies in Germany and The Netherlands one observed strikingly similar prevalences between yearlings (43 %) and calves (46 %). The general conditions of animal husbandry considerably contribute to the risk of outbreaks. Insufficient aeration, moisture, unsuited slatted floors in overcrowded pens will contribute to the risk of outbreaks. Continuous exposure to low infection levels, which is the case on most farms, will result in endemic stability. But when pathogenic species are present, various stress factors may trigger the development of subclinical, in the worst case clinical disease. When true coccidiosis is present, calves shed considerable amounts, millions of oocysts, daily during the patent period. These oocysts survive in the environment for months, up to a year at 4°C. Even when the calves are treated, but if they remain in the pen with this high infection pressure, the infection source remains a risk for younger calves or new calves which are added to the group. Not all animals from the same age class or with the same management history, equally exposed are equally sensitive for the disease. Immunity and probably also genetically determined responsiveness contribute to the individual outcome of the infection. The progressively acquired immunity is not sterile. Also yearlings and adults may continue to shed oocysts.

Immunity
The level of immunity depends on the quantity of oocysts picked up during the primary infection period. Trickle infections with small numbers of oocysts over a sufficient long period trigger the build-up of a strong immunity status. Too low or irregular uptake may not deliver the antigenic status necessary to trigger the immune response sufficient to prevent subsequent infection and disease. Protective immunity rapidly evolves and is boosted by continuous exposure to oocysts. Calves that have been regularly exposed during their first 6 month of life have a sufficient immunity to resist to new challenges. This immunity is mainly of a cellular type, species specific, but can break under very high infection pressure. The development of vaccines appears difficult and vaccination of cattle is not available as an alternative for treatment.

Diagnosis
A good clinical examination of several suspected animals in the herd remains essential. A differential diagnosis is important and includes Salmonellosis, bovine virus diarrhea, malnutrition, toxins and possible other (protozoal) parasites such as Giardia and Cryptosporidium. The latter infection however is more common in very young calves, below the age of one month.
Diagnosis of coccidiosis is made from a combination of herd history, clinical signs, physical examination and coprological examination.



When blood is noticed in the faeces of young calves, coccidiosis due to E. *bovis* and/or *zuernii* should always be considered. It becomes more difficult to diagnose coccidiosis when only transient non haemmorhagic diarrhea is observed. Coprological examination is by far the most reliable diagnostic tool. It is however crucial to approach the examination correctly in relation to sampling, microscopic examination and correct differentiation. Light microscopy, preferably after concentration with conventional flotation techniques should be applied (Mc Master´s technique). Important to know is that diarrhea can precede heavy oocyst discharge by 4 to 5 days and may continue after oocyst shedding has returned to zero or low levels. Examination of faecal samples from several animals of the group is therefore imperative. Samples may be pooled to reduce labour and costs. However it is essential to differentiate the species, or at least to confirm the presence of one of the pathogen species *E. bovis* and or *E. zuernii*. Counting of oocysts is not directly relevant, as the total number of oocysts or an OPG (oocysts per gram faeces) determination is not in relation with the severity of the disease. Differentiation is only achievable by the morphological characteristics of the oocysts. Size and shape are typical for each species.

Control

Adequate control of coccidiosis is only possible if a series of measures are considered and applied. In farms with a history of coccidiosis the herd should be critically assessed particularly with respect to hygiene, feeding, animal density in the pen, type of bedding and floor. Chemotherapy only cannot solve the problem definitively. Use of anticoccidials may need supportive therapy. In severe clinical cases adequate rehydration, the use of electrolytes, anti-diarrhoeals should be considered. When bloody diarrhea is present most of the intestinal damage has already occurred. Moreover some of the used anticoccidials have no effect on the late stages in the cycle of the parasite. Anyhow, the farmer is not always in a position to take all the appropriate management measures, e.g. due to a lack of space or no immediate time or resources to adapt the stabling conditions. Therapy is useless in a curative sense, but is though recommendable to abrogate further the development of oocysts or to interrupt the life cycle of the parasite. One should deliberately choose for products which act on the various stages of the parasite.

The most appropriate way to use chemotherapeutics is to treat calves metaphylactically rather than therapeutically. This means that the animals are treated before obvious clinical symptoms are present or as soon as clinical coccidiosis is suspected in one or more calves in the group. As mentioned already coprological examination should be performed to confirm the diagnosis. A former history of coccidiosis on the farm will facilitate the decision to install a metaphylactic treatment. For metaphylaxis one should preferably use drugs that act on the early stages, i.e. merogony. This prevents multiplication and subsequent mucosal damage of the intestine. Moreover it helps to avoid or reduce the environmental infection pressure.

Only a few number of drugs has been approved in Europe for the control of coccidiosis.

Up till some years ago the most commonly used class of chemotherapeutics were the sulfonamides. Different forms and formulations are available. These drugs primarily act on the asexual stages. They are only effective if they are applied early enough. As therapeutic agent they show limited efficacy. Moreover they need to be applied for several consecutive days.

The modern anticoccidials, benzene acetonitriles act against various stages in the life cycle of the parasite. They are consequently well suited for metaphylactic treatment. The compounds diclazuril and toltrazuril belong to this chemical class. A single administration is mostly sufficient. Toltrazuril is applied as an oral suspension at the dose of 15 mg/kg bodyweight. Diclazuril is very effective after a single oral dose of 1mg/kg bodyweight. The latter product has a zero withdrawal time, which should be considered as convenient for the farmer and eventually the consumer. Needless to insist that such metaphylactic treatment must be administered to all animals in the group. The most appropriate time to dose the animals metaphylactically is about 2-3 weeks after they have been (re)grouped, before the onset of the patency. Extensive comparative field studies conducted with diclazuril have clearly demonstrated the economical benefit of a metaphylactic treatment on farms, located in several Western European countries, and with a history of coccidiosis. The better effect on growth performances (average daily weight gain measured over a three week period) in the with diclazuril treated calves was statistically significant.

Conclusion

Coccidiosis in calves is to be considered as an important disease in modern calf rearing. The veterinarian has to realize that the economical impact for the farmer provoked by subclinical coccidiosis is more important than the damage due to clinical coccidiosis. Adequate control requires good knowledge of the biology, epidemiology, farm management and calf husbandry. A good anamnesis, clinical observation supported by an appropriate coprological examination, are essential to decide which different control measures need to be taken. Control of the disease should in most cases not be reduced to the use of anticoccidials only. On farms with a history of coccidiosis a metaphylactic treatment is the most advisable medicinal approach and is economically justified.





Optimal culling and breeding decisions for individual dairy cows

Albert De Vries
Department of Animal Sciences, University of Florida
P.O. Box 110910, Gainesville, FL 32611, USA
devries@ufl.edu

Introduction

Culling and breeding decisions for individual dairy cows affect the dairy farm's profitability. It is therefore important for decision makers to understand the economic principles that may lead to optimal decisions. Culling is often considered "involuntary". Many dairy producers say they have no choice but "cows cull themselves". The idea is that the cow is too sick, or too long open, so that the only realistic option is to cull the cow. But every culling decision is still an economic decision. The dairy producer could have culled the cow earlier, or could have chosen for a more effective (expensive) way to get the cow pregnant or treat the disease. There remain enough situations where an informed dairy producer can improve profitability by making better culling decisions.

Considering dairy cattle breeding, profitability is maximized when every cow gets pregnant at her optimal time after calving (at a low cost). This optimal time of conception has consequences for economically optimal breeding decisions and the value of a pregnancy, both a new pregnancy and a loss of pregnancy (abortion). Some cows are more important to breed and get pregnant than others.

This paper discusses some principles of economic optimal culling and breeding decisions and the value of pregnancy. Concepts are illustrated with examples from the literature and cash flow projections for a typical herd. It is clear that stage of lactation, lactation number, milk production, season, and prices can result in quite different culling and breeding recommendations and values of pregnancy for individual cows.



Economic principles

The goal of optimal culling and breeding decisions is to maximize profit per slot per year. Therefore, decisions to breed and replace cows should be based on the present value of expected future cash flows. Future cash flows for the cow currently in the slot are determined from all revenues and costs in the remainder of the lactation, as well as revenues and costs in the following lactations (if any), and revenues and costs of the future replacement heifers in the slot. Future cash flow projections also depend on future breeding and culling decisions.

Predicting future cash flows is difficult. More advanced computer programs that project cash flows decide whether it is optimal to cull a cow for failure to conceive at every stage of her life (e.g. DeLorenzo et al., 1992; De Vries, 2006a). Similarly, these computer programs decide whether it is optimal to breed a cow at a future breeding opportunity or not. These optimal sequential decisions (breed vs. do not breed, keep vs. cull at every stage of the cow's life) are typically made with a technique called dynamic programming. This is a search algorithm that efficiently determines optimal breeding and culling decisions now and in the future, and consequently finds the maximum present value of the future cash flows for the slot today. Once the present values of the future cash flows of both alternatives are calculated, the best decision is simply the one that leads to the highest net present value. It is always important to determine the economic loss from non-optimal decisions because the optimal decision might only be slightly better than the non-optimal decision.

The retention value (also called retention pay-off (RPO) or future value) is the extra profit from keeping the current cow in the herd until her optimal time of replacement (the "keep" decision), considering the risk of premature culling, compared to immediate culling and replacement with a heifer (the "cull" decision). When the retention value is greater than $0, the cow currently in the slot should be kept, at least until the next decision moment. When the retention value is less than $0, the cow should be culled. Optimal culling decisions depend on breeding decisions and optimal breeding decisions depend on culling decisions.

The pregnancy value is the difference in the present value of future cash flows of two identical cows, with the only difference that one just got pregnant and the other one is still open. It is equal to the difference in the retention values of both cows, provided both are positive. **Figure 1** illustrates the relationship between retention value and pregnancy value.

The insemination value is the extra profit expected from breeding the cow at the current breeding opportunity compared to not breeding the cow (but making optimal breeding and replacement decisions in the future). If the insemination value is less than $0, then the optimal decision is to not breed the cow at the breeding opportunity. The cow with the highest insemination value is the most important one to breed if a breeding opportunity exists.

Furthermore, by keeping track of all future cash flow predictions in the dynamic programming algorithm, it is possible to determine the optimal day of conception for individual cows. This is the optimal case and the ideal situation if we had 100% fertility control. The optimal breeding policy with normal fertility control is assumed in the case of an abortion, in future lactations, and for their replacement heifers.

Another result of comparing future cash flows is the optimal day of first breeding for individual cows. The optimal day of first breeding in this paper assumes the dairy producer can create the first breeding opportunity after calving when desired, such as with a synchronized breeding protocol.

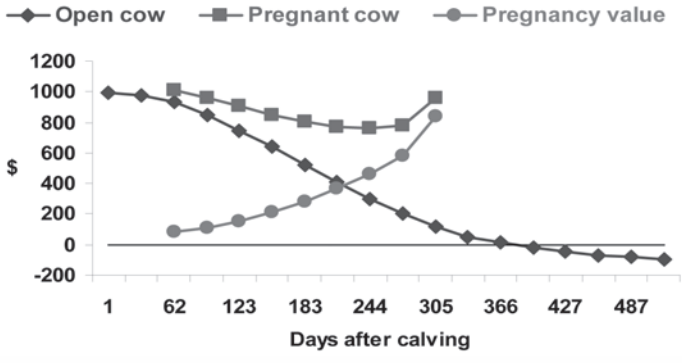


Figure 1. Retention values for an average cow in her first lactation by days after calving and pregnancy status (open or pregnant since day 62). The retention value is the value of keeping the healthy cow until the optimal time of replacement compared to immediately culling her (and replacing her with a heifer). The retention value for the open cow decreases to less than $0 if she remains open, at which point she should be culled. The retention value for the pregnant cow is shown for a conception at the start of the third month after calving. The difference between the retention values is equal to the pregnancy value, for 1 to 9 months of gestation, provided both retention values are positive.

Default assumptions

The computer program described in De Vries (2006a) was extended to be able to make breeding and culling decisions weekly instead of monthly. The program determines optimal breeding and culling decisions now and in the future, as well as the optimal days of conception and first breeding, insemination values, and values of pregnancy. The program uses many inputs to best mimic actual prices and the performance of cows. Accurate estimation of future cash flows involves predictions of (at least) milk yield, days dry, risk of pregnancy and abortion, risk of death and other risks that cause premature culling, feed intakes, bodyweights, labor needs, veterinary costs, as well as prices. Some key inputs were: $20 breeding cost, $2000 heifer price, a cull price $0.40/lb of body weight (1 lb = 1 pound = 0.454 kg), milk price $0.18/lb, and lactating feed cost $0.12/ lb. First lactation cows peaked at day 123 with 80 lb of milk. Total milk yield in 305 days was 22,155 lb. Second lactation cows peaked at 99 lb on day 74 (26,076 lb in 305 days). Third lactation and older cows also peaked on day 74 with 105 lbs and 27,314 lb in 305 days). Thus, first lactation curves peaked later, at a lower yield, and were more persistent. Relative level of milk production was 50% repeatable between lactations. Expected milk production in the next lactation was slightly greater when days open in the current lactation was longer, based on Funk (1987). Other effects of current performance on performance in future lactations were not included in the analyses. Cows that conceive late in lactation might have greater body condition scores at calving and consequently may be more at risk for health problems and reduced milk production in the next lactation. Also the effects of calving problems or metabolic diseases were not directly included, other than in the risk of premature culling.

Conception risk increased from 7% on day 35 to a maximum of 35% at day 84 and then slowly decreased again to 26% at day 365 after calving, partly based on results from De Vries and Risco (2005). Older cows had slightly lower conception risks. Cows were assumed to have a breeding opportunity every 3 weeks with a 55% chance of being serviced. The voluntary waiting period (time between calving and start of the breeding period) was not specified to let the computer program to decide when to start breeding cows. Breeding and culling decisions were optimal. A maximum of 104 weeks in the current lactation were considered. Open cows could be inseminated up to 64 weeks in the current lactation, although the program would typically decide that the optimal decision was to cull the open cow earlier. Cows that were culled were immediately replaced with a calving heifer. Replacement heifers were expected to perform like average cows.

Retention value

Retention values for first and second lactation open cows, for three levels of milk production, are shown in **Figure 2.** Figure 2 reveals that for an average cow that just calved for the first time, her retention value ≈ heifer price – calf price – cull price. The difference is caused by some chance that she will be producing more or less milk than average and some discounting. The retention value of fresh cows is highly dependent on their expected level of milk yield relative to herd mates. A better than average fresh heifer has a greater retention value than an average fresh heifer because if she is culled, the expectation is that she will be replaced with an average heifer. So not only would the premature culling loss include the difference between heifer price on the one hand and calf price and cull price on the other hand, but the profit from the extra milk she was expected to make during her life is included as well. The retention value of fresh cows in their second lactation is greater than for fresh cows in their first lactation, primarily because second lactation cows produce quite a bit more milk and they have survived the first lactation. This means that you can spend more on treating sick cows in the second lactation than in the first lactation, assuming the treatments are equally successful. The average retention value of older cows



decreases slowly because of their increased risk of unavoidable culling caused by health problems. Also remember that the retention value of open cows decreases with stage of lactation and the retention value of pregnant cows typically increases with stages of gestation. First lactation cows have more persistent retention values, primarily because their lactation curves are more persistent. The retention values decrease by days in milk if the cow fails to get pregnant. When the retention value drops below $0, the cow should be culled (and replaced with a heifer). Pregnant cows have greater retention values because there is value of the pregnancy. The retention value of the healthy cow is also the amount (in $) that can be spent on treating the sick cow if she is going to recover completely. A dairy producer can typically spend a lot more to keep a pregnant cow in the herd than an open cow. The greater the retention value, the more profitable it is to keep the current cow compared to culling her. The retention value is also the difference between a cow's value to the dairy producer and her salvage price. In other words, retention value + salvage price = value of the cow. The retention value of an average cow in a herd is approximately $800 to $1000.

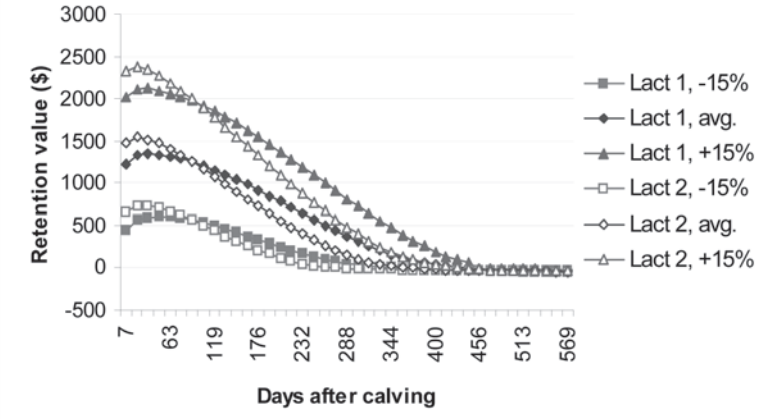


Figure 2. Retention values for first and second lactation cows (Lact 1 and 2), for three levels of milk production (average, -15% and +15% of the average daily milk production).

Optimal days to conception

Figure 3 shows the economic loss caused by conception earlier or later after calving compared to the optimal day of conception for first lactation cows for the default assumptions. The optimal day of conception is reached when the economic loss is $0 (bottom of the curve). The optimal day of conception for average first lactation cows was 133 days. For second and third lactation cows it was 112 and 105 days, respectively. For lower producing cows, fewer days to conception were optimal. Similarly, for higher producing cows, greater days to conception were optimal.

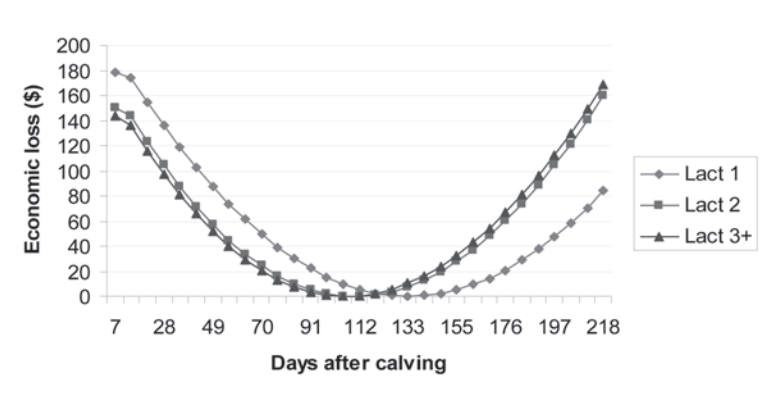


Figure 3. Economic loss ($/cow) caused by conception earlier or later after calving compared to the optimal day of conception. The optimum days of conception were 133, 112, and 105 for first, second, and third lactations, respectively.

The economic loss from a later day of conception (conception was too late) was smaller in first lactation cows than in second lactation cows. This is primarily caused by the much flatter lactation curve of first lactation cows. This trend is in agreement with Holmann et al. (1984) who found that profitability was not affected very much when calving interval was either somewhat shorter or longer than 13 months (115 days to conception). Historically, the optimal calving interval has been 12 to 13 months (Stevenson, 2004), which is 90 to 120 days to conception.
The slopes of the curves in **Figure 3** can be used to estimate the cost per extra day open. As is expected, cost per extra day open is negative (a financial gain) before the optimal days of conception and positive (a financial loss) after the optimal day of conception (**Figure 4**). At day 150 after calving, cost per extra day open was $0.38 for first lactation cows and $1.17 for second lactation cows. At day 250, these costs had increased to $2.67 and $3.56, respectively. Meadows et al. (2005) found similar costs per extra day open. The cost per extra day open typically increases with days after calving and can be over $6 for individual cows late in lactation.

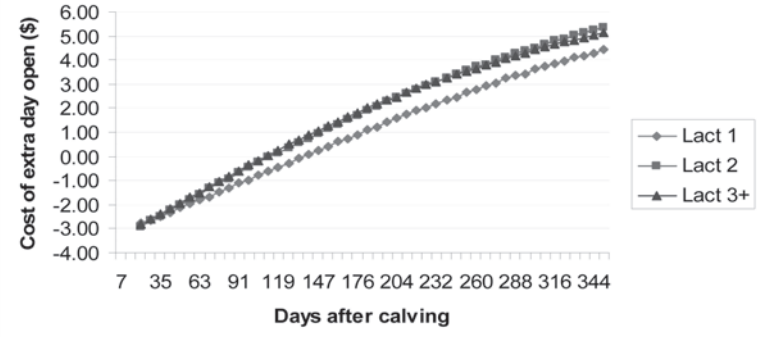


Figure 4. Cost per extra day open by day after calving and lactation number. Cost per extra day open is $0 at the optimum day of conception.

Different assumptions about conception risk, prices, milk production, or seasonality affect the optimal days to conception and cost of a day open (**Table 1**). Notice that the minimum time step of the computer program is 7 days. The 15% difference in milk production has more effect on optimal days to conception in first lactation cows than in second lactation cows. The effects of variations in maximum conception risk, milk price, heifer price and herd level of milk yield were minor. When milk production in the herd was less persistent, optimum days to conception was earlier.



Table 1. Effects of various assumptions on the optimal days to conception for first and second lactation cows by level of milk yield[1]. Default assumptions.

	---------- Optimal days to conception ----------					
Assumptions	---------- Lactation 1 ----------			---------- Lactation 2 ----------		
	– 15%	Average	+ 15%	– 15%	Average	+ 15%
Default[2]	91	133	169	77	112	140
Max 25% conception risk	98	140	176	84	119	147
$0.21/lb milk price	91	133	176	77	112	140
$2500 heifer price	98	140	176	84	119	140
+ 15% herd milk yield	84	133	169	77	112	140
Less persistency[3]	63	105	133	56	91	112

[1] Average lactation curve, + 15% and – 15% compared to the average daily milk yield.
[2] Default assumptions: $2000 heifer price, $0.18/lb milk price, maximum 35% conception risk (1 lb = 0.454 kg).
[3] Less persistency: faster reduction in daily milk production after the peak milk yield.

In areas with summer heat stress, milk production and conception risk are reduced during the summer. Such seasonality in cow performance has a large effect on optimal days to conception. Conception in the late summer is avoided, either by a short interval from calving to conception or a long interval from calving to conception. Thus, January calvings have shorter optimal days to conception and July calvings have longer days to conception. Much of the effect of seasonality on optimal days to conception is triggered by a reduction in peak milk production in the summer compared to the winter. Therefore, it is not only the reduction in fertility that affects the optimal days to conception, but at least as important is the reduction in milk production in the summer. These results also confirm delayed breeding practices of many dairy producers in areas with summer heat stress. Obviously, the effect of seasonality depends on the variation in heat stress throughout the year.

Value of a new pregnancy

Figure 5 shows values of a new pregnancy by days after calving for the first three lactations for the default assumptions. The value of a new pregnancy increases during the course of the lactation until late in lactation when it starts to decrease again. For cows that differ in individual milk production, the value of a new pregnancy is greater for low producing cows early in lactation, but their peak value is lower and earlier than higher producing cows.

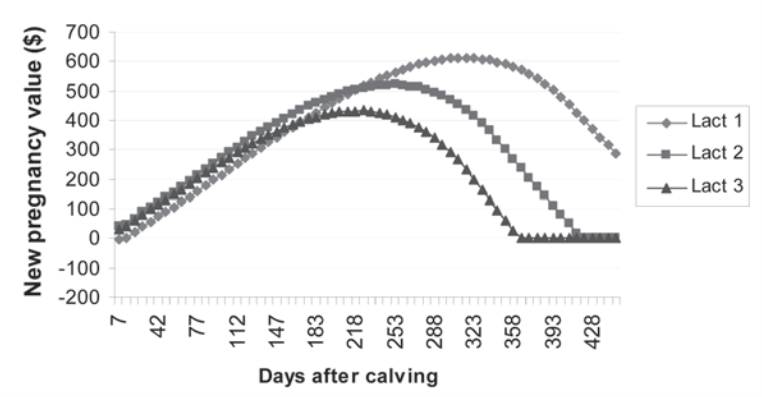


Figure 5. Value of a new pregnancy by days after calving and lactation number. Default assumptions.

Table 2. The value of a new pregnancy ($) explained by differences in the sums of discounted future revenues and costs of a newly pregnant cow (pregn.) compared to an identical open cow (open). RPO = retention value ($). Source: De Vries (2006a).

						----- Differences in sums of discounted future ----- revenues and costs ($): Pregnant – open					
Lact. no	Day at conception	Milk yield (%)[1]	RPO pregn.	RPO open	Value of new pregnancy[2]	Milk sales	Calf sales	Repl. costs[3]	Feed costs	Breeding costs	Other costs
1	61	80	394	274	120	-106	34	-133	-31	-27	-1
1	61	100	1,015	933	81	-8	59	6	-16	-27	6
1	61	120	1,652	1,666	-14	-101	64	34	-38	-27	8
1	243	80	146	-7	146	-1,070	-110	-1,050	-201	-24	-51
1	243	100	712	299	413	26	7	-348	9	-28	-13
1	243	120	1,317	817	500	253	26	-238	53	-29	-7
2	61	80	429	258	171	-150	15	-235	-38	-25	-8
2	61	100	1,035	811	224	54	36	-104	-3	-26	-1
2	61	120	1,659	1,452	208	98	48	-38	-1	-27	3
2	243	80	-42	-42	0	0	0	0	0	0	0
2	243	100	304	23	281	-524	-73	-744	-71	-25	-38
2	243	120	798	247	551	86	-25	-479	38	-26	-23

[1] Relative to average lactation curves.
[2] Value of new pregnancy ($) = sum of differences in milk sales + calf sales - replacement costs - feed costs - breeding costs - other costs. The sum of the differences may not add up to equal the value of the new pregnancy due to rounding.
[3] Replacement costs = heifer purchase costs – cow sales.

The values in **Table 2** (De Vries, 2006a) are slightly different from those reported in **Figure 5** because of different inputs, but the trends are similar. The results in **Table 2** were calculated for typical average US inputs and calculated with an earlier version of the computer program (DairyVIP, free download available from http://dairy.ifas.ufl.edu/tools). **Table 2** shows the differences in total discounted future revenues and costs that determine the value of a new pregnancy for 12 cows categorized by lactation number, days in milk at conception, and relative milk yield. For example, a cow in the first lactation with 80% of the milk yield of the average lactation curve which conceived at day 61, and her replacement heifers, had $106 lower milk sales, $133 lower replacement costs, $31 lower feed costs, $27 lower breeding costs, and $1 lower other cost than an identical open cow. Calf sales were $34 greater than for open cows. Total revenues were reduced by $72 and total costs were reduced by $192. Therefore the value of the new pregnancy was $120.

Several interactions were observed. Early in lactation in first lactation cows, the value of a new pregnancy decreased when relative milk yield increased. The low-producing cow (80% of average) had less opportunity to get pregnant before she was culled; therefore her replacement cost was greater. At 120% milk yield, the -$14 value implied that delayed breeding was more profitable. Later in lactation, the value of a new pregnancy was greater for higher-producing cows. In the second lactation at day 61, the value of a new pregnancy at average milk yield was greater than at lower (80%) or higher (120%) milk yields. At day 243, the value of pregnancy was $0 for the low-producing cow because the optimal decision for that cow was to be culled, independent of pregnancy status. In the other cases, the value of a new



pregnancy was greater for higher producing cows.
The average value of a new pregnancy in De Vries (2006a) for a typical US herd was $278. This is a weighted average, depending on the proportion of cows in each stage of lactation, lactation number, and level of milk production. Eicker and Fetrow (2003) reported an average value of a new pregnancy of approximately $200 calculated with the dairy management information system DairyComp 305. In programmed AI breeding protocols, Stevenson (2001) estimated the value of a new pregnancy at around $264, excluding the additional cost of the protocol compared to traditional breeding based on estrus.

Cost of loss of pregnancy

The cost of loss of pregnancy (abortion) after the first month of gestation was typically greater than the value of a new pregnancy (**Table 2**), except in the rare case where the pregnant cow should be culled (De Vries, 2006a). This was occasionally the case for low-producing cows in later lactations; the cost of the loss of pregnancy was then $0 because cull price was assumed to be independent of pregnancy. Costs ranged from $0 to $1,373. The cost of the loss of pregnancy increased by stage of lactation at conception and by stage of gestation. Costs were typically greater for the high-producing cow except when the loss occurred early in lactation in the first lactation. First-lactation cows had lower costs early in lactation, but greater costs later in lactation than older cows.
De Vries (2006a) calculated an average cost of a loss of pregnancy at $555 per case, excluding any negative health effects associated with the loss of the pregnancy. The $555 is a weighted average, depending on the proportion of cows in each stage of lactation, stage of gestation, lactation number, and level of milk production. Others found that the loss caused by abortions was $624 (Pfeifer et al., 1997), $640 (Thurmond and Picanso, 1990), $600 to $800 (Eicker and Fetrow, 2003), $600 to $1,000 (Peter, 2000) and $1,286 (Weersink et al., 2002). Most of these estimates were illustrations of special cases and not herd or group averages.
Realistic changes in inputs can have significant effects on herd statistics as shown in **Table 3**. As expected, increased daily milk yield, greater persistency, increased milk price, decreased heifer price, greater pregnancy rate, more opportunity to breed open cows, and decreased risk of premature culling were associated with increased profit / cow per year. Changes in annual cull rate, the value of a new pregnancy, and the cost of loss of pregnancy were not clearly associated with changes in profit / cow per year. Greater value of a new pregnancy was always associated with greater cost of the loss of pregnancy. Greater value of pregnancy was associated with increased daily milk yield, reduced persistency of lactation, increased milk price, increased heifer price, decreased pregnancy rate, less opportunity to breed open cows, and decreased risk of premature culling. Major determinants of the value of pregnancy were persistency of lactation, heifer price, and pregnancy rate. The value of pregnancy was smaller when cows were given more opportunity to get pregnant before culling, or when replacement costs were reduced.



Table 3. Effect of changes in the inputs on selected herd statistics, including the value of a new pregnancy and the cost of a loss of pregnancy. Source: De Vries (2006).

	---------- Herd statistic ----------					
Input	Milk yield (kg / cow per year)	Days to conception	Annual cull rate (%)	Profit ($ / cow per year)	Value of new pregnancy	Cost of loss of pregnancy
Daily milk yield[1]						
+ 20%	13,840	133	39	908	280	565
– 20%	9,019	141	33	-193	271	536
Persistency[2]						
+ 0.055 lb/day	11,602	163	33	414	227	488
– 0.055 lb/day	11,442	129	38	337	314	603
Milk price						
$0.17 / lb	11,552	133	40	1,067	280	565
$0.11 / lb	11,230	142	32	-348	269	531
Heifer price						
$1,920	11,233	143	32	242	332	674
$1,280	11,672	128	44	484	216	420
Pregnancy rate						
19.2%	11,437	131	33	393	235	529
12.8%	11,408	145	40	302	331	589
Last DIM to breed[3]						
365	11,445	134	37	351	282	560
274	11,479	125	39	334	310	594
Risk of prem. culling[4]						
+ 20%	11,423	137	38	323	268	540
– 20%	11,431	137	34	387	289	573

[1] Relative to default lactation curves.
[2] Defined as linear decline in milk yield per day between day at peak yield and 305 days after calving.
[3] Last day in milk when breeding is allowed.
[4] Risk of premature culling relative to default risk of premature culling.

Optimal days to first breeding

Because reproductive efficiency is not completely controlled, traditionally the goal has been to breed cows as soon as possible after calving when the involution of the uterus and return to cyclicity were more or less completed (Weller and Folman, 1990; Stevenson and Phatak, 2005; LeBlanc, 2007). With the advent of rbST (recombinant bovine somatotropin) in 1994 and higher producing, more persistent cows through improvements in genetics and management, the optimal time of first breeding is being reconsidered. Furthermore, dairy producers in areas where rbST can no longer be used are also reconsidering their breeding programs because they believe that it has become more important to get cows pregnant earlier in lactation.

The calculations for optimal day of conception and the value of a new pregnancy are based on comparing cash flows from two identical cows that either conceive at different but predetermined stages of lactation, or one is newly pregnant and the other is open at a certain stage of lactation. In practice, dairy producers are faced with breeding decisions with the risk that the cow does not conceive. **Figure**



6 illustrates the economic loss from starting the first breeding earlier or later than the optimal day of first breeding (default assumptions described above). These results assume that the time of first breeding opportunity can be determined by the dairy producer, such as with a synchronized breeding protocol. In general, the optimal day of first breeding is earlier than the optimal day of conception, although the reverse can be true when fertility is very low. The difference is greater when the optimum days to conception are later in lactation. First lactation cows again have flatter curves than older cows, similar to the economic loss curve for days to conception (**Figure 3**). The flatter the curve, the less important the optimal day to first breeding is compared to a non-optimal day. The optimal day to first breeding was 77 days for the average first lactation cow and 70 days for the average second and third lactation cow. Low producing cows should start their breeding period sooner and first breeding for higher producing cows could be delayed, typically by 1 or 2 weeks.

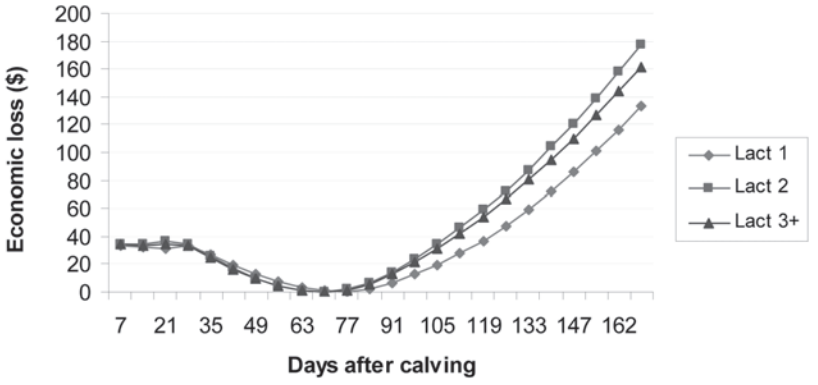


Figure 6. Economic loss ($/cow) caused by first breeding at various days after calving compared to the optimal day of first breeding. Default assumptions. Optimal days to first breeding were 77, 70, and 70 for first, second, and third lactation cows.

Variations in the assumptions have smaller effects on the optimal days to first breeding than on the optimal days to conception (De Vries, 2007). The trends in optimal days to first breeding follow those for optimal days to conception. Relative differences in milk production between cows in the same herd had greater effect on the optimal day to first breeding than the absolute level of milk production in the herd. These results are in agreement with the observation that the average voluntary waiting period in practice is approximately 56 days (Miller et al., 2007; DeJarnette et al., 2007) and further that first breeding for higher producing cows, especially in the first lactation, is sometimes delayed a few weeks (Weller and Folman, 1990; DeJarnette et al., 2007). In herds that depend on estrous detection for the first breeding, the voluntary waiting period is necessarily shorter than the time of first breeding.

Insemination value

The insemination value for individual cows is an estimate of the value of breeding the cow at the breeding opportunity (ovulation) compared to not breeding her at that opportunity. Typically over the course of the lactation, the insemination value rises to a maximum and then declines again (**Table 4**). The insemination value for first lactation cows reaches a peak much later in lactation than older cows. This is a result of a more persistent lactation curve.

The insemination value is highly correlated with the value of a new pregnancy. However, the increase in value of pregnancy continues longer in the lactation than the insemination value. Early and late in lactation, the value of a new pregnancy may be positive whereas the insemination value is negative. The value of a new pregnancy is therefore less desirable for breeding decisions than the insemination value. The economic losses of using the value of a new pregnancy for breeding decisions are small, however.

Table 4. Insemination value ($) for first and second lactation cows by days after calving and level of milk yield[1]. Default assumptions.

	---------- Insemination value, $ ----------					
Day after calving	---------- Lactation 1 ----------			---------- Lactation 2 ----------		
	– 15%	Average	+ 15%	– 15 %	Average	+ 15 %
Day 42	4	-8	-21	6	-1	-11
Day 155	106	109	99	97	124	130
Day 267	107	164	190	29	139	189
Day 365	19	127	188	-20	34	133

[1] Average milk production, + 15 % and – 15 % compared to the average daily yield.

The insemination values in **Table 4** assume that the next breeding opportunity is in three weeks, and that the risk that the breeding opportunity is followed by a breeding is 55% (which is equivalent to 38.2 days between breedings). The optimal days to first breeding presented earlier assumed that the dairy producer controls the week of the first breeding opportunity. As a result, the insemination value early in lactation can be positive and suggests that the cow should be bred (because the next breeding opportunity is on average 3/55% = 5.45 weeks later), whereas the optimal time of first breeding could be just 1 or 2 weeks later. Thus herds that do not control the first breeding opportunity should breed cows earlier than those that control the timing of the first breeding opportunity.

The level of milk production has a significant effect on the insemination value. The lower producing cow (– 15 %) had greater insemination values earlier in lactation, but these values were lower later in lactation. Low producing cows have less time to get pregnant in their lactation before they should be culled. Therefore it is important to get them pregnant early in lactation. Late in lactation it becomes more important to get the higher producing cow pregnant (if she is still open). Higher producing cows should get more time to get pregnant before they are culled. This is also observed in practice where average days to conception for higher producing cows are typically greater than for lower producing cows (Stevenson, 2004). More high producing cows are allowed to conceive late in lactation and thus contribute to a longer average days to conception. In general, increased reproductive efficiency resulted in a lower insemination value early in lactation, but a greater insemination value later in lactation. Further, increased persistency lowered the insemination value early in lactation. These results are in agreement with earlier findings (Dekkers et al., 1998).

Outlook

The computer program is currently being further improved to be able to calculate retention values, insemination values and pregnancy values for individual cows in commercial herds on a daily basis. A series of other economic measures are calculated as well. An automatic interface with one dairy management information system (PCDART, www.drms.org) has been developed. Accurate methods to predict milk production for individual cows for the remainder of the lactation are implemented. A more complete description of an earlier prototype of the program is presented in De Vries (2006b). These efforts are a step towards obtaining daily economic information on individual cows that help with scheduling and prioritization of breedings and culling.



References

- De Vries, A. 2006a. Economic value of pregnancy in dairy cattle. Journal of Dairy Science 89:3876-3885.
- De Vries, A. 2006b. Ranking dairy cows for optimal breeding decisions. Pages 49-66 in: Proceedings 43rd Annual Florida Dairy Production Conference. Gainesville, FL, May 2. Available onhttp://dairy.ifas.ufl.edu.
- De Vries, A. 2007. Economics of the voluntary waiting period and value of a pregnancy. Pages 1-9 in: Proceedings of the Dairy Cattle Reproduction Conference, Denver, CO, November 2-3. Available on http://dairy.ifas.ufl.edu.
- De Vries, A., and C. A. Risco. 2005. Trends and seasonality of reproductive performance in Florida and Georgia dairy herds from 1976 to 2002. Journal of Dairy Science 88:3155-3165.
- Dekkers, J. C. M., J. H. Ten Hag, and A. Weersing. 1998. Economic aspects of persistency of lactation in dairy cattle. Livestock Production Science 53:237-252.
- DeJarnette, J. M., C. G. Sattler, C. E. Marshall, and R. L. Nebel. 2007. Voluntary waiting period management practices in dairy herds participating in a progeny test program. Journal of Dairy Science 90:1073-1079.
- DeLorenzo, M. A., T. H. Spreen, G. R. Bryan. D. K. Beede, and J. A. M. Van Arendonk. 1992. Optimizing model: insemination, replacement, seasonal production, and cash flow. Journal of Dairy Science 75:885-896.
- Eicker, S., and J. Fetrow. 2003. New tools for deciding when to replace used dairy cows. Pages 33-46 in: Proceedings of the Kentucky Dairy Conference, Cave City, KY.
- Funk, D. A., A. E. Freeman, and P.J. Berger. 1987. Effects of previous days open, previous days dry, and present days open on lactation yield. Journal of Dairy Science 70:2366-2373.
- Holmann, F. J., C. R. Shumway, R. W. Blake, R. B. Schwart, and E. M. Sudweeks. 1984. Economic value of days open for Holstein cows of alternative milk yields with varying calving intervals. Journal of Dairy Science 67:636-643.
- LeBlanc, S. 2007. Economics of improving reproductive performance in dairy herds. Advances in Dairy Technology 19:201-214.
- Meadows, C., P. J. Rajala-Schultz, and G. S. Frazer. 2005. A spreadsheet-based model demonstrating the nonuniform economic effects of varying reproductive performance in Ohio dairy herds. Journal of Dairy Science 88:1244-1254.
- Miller, R. H., H. D. Norman, M. T. Kuhn, J. S. Clay, and J. L. Hutchison. 2007. Voluntary waiting period and adoption of synchronized breeding in dairy herd improvement herds. Journal of Dairy Science 90:1594-1606.
- Peter, A. T. 2000. Abortions in dairy cows: new insights and economic impact. Advances in Dairy Technology 12:233-244.
- Pfeiffer, D. U., N. B. Williamson, and R. N. Thornton. 1997. A simple spreadsheet simulation model of the economic effects of Neospora caninum abortions in dairy cattle in New Zealand. Proceedings of the 8th International Society for Veterinary Epidemiology and Economics (ISVEE), Paris, France, July 8-11, 1997. Special issue of Epidemiologie et Santé Animale 31-32:10.12.1-10.12.3.
- Stevenson, J. S. 2001. Reproductive management of dairy cows in high milk-producing herds. Journal of Dairy Science 84(E. Suppl.):E128-E143.
- Stevenson, J. S. 2004. Factors to improve reproductive management and getting cows pregnant. Pages 10-38 in: Proceedings Southeast Dairy Herd Management Conference, Macon, GA.
- Stevenson, J. S., and A. P. Phatak. 2005. Inseminations at estrus induced by presynchronization before application of synchronized estrus and ovulation. Journal of Dairy Science 88:399-405.
- Thurmond, M. C., and J. P. Picanso. 1990. A surveillance system for bovine abortion. Preventive Veterinary Medicine 9:41-53.
- Weersink, A., J. A. VanLeeuwen, J. Chi, and G. P. Keefe. 2002. Direct production losses and treatment costs due to four dairy cattle diseases. Advances in Dairy Technology 14:55-75.
- Weller, J. I., and Y. Folman. 1990. Effects of calf value and reproductive management on optimal days to first breeding. Journal of Dairy Science 73:1318-1326.



Comparison of different surgical approaches in the treatment of Abomasal displacement in Dairy cows

PJ Rehage, A Starke, M Heppelmann, H Meier, M Höltershinken
Clinic for Cattle, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany
Bischofsholer Damm 15, D-30173 Hannover, Germany
juergen.rehage@tiho-hannover.de

Introduction

The lactational incidence rate of abomasal displacement (DA) in dairy cows varies from 0.1% to 5% (Jubb et al 1991, Lyons et al 1991, Lotthammer 1992, Geishauser 2000). Even when successfully treated DA leads to economic losses beside the treatment costs (Bartlett et al 1995) due to decreased milk yield (Geishauser et al 1998, 1999, Ricken 2003, Rehage et al 2007), extended interval from calving to conception (Heuer et al 1999), loss of body weight (Ostergaard et al 1999, Heuer et al 1999), and increased risk of removal from the herd (Geishauser et al 1998). As the aetiology of DA is not well understood preventive measures still remain unsatisfactory (Geishauser 1995, Doll et al 2008). Thus, the immediate and effective treatment of DA is still in the pecuniary interest of the owner since spontaneous recovery is rare. An adequate surgical method should be safe, lead to permanent fixation of the abomasum, easy to perform, and inexpensive (Kehler et al 1999). During recent decades different surgical techniques have been developed. Roughly the methods can be classified into transcutaneous abomasopexies and open wound surgeries (laparotomy with either omentopexy or abomasopexy). As transcutaneous methods a "blind stitch" (Hull 1972) and a "bar suture" technique are described (Grymer and Sterner 1972). Reposition and fixation of the abomasum in both methods is performed after rolling the cow in dorsal recumbency.

Primarily the bar suture (BS) method is widely accepted, since it is a quick and accordingly cheap technique and is assumed as relatively save for the cow (Grymer and Sterner (1972, 2002), but it can be done exclusively in cows with left abomasal displacement (LDA). However, it is reported that in 4 % to 9 % of cases the surgical procedure remains unsuccessful and in 5 % to 15 % relapses occur (Sterner an Grymer 1982,



Kaufhold and Brentrup 1987, Heimberg 1999). Additionally, complications such as functional abomasal stenosis, fixation of organs other than the abomasum, abomasal fistulas or intestinal or abomasal volvulus are reported (Kaufhold and Brentrup 1987, Kelton and Fubini 1989, Surborg 1997, Heimberg 1999). The short term survival rate (2 weeks post surgery) after BS varied between 78 and 94 % (Sterner and Grymer 1982, Kaufhold and Brentrup 1987, Surborg 1997, Heimberg 1999), thus a substantial number of lost cases have to be accepted.
Likewise for treatment of DA methods using laparotomy in standing animals either from the left ("Utrecht method", Lagerweij and Numans 1968) or the right flank ("Hannover Method", Dirksen 1967) with subsequent omentopexy are commonly used. The main advantages are the potentiality of complete exploration of the abdominal cavity and the fixation of the abomasum under visual control, both in LDA and right abomasal displacement (RDA). Success rates for the Hannover method range from 95% to 98% (Dirksen 1978, Heimberg 1999). However, the laparotomy bears the risk of wound complication, which demand intensive care. Commonly under field conditions a systemic antibiosis is applied as a preventive measure which makes the observance of a withdrawal period necessary. Thus, considering the lower surgical expenses and the higher surgical risks for BS the amount invoiced for the BS must be approximately €150 lower than for omentopexy (Bartlett et al 1995).
To combine the advantages of the BS method (quick, easy to perform, no withdrawal time) and those of the laparotomy (fixation of the abomasum under visual control) Janowitz described first in 1998 alternatively the laparoscopic abomasopexy as a new method for treatment of LDA.

Laparoscopic abomasopexy according to Janowitz
For the surgical procedure a laparoscopic set according to Janowitz (Dr. Fritz, Tattling, Germany; about € 12,000) is needed. This set includes beside the light source, the air pump and the laparoscope all instruments necessary. The method is described in detail by Janowitz (1998).
Briefly, in a standing position the skin of the cow is clipped and surgically prepared in the left flank (10 cm x 10 cm; ventrally ajar the transversal processus and directly behind the costal arch; position 1), in the 11th inter costal space ajar the transversal processus (7cm x 6cm; position 2) and dorsally to the left flank in the area of the lumbal transversal processus (10cm x 6cm; position 3). After local anaesthesia (procaine 2%, 5ml) in all positions an incision of 1cm length is applied by using a scalpel blade. In position 3 the abdomen is punctured through the incision by a Verres needle (length 100mm, diameter 2.4mm) with following air insufflation using an extra fine-particle filter. In position 1 a trocar outfitted with a magnetic valve is introduced into the abdominal cavity. Through the trocar the laparoscope (0°, diameter 10mm, length 40cm) is inserted and visual examination of abdominal organs is performed. Subsequently a special trocar (inner diameter 4mm, length 200) is introduced into the abdominal cavity from position 2 and the abomasum is punctured under visual control via the laparoscope. After removal of the stiletto a toggle is introduced into the abomasum through the trocar tube (length 4 cm, thread 80cm long, 7 metric, 5 USP) and afterwards the abomasum is degassed. During degassing the abomasum contracts and shrinks thereby pulling the entire toggle thread into the abdominal cavity.
The cow is rolled into dorsal recumbency, either according to De Jong, after xylazine administration or by using a 180° surgical tipping table. The right abdominal vein is marked while the animal is still standing. During rolling the displaced abomasum is replaced into his physiological position. The skin is clipped and surgically prepared in an area of 10 cm x 10 cm right (position 4) and cranially ajar the umbilicus (position 5). After a little incision in both areas trocars with magnetic valves are introduced into the abdominal cavity. Through the trocars the laparoscope is inserted in position 5 and a Maryland dissector (diameter 5mm, length 500mm) in position 4. The thread of the toggle is identified under laparoscopic control and its end is pulled out of the abdominal cavity by the dissector. Subsequently, the respective trocar and the laparoscope are removed after final examination of the abdominal cavity. Further on the remaining trocar in position 5 is opened, used for degassing of the insufflated air, and finally taken out. The toggle thread piercing a gauze bandage is fixed to the skin. The cow is allowed to get up. The fixation is removed three to four weeks post surgery.



Comparison of lapaoscopic abomasopexy with laparotomy and omentopexy

In a randomized, prospective case control study in German HF dairy cows with LDA (age 24 to 96 month) the success rate of laparoscopic abomasopexy according to Janowitz (1998; LApex; N=35) was compared with the laparotomy and omentopexy according to Dirksen (1968; Opex; N=35; Koch 2003). None of the studied cows suffered from additional diseases, e.g. mastitis, endometritis or lameness. Post surgery all cows were treated orally twice daily with 200 ml Propylenglycol. All cows were examined clinically and by clinical biochemistry on daily basis over a 7 days period during their stay in the clinic. Follow up examinations were performed by farmer questionnaires four month after release from the clinic. Statistical analysis was performed by SAS (SAS Institute, Iowa, Cary NC) using the GLM procedure for repeated measurements.

While the duration of the surgical procedure in the Opex group ranged from 20 to 65 minutes (mean 36 min) the duration in the LApex varied between 19 and 40 minutes (mean 27 min; ns).

As surgical complications in the LApex group in one cow (3%) the laparoscopic replacement and fixation failed due to circumscript fibrinous adhesions between abomasum and abdominal wall. In two cows (6%) a premature loss of the fixation with following relapse due to toggle decent occurred, and in five animals unintentionally during the procedure the rumen was hit, in one cow additionally a blood vessel within the abomasal wall was hurt resulting in moderate bleeding. The two cows with premature loss of fixation and the above mentioned cow after failure of LApex were treated afterwards successfully by Opex for permanent fixation of the abomasum. The owner reported in six cows (18%) moderate swelling and purulent exudation in the fixation area at the time when removing the fixation. In the group Opex no surgical complications occurred during the clinical stay. However, in seven animals (20%) the farmer recorded moderate swelling and little purulent discharge at the time when sutures of the laparotomy incision were removed. No intervention appeared necessary. One relapse (3%) occurred in the Opex group 13 weeks post surgery resulting in a second surgery.

Clinical examination revealed a significant higher mean dietary energy intake in the first 5 days post surgery in the LApex than in the Opex group. During the clinical stay average milk yield increased rapidly after surgery in both groups to comparable extent. No significant differences were found in mean energy balance. However, four and eight weeks after discharge mean milk yield was significantly higher in the LApex group (about + 3kg / cow and day) compared to Opex; there was no difference after 12 weeks.

In average no significant differences between groups were found in parameters of clinical biochemistry (serum levels of non esterified fatty acids, beta hydroxybutyrate, total bilirubine, GLDH, AST, GGT, ammonium and electrolytes and liver triglyceride content)

In the LApex group one animal (3%) was culled by the owner due to poor general condition. In the Opex group two cows (6%) were euthanized after developing recumbency and liver failure. Two cows (6%) were culled by the owner due to severe lameness or coli mastitis.

Above mentioned results are very similar to those gained in another prospective randomized clinical study (Seeger et al 2006) comparing laparoscopy with right flank open surgery in a higher number of German HF cows

In a following field study (Koetter et al 2007) 200 cows with LDA were treated by laparoscopic abomasopexy according to Janowitz and compared to herd mates matched according to number of lactations and days in milk. In LDA cows the 305day milk yield was in average only 150kg lower than in controls. In the previous and the following lactation milk yield was about 300kg higher compared to controls. Over a period of 36 month culling rates for LDA cows and controls were not significantly different.

Recently laparoscopic abomasopexy according to Janowitz was modified by Christiansen (2002), Mulon et al (2006), and Seeger & Doll (2007) in order to perform the surgical approach in one step either in the standing animal or in dorsal recumbency, or to allow surgery in cows in which the abomasums is not displaced, resp.. Efficacies of the surgical modifications are still under evaluation

Conclusion

The rates of surgical complications and relapses after transcutaneous abomasopexy in cows with LDA appear to be higher than after open wound surgeries or laparoscopy according to Janowitz. There are indications that convalescence after laparoscopy is shorter compared to laparotomy. This might be due to the fact that the minimal invasive method of laparoscopy is experienced by cows possibly less painful than laparotomy.



Pain management protocols in cases of bovine abdominal surgery should attract more attention in order to improve animal welfare and convalescence post surgery.

REFERENCES

- Bartlett et al. (1995): J Am Vet Med Assoc 206: 1156.
- Freital von J (2003): Doctoral Thesis, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany
- Dirksen G (1967): Dtsch Tierärztl Wschr 74: 626.
- Doll K et al (2008): New aspects in the pathogenesis of abomasal displacement. Vet J. 2008 Apr 6 [Epub ahead of print]
- Geishauser T (1995): Zentralbl Veterinärmed A 42: 229.
- Geishauser et al (1998): J Dairy Sci 81: 2346.
- Geishauser et al (1999): Berl Münch Tierärztl Wschr 112: 1.
- Geishauser T (2000): Vet. Clinics of North America 16: 255.
- Grymer J and Sterner KE (1972): J Am Vet Med Assoc 180: 1458.
- Grymer J and Sterner KE (2002) : Proc. XXII World Buiatrics Congress, 18 – 23 Aug 2002, Hannover, Germany: 32.
- Heimberg P (1999): Doctoral Thesis, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany
- Heuer et al (1999): J Dairy Sci 82: 295.
- Hull BL (1972): Iowa State Univ Vet 3: 142.
- Janowitz H (1998): Tierärztl Praxis 26G: 308.
- Jubb et al (1991): Aust Vet J 68: 140.
- Kaufhold B and Brentrup H (1987): Prakt Tierarzt 68: 11.
- Kehler et al (1999): Prakt Tierarzt coll vet XXIX, 72.
- Kelton DF and Fubini SL (1998): J Am Vet Med Assoc 194: 677.
- Koch F (2003): Doctoral Thesis, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany
- Koetter R et al (2007): Cattle-Practice 15: 306
- Lagerweij E and Numans SR (1968): Tijdschr Diergeneesk 93: 366.
- Lotthammer K-H (1992): Tieraerztl Umsch 47: 320.
- Lyons et al. (1991): J Dairy Sci 74: 1092.
- Mulon PY et al (2006): Veterinary Surgery 35:347.
- Ostergaard et al (1999): J Dairy Sci 82: 1188.
- Ricken MW (2003): Doctoral Thesis, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany.
- Seeger T et al (2006): Am J Vet Res. 67:472.
- Seeger T, K Doll (2007): Deutsche Tieraerztliche Wochenschrift 114: 195.
- Sterner KE and Grymer J (1982): Bovine Pract 1982, 17: 80.
- Surborg H (1997): Prakt Tierarzt Coll Vet XXVII: 77.



The involvement, diagnosis and control of mycoplasmas in the bovine respiratory disease complex

Robin Nicholas
Mycoplasma Group, Veterinary Laboratory Agency (Weybridge) Woodham Lane, Addlestone, Surrey, UK

INTRODUCTION

It is now well accepted that *Mycoplasma bovis* is a major contributor to calf pneumonia. The evidence for this involvement includes the frequent isolation from the lungs of pneumonic calves, high seroprevance in affected herds and the significant impact the organism has had since its first arrival in Ireland in the 1990s (Nicholas and Ayling 2003). The effect of *M. bovis* on adult cattle is less well known in UK and Ireland though it has been reported as a major and uncomplicated cause of mastitis, arthritis and otitis in North America (Lamm et al 2004). Recent isolations of *M. bovis* from the aborted foetuses and brains of cattle showing neurological signs and otitis in UK and Ireland suggest an even wider role in disease than previous thought (Ayling et al 2005).

DISTRIBUTION

M. bovis was first isolated in 1961 in the USA from a case of severe mastitis in cattle (Hale et al 1962) and because of its close serological and biochemical similarity with *M agalactiae* was originally designated as *M. agalactiae* var *bovis*. It then appears to have spread via animal movements to, amongst many countries: Israel (1964), Spain (1967), Australia (1970), France (1974), Britain (1975), Czechoslovakia (1975), Germany (1977), Denmark (1981), Switzerland (1983), Morocco (1988), South Korea (1989), Brazil (1989) Northern Ireland (1993), Republic of Ireland (1994) and Chile (2000) (Nicholas 2002). Today, infection has been reported throughout the world including most European countries.

EPIDEMIOLOGY

M. bovis is not ubiquitous but widely spread within the bovine population in enzootically infected areas. The



infection is usually introduced to *M. bovis*-free herds by clinically healthy calves or young cattle shedding the mycoplasma and once established on multi-age sites it becomes very difficult to eradicate. Its appearance on some farms suffering low grade respiratory disease can lead to increased morbidity and mortality (Gourlay et al 1989). Infected cattle shed the mycoplasma via the respiratory tract for many months and even years where they act as reservoirs of infection (Pfutzner 1990). Contact animals become infected via the respiratory tract, the teat canal or genital tract; artificial insemination with infected semen is another common route (Pfutzner 1990).

In a study of calves in the Netherlands, ter Laak et al (1992a, b) found *M. bovis* in 20% of pneumonic lungs from fattening herds but only in a small number of apparently healthy calves. Following its introduction into the North and South of Ireland in 1994 from mainland Europe, *M. bovis* has been consistently isolated from 13-23% of pneumonic lungs (Brice et al 2000; Byrne et al 2001 Blackburn et al 2007). In France, *M. bovis* was isolated from 30% of calf herds with pneumonia (Le Grand et al 2001) while in Britain, about 20-25% of pneumonic herds contain animals with antibodies to *M. bovis* (Ayling et al 2004). In the UK, significant antibody titres to *M. bovis* were detected in just under half of 55 pneumonic herds examined, of which only 7 herds had rising titres to viral pathogens: respiratory syncytial virus, infectious bovine rhinotracheitis or bovine viral diarrhoea virus (Nicholas et al 2001).

Clearly other factors play a role in bovine respiratory disease such as concurrent viral and bacterial diseases as well as stress and environmental factors but it is increasingly believed that *M. bovis* is the predisposing factor in the infectious process leading to invasion by other bacterial pathogens possibly by compromising host defences (Rebhun et al 1995; Poumarat et al 2001). In a study of calves which had died of pneumonia, Buchvarova and Vesselinova (1989) showed that over a third of lungs were infected only with *M. bovis* while the rest contained a combination of *M. bovis* with *P. multocida* and/or *H. somnus*. These workers concluded that alterations in the lungs were chiefly due to mycoplasma infection with the remaining bacteria contributing to complications in the pneumonic process.

MOLECULAR EPIDEMIOLOGY

The genetic diversity of 53 isolates collected in the UK between 1996 and 2002 was studied using pulsed field gel electrophoresis (PFGE), amplified fragment length polymorphism (AFLP) and random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. In addition, the influence of variable surface protein (Vsp) profiles on the profiles generated using molecular typing techniques was studied. Both AFLP and RAPD separated the isolates into two distinct groups comprising over 30 different profiles, however, PFGE showed less congruence with the other techniques. It was possible to speculate that the two distinct groups identified by RAPD and AFLP in this study may represent two clonal lines of descent. It was hypothesised that group A may have entered the UK from Europe around the time of the creation of the European Union single market in 1993 when large numbers of cattle came into the UK from continental Europe (McAuliffe et al 2004). Group B could have a different and possibly older ancestral origin and have derived from the first strains of *M. bovis* isolated in the UK in 1975 which were believed to have originated in the USA. A later study with RAPD showed a closer similarity between Italian strains and the type strain of *M agalactiae* than with the type strain of *M bovis* which originated from the USA. (Loria et al 2007). These two species are very similar and were originally considered subspecies so the molecular typing could provide fresh insights into the phylogeny of these organisms.

DISEASE COURSE

A clinical study of endemic pneumonia, from which *M. bovis* and *P. multocida* were frequently isolated from the herd, showed that nearly half of dairy calves were shedding mycoplasmas at 5 days of age and over 90% by 4 weeks (Stipkovits et al 2001). Clinical disease in the calves, including up to 10% mortality as a result of severe serofibrinous pneumonia, was highest between 10-15 days. Surviving calves showed very poor weight gain and remained retarded; other signs included fever, depression, hyperpnoea, dysnpnoea, nasal discharge, mild to continuous coughing and loss of appetite. In the UK, calf pneumonia usually begins in November and peaks around January but deaths due to *M. bovis* continue to occur in some herds in the spring at pasture representing relapses because of unresolved lung lesions (Nicholas et al 2001).

In a study in Northern Italy, Raedelli et al (2008) examined 140 cattle at slaughter comprising 70 veal calves



and 70 beef cattle; 115 animals with pneumonic lesions and 25 without . Serology for *M. bovis* was positive in 76% of beef cattle and 100% of veal calves. *M. bovis* was isolated only from veal calves in 16 out of 64 pneumonic cases. *M. bovis* was detected by immunohistochemistry in 7 bacteriologically positive cases and was associated with bronchogenic necrosuppurative or fibrinonecrotizing lesions. Bacteriologically positive and immunohistochemical negative cases were associated with catarrhal-bronchointerstitial pneumonia. Results suggest that *M. bovis* infection may develop into a severe necrosuppurative bronchopneumonia or fibrinonecrotizing pneumonia when associated with a high number of intralesional organisms or, conversely, into a mild catarrhal-bronchointerstitial pneumonia when associated with a low number of organisms
Respiratory disease in dairy cattle is relatively rare in the UK. However a prolonged episode beginning in the early 2000s and characterised by sudden onset and milk drop/pyrexia accompanied by rapid breathing and hard respiratory noises is being seen in flying herd of 1400 animals which has a replacement rate of about 20% from various sources including Germany and France (Nicholas et al 2006). At least 10% of the herd is affected per year of which 20%, predominantly in the 4-5 year old age group, are culled because of chronic lung disease. A major and consistent finding from the lungs and sera is *M. bovis* to which chemotherapy provides only transient improvement. Investigations

DIAGNOSIS

Clinical and pathological signs are not characteristic for *M. bovis* so laboratory diagnosis is necessary for identification. In a study, Thomas et al (2002) showed that sampling by bronchoalveolar lavage was more predictive of lower respiratory airway pathogens, including *M. bovis*, than nasal swabs although clearly not as convenient. *M. bovis* grows well in a variety of media producing "centred" colonies within 3-5 days (Nicholas and Baker 1998). In an appropriate medium (such as Eaton's) *M. bovis* produces films and spots and gives an orange colour to the broth. Growth inhibition, film inhibition, fluorescent antibody or metabolic inhibitions tests can be used to identify the mycoplasma using hyperimmune rabbit serum (Poveda and Nicholas 1998).
The development of new rapid PCR based diagnostic tools are also providing a more accurate assessment of the role of mycoplasma in animal disease. Early PCRs, based on 16S rRNA genes, also amplified *M. agalactiae* DNA (Pfutzner and Sachse 1996; Ayling et al 1997) but recent PCR developments based on the *uvrC* gene are more specific (Frey et al 1999). PCRs have been used to detect *M. bovis* directly in milk and nasal samples (Hotzel et al 1996) and even in preservative treated milk (Pinnow et al 2001). The denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) test, using PCR of the 16S rRNA gene with mycoplasma specific primers and separation of the PCR products according to primary sequence on the gel, enables the rapid detection of all 13 bovine species tested (McAuliffe et al 2005); the test can be performed on isolates from culture or directly from clinical samples often detecting more than one *Mycoplasma* species on a single gel. This detection directly from swabs or tissue precludes the overgrowth of important mycoplasmas by faster growing opportunists
Rapid and effective serological diagnosis has been available cheaply for over a decade and has shown that *M bovis* is involved in 28-35% of pneumonic outbreaks (Ayling et al 2004); the test has also been used to detect antibodies in *M. bovis* mastitis either from serum or milk, and capable of identifying infected quarters (Byrne et al 2000) . The ELISA is very useful because the presence of *M. bovis* is nearly always indicative of disease in the herd and is not affected by recent antibiotic treatment which can hamper isolation of the mycoplasma.

TREATMENT OF DISEASE

Pfutzner (1990) stated that diseases due to *M. bovis* were resistant to any chemotherapy. In spite of this antibiotics are widely used sometimes correctly to reduce secondary bacterial infections but often ineffectively to treat the mycoplasma infections. Many *in vitro* studies have compared the susceptibility of *M. bovis* to a range of antibiotics. While it is clear that antibiotics which are ineffective *in vitro* are unlikely to be effective *in vivo*, those with strong activities *in vitro* will not necessarily perform well in the field for reasons which are unclear (Ayling et al 2000). Recent evidence suggests that *M. bovis* strains in Europe are becoming resistant to antibiotics traditionally used for treatment of mycoplasma infections in particular oxytetracyclines, tilmicosin and spectinomycin (Ayling et al 2000 Francoz et al 2005). The fluoroquinolones are still effective but their



use in animals is controversial (Nicholas et al 2003). However, in one study in the UK monthly treatment of fluoroquinolones for three months given at the outset of disease did not prevent respiratory disease in treated calves on a site persistently affected with *M. bovis* (Nicholas et al 2006. Further field evidence of the ineffectiveness of antibiotics was provided by Haines et al (2001) who found *M. bovis* in the lungs and joints of 80% of cases of feedlot cattle that had failed to respond to antibiotic therapy; bovine viral diarrhoea virus and *Mannheima haemolytica* were found in only 40 and 23% respectively of these cases.

Some success against *M. bovis* pneumonia and arthritis in calves was reported by Stipkovits et al (2001) using valnemulin added to the milk from four days of age for 3 weeks. Animals in the treated group had fewer clinical signs and reduced clinical scores though the number of animals with nasal discharge was similar. In spite of this continuous chemotherapy, animals required a considerable number of individual treatments. The successful treatment of calves with *M. bovis* respiratory disease with the novel triamilide antimicrobial tulathromycin (Draxxin) in a challenge model study was described recently despite the MIC values of >64µg/ml for isolates indicating that strains should be resistant (Godinho et al 2005). Treated calves had lower lung lesion scores and peak rectal temperatures than saline treated controls.

The prophylatic use of antibiotics is generally undesirable but its use may be justified when calves are introduced to a site heavily contaminated with *M. bovis* infection in which high levels of mortality are being sustained. Nagamoto et al (1996) treated one group of introduced calves with leucomycin prior to the development of clinical signs. Untreated groups of calves showed mortality rates of up to 41% while all the calves in the treated group survived although coughing and nasal discharges were evident. Interestingly, while *M. bovis* antibodies were detected in non-treated groups after 2 months following introduction, antibody development was significantly delayed until over 8 months in the antibiotic treated groups. This suggests that antibody responses are rarely protective in mycoplasma infections.

Because *M. bovis* disease is spread only by close and repeated contact it is possible to maintain freedom from disease in closed herds. If it is at all possible, farms which are free of *M. bovis* should seriously consider maintaining this status by ensuring suppliers/dealers of replacement animals are free of *M. bovis*.. TEAGASC, the Irish agricultural authority, successfully screened cattle suppliers for *M. bovis*, amongst other pathogens, when restocking following the BSE depopulation (O'Farrell et al 2003). Alternatively animals should be quarantined and serologically tested before introduction to the rest of the herd; cattle with positive antibody should not be permitted. Clearly the more frequent the purchase of replacement animals the more likely is the risk of becoming infected. However once infected, particularly on multi-age sites, it becomes extremely difficult to eliminate the organism although the usual husbandry practises such as reducing stocking densities, improving ventilation and separating different age groups can alleviate disease.

Control of calf pneumonia should also include measures to reduce environmental stress and to ensure adequate housing with good circulation of air. Wherever possible consideration should be given to "all in, all out practices" to prevent older animals infecting younger ones. If this is not possible separation of calves from the adults is advisable at the earliest possible opportunity where endemic disease exists and where the particular farm husbandry allows this

DISEASE PREVENTION AND CONTROL

The inability of chemotherapy to control *M. bovis* infections (Ayling *et al*., 2000) has focused attention on vaccination. Surprisingly there are no vaccines currently available in Europe although a quadrivalent inactivated vaccine containing respiratory syncytial virus, parainfluenza type 3 and 2 mycoplasmas, *M. dispar* and *M. bovis*, was developed and showed some protection against respiratory disease in the field (Howard *et al*., 1987). A vaccine prepared with formalin inactivated strains of *M. bovis* and *M. haemolytica* taken from the target herd reduced losses from pneumonia and cost of treatment in newly introduced feedlot calves (Urbaneck *et al.*, 2000). More recently a saponised-inactivated vaccine was shown to be safe, highly immunogenic and protective against a strong experimental challenge of virulent *M. bovis* (Nicholas *et al*., 2002b). Vaccinated calves showed few respiratory signs while all unvaccinated calves developed signs of pneumonia. There was a statistically significant decrease in body weight gain in unvaccinated calves compared to vaccinates and a significant increase in lung lesions and rectal temperatures in unvaccinated calves. The vaccine also reduced the spread of *M. bovis* to internal organs including the joints.

CONCLUSION

Work carried out 10-20 years ago at the Institute of Animal Health, Compton, UK and the former Institut fur Bakterielle Tierseuchenforschung, Jena, Germany, clearly demonstrated a major pathogenic role for *M. bovis* in respiratory disease, arthritis and mastitis. Despite this there is still a pervasive view amongst many veterinarians that the role of *M. bovis* in the respiratory disease complex is not proven (Step and Kirkpatrick 2001). Its importance has been shown conclusively following its introduction into both northern and the southern Ireland in the early 1990s where it rapidly became a major cause of respiratory disease as well as frequent cause of mastitis and arthritis. Major outbreaks have also been seen in Israel and Greece following importation of affected cattle from western and central Europe. The mycoplasma should be recognised by the Office International des Epizooties as causing a list B disease because of its serious socio-economic effects and the impact it has on international trade. In view of the large amount of evidence showing the ineffectiveness of antibiotics to control respiratory disease caused by *M. bovis*, research efforts should now be directed toward developing effective vaccines which could be used with or incorporated into those already existing for the bacterial and viral respiratory pathogens.

REFERENCES

- AYLING, R.D., NICHOLAS, R.A.J. & JOHANSSON, K.E. (1997) Application of the polymerase chain reaction for the routine identification of *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Record* 141, 307-308
- Ayling, R. D.,Bashiruddin, S E and Nicholas R A J (2004) Mycoplasmas and related organisms identified from ruminants 1990-2000 Veterinary Record 155, 413-416
- AYLING, R. D. NICHOLAS, R A J. WESSELLS, J., HOGG, R.,AND BYRNE, W. (2005) Isolation of Mycoplasma bovis from the brain tissue of calves. *Veterinary Record* 156, 391-392
- AYLING, R. D., BAKER, S.E., PEEK, M. L., SIMON, A. J., & NICHOLAS, R.A.J. (2000) Comparison of in vitro activity of danofloxacin, florfenicol, oxytetracycline, spectinomycin and tilmicosin against recent field isolates of *Mycoplasma bovis*. *Veterinary Record* 146, 745-747
- BLACKBURN, P., BROOKS, C., McCONNELL, W., BALL, H.J. (2007) Isoaltion of Mycoplasma bovis from cattle in Nortehrn Ireland from 1999 to 2005. Veterinary Record 161, 452-453
- BRICE, N., FINLAY, D., BRYSON, D. G., HENDERSON, J., MCCONNELL, W. & BALL, H.J. (2000) Isolation of *Mycoplasma bovis* from cattle in Northern Ireland 1993-1998. *Veterinary Record* 146, 643-644
- BUCHVAROVA, Y. & VESSELINOVA, A. (1989) On the aetiopathogenesis of mycoplasma pneumonia in calves. *Archiv fur Experimentelle Veterinarmedizin* 43, 685-689
- BYRNE, W.J., BALL, H. J., BRICE, N., MCCORMACK, R., BAKER, S.E., AYLING, R.D.& NICHOLAS R.A.J. (2000) Application of an indirect ELISA to milk samples to identify cows with *Mycoplasma bovis* mastitis. *Veterinary Record* 146, 368-369
- BYRNE, W.J., MCCORMACK, R., BRICE, N., MARKEY, B. & BALL, H.J, (2001) Isolation of *Mycoplasma bovis* from bovine clinical samples in the Republic of Ireland. *Veterinary Record* 148: 331-333
- FRANCOZ, D., FORTIN, M., FECTEAU, G. AND MESSLER, S. (2005)Determination of *Mycoplasma bovis* susceptibilities againstsix antimicrobial agents using the E test method. *Veterinary Microbiol*ogy105: 57-64.
- FREY, J., SUBRAMANIAM, S., BERGONIER, D., & NICOLET, J. (1999) DNA repair genes uvrC as genetic targets for discrimination of closely related mycoplasmas. In: Stipkovits L, Rosengarten R, Frey J, eds. *Mycoplasmas of ruminants:pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetic*s Vol 3. Brussels: European Commission 40-43
- GODINHO, K.S., RAE, A., WINDSOR, G.D., TILT, N., ROWAN, T.G. AND SUNDERLAND, S. J. (2004) Efficacy of tulathromycin in the treatment of bovine respiratory disease associated with induced *Mycoplasma bovis* infections in young dairy calves. *Vet Therapy* 6: 96-102
- GOURLAY, R.N., THOMAS, L.H. & WYLD, S.G. (1989) Increased severity of calf pneumonia associated with the appearance of *Mycoplasma bovis* in a rearing herd. *Veterinary Record* 124, 420-422
- HAINES, D. M., MARTIN, K. M., CLARK, E. G., JIM, G. K. & JANZEN E. D. (2001) The immunohistochemical detection of feedlot cattle with chronic unresponsive respiratory disease and/or arthritis. *Canadian Veterinary Journal* 42, 857-860
- HALE, H.H., HELMBOLDT, C.F., PLASTRIDGE, W.N. & STULA, E.F. (1962) Bovine mastitis caused by *Mycoplasma* species *Cornell Veterinarian* 52, 582-591
- HOTZEL, H., SACHSE, K. & PFUTZNER, H. (1996) Rapid detection of *Mycoplasma bovis* in milk samples and nasal swabs using the polymerase chain reaction. *Journal of Applied Bacteriology* 80, 505-510
- HOWARD, C. J., STOTT, E. J., THOMAS, L.H., GOURLAY, R.N. & TAYLOR, G. (1987) Protection against respiratory disease in calves induced by vaccines containing respiratory syncytial virus, parinfluenza type 3 virus, *Mycoplasma bovis* and *M. dispar*. *Veterinary Record*, 121, 372-376



- LAAK, E.A . TER, NOORDERGRAAF J.H. & DIELTJES R.P.J.W. (1992a) Prevalence of mycoplasmas in the respiratory tracts of pneumonic calves. *Journal of Veterinary Medicine*. Series B., 39, 553-562
- LAAK, E.A. TER, NOORDERGRAAF, J.H. & BOOMSLUITER, E. (1992b) The nasal mycoplasmal flora of healthy calves and cows. *Journal of Veterinary Medicine*. Series B. 39, 610-616
- LAM, C. G., MUNSON, L., THURMOND, M. C., BARR, B. C., GEORGE,L. W. (2004) *Mycoplasma* otitis in California calves. *Journal Veterinary Diagnostic Investigation* 16: 397-402.
- LE GRAND, D., PHILLIPPE, S., CALAVALAS, D., BEZILLE, P. & POUMARAT, F. (2001). Prevalence of *Mycoplasma bovis* infection in France. In: Poveda, J.B., Fernandez, A., Frey, J., & Johnansson K-E. eds. Mycoplasmas of ruminants:pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics Vol 5. Brussels: European Commission 106-109
- LORIA, G., SCANZIANI, E., LELLI, R., CARACAPPA, S., NICHOLAS, RAJ., LILLINI, E. (2006) Mycoplasma bovis: la malattia in Italia. Altti della Societa di Buiatria Vol XXXVII, 315-322
- MCAULIFFE, L., KOKOTOVIC, B., NICHOLAS, R A J (2004). Molecular epidemiologic analysis of Mycoplasma bovis isolates from the UK show two genetically distinct cluster. J. Clinical Microbiology 42 (10) 4556-4565
- MCAULIFFE, L., ELLIS, R., LAWES, J., AYLING, R. D. AND NICHOLAS, R A J (2005) 16S rDNA and DGGE: a single generic test for detecting and differentiating Mycoplasma species. J Medical Microbiology 54, 1-9
- NAGATOMO, H., SHIMIZU, T., HIGASHIYAMA, Y., YANO, Y., KUROKI, H. & HAMANA, K. (1996) Antibody response to *Mycoplasma bovis* of calves introduced in a farm contaminated with the organism. *Journal of Veterinary Medical Science* 58, 919-920
- NICHOLAS, R.A.J. (2002) *Mycoplasma bovis*. Compendium of Animal Health. Commonwealth Agriculture Bureau International, Wallingford, UK. CD-ROM
- NICHOLAS, R.A.J. & BAKER, S. E. (1998) Recovery of mycoplasmas from animals. In: Miles R.J, Nicholas R.A.J. eds. *Mycoplasma Protocols*. Totowa, USA: Humana Press 37-44
- NICHOLAS, R.A.J., WOOD, E., BAKER, S. & AYLING, R.D. (2001) Mycoplasmas isolated from ruminants in Britain 1995-2000. In: Poveda J.B., Fernandez, A, Frey J, Johansson K-E eds. *Mycoplasmas of ruminants: pathogenicity, diagnostics, epidemiology and molecular genetics* Vol 5. Brussels: European Commission 116-120
- NICHOLAS, R.A.J., AYLING, R.D. & STIPKOVITS, L. (2002) An experimental vaccine for calf pneumonia caused by *Mycoplasma bovis*. *Vaccine* 20: 3569-3575
- NICHOLAS, R. A. J. & AYLING, R. D. (2003) Mycoplasma bovis, disease, diagnosis and control. *Research in Veterinary Science*. 74 (2) 105-112
- NICHOLAS, R A J., AYLING, R D., HOULIHAN, M & WOODGER, N. (2006) Mycoplasma of adult cattle: bugs worth bothering with? Irish Veterinary Journal 59, 301-304
- O'FARRELL, K., DILLON, P., MEE, J., CROSSE, S., NOLAN, M., BYRNE, N., REIDY, M., FLYNN, F. & CONDON, T. (2001) Strategy for restocking Moorepark after depopulation following BSE. *Irish Veterinary Journal* 54, 70-75
- PFUTZNER, H. (1990) Epizootiology of the *Mycoplasma bovis* infection of cattle. *Zentralblatt fur Bakteriologie* Supplement 20, 394-399
- PFUTZNER, H. & SACHSE, K. (1996) *Mycoplasma bovis* as an agent of mastitis, pneumonia, arthritis and genital disorders. *Scientific and Technical Review. Offices International Des Epizooties* 15, 1477-1494
- PINNOW, C. C., BUTLER, J. A., SACHSE, K., HOTZEL, H., TIMMS, L. L. & ROSENBUSCH, R. F. (2001) Detection of *Mycoplasma bovis* in preservative treated milk samples. *Journal of Dairy Science* 84, 1640-1645
- POUMARAT, F., LE GRAND, D., PHILIPPE, S., CALAVAS, D., SCHELCHER, F., CABANIE, P., TESSIER, P. & NAVETAT, H, (2001) Efficacy of spectinomycin against *Mycoplasma bovis* induced pneumonia in conventionally reared calves. *Veterinary Microbiology* 80, 23-35
- POVEDA, J. B. & NICHOLAS, R.A.J. (1998). Serological identification of mycoplasmas by growth and metabolism inhibition tests. In: *Mycoplasma Protocols*. Miles, R. J. & Nicholas, R. A. J. eds. Humana Press, Totowa, USA. 105-112
- RAEDELLI E, LUINI M, LORIA GR, NICHOLAS, RAJ AND SCANZIANI E. (2008) Studies of Mycoplasma bovis infections in veal calves and adult cattle. *Research in Veterinary Science*
- STEP, D. L. & KIRKPATRICK, J. G. (2001) Mycoplasma infection in cattle. I Pneumonia-arthritis syndrome. *The Bovine Practitioner* 35, 149-155
- STIPKOVITS, L, RIPLEY, P.H, VARGA, J., & PALFI, V. (2001) Use of valnemulin in the control of Mycoplasma bovis infection under field conditions. *Veterinary Record* 148: 399-402
- THOMAS, A., DIZIER, I., TROLIN, A., MAINIL, J. & LINDEN, A. (2002). Comparison of sampling procedures for isolating pulmonary mycoplasmas in cattle. Veterinary Research Communications 26, 333-339
- URBANECK, D., LEIBIG, F., FORBRIG, T.H. & STACHE, B. (2000) Erfahrungsbericht zur Anwedung bestandsspezifischer impfstoffe gegen respiratorische infektionen mit beteiligung von *Mykoplasma bovis* in einem mastrindergrossbestand. *Der praktische Tierarzt* 81, 756-763

OPORTUNIDADES EN EL MANEJO DE LA MAMITIS CLÍNICA

Alfonso Lago, LV
Unidad de Medicina de la Producción Lechera
Facultad de Veterinaria de la Universidad de Minnesota
St. Paul, Minnesota, EE.UU.
alago@umn.edu

El propósito de este artículo es presentar estrategias de manejo de la mamitis clínica que conllevan a una reducción importante en los costos asociados con el tratamiento, y que lo hacen más efectivo. También presentaré soluciones para el manejo de datos que nos permitan su uso tanto en la toma de decisiones a nivel de vaca como en modificaciones de los protocolos del rebaño. Espero mostrar oportunidades para muchos de nuestros colegas que buscan como proveer servicios alternativos a ganaderos que en el pasado reclamaban nuestros servicios para cada caso clínico y ahora no lo hacen.
Es mi objetivo aportar información en como desarrollar un plan de manejo de la mamitis clínica; ofrecer monitores para evaluar la eficacia del plan; describir un sistema de manejo y evaluación de datos; y señalar las oportunidades del veterinario en todo este proceso.

Desarrollo de un plan de manejo de la mamitis clínica

Desarrollar un plan de tratamiento de la mamitis clínica para un rebaño es complejo (quizás el más complejo de todos los planes de tratamiento), ya que las decisiones a tomar cuando se presenta un caso de mamitis clínica son multifactoriales. Dependen de la gravedad del caso, la historia individual de la vaca, el agente etiológico, y aun más importante, de la variación en la interpretación de la información recogida durante el examen de la vaca. En la mayoría de las ocasiones son los empleados de la ganadería los que tienen que tomar la decisión de tratamiento y hacer el seguimiento del caso clínico. Nuestra tarea como veterinarios es clasificar los casos de mamitis en diferentes subgrupos y diseñar un plan de tratamiento (o no tratamiento). Nosotros también tenemos la responsabilidad de supervisar los

medicamentos que se están aplicando, lo que significa que necesitamos desarrollar una sistemática para la revisión de los tratamientos que fueron administrados. Todo ello se puede lograr si desarrollamos un plan de organización de datos adecuado.

Un plan de manejo de la mamitis clínica en el rebaño, que sea operativo a nivel de vaca, tiene tres componentes. Estos son:
- Los **procedimientos operativos estándar (SOPs)** son la descripción de los pasos que se siguen desde que se detecta el caso hasta que termina el manejo del caso por el personal de la lechería.
- El **plan de tratamiento escrito** contiene definiciones, instrucciones, y protocolos de administración de tratamientos que cumplimentan los SOP.
- El **plan de manejo de datos** empieza por un documento temporal que usamos diariamente a pie de vaca durante el transcurso del caso clínico de mamitis. En este documento, tenemos los datos de la vaca, su historia clínica y las observaciones del caso actual que nos sirven para llegar a la decisión de tratamiento, y para evaluar la progresión del caso. Esta información, que posteriormente será incorporada en la base de datos del rebaño, nos sirve para evaluar el plan para el manejo de la mamitis en el rebaño.

Los **SOPs** deben incluir un plan para la detección de los casos clínicos; un protocolo de examen clínico que puede o no derivar en una decisión de tratamiento; un protocolo de tratamiento; un protocolo para la evaluación diaria durante el curso de tratamiento (incluyendo como reconocer y reaccionar cuando el tratamiento no está funcionado); y un protocolo que asegure que la leche (o en su caso la canal) se incorpore en la cadena alimenticia sin riegos de residuos.

a) Detección del caso clínico y segregación de la vaca

Es importante una detección temprana de los casos clínicos de mamitis. Prácticas como el despuntado, tienen como objetivo una detección precoz de casos clínicos leves de mamitis (cuando sólo la leche está alterada pero el cuarterón aun no está inflamado). Sin embargo, aunque el despuntado es la manera más común de detectar mamitis, incluso ordeñadores entrenados dejan sin detectar sobre el 30% de los casos clínicos (Hillerton, 2000). Esto es comprensible considerando que en una ganadería de 1000 vacas en la que ordeñen tres veces al día y tengan 300 casos de mamitis clínicas al año, un ordeñador tiene que despuntar 14,600 pezones para detectar cada caso de mamitis.

Existe evidencia que la eficacia del tratamiento antibiótico es mayor cuando se comienza de manera temprana, particularmente en infecciones causadas por *Streptococcus uberis* y *Staphylococcus aureus*. En un estudio en el que se comparó la eficacia del tratamiento cuando se iniciaba después de la detección temprana *versus* cuando los signos clínicos ya estaban bien establecidos, se observó que la curación bacteriológica y clínica era mucho mayor, y que el uso de antibióticos fue reducida a la mitad cuando se inició un tratamiento temprano (Milner *et al.*, 1997).

Es importante conocer cual es el criterio que se sigue en la ganadería para definir un caso de mamitis clínica, y diferenciarlo de una alteración de la leche de carácter transitorio. Una vez que se confirma que estamos ante un caso de mamitis, es importante tener bien establecidas las pautas a seguir para marcar la vaca y el cuarterón afectado, y apartar la leche. El flujo de la sala de ordeño en muchas ganaderías grandes no permite que el ordeñador se encarge del manejo de vacas con mamitis. En estos casos, es necesario separar la vaca y tener un sistema efectivo de comunicación con la persona que se va a encargar del examen y tratamiento del caso clínico.

b) Examen

La primera decisión que tenemos que tomar cuando una vaca se presenta con un caso de mamitis clínica va a ser: tratarla, dejarla sin tratamiento o eliminarla del rebaño. El objetivo del examen es recabar información que nos guíe en esta decisión.

Evaluación de la gravedad del caso

El examen empieza con la evaluación de la gravedad del caso. Se clasifican como leves aquellos casos de mamitis clínica en que sólo la leche está alterada; moderados cuando la leche está alterada y el cuarterón está inflamado; y graves cuando el estado general de la vaca está también afectado. Normalmente el 60% de los casos son leves, el 25% son moderados y el 15% restante son graves. La evaluación de

la gravedad del caso nos sirve para decidir si el objetivo primordial es salvar la vida de la vaca (casos graves), o si nuestra decisión de tratamiento va a estar basada en la probabilidad de alcanzar los objetivos pretendidos (casos leves y moderados). En casos leves y moderados nuestro objetivo no es sólo que la leche y la ubre vuelvan a la normalidad, pero también queremos eliminar el organismo de la ubre, que el recuento de células somáticas (RCS) no siga elevado, que la vaca no pierda capacidad productiva, y queremos hacer esto de una manera rentable y sin riegos de residuos en leche.

Evaluación de la historia médica de la vaca

Datos de la vaca, su historia clínica y datos del caso clínico actual nos pueden ayudar en la decisión de tratamiento a pie de vaca. Datos útiles de la vaca incluyen parto, días en leche (DEL), producción de leche y valor relativo de la vaca. Datos de la historia clínica incluyen número de tratamientos previos, RCS en el control lechero anterior al caso clínico, RCS en el último control lechero de la lactación anterior (para vacas al principio de la lactación), y fecha, cuarterón afectado, gravedad, tratamiento, y datos de curación de casos anteriores. Finalmente, son útiles datos del caso actual tales como la gravedad, el número de cuarterones afectados, el número de cuarterones positivos a la prueba de mamitis de California (CMT) y resultados del cultivo microbiológico.

Expongo más adelante en este artículo la necesidad de tomar decisiones de tratamiento basadas en cultivo microbiológico. Sin embargo, datos de la vaca y de su historia clínica pueden aportar información complementaria para decidir si tratarla o no, y de la duración del tratamiento. Por ejemplo, las mamitis causadas por *Staphylococcus aureus* aunque en general son refractarias a la terapia antibiótica, la tasa de curación va a depender de varios factores. Así, la probabilidad de curación es menor a mayor edad de la vaca, a mayor RCS, mayor duración de infección, mayor número de colonias bacterianas en leche, así como cuando el número de cuarterones afectados es mayor (Barkema *et al.*, 2006). En consecuencia, si se nos presenta un caso de mamitis que ya es el segundo o tercero en esta lactación, la vaca tenía un RCS elevado en el control anterior, etc., nuestra decisión debe ser o bien dar una última oportunidad tratando por un tiempo prolongado, o bien decidir no administrar tratamiento antibiótico, ya que sabemos que la terapia estándar no será efectiva.

c) Tratamiento

Los protocolos de tratamiento de las mamitis clínicas necesitan ajustarse a normas de bienestar animal, normas de seguridad alimentaria, estándares de calidad de los alimentos, a un uso de antibióticos con criterio, y a limitaciones de costo de los tratamientos. Estos objetivos no siempre son compatibles entre sí, y nosotros tenemos que desarrollar protocolos en los que se alcance un compromiso entre ellos. Las pautas a seguir para tomar la decisión de tratamiento deben estar documentadas. Nosotros tenemos que definir la importancia relativa asignada a la información histórica y a la recogida durante el examen del caso clínico de mamitis, y con ello establecer el criterio usado para tratar o no una vaca. Si la decisión tomada es tratar, tenemos que definir con qué, y por cuanto tiempo.

La pérdidas por mamitis clínicas se pueden clasificar en cinco categorías: a) costos de personal; b) pérdidas debido a la reducción en la calidad de la leche; c) pérdidas debido a una reducción del potencial productivo de las vacas afectadas con mamitis; d) pérdidas debido al tratamiento; y e) pérdidas debido a una tasa más alta de reposición involuntaria. Las pérdidas debidas al tratamiento son obvias y claramente visibles. Incluyen la leche que se descarta, costo de antibióticos u otros medicamentos, gastos veterinarios y la mano de obra adicional debido al tratamiento. La leche que se descarta durante el período de supresión después de un tratamiento antibiótico representa a menudo más del 60% de los costes de mamitis, y puede sobrepasar los $100 por vaca y año cuando no hay un uso razonado de antibióticos. Esta leche que se pierde, a diferencia de las pérdidas en capacidad productiva de la vaca debido a la mamitis, es leche que la vaca produjo con un coste de producción asociado.

El mayor gasto de antibióticos en una ganadería lechera está relacionado con la mamitis. En un estudio reciente en 10 lecherías de Wisconsin, el 80% de los antibióticos usados estaban dedicados al tratamiento o a la prevención de la mamitis (tratamiento intramamario de la mamitis clínica, 38%; tratamiento parenteral de la mamitis clínica, 17%; tratamiento de secado, 28%). El tratamiento parenteral a causa de mamitis resultó en la mitad de todos los tratamientos parenterales (Pol and Ruegg, 2007). El uso



de antibióticos no sólo tiene repercusiones económicas para el ganadero, sino que también su uso desmesurado en animales de abasto incrementa el riesgo de residuos en leche y carne, y de la resistencia a antibióticos. Este aspecto no es trivial, ya que es nuestra responsabilidad salvaguardar la salud pública así como preservar la percepción pública de la calidad sanitaria de los productos derivados de la leche. En definitiva, si fomentamos el consumo de los productos lecheros, estamos asegurando el porvenir de los ganaderos y el nuestro.

El aspecto económico y el impacto en la salud (y opinión) pública del uso de antibióticos en el tratamiento de la mamitis clínica, hace que tengamos que desarrollar estrategias encaminadas a reducir su uso. Queremos lograrlo sin reducir la eficacia del tratamiento de mamitis y sin reducir el potencial productivo de la vaca.

Eficacia de los antibióticos en mamitis clínicas de gravedad leve o moderada causadas por Gram-negativos

Debido a que muchos de los antibióticos actúan sobre los peptidoglicanos, su eficacia en infecciones causadas por Gram-negativos es limitada. Las bacterias Gram-negativas se caracterizan por presentar una membrana celular interna la cual se rodea por una pared celular delgada de peptidoglicanos y una membrana celular externa que recubre la pared celular en estas bacterias. La membrana externa presenta una estructura de lipopolisacáridos (LPS) específica para cada especie. Lipopolisacáridos, o endotoxinas, con frecuencia inducen una respuesta inmune aguda en los animales infectados.

La eficacia del tratamiento antibiótico en infecciones causadas por Gram-negativos es también cuestionable debido a la patogenia propia de este tipo de mamitis. En infecciones causadas por Gram-negativos existe una bajada espontánea en el recuento bacteriano de 8 a 24 h después del inicio de la infección (Hill *et al.*, 1979; Shenep and Mogan, 1984; Shenep *et al.*, 1985; Pyörälä *et al.*, 1994). La detención de los casos de mamitis clínica normalmente ocurre después que se ha alcanzado el pico de liberación de bacterias (Hill *et al.*, 1979; Anderson *et al.*, 1985; Erskine at al., 1992). Aunque las infecciones debido a *Klebsiella* spp. son de mayor duración que las causadas por *E. coli*, frecuentemente no responden al tratamiento antibiótico (Smith *et al.*, 1985; Roberson *et al.*, 2004).

Tanto estudios de campo como estudios en los que se indujeron infecciones con coliformes nunca han probado la eficacia del tratamiento antibiótico. En un estudio retrospectivo la curación bacteriológica en casos que no fueron tratados con antibióticos causados por *E. coli* y *Klebsiella* spp. fue alta, 85% (Wilson *et al.*, 1999). En un experimento en el que se infectaron vacas con *E. coli* y que se trataron con 500 mg of gentamicina intramamaria cada 14 h no tuvieron un recuento más bajo de bacterias en leche, ni una menor duración de la infección, ni una concentración menor de células somáticas ni de albúmina sérica en leche, ni una temperatura más baja que aquellas que no recibieron tratamiento antibiótico (Erskine *et al.*, 1992). En un estudio clínico de campo en California, ni la curación clínica ni bacteriológica fue diferente para casos de mamitis clínica causadas por coliformes que se trataron con los antibióticos amoxicilina y cefapirina, de aquellos casos que se trataron simplemente con oxitocina (Guterbock *et al.*, 1993). En otro estudio que en el que se evaluó la eficacia de cuatro maneras de tratar casos leves y moderados de mamitis (amoxicilina intramamaria, ordeño frecuente, y una combinación de amoxicilina intramamaria y ordeño frecuente), el tratamiento antibiótico no tuvo un impacto significativo en curación clínica ni bacteriológica, ni en producción de leche, ni en la progresión de la enfermedad en casos provocados por *E. coli*, ya que la mayoría de los casos se recuperaron en un corto período de tiempo (Roberson *et al.*, 1994). Asimismo, el tratamiento antibiótico intramamario no fue efectivo en infecciones causadas por Gram-negativos (Hallberg *et al.*, 1994). Pero la controversia sigue, en un estudio en Illinois concluyeron que la curación clínica y bacteriológica fue más alta en mamitis causadas por estreptococos o coliformes cuando se trataron intramamariamente con cefapirina y/o administración intramamaria de oxitetraciclina (Morin *et al.*, 1998). Sin embargo, la validez de las conclusiones de ese estudio son limitadas ya que analizaron conjuntamente las infecciones causadas por dos grupos muy diferentes de bacterias, estreptococos y coliformes.

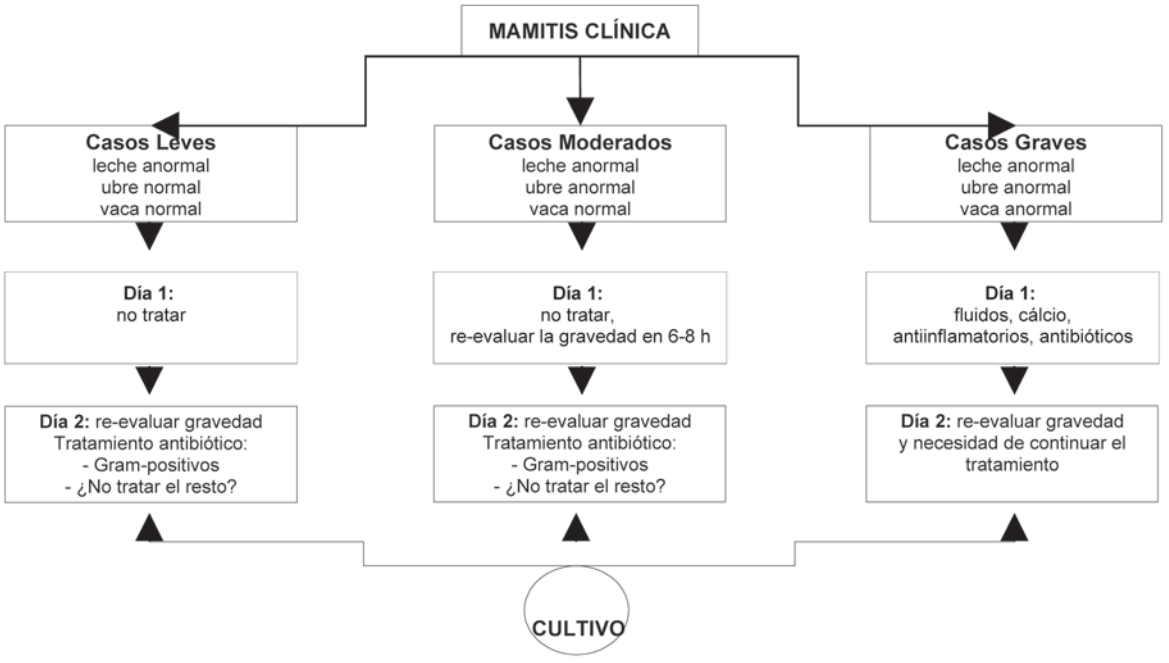
Duración del tratamiento antibiótico

Debemos de evitar el tratamiento antibiótico en casos de mamitis que no se benefician de ello, sin embargo, una vez que se toma la decisión de tratar debe de ser por una duración adecuada. Son varios

los estudios que demuestran una mayor eficacia al prolongar la duración del tratamiento antibiótico en mamitis causadas por *Staphylococcus aureus* (Pyörälä y Pyörälä, 1998; Deluyker *et al.* 2005). Mamitis causadas por *Streptococcus uberis* también parecen beneficiarse de tratamientos prolongados (Oliver *et al,.* 2004). Sin embargo, los tratamientos prolongados puede que no estén justificados en mamitis causadas por otro tipo de estreptococos ambientales y estafilococos coagulasa negativos (Pyörälä y Pyörälä, 1998; Deluyker *et al.,* 2005).

Necesidad de tomar decisiones de tratamiento basadas en el cultivo microbiológico
Diferentes estudios recientes en España y Norteamérica reportaron la ausencia de crecimiento entre el 10 y el 40% de los cultivos de mamitis clínica. Estos casos no se benefician en absoluto del tratamiento antibiótico. De los cultivos con crecimiento, aproximadamente el 40% son coliformes que probablemente tampoco se benefician del tratamiento antibiótico. Sin embargo, se recomienda el tratamiento antibiótico en infecciones causadas por Gram-positivos, y dentro de estos algunos se benefician de tratamientos más prolongados que otros. Por lo tanto, si el tratamiento antibiótico no es eficaz en más de la mitad de los casos de mamitis, el cultivo microbiológico debería preceder siempre a la iniciación del tratamiento en vacas en que su estado general no está afectado (Figura 1).

Figura 1: Diagrama de toma de decisiones para la mamitis clínicas basado en resultados de cultivo microbiológico.



Tener resultados del aislamiento microbiológico también sirve para tomar decisiones de prolongar la duración del tratamiento antibiótico en ciertas mamitis como las causadas por *Staphylococcus aureus* ó *Streptococcus uberis* ya que las tasas de curación son considerablemente más altas al incrementar la duración del tratamiento en este tipo de mamitis. Una consecuencia de tomar decisiones de tratamiento basadas en los resultados del cultivo es que hay que retrasar en 24 h el inicio del tratamiento. Afortunadamente, un estudio reciente mostró que no hay diferencia en la tasa de curación si se trata la mamitis al momento de detectarla, o retrasando el tratamiento 24 h cuando ya se obtienen resultados del aislamiento microbiológico. Eso sí, en aquellos casos en los que se aísle un Gram-positivo, mayoritariamente estafilococos y estreptococos, no se debe de retrasar el tratamiento más de un día. Para ello sería de gran ayuda que el centro veterinario u otro laboratorio de diagnóstico disponga de la infraestructura necesaria para cultivar la leche y ofrecer resultados al ganadero en 24 h. En lecherías de

gran tamaño se puede evaluar la conveniencia de establecer un sistema de cultivo en la vaquería, aunque siempre supervisado por un veterinario.

Estudio evaluando la eficacia y relación costo-beneficio del tratamiento selectivo de la mamitis clínica cultivando la leche en la ganadería

Si se consiguiesen tasas de curación similares no tratando mamitis en las que no hay crecimiento bacteriano o cuando son causadas por Gram-negativos, los beneficios de no tratar con antibióticos más de la mitad de las vacas con mamitis clínicas son importantes. Estos incluirían una reducción significativa en los costos relacionados con el tratamiento, siendo el más importante la retirada de la leche del tanque; menos riesgo de residuos antibióticos en leche; y una reducción en el desarrollo de resistencias de los patógenos a los antibióticos. Sin embargo, aunque ya hay muchas ganaderías en EE.UU. que están cultivando los casos clínicos de mamitis usando sistemas de cultivo rápido que manejan en la propia ganadería y usan tratamiento antibiótico intramamario sólo en casos donde se aíslan Gram-positivos, la eficacia y relación costo-beneficio de este sistema no ha sido evaluada.

En un proyecto que estamos liderando en la Universidad de Minnesota, y en el que también colaboran las universidades de Wisconsin en EE.UU., y Guelph en Canadá estamos evaluando la eficacia y relación costo-beneficio del tratamiento selectivo de la mamitis clínica basado en cultivo de granja. En este proyecto ocho ganaderías comerciales americanas y canadienses asignaron aleatoriamente las vacas con mamitis clínicas leves o moderadas a uno de dos grupos de tratamiento: a) los cuarterones afectados no reciben ningún tipo de tratamiento antibiótico cuando se aíslan bacterias Gram-negativas o cuando no crece ningún tipo de bacteria, y sólo se tratan si se aíslan bacterias Gram-positivas en el sistema de cultivo de granja; b) todos los cuarterones afectados reciben tratamiento antibiótico intramamario independientemente del patógeno aislado. Para saber cual es la mejor opción, comparamos curación clínica y bacteriológica, tasa de recidiva de mamitis clínica en el mismo cuarterón, RCS, producción de leche y tasas de eliminación durante lo que resta de la lactación entre los dos grupos.

Lago *et al.* (2008) reportó que en este estudio de 452 casos de mamitis clínicas sólo hubo crecimiento bacteriano en el 64% de las mamitis. De entre los casos con crecimiento, los coliformes fueron las bacterias más comunes (37% de las infecciones), seguido de estreptococos ambientales (23%), estafilococos coagulasa negativos (15%), *Staphylococcus aureus* (10%), y otras infecciones (15%). En el grupo en que se tomó la decisión de tratamiento basado en el cultivo en la granja sólo se trataron el 43% de los casos, en comparación al tratamiento del 100% en el grupo control. La tasa de curación bacteriológica y la tasa de recidiva de los casos clínicos de mamitis no fueron significativamente diferentes entre ambos grupos. Así el uso del cultivo de leche en granja para el tratamiento selectivo de la mamitis clínica resultó en una reducción muy importante en el uso de antibióticos, y no tuvo un impacto en la tasa de curación bacteriológica para casos leves y moderados de mamitis clínica. Sin embargo, aunque estos datos son esperanzadores, es prematuro concluir que el tratamiento selectivo es igualmente eficaz antes de analizar los datos de RCS, producción de leche y tasas de eliminación para ambos grupos.

Detección simultánea de cuarterones con infección subclínica (y posible tratamiento)

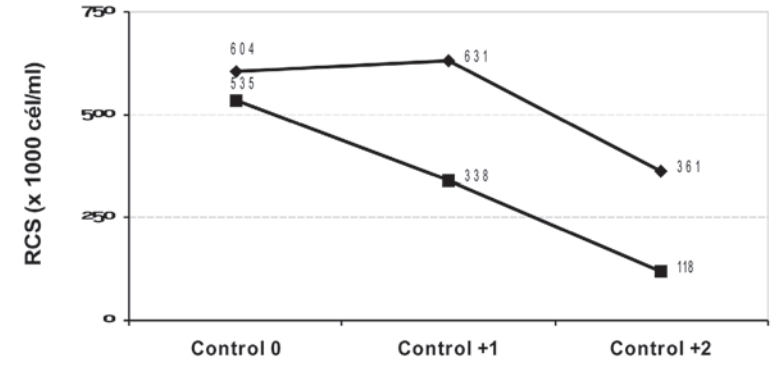
Si cuando tratamos un animal con mamitis clínica decidimos extender el tratamiento a cuarterones infectados de manera subclínica, no resulta en un incremento de la leche descartada. La prueba de mastitis de California (CMT) nos sirve para determinar infección subclínica. Fabre *et al.* (2004) comparó el efecto de tratar sólo el cuarterón afectado clínicamente *versus* tratar también el resto que fueran positivos al CMT, se observó que el RCS en los controles posteriores a la ocurrencia del caso clínico de mamitis era significativamente menor en vacas en las que se aprovechó para tratar otros cuarterones con infección subclínica (Figura 2).

Figura 2. Efecto del tratamiento antibiótico único de los cuarterones afectados con mamitis clínica (♦) *versus* tratamiento simultáneo de cuarterones afectados con mamitis clínica y de otros cuarterones positivos al CMT (■) en el recuento de células somáticas (RCS) a nivel de vaca en los dos controles posteriores al caso clínico de mamitis.

d) Evaluación durante el tratamiento / Fin de tratamiento

Durante el tratamiento se deben recoger signos de la evolución del caso clínico tales como cambio en

el nivel de gravedad del caso, cambio de tratamiento, duración final del tratamiento, tiempo trascurrido hasta la curación clínica, y tiempo durante el cual no se echa la leche al tanque.



Es importante definir el final del tratamiento. En cuarterones el los que persistan los signos clínicos por más de 4 días, una opción es cultivar el cuarterón otra vez (aunque obtengamos algunos falsos negativos), y comprobar si se produjo una curación bacteriológica / disminución en el número de colonias. Si el cuarterón sigue infectado puede ser oportuno iniciar el tratamiento con otro antibiótico. Si no se consigue la curación clínica después del segundo tratamiento, probablemente debemos de tomar la decisión de secar el cuarterón. Siempre nos debemos de asegurar que este incluido en las SOPs la opción comunicarse con los supervisores cuando la evolución del caso no es favorable.

e) Testando residuos de antibióticos

Es nuestra obligación como defensores de los intereses de nuestros clientes y vigilantes de la salud pública que los protocolos de manejo de la mamitis clínica incluyan un plan para guardar el período de supresión después del tratamiento. En bastantes explotaciones se hace una prueba de inhibidores a la leche antes de echarla al tanque con el objetivo de reducir el riesgo de residuos, y conseguir que la leche de vacas tratadas vuelva más pronto al tanque.

Algunas de las pruebas comerciales más usadas para detectar inhibidores en la leche son Delvotest-P®, Charm SL®, Penzyme Milk Test®, BetaStar®, Snap Beta-Lactam®, Snap Oxytetraciclyne®, CITE probe (ß-lactam)®, y LacTek (ß-lactam)®. La mayoría de estas pruebas de inhibidores están diseñadas para evaluar si el tanque es positivo a antibióticos. Cuando se usan a nivel de vaca después de un tratamiento antibiótico o después del parto, tienen una tasa relativamente alta de "falsos positivos". Si una vaca resulta positiva a antibióticos cuando ya tenía que estar negativa, se puede diluir 1:5 la leche de esa vaca con leche de tanque y se vuelve a evaluar.

Evaluación de la eficacia del tratamiento

El éxito del tratamiento de la mamitis clínica se puede evaluar usando varios monitores a nivel de granja tales como el tiempo transcurrido hasta la curación clínica, el tiempo durante el cual no se echa la leche al tanque, la tasa de recidiva, y el uso del RCS aportado por el control lechero. En investigación se usa la curación bacteriológica, pero no resulta práctico cultivar cada caso de mamitis con el único propósito de monitorización. Sin embargo, esto sería diferente si la decisión de continuar el tratamiento o no estuviese basada en resultados de cultivo. Otros monitores útiles por su relevancia económica, y que también están influenciados por la tasa de recidiva, son días en que la leche no se echa al tanque y la tasa de eliminación en los 60-100 días que siguen al caso de mamitis.

Tiempo trascurrido hasta la curación clínica / Tiempo durante el cual no se echa la leche al tanque

El tiempo durante el cual no se echa la leche al tanque, así como el tiempo a la curación clínica por su relación con el anterior, son índices que reflejan bien el impacto económico de la mamitis a nivel de granja. Sin embargo, dependen de evaluaciones subjetivas (tiempo a la curación clínica), de la duración del tratamiento y tiempo de retirada de la leche (tiempo durante el cual no se echa la leche al tanque), y dan poca información si se alcanzó una curación bacteriológica. Datos de un estudio de campo con

452 casos clínicos de mamitis de 8 ganaderías, muestran que no hay diferencia numérica en el tiempo que transcurre hasta la curación clínica ni en el tiempo durante el cual no se echa la leche al tanque entre casos que tuvieron una curación bacteriológica y los que no (Lago *et al.*, sin publicar). En otro análisis de 345 casos de mamitis evaluamos la relación de los índices mencionados anteriormente con la reducción en el RCS por debajo de 200,000 células/ml en los dos controles lecheros posteriores al caso clínico de mamitis. Igualmente, no encontramos ninguna diferencia en el tiempo durante el cual no se echa la leche al tanque y el tiempo a la curación clínica entre las vacas que redujeron el RCS a por debajo de 200,000 y las que no (Lago *et al.*, sin publicar).
Se asume normalmente que la resolución de los signos clínicos es equivalente a curación bacteriológica, aunque esto no es verdad en muchas ocasiones. Infecciones con *Staphylococcus aureus* se manifiestan de forma clínica con bastante frecuencia y después pasan a ser subclínicas. Este fenómeno también se observa con *Klebsiella*, estreptococos ambientales, levaduras, y probablemente ocurra con la mayoría de los patógenos. Aunque la leche vuelva a la normalidad no significa que la terapia eliminó la infección. Por el contrario, hay casos en que signos clínicos van mas allá de cuando ocurre la curación bacteriológica. En estos casos hay el riesgo de considerar que el tratamiento fracasó aunque el organismo se haya eliminado. Esto ocurre frecuentemente en las mamitis causadas por E. coli.

Tasa de recidiva
Se considera una recidiva en un cuarterón cuando se detecta un nuevo caso de mamitis más de 7-14 días (según quien lo defina) después del último caso. Mi preferencia es usar 7 días ya que por este tiempo el período de supresión está cumplido para la mayoría de los tratamientos, y ya se ha tenido que decidir si tratar la vaca por más tiempo o no si la leche de la vaca sigue alterada. Definimos la tasa de recidiva como la proporción de casos clínicos a nivel de cuarterón en los que la mamitis clínica recurre en el mismo cuarterón más de siete días después del comienzo del caso anterior. Una tasa de recidiva <15% es alcanzable.
La tasa de recidiva puede ser un parámetro válido para comparar estrategias y protocolos de tratamiento ya que está inversamente correlacionada con la curación bacteriológica. Hemos observado que la tasa de recidiva fue un 50% más alta para casos clínicos que no experimentaron una curación bacteriológica que para los que curaron (n = 452), y un 80% más alta en vacas que no redujeron el RCS por debajo de 200,000 en los dos controles lecheros posteriores al caso de mamitis (n = 345) (Lago *et al.*, sin publicar). La tasa de recidiva es un parámetro que tiene relevancia no sólo a nivel de campo pero también en investigación. En un estudio en el que se determinó que aunque la producción de leche y tasa de eliminación no difirió entre las vacas con mamitis que se trataron con antibióticos y las que no, la tasa de recidiva fue más alta para vacas que no se trataron, especialmente en mamitis causadas por estreptococos (Van Eenennaam *et al.*, 1995). Información de campo de una granja en Colorado en la que se tomó la decisión de no tratar con antibióticos ningún caso de mamitis se observó un incremento en la tasa de recidiva, en la prevalencia de las infecciones intramamarias, y un incremento en el RCS debido a infecciones causadas por estreptococos (Cattell, 1996).

Recuento de células somáticas
El valor en el uso del RCS para evaluar curación de mamitis radica en que refleja curación bacteriológica, así como resolución de la inflamación del tejido mamario afectado, lo que predice la capacidad de recuperación del potencial productivo. Además, un pilar importante de los programas de calidad de la leche está basado en la necesidad de producir leche con un bajo RCS.
Los casos de mamitis clínica en cada rebaño se deben clasificar en tres categorías según el RCS obtenido en el control lechero previo al episodio clínico. Así tenemos, vacas comenzando la lactación que no tienen un control lechero anterior al caso clínico, vacas con un RCS <200.000/ml, y vacas ≥200.000 células/ml. Consideramos que un caso de mamitis ha curado cuando se obtiene un RCS <200,000/ml en el primero o en el segundo control lechero disponible después del evento clínico. La tasa de curación acumulada (TCA) representa la proporción de casos de mamitis que curaron.
La media (rango) de la TCA en 1949 casos clínicos de mamitis de 11 ganaderías lecheras fue del 55% (44–61%) (Lago *et al.*, 2004). En vacas con un RCS ≥ 200.000 en el control lechero previo a la mamitis, la

TCA media fue del 33.0%. Sin embargo, para vacas en las que episodio de mamitis ocurrió anteriormente a primer control la TCA fue del 62.6%, y del 65.5% para vacas con un RCS <200.000 en el control anterior.

Sistema de manejo de datos
El sistema de manejo de datos nos debe de permitir satisfacer los siguientes objetivos:
- Desarrollar una historia médica de la vaca.
- Diseñar un sistema que haga disponible esta historia durante el examen clínico.
- Mantener registros del caso para evaluar la evolución.
- Asegurar que la leche (o en su caso la canal) se incorpore en la cadena alimenticia sin riegos de residuos.
- Permitir al veterinario hacer una supervisión de los casos recientes, e identificar casos que requieran una atención especial.
- Evaluar el seguimiento de los protocolos.
- Evaluar la eficacia de los tratamientos.
- Evaluar patrones epidemiológicos de los casos clínicos.

El sistema de manejo de datos debe de contar con un impreso temporal que podamos usar a pie de vaca con información de la historia médica y que nos permita recoger datos durante el caso clínico. Información que podemos usar a pie del caso clínico para ayudarnos en la decisión del tratamiento incluye:

a) Datos de la vaca:
- Parto.
- DEL.
- Producción de leche.
- Valor relativo de la vaca.

b) Historia clínica:
- Número de veces que fue tratada con anterioridad.
- RCS en el control lechero anterior al caso clínico.
- RCS en el último control lechero de la lactación anterior (para vacas al principio de l a lactación).
- Fecha, cuarterón afectado, gravedad, tratamiento, y datos de curación del caso(s) anterior(es).

c) Datos del caso clínico actual:
- Gravedad.
- Datos de cultivo microbiológico.
- Número de cuarterones afectados.
- Número de cuarterones positivos al CMT.

Está información se almacena en el programa de gestión, y la imprimimos a diario paro los casos nuevos y los que están en seguimiento. Incluimos un espacio donde podemos anotar información correspondiente a la evolución del caso tal como:
- Cambio en el nivel de gravedad del caso.
- Cambio de tratamiento.
- Duración final del tratamiento.
- Tiempo trascurrido hasta la curación clínica.
- Tiempo durante el cual no se echa la leche al tanque.

Es importante desarrollar un plan logístico para incorporar la información recogida del caso actual en la base de datos del rebaño.

Evaluación de datos
Los veterinarios tenemos la oportunidad de evaluar los datos recolectados a pie de vaca por el personal de la ganadería con tres tipos de objetivos diferentes:



Decisiones individuales a nivel de vaca
La opción de contactar al veterinario debe estar siempre incluida en el protocolo de tratamiento. Aunque nuestra tarea es desarrollar un plan de manejo para la ganadería, siempre hay casos que no se ajustan a nuestras descripciones y requieren una valoración individual.
En ganaderías de un tamaño considerable tenemos la oportunidad de establecer visitas rutinarias (al menos una o dos veces a la semana) donde valoramos la evolución de las vacas que se trataron esos días. De igual manera podemos ofrecer a ganaderías grandes un servicio integral de manejo de la mamitis clínica con visitas diarias a la hora que se ordeña el lote de mamitis (hospital).

Evaluación del seguimiento y efectividad de los protocolos
Un sistema adecuado de recogida de datos permite evaluar si el personal encargado de manejar las vacas con mamitis está siguiendo los protocolos. Es decir, si se ajustan a la decisión de tratamiento, duración de tratamiento, evaluación de la progresión del caso, si guardan el período de retirada, pruebas de residuos, etc. Los programas informáticos de manejo del medicamento (inventario, prescripciones, etc.) nos permiten determinar los tipos, cantidad, e indicaciones de los medicamentos que se está usando en la lechería, y comprobar si se ajuntan a lo que está reflejado en los registros de los tratamientos.
La eficacia del tratamiento puede ser evaluada con datos tales como el tiempo trascurrido hasta la curación clínica, el tiempo durante el cual no se echa la leche al tanque (tiempo en el hospital), la tasa de recidiva y la tasa de curación usando en el RCS anterior y posterior a la ocurrencia del caso clínico de mamitis. Por ejemplo, un incremento en la tasa de recidiva nos puede indicar que el tratamiento seleccionado no está siendo efectivo, o que no se siguen los protocolos correctamente. El RCS no sólo nos permite evaluar la curación, pero también nos puede indicar que hay un problema de detección de la mamitis clínica. Así, si un porcentaje alto de las mamitis tienen un RCS elevado en el control anterior al caso clínico podemos sospechar que la detección temprana de la mamitis clínica falla.

Epidemiología de la mamitis clínica en el rebaño
El objetivo de evaluar patrones epidemiológicos de los casos de mamitis clínica es descubrir áreas de manejo sobre las cuales podemos intervenir. Así, una alta incidencia de mamitis después del parto nos pude indicar que debemos enfocar nuestro esfuerzo en los alojamientos y en el manejo de las vacas al secado y durante el período de transición. Los datos epidemiológicos se deben de evaluar al menos una vez al mes, y se deben representar gráficamente de manera que podamos ver cambios en el tiempo.
Algunos ejemplos de preguntas que nos deben de surgir incluyen:
- Incidencia de casos clínicos a nivel de cuarterón / vaca.
- Etiología.
- Distribución de los casos durante la lactación.
- Distribución de los casos por número de partos.
- Distribución estacional de los casos.
- Distribución de los casos por gravedad.
- Tasa de recidiva total, según etiología, según tratamiento, etc.
- Número de vacas que tuvieron más de un caso en la lactación actual.
- Número de vacas que mueren o se eliminan debido a mamitis.

Algunos parámetros básicos usados para monitorizar la mamitis clínica están descriptos en la tabla 1. Definimos un nuevo caso clínico de mamitis a nivel de cuarterón como un cuarterón afectado con mamitis clínica más de 7 días después del inicio del caso anterior. Un nuevo caso clínico de mamitis a nivel de vaca es una vaca afectada en uno o más cuarterones más de 7 días después del caso anterior.



Tabla 1: Definición y objetivo para diferentes parámetros usados para monitorizar la mamitis clínica.

Parámetro	Definición	Objetivo
Incidencia (a nivel de cuarterón)	(n° de casos clínicos a nivel de cuarterón por año / n° total de vacas en el rebaño) * 100	<25%
Porcentaje del rebaño afectado	(n° de vacas con al menos un caso clínico de mamitis / n° total de vacas en el rebaño) * 100	<15%
Relación cuarterones : vacas	(n° de casos clínicos a nivel de cuarterón / n° de vacas con al menos un caso clínico de mamitis) * 100	<1.3
Tasa de recidiva (Tasa de fallo)	(n° de casos clínicos a nivel de cuarterón que recurren / n° de casos clínicos a nivel de cuarterón) * 100	<15%
Tasa de curación acumulada (RCS)	[(n° de casos curados al primer control + n° de casos curados al segundo control) / n° de casos clínicos a nivel de vaca] * 100	>60%

Sumario de las oportunidades para el veterinario en el manejo de la mamitis clínica
Los veterinarios clínicos tenemos una posición estratégica para controlar el manejo de la mamitis clínica debido a nuestros conocimientos técnicos, a las obligaciones de salvaguardar la salud pública, y al tipo de servicios que podemos ofrecer a nuestros clientes debido a nuestra cercanía física (*modus operandi*). Los servicios que podemos ofrecer incluyen:

Elaboración:
- procedimientos operativos estándar (SOPs).
- descripción de protocolos.
- plan de manejo de datos.

Análisis:
- cultivo de casos clínicos de mamitis (y de leche de vacas al parto).
- antibiograma.
- residuos de antibióticos en leche después del tratamiento (y de vacas al parto).

Seguimiento:
- programa integral de manejo de la mamitis clínica (visitas diarias en granjas de un tamaño considerable).
- evolución de las vacas que se trataron recientemente (visitas semanales / dos veces a la semana).

Evaluación:
- protocolos (seguimiento y eficacia).
- manejo del medicamento.
- epidemiología de la mamitis clínica.

Control:
- uso del medicamento.
- seguridad alimentaria.

Bibliografía

- Anderson, K. L., H. Kindahl, A. Petroni, A. R. Smith, and B. K. Gustafsson.1985. Arachidonic acid metabolites in milk of cows during acute coliform mastitis. Am. J. Vet. Res. 46:1573-1577.
- Barkema, H. W., Y. H. Schukken, and R. N. Zadoks. 2006. *Invited review*: The role of cow, pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. J. Dairy Sci. 89:1877–1895.
- Cattell, M. B. 1996. An outbreak of *Streptococcus uberis* as a consequence of adopting a protocol of no antibiotic therapy for clinical mastitis. Pages 123-130 in Proc. 35th Annu. Meet. Natl. Mastitis Counc., Nashville, TN.



- Deluyker, H. A., S. N. Van Oye, and J. F. Boucher. 2005. Factors affecting cure and somatic cell count after pirlimycin treatment of subclinical mastitis in lactating cows. J. Dairy Sci. 88:604–614.
- Erskine, R. J., R. C. Wilson, M. G. Jr Riddell, J. W. Tyler, H. J. Spears, and B. S. Davis 1992. Intramammary gentamicin as a treatment for experimental *Escherichia coli* mastitis in cows. Am. J. Vet. Res. 53:375-381.
- Fabre, J. M., L. Gardey, E. Bousquet, G. Bosquet, D. Lepoutre, H. Seegars and X. Berthelot. 2004. Treatment of subclinical mastitis in lactating cows: evaluation of a new protocol called simultaneous treatment. In: Proceedings of the British Mastitis Conference, Stoneleigh, England, pp 1-18.
- Guterbock, W. M., A. L. Van Eenennaam, R. J. Anderson, I. A. Gardner, J. S. Cullor, and C. A. Holmberg. 1993. Efficacy of intramammary antibiotic therapy for treatment of clinical mastitis caused by environmental pathogens. J. Dairy Sci. 76:3437–3444.
- Hallberg, J. W., Henke C. L., and C. C. Miller. 1994. Intramammary antibiotic therapy: to treat or not to treat? Effects on antibiotic therapy on clinical mastitis. Pages 28-39 in Proc. 26th Annu. Meet. Natl. Mastitis Counc., Orlando, FL.
- Hill, A. W., A. L. Shears, and K. G. Hibbit. 1979. The pathogenesis of experimental *Escherichia coli* mastitis in newly calved dairy cows. Res. Vet. Sci. 26:97-101.
- Hill, A.W. 1981. Factors influencing the outcome of *Escherichia coli* mastitis in the dairy cow. Res. Vet. Sci. 31:107–112.
- Hillerton, J. E., and J. E. Semmens. 1999. Comparison of treatment of mastitis by oxytocin or antibiotics following detection according to changes in milk electrical conductivity prior to visible signs. J. Dairy Sci. 82:93–98.
- Hillerton, J. E., and K. E. Kleim. 2002. Effective treatment of *Streptococcus uberis* clinical mastitis to minimize the use of antibiotics. J. Dairy Sci. 85:1009–1016.
- Lago A., Rhoda D., Cook N.B. (2004a). Using DHIA Recorded Individual Cow Somatic Cell Counts to Determine Clinical Mastitis Treatment Cure Rates. In: Proceedings of the 43rd Annual Meeting of the National Mastitis Council, Charlotte, NC, pp 290-291.
- Lago A., Rhoda D., Cook N.B. (2004b). Treatment Decisions and Clinical Mastitis Cure Rate Monitoring Using DHIA SCC Data. In: Proceedings of the 37th Annual Convention of the American Association of Bovine Practitioners, Fort Worth, TX, pp 187.
- Lago A., Gaska J., Cook N.B. (2005a). Cumulative Cure Rates for the Major Pathogens Causing Mastitis. In: Proceedings of the 44th Annual Meeting of the National Mastitis Council, Orlando, FL, pp 245-246.
- Lago A., Cook N.B. (2005b). A History Based Approach to Mastitis Therapy Using Cumulative Cure Rate. In: Proceedings of the 44th Annual Meeting of the National Mastitis Council, Orlando, FL, pp 243-244.
- Lago A., Godden S.M., Bey R., Ruegg P., Leslie K., Dingwell R. (2008). Effect of Using an On-Farm Culture Based Treatment System on Antibiotic Use and Bacteriological Cure for Clinical Mastitis. *In:* Proceedings of the 47th Annual Meeting of the National Mastitis Council, New Orleans, LA, pp 163-164.
- Milner, P., K. L. Page, and J. E. Hillerton. 1997. The effects of early antibiotic-treatment following diagnosis of mastitis detected by a change in the electrical-conductivity of milk. J. Dairy Sci. 80:859–863.
- Morin, D. E., R. D. Shanks, and G. C. McCoy. 1998. Comparison of antibiotic administration in conjunction with supportive measures versus supportive measures alone for treatment of dairy cows with clinical mastitis. JAVMA 213:676–684.
- Oliver, S. P., R. A. Almeida, B. E. Gillespie, S. J. Headrick, H. H. Dowlen, D. L. Johnson, K. C. Lamar, S. T. Chester, and W. M. Moseley. 2004. Extended ceftiofur therapy for treatment of experimentally-induced *Streptococcus uberis* mastitis in lactating dairy cattle. J Dairy Sci. 87:3322-3329.
- Pol, M., and P. L. Ruegg. 2007. Relationship between antimicrobial drug usage and antimicrobial susceptibility of gram-positive mastitis pathogens. J. Dairy Sci. 90:262–273.
- Pyörälä, S., L. Kaartinen, H. Kack, and V. Rainio. 1994. Efficacy of two therapy regimens for treatment of experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in cows. J. Dairy Sci. 77:453-461.
- Pyörälä, S. and E. Pyörälä. 1998. Efficacy of parenteral administration of three antimicrobial agents in treatment of clinical mastitis in lactating cows: 487 cases (1989-1995). J. Am. Vet. Med. Assoc. 212: 407-412.
- Reneau, J. K. 1993. Clinical mastitis records in production medicine programs. Compedium of Continuing Education for the Practicing Veterinarian, Trenton, v. 15, pp. 497-504.



- Roberson, J. R., L. K. Fox, D. D. Hancock, and C. C. Gay. 1994. Coagulase-positive Staphylococcus intramammary infections in dairy heifers. J. Dairy Sci. 77:958–969.
- Shenep, J. L., and K. A. Mogan. 1984. Kinetics of endotoxin release during antibiotic therapy for experimental Gram-negative bacterial sepsis. J. Infect. Dis. 150:380-388.
- Shenep, J. L., R. P. Barton, and K. A. Mogan. 1985. Role of antibiotic class in the rate of liberation of endotoxin during therapy for experimental Gram-negative bacterial sepsis. J. Infect. Dis. 151:1012-1018.
- Smith, K. L., D. A. Todhunter and P. S. Schoenberger. 1985. Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. J. Dairy Sci. 68:1531–1553.
- Van Eenennaam, A. L., I. A. Gardner, J. Holmes, L. Perani, R. J. Anderson, J. S. Cullor, and W. M. Guterbock. 1995. Financial analysis of alternative treatments for clinical mastitis associated with environmental pathogens. J. Dairy Sci. 78:2086–2095.
- Wilson, D. J., R. N. Gonzalez, K. L. Case, L. L. Garrison, and Y. T. Gröhn. 1999. Comparison of seven antibiotic treatments with no treatment for bacteriologic efficacy against bovine mastitis pathogens. J. Dairy Sci. 82:1664–1670.



FALLO REPRODUCTIVO TEMPRANO POR TRICOMONOSIS Y CAMPILOBACTERIOSIS EN VACUNO EXTENSIVO

L.M. Ortega-Mora[1] y F.J. García Peña[2]
[1]SALUVET, Dpto. de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid, Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid, luis.ortega@vet.ucm.es
[2]Laboratorio Central de Veterinaria de Algete, Carretera Madrid-Algete Km 8,00, 28110-Algete (Madrid), fgarciap@mapya.es

Introducción

La tricomonosis y la campilobacteriosis bovinas son enfermedades venéreas del ganado vacuno, frecuentes en los sistemas extensivos de explotación que cursan con fallo reproductor transitorio. Ambas enfermedades fueron descritas por primera vez hace más de 100 años en diversos países europeos y desde entonces su presencia se ha diagnosticado en todos los países donde se explota el ganado bovino. En la actualidad, ambas infecciones han sido prácticamente erradicadas en aquellos tipos de manejo y aptitudes de ganado donde es común la práctica de la inseminación artificial, como sucede, por ejemplo, en amplias zonas del continente europeo. Sin embargo, siguen presentes de forma endémica en aquellas áreas donde se mantiene el ganado en condiciones extensivas o se recurre de forma rutinaria a la monta natural, como sucede en amplias zonas de España.

En los rebaños infectados, la principal observación consiste en la disminución de la tasa de fertilidad, con alargamiento del período entre partos y como consecuencia disminución del número de terneros/año. A nivel individual, ambas enfermedades cursan de forma asintomática en el semental. Por el contrario, en las vacas infectadas, aunque las infecciones son en la mayor parte de los casos autolimitantes, el embrión o el feto se pierden casi siempre en el primer tercio de la gestación, acompañándose de reabsorción o aborto temprano que pasa desapercibido, calificándose el animal como repetidor, infértil o no preñado. Este hecho va acompañado de escasos signos clínicos consistentes en vaginitis, cervicitis y/o endometritis moderada, unidos, en ocasiones, a una descarga vulvo-vaginal mucosa o mucopurulenta, aunque lo habitual es que

no existan signos clínicos manifiestos de la infección. En un 5-10% de las vacas con tricomonosis existe mantenimiento del cuerpo lúteo y maceración fetal, lo que ocasiona la presencia de una piómetra, que, en algunos casos, origina la esterilidad del animal.

Etiología y transmisión

El agente etiológico de la tricomonosis bovina es Tritrichomonas foetus, protozoo de localización genital perteneciente a la familia Trichomonadidae. Morfológicamente, tiene un aspecto piriforme u ovoide (8-18 μm x 4-9 μm) y presenta externamente una serie de órganos locomotores: tres flagelos libres, anteriores, y un flagelo recurrente que se dirige hacia el extremo posterior de la célula asociado a la membrana celular por una membrana ondulante que se continúa posteriormente como flagelo libre.

La localización del parásito en los bóvidos se circunscribe a determinados tramos del tracto genital. En el toro, la localización preferente es la cavidad prepucial, habiéndose detectado en el orificio uretral sólo en un reducido número de animales. Los organismos se concentran mayoritariamente en la mucosa peneana y zonas adyacentes de la mucosa prepucial posterior. El parásito no tiene carácter invasivo, limitando su localización a la superficie de la mucosa, a las secreciones prepuciales y a la luz glandular. En la hembra, una vez producido el contagio, las tricomonas colonizan prácticamente todo el aparato genital en un periodo de dos semanas. Según lo observado en infecciones naturales, el parásito se concentra preferentemente en los plieques del cérvix. La infección es autolimitante, desapareciendo simultáneamente el parásito de todas las áreas del tracto genital al cabo de un periodo mínimo de 90-95 días.

Por su parte, *Campylobacter fetus* subespecie *venerealis* es una bacteria parásita obligada del tracto genital del ganado bovino. En toros, la bacteria coloniza el pene y el prepucio, localizándose la mayor concentración de gérmenes en el glande del pene y el fórnix del prepucio. En el caso de la hembra, se localiza en vagina, cérvix, útero y oviducto. La infección también es autolimitante, desapareciendo la bacteria del aparato genital en un periodo de entre 2 a 6 meses.

En condiciones naturales, estas enfermedades se transmiten directamente de animal infectado a animal sano casi exclusivamente mediante la cópula. Los toros se infectan cuando cubren a vacas infectadas, quedando como portadores y constituyendo la principal fuente de infección para otras vacas receptivas. En el caso de *C. fetus*, los toros infectados pueden trasmitir la infección a otros machos, debido al hábito de montarse unos a otros cuando se mantienen juntos en un cercado. No se ha demostrado la transmisión directa entre vacas. Ocasionalmente, sin embargo, puede transmitirse por otros mecanismos; por ejemplo, de forma mecánica durante la práctica de la inseminación artificial o de la exploración vaginal, si se utiliza material contaminado; o bien, a través de un toro sano, desde una vaca infectada a otra receptiva, si entre las dos montas no transcurre demasiado tiempo. Por último, aunque estos patógenos no están presentes en el semen, pueden contaminarlo a partir del líquido prepucial durante la recolección manual. Dada la resistencia de ambos patógenos en el semen fresco, puro o diluido, refrigerado e, incluso, crioconservado, existe la posibilidad de transmisión mediante inseminación artificial con semen contaminado.

Prevalencia

La tricomonosis y la campilobacteriosis genital bovina son enfermedades cosmopolitas, habiéndose denunciado su presencia en países de los cinco continentes. La mayoría de los estudiosos de estas enfermedades coinciden en señalarlas como endémicas en aquellas zonas donde el ganado bovino se explota en régimen extensivo y la monta natural se utiliza de forma habitual. Sin embargo, la introducción hace algunas décadas de la inseminación artificial en el ganado bovino lechero y en pequeños rebaños de carne así como el establecimiento de ciertas medidas preventivas -evitar el pastoreo en pastos comunales, cuarentena de los animales nuevos, diagnóstico periódico de los sementales- han contribuido a que ambas enfermedades se hayan erradicado en muchas zonas donde con anterioridad constituían una causa importante de infertilidad en los rebaños bovinos.

En la Tabla I se recogen algunos de los datos más recientes sobre la prevalencia de la infección por *T. foetus* en diversos países. En el caso de la campilobacteriosis genital bovina, los últimos datos de HANDISTATUS II relativos a Europa en el año 2004 indican 8 focos en Alemania y uno en España. En el caso de América, no

hay datos relativos a número de focos, pero se ha notificado en Argentina, Brasil, Canadá, Estados Unidos, Paraguay, Uruguay y Venezuela. Por último, también recoge focos en Austalia, Nueva Zelanda, Japón y varios países africanos (Kenia, Namibia y Sudáfrica).

Situación de la tricomonosis y campilobacteriosis bovinas en España

En nuestro país, pese haber sido señalada la presencia de ambas enfermedades en diversas provincias, los datos de prevalencia disponibles son escasos y, entre los que existen, muchos están ya obsoletos y la metodología diagnóstica empleada fuera de uso.

En el caso de la tricomonosis bovina, la primera descripción se realizó en 1946 por Escartín Barles en la provincia de Huesca. Luna Infante en 1956 señala, sobre 1804 abortos estudiados en la provincia de La Coruña, una prevalencia del 46% para el aborto tricomonósico, del 27% para el brucelar y del 27% para los abortos de etiología inespecífica. Al igual que en otros países la instauración de la inseminación artificial y otras medidas de control, han conseguido disminuir considerablemente la prevalencia de esta infección, pero aún así se han seguido denunciando brotes de tricomonosis en diferentes áreas de España. No hay datos disponibles en relación a la campilobacteriosis genital bovina.

En los últimos años, hemos tenido la ocasión de diagnósticar diversos casos de tricomonosis y campilobacteriosis en zonas de cría de ganado extensivo en nuestro país que describimos brevemente de forma cronológica:

Caso 1. En el año 1998, realizamos un estudio en el norte de la provincia de León. En esta zona la monta natural y el uso de pastos comunales son prácticas de manejo habituales. En total se muestrearon 70 sementales mayores de un año, resultando positivos a *T. foetus* dos de ellos (2,9%). Sin embargo, la sensibilidad de los métodos de muestreo y las técnicas utilizadas era baja y posiblemente en este estudio se minusvalorara la prevalencia real en la zona.

Caso 2. Entre los años 2002 y 2008 hemos recogido muestras de 133 toros pertenecientes a 27 explotaciones del Oeste de España (fundamentalmente, Extremadura, Andalucía Occidental y Salamanca). En todos los casos, la causa del muestreo fue el aumento en el número de repeticiones y la disminución de la fertilidad. En este estudio, se ha demostrado, utilizando medios más sensibles y adecuados, la presencia de *T. foetus* en 10 de los rebaños (37% de prevalencia de rebaño) y en 26 toros (20% de prevalencia individual). Por su parte, la presencia de *C. fetus* var. *venerealis* se diagnosticó en 10 rebaños (37% de prevalencia de rebaño) y 21 sementales (16% de prevalencia individual)

Caso 3. Recientemente, hemos evaluado la prevalencia de las infecciones por *T. foetus* y *C. fetus* en sementales de la raza Asturiana de la Montaña. Para ello, se muestrearon 103 toros de la raza Casina procedentes de diversas explotaciones de la zona oriental del Principado de Asturias. Los requisitos de los animales para ser incluidos en el muestreo fueron los siguientes: tener más de dos años, haber sido utilizado como semental en la anterior estación reproductora y haber observado un reposo sexual de 14 días antes del muestreo.

Los resultados obtenidos demostraron la presencia de tritrichomonas en 29 animales por cultivo y en 30 animales por la técnica de PCR. En todos los casos se confirmaron los animales positivos por cultivo. Esto supone una prevalencia individual del 29% en animales escogidos al azar. En cuanto al diagnóstico de *C. fetus* no se pudo determinar su presencia en ninguna de las muestras analizadas.

Todos los datos anteriormente expuestos confirman la necesidad de incluir ambas enfermedades en el diagnóstico rutinario del fallo reproductivo en explotaciones con monta natural.

Factores que influyen en la presentación

Existen diversos factores que contribuyen a la presentación de ambas enfermedades que se comentan a continuación:

Edad de los toros. El porcentaje de toros infectados aumenta con la edad. Dos son las razones que justifican esta asociación; por un lado, la posibilidad de exposición al agente etiológico a medida que aumenta la edad del animal y, por otro, el desarrollo, en los toros de más edad, de criptas glandulares más profundas en la mucosa prepucial hecho que favorece la implantación y desarrollo de estos patógenos.

Portadores asintomáticos. La existencia de portadores asintomáticos permite el mantenimiento de la infección en los rebaños afectados. En los machos, la infección persiste durante largos periodos de tiempo y, en el caso de las hembras, se ha puesto de manifiesto la posibilidad de que puedan actuar como portadoras



asintomáticas, manteniendo la infección durante toda la gestación e incluso más allá del parto. En un trabajo reciente, *T. foetus* fue detectado, en novillas infectadas naturalmente, en el día 300 post-cubrición. Aunque la prevalencia de vacas portadoras se cree inferior al 1%, su importancia epidemiológica es evidente puesto que constituyen una fuente de infección o reinfección para los toros durante largos periodos de tiempo.

Dosis infectante. Se ha comprobado que cuanto mayor es la dosis infectante, el porcentaje de animales infectados y la duración de la infección en éstos es también mayor.

Prácticas ganaderas. Determinados hábitos relacionados con el manejo de los animales facilitan la transmisión de estas infecciones y dificultan su control. Entre ellos, cabe destacar la utilización de toros comunales, el uso de los mismos pastos por distintos rebaños y la falta de cuarentena y pruebas diagnósticas en los sementales de nueva adquisición.

Diagnóstico

El primer indicio de la presencia de tricomonosis y/o campilobacteriosis en un rebaño es el descenso en la fertilidad de éste, observándose una disminución en el número de gestaciones, un aumento de vacas repetidoras y/o una prolongación del periodo entre partos. El aborto es raro y, en el caso de la tricomonosis, un porcentaje reducido de hembras -entre el 5 y el 10%- desarrollan una piómetra post-cubrición.

El diagnóstico definitivo debe basarse en el aislamiento e identificación de estos patógenos en las secreciones prepuciales o en el mucus cérvico-vaginal de los animales sospechosos. En caso de existir aborto, el agente etiológico puede aislarse también a partir de la placenta, los líquidos placentarios y/o el contenido abomasal del feto.

Recogida de muestras

Si se quiere diagnosticar la presencia de la infección en un rebaño es preferible muestrear a los sementales en vez de a las hembras debido a la persistencia de la infección en el toro durante períodos de tiempo prolongados. En sementales, las muestras de esmegma prepucial pueden obtenerse por raspado, succión o lavado. Antes de realizar la recogida de las muestras, es conveniente mantener al toro en reposo sexual, al menos durante dos semanas, con objeto de que el número de tricomonas y/o campilobacterias presentes en el saco prepucial aumente. Además, justo antes de la toma de esmegma, es aconsejable limpiar externamente el saco prepucial para evitar contaminaciones y realizar un masaje de éste, con objeto de que los patógenos presentes en las criptas glandulares se desprendan. El esmegma prepucial puede obtenerse por succión utilizando un catéter o pipetas de Bartlett estériles o mediante el uso de un raspador. La pipeta se introduce hasta llegar al fórnix del prepucio y al mismo tiempo que se realiza un masaje vigoroso, se aspira con una jeringa conectada a la misma. El líquido blanquecino y espeso que aparece en la punta de la pipeta, se depositará lavando la misma en un medio de transporte adecuado para su envío al laboratorio. El método de raspado es similar al anterior y proporciona mejores resultados, aunque las posibilidades de contaminación de la muestra son mayores. En cuanto al lavado prepucial, se realiza introduciendo 20-30 ml de PBS o solución salina estéril de pH de 7,2 en la bolsa prepucial. Tras realizar un masaje vigoroso durante 15-20 segundos, se recoge el PBS o la solución salina en un frasco estéril. De los tres métodos descritos es el menos recomendable por la dilución de la muestra que supone y las posibilidades de que ésta se contamine.

En la hembra, para la recogida del mucus cérvico-vaginal puede utilizarse una pipeta de inseminación artificial o un simple guante de plástico. Si existe piómetra debe aspirarse la muestra directamente del útero.

Uso de medio de transporte

El intervalo de tiempo entre la recolección y su llegada al laboratorio, así como las condiciones de almacenamiento durante este período, pueden influir directamente en el resultado, observándose una reducción en la sensibilidad de la técnica utilizada cuando las muestras se refrigeran durante 24 horas o más. En el caso de *T. foetus*, como medio de transporte se han utilizado la solución salina tamponada a 4ºC suplementada con suero fetal bovino o la solución lactato de Ringer, para periodos inferiores a 24 horas, y el medio de Kupferberg, para periodos de tiempo superiores. Otros autores recomiendan la utilización (a temperaturas de refrigeración) de medios preparados con leche previamente hervida. Recientemente, se ha

comercializado un sistema de recogida basado en pequeñas cartucheras (InPouch TF test) que puede utilizarse tanto para el transporte de las muestras como para el cultivo del parásito. Su sensibilidad es similar a la que se obtiene mediante cultivo en medios clásicos como el de Diamond.
C. fetus subsp. *venerealis* tiene una viabilidad limitada fuera del hospedador, debido principalmente a que una exposición prolongada a los niveles de oxígeno atmosférico es tóxica para el germen. Además, otros gérmenes presentes en el aparato genital de forma normal, pueden multiplicarse más rápidamente y dificultar su detección. Por ello, si las muestras no se cultivan antes de las 6 horas de su obtención, es imprescindible usar un medio de transporte para su envío al laboratorio. Existen varios medios como el medio de Clark (Australia), medio de Lander (Reino Unido), medio SBL modificado (Francia) o el medio de Foley y Clark (Estados Unidos), pero ninguno de ellos está disponible comercialmente. En consecuencia, para la toma de muestras es aconsejable contactar previamente con el laboratorio que va a realizar el diagnóstico.

Cultivo e identificación
Los medios más utilizados para el cultivo de *T. foetus* han sido el medio de Diamond y el medio modificado de Plastridge. El medio de Diamond permite obtener un porcentaje de éxito elevado, en torno al 93%, como confirma un estudio reciente sobre 14 toros infectados naturalmente de los que se recogieron muestras semanalmente durante 10 meses. Sin embargo, en la actualidad el método más utilizado es el de cultivo en el sistema In Pouch.
Las muestras cultivadas deben ser examinadas diariamente durante 7 días, considerándose la muestra negativa si el parásito no ha sido detectado en ese periodo de tiempo. El examen se puede realizar observando el fondo del tubo de cultivo en el microscopio invertido, o bien examinando, mediante el microscopio normal, una gota del fondo del tubo colocada entre porta y cubre.
La posibilidad de obtener un resultado positivo en un macho a partir del cultivo de una sola muestra ha sido calculada entre un 81,6 y un 90%, siendo importante realizar al menos tres recogidas de muestras separadas entre sí una semana para minimizar el riesgo de obtener un resultado falso negativo. Tanto en fresco como en cultivo, las tricomonas se reconocen a 200-400 aumentos por su tamaño y morfología -cuerpo piriforme, membrana ondulante, tres flagelos libres en la parte anterior-, así como por su movimiento rotacional característico. Es necesario diferenciar a *T. foetus* de otros protozoos no patógenos con morfología similar aunque, en muchos casos, estos últimos no crecen en los medios de cultivo. Debido a este hecho, deben confirmarse siempre el hallazgo en cultivo mediante una técnica PCR específica de *T. foetus* que permite diferenciar a esta especie del resto de posibles especies de tricomonádidos contaminantes.
En el caso de *C. fetus*, las muestras o el medio de transporte se cultivarán en medios sólidos selectivos, tales como agar Skirrow o agar selectivo de Clark. Las placas se incubarán a 37º C en una atmósfera con un 5% de O_2, 8% de CO_2 y 87% de N_2 durante 5-7 días. La identificación del germen puede realizarse mediante pruebas bioquímicas y de crecimiento. Sin embargo, mientras que estas pruebas permiten diferenciar fácilmente entre *C. fetus* y *C. sputorum* biovariedad *bubulus*, los resultados que se obtienen en la diferenciación de subespecies son poco consistentes. Actualmente, para la identificación de las subespecies se pueden utilizar otras técnicas más apropiadas, como la electroforesis en campo pulsante (PGFE), análisis del polimorfismo de fragmentos amplificados (AFLP) y técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR)
La inmunofluorescencia directa presenta las ventajas de que no son necesarias bacterias viables en la muestra y que el diagnóstico es mucho más rápido. Sin embargo, tiene como inconvenientes que los sueros hiperinmunes conjugados con fluoresceína no están disponibles comercialmente y que no permite la diferenciación entre las dos subespecies de *C. fetus*.

Métodos indirectos de detección
En cuanto a los métodos indirectos, hay que mencionar, en primer lugar, la mucoaglutinación basada en la detección de anticuerpos vaginales en el mucus cérvico-vaginal. Estos anticuerpos vaginales suelen estar presentes desde las 6-8 semanas postinfección y permanecen durante 10-12 meses. El método cuenta con varios inconvenientes ya que sólo pone en evidencia al 60% de hembras infectadas naturalmente y, además, presenta reacciones cruzadas entre ambos patógenos.



La reacción intradérmica ha sido otro de los métodos indirectos utilizados. Su fundamento es la reacción de hipersensibilidad que provoca en los animales infectados la inoculación de tricina -un precipitado con ácido tricloroacético de *T. foetus*- o de antígeno soluble del parásito. Su utilidad en el diagnóstico individual es escasa ya que los animales, una vez recuperados de la infección, siguen siendo positivos durante periodos de tiempo variables. Además, en un estudio reciente, se observó que este método no es útil para el diagnóstico de la infección en los toros ya que no se encuentran diferencias en el diámetro de la pápula entre los animales infectados y los controles.
Por último, hay que realizar un comentario de los métodos de detección de los anticuerpos séricos y/o locales -principalmente vaginales- en animales infectados natural o experimentalmente. En ambas enfermedades, el diagnóstico serológico prácticamente no se utiliza. Existen distintos estudios que señalan la escasa diferencia entre los niveles de IgA, IgG e IgM anti-*T. foetus* antes y después de la infección. Utilizando la técnica de microaglutinación, se ha observado que en las novillas se produce una elevación progresiva del título de anticuerpos hasta alcanzar un máximo a las 11 semanas post-infección ocho veces superior. A partir de este momento, el título decrece hasta alcanzar los valores preinfección. En los toros, la cinética es parecida, con valores máximos a las 9 semanas post-infección solamente cuatro veces superiores al valor basal y disminuyendo transcurridas 7 semanas. En *C. fetus*, se ha desarrollado un ELISA para detección de Ig A en moco vaginal. Esta prueba es más sensible, pero al no estar disponible comercialmente su utilización es restringida. En cualquier caso, ninguna de las pruebas es útil para diagnóstico individual, debiendo utilizarse como pruebas de rebaño.

Diagnóstico diferencial
Otros agentes infecciosos de transmisión venérea como *Hemophilus somnus*, *Ureaplasma diversum*, *Mycoplasma bovigenitalium* y el herpesvirus bovino I (biotipo 2), deberían ser tenidos en cuenta aunque su presencia es esporádica y no epidémica y desde luego menos frecuente que la de *T. foetus* o *C. fetus.* Su aislamiento e identificación se realiza a partir de cultivos de fluidos vaginales de las hembras del rebaño.
También deben descartarse otras causas no infecciosas o parasitarias de fallo reproductivo, como la nutrición inadecuada y/o insuficiente tanto de las hembras como de los machos. El mejor método para excluir esta causa es realizar exámenes periódicos de la condición corporal, principalmente tras el parto, en la cubrición y durante el examen de gestación. En caso de sospecha de alguna deficiencia es necesario comprobar los niveles de minerales en el plasma o en el suero de un número representativo de animales y en diferentes periodos del año. La infertilidad del macho debida a factores estresantes del medio como la temperatura también debe ser considerada.

1. Control y prevención
En el control de la tricomonosis y la campilobacteriosis genital bovinas hay que tener en cuenta el carácter diferencial de la infección en el macho y en la hembra y la distinta problématica que se plantea en los rebaños de leche y de carne, con todas sus variantes, y entre la ganadería intensiva y extensiva. Sin duda, en todos los casos, la mejor medida para la prevención es impedir su entrada a través de una hembra o, más frecuentemente, de un macho infectado mediante la aplicación de medidas de cuarentena y la realización de un diagnóstico previo a la incorporación del animal al rebaño. Una vez detectada la presencia de la infección en una explotación hay que seguir tres pasos para controlarla; el primero consiste en detener la transmisión de la infección mediante la detección de los animales infectados y su separación de la reproducción; el segundo sería eliminar la infección en los animales infectados (o eliminar a estos últimos); y el tercero prevenir la reintroducción de la infección.

Manejo del rebaño
En los rebaños lecheros intensivos y en algunos rebaños de carne de pequeño tamaño, la práctica de la inseminación artificial ha servido para reducir casi totalmente la presencia de enfermedades venéreas. De hecho esta práctica previene la aparición de la tricomonosis y facilita su control una vez introducida la enfermedad. No obstante, hay que seguir manteniendo determinadas precauciones, principalmente el control periódico de los sementales donadores.
En rebaños donde no es posible la introducción de la inseminación artificial, se recomienda la separación del

rebaño en dos: uno con los animales infectados y otro con el resto. Las hembras libres de la infección deben de ser cubiertas por toros vírgenes o por machos jóvenes que tampoco estén infectados, siendo necesarios al menos tres diagnósticos con resultado negativo para poder considerar a los animales libres de la infección. Las vacas infectadas pueden pasar al grupo de animales no infectados una vez hayan eliminado la infección, considerándose una buena medida el dejar transcurrir 70 días después de un parto normal. Conviene eliminar aquellas vacas que no quedan preñadas durante mucho tiempo y las que abortan de manera repetida. Los toros positivos deben ser eliminados, a no ser que su valor aconseje el tratamiento.
El control de ambas enfermedades en rebaños de carne en extensivo, sobre todo en aquellos casos en que existen pastos compartidos con otros rebaños, entraña mayor dificultad. En este sentido hay que tener en cuenta que los pastos comunales con varios rebaños presentes y sobre todo si son de estatus sanitario desconocido constituyen uno de los principales factores de riesgo. En la ganadería extensiva también se recomienda la separación y eliminación de los toros infectados. Otra medida acertada puede ser el reemplazo de todos los toros infectados por animales jóvenes de entre 1 y 3 años de edad y la eliminación de las vacas que no estén preñadas en el momento de realizar el diagnóstico de gestación. Otras medidas incluyen la adquisición de toros con certificado de no estar infectados, no utilizar toros comunales a menos que se conozca su procedencia y lista de servicios, realizar un diagnóstico anual en todos los reproductores y mantener el vallado en buenas condiciones para evitar la posible entrada de animales infectados. En todos los tipos de manejo donde se practique la monta natural es aconsejable la realización de análisis periódicos en los machos.

Tratamiento
En *C. fetus*, otra alternativa de control es intentar eliminar la infección mediante tratamiento antibiótico, principalmente en los toros. El inconveniente es que los animales tratados continúan siendo totalmente susceptibles y volverán a infectarse al cruzarse con un animal infectado. El tratamiento consistirá en una inyección parenteral de 25 mg/kg de estreptomicina junto con una infusión prepucial de una solución de 5 g/l de sulfato de estreptomicina. También, se ha utilizado un tratamiento con dos inyecciones intramusculares de oxitetraciclina a dosis de 20 mg/kg con resultados similares. La erradicación de la infección tratando a todos los animales de la explotación simultáneamente, excepto a los toros y novillas vírgenes, es una posibilidad, pero es problemático y en algunos casos económicamente inviable.

Vacunación
Teniendo en cuenta las limitaciones e inconvenientes de los métodos anteriores, el procedimiento de control más útil y realista sería la vacunación sistemática del rebaño, aunque en Europa no existe ninguna vacuna registrada para su uso frente a ninguna de estas enfermedades en ganado vacuno.
A partir de 1989, se ha comercializado en los Estados Unidos de Norteamérica una vacuna muerta frente a *T. foetus* preparada a partir de organismos enteros que ha mostrado eficacia en las hembras y cuya administración reduce en un 90% el porcentaje de animales infectados. Esta vacuna puede obtenerse en presentación monovalente pero también polivalente unida a *C. fetus* y *Leptospira*. En Sudáfrica, la aplicación de otra vacuna similar en las hembras, permite obtener diferencias significativas en el porcentaje de animales infectados, duración de la infección y promedio de servicios necesarios para establecer una gestación. Aunque el ideal sería la obtención de una eficacia total mediante la aplicación de estas vacunas, su aplicación práctica en países con ganadería extensiva se ha mostrado útil y, actualmente, es considerado su uso en todos los planes prácticos de prevención de ganadería extensiva de carne en Norteamérica. El único inconveniente que presentan este tipo de vacunas es su escasa eficacia frente a la infección por *T. foetus* en los machos.
En *C. fetus*, las vacunas son bacterinas y pueden tener tanto efecto preventivo como curativo. Su eficacia depende principalmente del adyuvante utilizado, concentración de antígenos de *C fetus* y de la calidad y disponibilidad de los antígenos para el sistema inmune. Así, las vacunas más eficaces serán las elaboradas con cepas regionales de *C fetus* y con más de 40 mg de peso seco de antígeno por dosis incluido en adyuvante oleoso. En explotaciones infectadas, todos los animales dedicados a reproducción incluyendo toros, vacas y novillas se vacunarán con una primera dosis. A las 4 semanas, además de administrar la segunda dosis de la vacuna, se tratará con antibioticos a los toros, ya que en algunas ocasiones la vacuna falla en eliminar una infección ya establecida. Pasado un año, se procederá a la revacunación pero solo será necesario vacunar a los toros y novillas de reemplazo. A partir del tercer año, únicamente se vacunarán



los toros con una periodicidad anual, aunque algunos autores consideran que una revacunación cada dos años es suficiente. En todos los casos, es aconsejable vacunar entre los 30-120 días antes de la cubrición para asegurarse de que el animal esté protegido en el momento de la fecundación. En explotaciones libres de la infección, únicamente será necesario vacunar los toros una vez al año.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA

- APPELL LH et al: A comparison of techniques used for the diagnosis of *Tritrichomonas foetus* infections in beef bulls. *Agri-Practice* 14: 30-34, 1993.
- CARROLL E J AND HOERLEIN A B (1972) Diagnosis and control of bovine genital vibriosis. J.A.V.M.A., 161 (11): 1359-1364
- CLARK B L (1971) Review of bovine vibriosis. Aust Vet J, 47: 103-107
- COBO ER, CIPOLLA A, MORSELLA C, CANO D AND CAMPERO C (2003) Effect of two commercial vaccines to *Campylobacter fetus* subspecies on heifers naturally challenged. J Vet Med B, 50: 75-80
- CORBEIL LB: Vaccination strategies against *Tritrichomonas foetus*. *Parasitol. Today* 10: 103-106, 1994.
- CORBEIL LB AND BONDURANT RH (2001) Inmunity to bovine reproductive infections. Vet Clin North Am Food Anim Prac,17 (3): 97-583
- DEKEYSER P J (1986) Bovine genital campilobacteriosis.Current Therapy in theriogenology. DA Murrow (Ed). W.B. Saunders Company. Philadelphia, pp 263-266.
- EAGLESOME M, GARCIA M (1992*)* Microbial agents associated with bovine genital tract infections and semen. Part I. *Brucella abortus, Leptospira, Campylobacter fetus* and *Trichomonas foetus*, Vet Bull, 62 (8): 743-755.
- ESCARTIN BARLES J: Tricomoniasis bovina en España. *Cienc. vet.* 7: 395-412, 1946.
- GOODGER WJ, SKIRROW SZ: Epidemiologic and economic analyses of an usualy long epizootic of trichomoniasis in a large California dairy herd. J.A.V.M.A. 189: 772-776, 1986.
- HOERLEIN A B (1986) Vibriosis (Bovine genital vibriosis and Ovine Vibrionic Abortion) Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice, ED. W.B. Saunders Company. Philadelphia, pp 596-598.
- HOFFER M A 1981. Bovine Campylobacteriosis*:* A Review. Can Vet J 22: 327-330.
- HUM S, STEPHENS LR AND QUINN C (1991) Diagnosis by ELISA of bovine abortion due to *Campylobacter fetus.* Aust Vet J. 68 (8): 272-275.
- MCCOOL CJ, TOWNSEND M P, WOLFE S G, SIMPSON M A, OLM T C, JAYAWARDHANA G A AND CARNEY J V (1988). Prevalence of bovine venereal disease in the Victoria River District of the Northern territory: likely economic effects and practicable control measures. Aust Vet J. 65 (5): 153-156.
- MONKE H J, LOVE B C, WITTUM T E, MONKE D R AND BYRUM B A (2002) Effect of transport enrichment medium on the detection of *Campylobacter fetus* subsp. v*enerealis.* J Vet Diagn Invest. 14: 35-39
- MYLREA PJ: The differential diagnosis of the causes of herd infertility in cattle. Aust. Vet. J. 38: 15-20, 1962.
- SANDERSON MW, GNAD DP (2002) Biosecurity for reproductive diseases. Vet Clin North Am Food Anim Prac. 18: 79-98.
- ORTEGA MORA L.M. et al: Tricomonosis bovina I y II. Med. Vet. 9:, 1995.
- ORTEGA MORA, L.M. (ed.) (1998). Patología de la reproducción de etiología parasitaria: Tricomonosis. Bovis. Ed. Luzán.
- ORTEGA-MORA, L.M., GOTTSTEIN, B. CONRATHS, F.J., BUXTON, D. (2007). Protozoal abortion in farm ruminants. CABI, Oxfordshire, Reino Unido.
- PARSONSON IM et al: The pathogenesis of *Tritrichomonas foetus* infection in the bull. Aust. Vet. J. 50: 421-423, 1974.
- PARSONSON IM et al: Early pathogenesis and pathology of *Tritrichomonas foetus* infection in virgin heifers. J. Comp. Path. 86: 59-66, 1976.
- PEREZ E et al: Prevalence and risk factors for *Trichomonas foetus* infection in cattle in northeastern Costa Rica. Prev. Vet. Med. 14: 155-165, 1992.
- PIERCE AE: Demonstration of an agglutinin to *Trichomonas foetus* in vaginal mucus. Nature 158: 343, 1946.
- RAE DO: Impact of trichomoniasis on the cow-calf producer's profitability. J.A.V.M.A. 194: 771-775, 1989..
- RHYAN JC et al: Fetal and placental lesions in bovine abortion due to *Tritrichomonas foetus*. Vet. Pathol. 25: 350-355, 1988.



- SCUTTE A P, VAN DER WALT M L AND BISHOP G C, (1994) Genital campylobacteriosis in cattle, Infectious diseases of livestock with special reference to Southern Africa. Vol. 2. Ed. Coetzer J A W, Thomson GR, Tustin RC. Oxford University Press, pp: 1010-1017.
- SKIRROW SZ: Identification of trichomonad-carrier cows. J.A.V.M.A.. 191: 553-554, 1987.
- SKIRROW SZ, BONDURANT RH: Bovine trichomoniasis. Vet. Bull. 58: 591-603, 1988.
- SMITH G, DOBSON AP: Sexually transmitted diseases in animals. Parasitol. Today 8: 159-166, 1992.
- TAYLOR MA et al: Morphological differentiation of *Tritrichomonas foetus* from other protozoa of the bovine reproductive tract. Br. Vet. J. 150: 73-80, 1994.
- VARGAS A C, COSTA M M, VAINSTEIN M H, KREUTZ L C AND NEVES J P (2003) Phenotypic and molecular characterization of bovine *Campylobacter fetus* strains isolated in Brazil. Vet Microbiol. 93: 121-132
- WAGENAAR J A, VAN BERGEN M A P (2000) Bovine genital campilobacteriosis. OIE Manual of diagnostic tests and vaccines. Chapter 2.3.2: 346-358
- WALKER R L (1999) Bovine venereal campilobacteriosis. Current Veterinary Therapy. ED. W.B. Saunders Company. Philadelphia, pp 323-326.
- YULE A et al: Bovine trichomoniasis. Parasitol. Today 5: 373-377, 1989.

Tabla I. Prevalencia de la tricomonosis bovina en diversos países.

País	Prevalencia de rebaño (%)	Individual en toros (%)	Individual en vacas (%)	Referencia
Australia			4,6	Rogers y col., 1972
		30,2		Ladds y col., 1973
	40	24,7	6,4	Dennett y col., 1974
	65,6			McCool y col., 1988
Argentina			3,5	Mancebo y col., 1995
	28			Pérez y col., 2006
Costa Rica	6,7-18,4	3,9-6,2		Pérez y col., 1992
Estados Unidos	26			Johnson, 1964
		6-7,8		Skirrow y Bondurant, 1988
	26,7-44,1	4,7		Kvasnicka y col., 1989
	15,8	4,1		Bondurant y col., 1990
	30,4	6		Rae y col., 2004



Heifer Mastitis: Prevalence, Risk Factors and Strategies of Control

S. P. Oliver
Department of Animal Science and the Food Safety Center of Excellence,
The University of Tennessee, Knoxville, Tennessee, USA 37996
http://www.agriculture.utk.edu/ansci/faculty/oliver.htm
http://www.foodsafe.tennessee.edu/
http://www.tqml.edu/
soliver@utk.edu

Introduction: Intramammary infections (IMI) in unbred and pregnant heifers were once thought to be very low. However, during the last two decades, several studies have shown clearly that IMI in heifers occur frequently during the prepartum and peripartum periods. Many of these infections can persist for long periods of time, are associated with elevated somatic cell counts (SCC), and may impair mammary development during gestation and affect milk production after calving. Some IMI in heifers result in clinical mastitis during the prepartum period and during early lactation. Presence of IMI before calving was shown to increase the risk of infection during lactation, IMI at calving increased the risk of clinical mastitis within the first week after calving, and mastitis prior to parturition and mastitis within the first week after calving increased the risk of further cases of mastitis and culling during the first 45 days of lactation. One common denominator of all studies conducted on heifer mastitis throughout the world is the high prevalence of coagulase-negative *Staphylococcus* species (CNS) IMI. While CNS are often grouped together, considerable variation in the frequency of CNS isolation between herds has been reported and it is possible that some CNS may be more problematic than others. Thus, CNS will likely cause the majority of IMI in unbred and pregnant heifers and variation in the prevalence of CNS IMI in heifers should be expected among herds. A variety of different mastitis pathogens have been identified from heifers with clinical mastitis during the prepartum period and during early lactation. A reasonable hypothesis is that heifers from herds with a high



prevalence of contagious mastitis will likely be infected predominantly by contagious mastitis pathogens. Similarly, environmental mastitis pathogens will likely be the predominant major pathogens isolated from heifer mammary glands from herds with an environmental mastitis problem. Several strategies have been evaluated to control mastitis in heifers including prepartum and partum antibiotic therapy, vaccination, and teat disinfection. Those strategies that were shown to be most effective involve the use of antibiotics. The purpose of this paper is to review literature published on the prevalence of mastitis in heifers, potential risk factors associated with heifer mastitis, and to describe results of different strategies that have been evaluated to control mastitis in heifers.

Heifer Mastitis: A Topic of Considerable Interest to a Wide Constituency: **In the last two decades, results of several studies on heifer mastitis have been published in a variety of scientific peer-reviewed journals and in different popular press publications. Dr. Sarne De Vliegher from Ghent University recently organized a conference specifically devoted to heifer mastitis. Scientists, academicians, veterinarians, extension personnel, consultants, and agri-industry personnel associated with the dairy industry from all over the world attended the heifer mastitis conference held in Ghent, Belgium in June 2007. Several topics were covered including prevalence and incidence of clinical and subclinical heifer mastitis (Fox, 2007), types and sources of mastitis pathogens associated with heifer mastitis (Oliver, 2007), pathophysiology and immunity related to heifer mastitis (Burvenich et al., 2007), impact of heifer mastitis:association with somatic cell count, production, culling and fertility (Piepers et al., 2007), control of heifer mastitis I – antimicrobial treatment (Nickerson, 2007), control of heifer mastitis II – genetics (Detilleux, 2007), control of heifer mastitis III – nutrition (Heinrichs et al., 2007), and control of heifer mastitis IV – management (McDougall et al., 2007). In addition to the above review topics, oral and poster presentations of current research on heifer mastitis were given; many of which are discussed herein. Several of the papers presented at the conference are currently undergoing scientific peer review and will be published in a special issue of Veterinary Microbiology in late 2008/early 2009. This will be the most comprehensive and complete information on heifer mastitis published in one readily available scientific journal. I am sure that this will be of considerable value to those interested in this important topic that affects the dairy industry throughout the world.**

Prevalence of IMI in Heifers: **Mastitis in heifers was first recognized over 60 years ago (Palmer et al., 1941; Schalm, 1942). However, IMI in unbred and pregnant heifers were thought to be very low. Approximately 25 years ago, Oliver and Mitchell (1983) showed that a high percentage of pregnant heifer mammary glands were infected during late gestation, at calving and during early lactation. Since the report by Oliver and Mitchell (1983), several additional studies on the prevalence of mastitis in heifers have been published, and all of these studies suggest that IMI in heifers during the prepartum period occur frequently. However, marked herd variation in the rate of IMI and types of pathogens causing IMI have been reported (Aaerstrup and Jensen, 1997; Fox et al., 1995; Jonsson et al., 1991; Matthews et al., 1992; Myllys, 1995; Nickerson et al., 1995; Oliver, 1987; 1988; Oliver and Sordillo, 1988; Oliver et al., 1992; Oliver. 2007; Pankey et al., 1991; Smith et al., 1994; Trinidad et al., 1990a; Waage et al. 1999).**

Trinidad et al. (1990a) demonstrated that the prevalence of IMI in unbred heifers and heifers during different stages of pregnancy was very high. Unbred heifers had a higher percentage (86.7%) of infected quarters compared with the overall mean for pregnant heifers (70%). *Staphylococcus* species were observed most frequently and 8 different species were isolated. The three most common species isolated from unbred and pregnant heifer mammary glands were *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus hyicus* and *Staphylococcus aureus*. Coagulase-negative *Staphylococcus* species (CNS) accounted for 67.4% of bacteria isolated. Mammary secretions from infected mammary glands had significantly higher SCC than secretions from uninfected mammary quarters. In addition, tissue from mammary glands of unbred heifers infected with CNS exhibited greater leukocyte infiltration and increased connective tissue compared with tissue from uninfected mammary glands (Trinidad et al., 1990b). Thus, infection of heifer mammary glands by mastitis pathogens can occur at a very early age and some of these infections may impair mammary growth and development and influence future milk production.

Pankey et al. (1991) reported that approximately 46% of heifers and 19% of quarters were infected during early lactation based on duplicate samples obtained from 382 heifers within 3 days after calving. CNS were the

most prevalent bacteria isolated and were found in 22.8% of heifers and 11.4% of quarters. Matthews et al. (1992) indicated that 35.5% of colostrum samples were positive for 7 different *Staphylococcus* species. Species isolated most frequently were *Staph. chromogenes, Staph. aureus* and *Staph. simulans. Staphylococcus* species were isolated from about 18% of heifer mammary glands weekly for the first 5 weeks of lactation. Oliver and Sordillo (1988) showed that 19.7% of heifer mammary glands (59 of 300) were infected at calving and CNS caused 71.2% of these IMI. During early lactation, 15.7% of heifer mammary glands (47 of 300) were infected and 48.9% were due to CNS. Thus, the number of mammary quarters infected with CNS decreased significantly from calving to early lactation suggesting that some CNS isolated from heifer mammary glands were either colonizing the teat duct and subsequently eliminated as a result of the milking procedure or that a high rate of spontaneous elimination occurred. Similar findings were reported by Harmon et al. (1986) and Oliver (1988) in multiparous cows.

Oliver et al. (1992) conducted a study to determine the prevalence of mastitis and types of pathogens causing IMI in pregnant Jersey heifers prior to calving and during early lactation. This study was conducted in a herd that was *Streptococcus agalactiae*-negative and had a low prevalence of *Staph. aureus.* This pattern of infection would be typical of many dairy herds that practice postmilking teat disinfection and antibiotic dry cow therapy. Heifers (n=115) were sampled 7 days before expected calving, and 3 (C+3) and 10 (C+10) days after calving. About 90% of heifers and 61% of quarters were infected during the prepartum period. The majority of IMI (243 of 279) were due to CNS. This is higher than what we observed previously in a study conducted in another herd (Oliver and Mitchell, 1983; Oliver and Sordillo, 1988), but types of mastitis pathogens isolated were similar. Trinidad et al. (1990a) also observed considerable herd-to-herd variation both in prevalence of IMI and mastitis pathogens causing IMI in unbred and pregnant heifers. For example, in one herd, 44.3% of quarters were uninfected, 12.3% were infected with *Staph. aureus*, 41.5% were infected with CNS and 1.9% were infected with streptococci other than *Strep. agalactiae.* In another herd, 17.6% of quarters were uninfected, 23.1% were infected with *Staph. aureus*, 49.5% were infected with CNS and 9.9% were infected with *Streptococcus* species. In our studies (Oliver and Mitchell, 1983; Oliver, 1987; Oliver et al., 1992; Oliver et al., 1997a; Oliver et al. 2003), CNS were isolated most frequently followed by environmental mastitis pathogens primarily *Streptococcus* species.

Fox et al. (1995) reported on a large survey of 28 dairies in four states to determine the prevalence of IMI in unbred and pregnant dairy heifers and to determine potential factors that influenced herd variation. Most IMI were due to CNS and *Staph. aureus*. Location, herd, season, and trimester of pregnancy significantly influenced prevalence of IMI in heifers. Heifers in the third trimester of pregnancy had the highest prevalence of IMI.

Myllys (1995) indicated that CNS were the most frequently (57.8%) isolated bacteria from mammary secretions obtained from 200 heifers with mastitis and from 65 non-mastitic control heifers followed by *Staph. aureus* (20.1%), and streptococci (11.3%). *Staphylococcus simulans*, *Staph. hyicus*, *Staph. xylosus*, and *Staph. chromogenes* were frequently found in milk from heifers with clinical mastitis after calving, whereas other CNS were equally or more often found in non-mastitic control heifers.

Aaerstrup and Jensen (1997) reported that *Staph. chromogenes* was isolated from 15% of all mammary quarters and was the most commonly found bacterial species in heifer mammary secretions obtained before parturition. However, *Staph. chromogenes* IMI decreased shortly after parturition to around 1% of mammary quarters. Infections caused by *Staph. simulans* and *Staph. epidermidis* occurred in 1 to 3% of mammary quarters both before and after parturition. *Staphylococcus simulans* IMI persisted for several weeks while *Staph. epidermidis* IMI tended to be more transient. *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *dysgalactiae* (*Strep. dysgalactiae*) was isolated from 4 to 6% of mammary quarters before and immediately after calving, and the prevalence of *Strep. dysgalactiae* decreased during early lactation. Infections due to *Staph. aureus* were rarely observed before calving, but the rate of *Staph. aureus* IMI increased greatly the first week after calving. The presence of an IMI in a mammary quarter before parturition increased the risk of IMI for the lactating cow (Aaerstrup and Jensen, 1997).

In 2005, CNS were isolated from 11.3% (1,407 of 12,412) of mammary quarter milk samples obtained from heifers and cows in three dairy research herds of The University of Tennessee (Gillespie et al., 2007). Approximately 27% (383/1,407) of CNS were identified to the species level. The species distribution among those CNS identified from all herds was *Staph. chromogenes* (48%), *Staph. hyicus* (26%), *Staph.*



epidermidis (10%), *Staph. simulans* (7%), *Staph. warneri* (2%), *Staph. hominis* (2%), *Staph. saprophyticus* (1%), *Staph. xylosus* (1%), *Staph. haemolyticus* (< 1%), *Staph. sciuri* (< 1%), and *Staph. intermedius* (< 1%). *S. chromogenes* was the predominant CNS isolated from all three herds; however, differences were seen in the prevalence of other CNS species. A total of 158 CNS (*S. chromogenes* n = 66, *Staph. hyicus* n=38, *Staph. epidermidis* n=37, *Staph. simulans* n=10, and *Staph. warneri* n=7) were analyzed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). The majority (33/41) of CNS isolated from the same mammary quarter on more than one occasion had the same PFGE pattern indicating persistence of the same infection over time. When all PFGE patterns for each CNS were analyzed, no common pulsotype was seen among the three herds indicating that CNS are quite diverse. Composite milk somatic cell count (SCC) data were obtained ± 14 d of when CNS were isolated. Average milk SCC (5.32 $\log_{10}$/ml) for cows in which CNS was the only bacteria isolated was significantly higher than the average milk SCC (4.90 $\log_{10}$/ml) from cows with quarter milk samples that were bacteriologically negative.

One common denominator of all studies on heifer mastitis is the high prevalence of CNS IMI. Thus, CNS will likely cause the majority of IMI in unbred and pregnant heifers and variation in the prevalence of CNS IMI in heifers should be expected among herds. The designation coagulase- negative staphylococci or CNS is loosely used to include all the staphylococci and micrococcus isolated from milk samples that are not *Staph. aureus*. As a rule they are coagulase-negative, however, there are exceptions. The commonly isolated CNS are part of the normal skin flora and include the species *Staph. simulans*, *Staph. hyicus*, and *Staph. epidermidis*. In contrast, novobiocin-resistant species (*Staph. xylosus*, *Staph. saprophyticus*, *Staph. sciuri*, and *Staph. cohnii*) are found free-living in the environment. The CNS appear to be opportunists and infect the teat canal and gland from skin sources. Infections by novobiocin-resistant species may originate from the environment. *Staphylococcus chromogenes* and *Staph. hyicus* appear to readily colonize the teat canal and may persist for longer periods of time than the other CNS. Many CNS infections are transient and cow to cow spread is thought to be a low risk for infection (Oliver et al., 2004a). *Staphylococcus chromogenes* was isolated most frequently in three separate studies (Aaerstrup and Jensen, 1997; Matthews et al., 1992; Trinidad et al., 1990a). However, isolation of other CNS varied considerably. For example, *Staph. simulans* was isolated frequently in studies by Aaerstrup and Jensen (1997) and Matthews et al. (1992) while *Staph. hyicus* was isolated frequently by Trinidad et al. (1990a). Thus, while CNS are often grouped together, considerable variation in the frequency of CNS isolation between herds has been reported and it is possible that some CNS may be more problematic than others.

Similarly, the prevalence of mastitis pathogens other than CNS also varies considerably. In our studies (Oliver, 1987; Oliver et al., 1992; Oliver et al., 1997a; Oliver et al., 2003a), 8 to 10% of heifer mammary glands were infected by environmental mastitis pathogens, primarily *Streptococcus* species, which was consistent with the pattern of IMI in lactating cows in these herds. Conversely, other studies (Fox et al., 1995; Trinidad et al., 1990a) indicated that *Staph. aureus* was the most prevalent major mastitis pathogen isolated from unbred and pregnant heifer mammary glands. Differences in the incidence of IMI and types of bacteria causing IMI in pregnant heifers is likely due to the prevalence of mastitis pathogens in the herds evaluated. Thus, a reasonable hypothesis is that heifers from herds with a high prevalence of contagious mastitis will likely be infected predominantly by contagious mastitis pathogens. Similarly, environmental mastitis pathogens will likely be the predominant major pathogens isolated from heifer mammary glands from herds with an environmental mastitis problem.

Some IMI in heifers result in clinical mastitis during the prepartum period and during early lactation. Nickerson et al. (1995) indicated that 29% of heifers and 15% of mammary quarters exhibited clinical mastitis at breeding age as evidenced by clots or flakes in mammary secretions. Streptococcus dysgalactiae and Strep. uberis were isolated from 34.4% and 19.5%, respectively, of heifers with clinical mastitis occurring from puberty up to 14 days after calving in a large study involving bacterial analyses of 2069 udder secretions isolated from 1481 heifers with clinical mastitis in Sweden (Jonsson et al., 1991). Bacterial species generally regarded as important pathogens in the summer mastitis complex including Actinomyces (Arcanobacterium) pyogenes, Stuart-Schwan coccus and strictly anaerobic bacteria such as Peptostreptococcus indolicus, Fusobacterium necrophorum and Bacteroides melaninogenicus, were isolated at low frequencies (13.2, 6.3, 9.4, 3.8, and 1.3%, respectively). When cases of clinical mastitis were restricted to those appearing in heifers prepartum during the summer

mastitis season (May 15 to October 14), these bacterial species were isolated at higher percentages (27.1, 14.4, 21.4, 13.5, and 5.2%, respectively). There were no significant differences in the frequency of A. pyogenes isolated during different seasons of the year. There were geographical differences in bacterial incidence, e.g. Staph. aureus was isolated significantly more often in northern regions whereas Strep. dysgalactiae was more common in the south. These data support the theory that A. pyogenes and strictly anaerobic bacteria are 'secondary invaders' that depend on Strep. dysgalactiae to cause a primary infection. Authors stressed that udders of all heifers should be examined daily so that cases of mastitis can be treated immediately (Jonsson et al., 1991).

Waage et al. (1999) reported results of a one-year field investigation of clinical mastitis in heifers in Norway. The study included 1,361 cases of clinical mastitis in 1,040 heifers that occurred prepartum or within 14 days after calving. Mastitis pathogens isolated most frequently from mammary quarters with clinical mastitis were Staph. aureus (44.3%), Strep. dysgalactiae (18.2%), Staph. aureus together with Strep. dysgalactiae (1.2%), CNS (12.8%), Arcanobacterium pyogenes (3.5%), A. pyogenes together with Strep. dysgalactiae (0.5%) or Staph. aureus (0.4%), and Escherichia coli (6.4%). Of the CNS, Staph. simulans (53.7%), Staph. hyicus (14.8%), and Staph. chromogenes (14.8%) were the most prevalent species. Except for a higher relative percentage of A. pyogenes in cases that occurred before parturition (8.2%) than in cases that occurred after parturition (2.7%), no significant differences were observed in the distribution of the various organisms among prepartum and postpartum cases. Regional variations were observed in the distribution of organisms. Staphylococcus aureus and A. pyogenes clinical mastitis were highest in late autumn and early winter, CNS clinical mastitis was lowest in late autumn and early winter, and E. coli clinical mastitis was highest in the summer.

Heifer Mastitis Risk Factors: **Several potential heifer mastitis risk factors have been identified. In an epidemiological survey on 171 dairy farms from five regions of Spain, Martin-Richard et al. (2001) found that risk factors for heifer mastitis were calving in summer, high herd SCC, presence of Staph. aureus and Mycoplasma spp., absence of fly control, feeding calves mastitic milk, contact among calves, absence of antibiotic therapy to heifers, contact with adult cows, inadequate milking practices, and poor housing conditions. Other heifer mastitis risk factors identified include an increase in the incidence of clinical mastitis in a herd, a decrease in the bulk tank SCC, an increase in herd mean milk yield, calving in late spring or early summer, increased age at first calving, and milk leakage (Waage et al., 1998); blood in the milk, udder and teat edema (Waage et al., 2001); and presence of pathogens on heifer body sites (Roberson et al., 1998). Presence of IMI before calving increased risk of infection during lactation (Aarestrup and Jensen, 1997); IMI at calving increased the risk of clinical mastitis within the first week after calving, and mastitis prior to parturition and mastitis within the first week after calving increased the risk of further cases of mastitis and culling during the first 45 days of lactation (Edinger et al., 1999).**

Studies have provided convincing evidence that the horn fly (*Hameotobia irritans*) is an important vector in the transmission of *Staph. aureus* mastitis in heifers. *Hameotobia irritans* can be colonized with *Staph. aureus* during feeding activities and can remain colonized for several days with substantial numbers of organisms present. When *Staph. aureus* colonized horn flies were allowed to feed on teats of uninfected dairy heifers, IMI with the same *Staph. aureus* DNA fingerprint subtype resulted (Gillespie et al., 1999). This indicates that the horn fly can transmit *Staph. aureus* to heifer teats if a sufficient source of organisms is present. That source was shown to be present in existing scabs on teat ends of heifers (Owens et al., 1998). High concentrations of *Staph. aureus* ($>10^7$ colony forming units/mg) were found in scab material present on heifer's teats. When uncolonized flies were allowed to feed on this material they became colonized with *Staph. aureus* just as readily as flies that had fed on experimentally infected blood. Thus, a vector shown capable of transmitting infection is readily present. When a source of *Staph. aureus* exists such as scabs on heifer teats, the potential for passage of IMI from heifer to heifer via horn flies exists. The threshold number of flies needed to transmit IMI is unknown. However, since fly populations can rapidly increase to several thousand per animal under favorable conditions, the need for early fly control on dairy heifers is apparent. Once scabs are obvious and fly populations are high, spread of new infections is likely. Prevention of initial high populations of flies on heifers is important to help reduce new infections.



Susceptibility of Pathogens Causing Mastitis in Heifers to Antibiotics: **Considerable evidence suggests that IMI in pregnant heifers occurs frequently and that some infections may be detrimental to mammary gland development and influence subsequent lactational performance. Methods of controlling mastitis in heifers may eliminate or markedly reduce the deleterious effects of prepartum infections. One common denominator of all studies on heifer mastitis is the high prevalence of CNS IMI. Trinidad et al. (1990d) demonstrated that 90% of 311 staphylococcal isolates (primarily CNS) from heifer mammary glands were susceptible to antibiotics in vitro. Some variability to antimicrobial susceptibility of bacteria obtained within and among herds was noted; however, in general, bacteria were highly susceptible to all antibiotics evaluated. Watts et al. (1995) determined minimum inhibitory concentrations (MIC) of penicillin, cloxacillin, cephapirin, ceftiofur, novobiocin, enrofloxacin, erythromycin and pirlimycin against 1494 microorganisms isolated from heifer mammary glands. The majority of Staphylococcus species were susceptible to the antimicrobial agents evaluated. However, antimicrobial susceptibility was variable for Streptococcus species and poor against Gram-negative enteric organisms. These data suggest that antibiotic therapy may be an effective means of eliminating Staphylococcus species IMI that have been shown to cause the majority of IMI of heifer mammary glands.**

Similar results were reported by Sawant et al. (2007a, b). CNS (n=168) isolated in milk from heifers and dairy cows were screened for MIC to antimicrobials used commonly for mastitis therapy. Of the 10 CNS species included in the study, the predominant species were *Staph. chromogenes* (n = 61), *Staph. epidermidis* (n=37), *Staph. hyicus* (n=37), and *Staph. simulans* (n=16). The majority of CNS was susceptible to ampicillin, oxacillin, cephalothin, and ceftiofur. Erythromycin and pirlimycin were also very effective in vitro inhibitors of CNS. The only exception was observed with *S. epidermidis*. Of 37 *Staph. epidermidis* evaluated, 13 (35%) exhibited efflux-based resistance to erythromycin (≥16 µg/ml) encoded by *msr*A and one isolate carried *erm*C encoding ribosomal methylase-based resistance to both erythromycin (≥64 µg/ml) and pirlimycin (≥64 µg/ml). A total of 17 *Staph. epidermidis*, 11 *Staph. chromogenes*, and one *Staph. hyicus* exhibited phenotypic resistance to ampicillin (≥0.5 µg/ml). Constitutive β-lactamase production was observed in all ampicillin resistant isolates except 4 *Staph. epidermidis* that exhibited inducible β-lactamase production. Induced β-lactamase production was also observed in 13 *Staph. epidermidis* that were phenotypically susceptible to the entire MIC panel. All isolates that produced β-lactamase either constitutively or by induction carried *bla*Z. *Staph. epidermidis* (n=12, 32%) that were resistant to methicillin (oxacillin ≥0.5 µg/ml) carried low affinity penicillin-binding protein encoded by *mec*A. Most multi-drug resistant (MDR) *Staph. epidermidis* (≥ 2 resistance genes) were resistant to ampicillin, erythromycin and methicillin. All except one MDR *Staph. epidermidis* had the *ica*AB that encodes for polysaccharide intercellular adhesion. Based on PFGE fingerprint patterns, MDR *Staph. epidermidis* were closely related genotypically, and were isolated from different cows on the same farm suggesting clonal dissemination. Bovine *Staph. epidermidis* share antimicrobial resistance patterns and virulence determinants of strains observed in human infections. Studying CNS at the species level can provide valuable information about species-specific differences that can be vital data for effective mastitis therapy and management.

Methods for Controlling Mastitis in Heifers

Prepartum Treatment of Heifer Mammary Glands with Lactating Cow Antibiotics: The following is a discussion of research conducted at The University of Tennessee describing the development of a simple and effective method for controlling mastitis in heifers. Our initial study to determine if prepartum infusion of lactating cow antibiotic preparations into heifer mammary glands influenced rates of IMI during early lactation was published over 15 years ago (Oliver et al., 1992). Pregnant Jersey heifers (n=115) from The University of Tennessee Dairy Experiment Station research herd at Lewisburg were assigned alternately to three treatment groups as follows: group 1 (n=41) - no antibiotic infusion (negative control), group 2 (n =38) - intramammary infusion of all quarters with sodium cloxacillin 7 days before expected parturition, and group 3 (n=36) - intramammary infusion of all quarters with cephapirin sodium 7 days before expected parturition. Samples of mammary secretion for microbiologic evaluation were collected from all quarters of heifers in duplicate at 7 days before expected calving (C-7), and single quarter samples were obtained during early lactation (C+3 and C+10), at intervals throughout lactation and at the last milking of lactation immediately before drying off. A quarter was considered infected during the prepartum period if the same

mastitis pathogen was isolated from duplicate samples obtained 7 days before expected calving. A quarter was considered infected during early lactation if the same mastitis pathogen isolated before treatment was present in samples obtained at 3 or 10 days after parturition.

Almost 90% of heifers were infected 7 days prior to expected calving. During early lactation, 78% of control heifers and 44.5% of mammary quarters were infected. In contrast, 17.6% of antibiotic-treated heifers and 5.4% of antibiotic-treated quarters were infected during early lactation. Fewer ($P<0.001$) antibiotic treated heifers and quarters were infected during early lactation than in controls. Intramammary antibiotic therapy before calving was highly effective ($P<0.001$) against CNS. It should be noted, however, that 24 of 88 (27.4%) CNS IMI in control heifers were not detected during early lactation suggesting a high rate of spontaneous elimination. Nine of 14 major pathogen IMI in control heifers and 3 of 22 major pathogen IMI in antibiotic treated mammary glands of heifers persisted into early lactation. Differences in major pathogen IMI between antibiotic treated and controls during early lactation were significant ($P<0.025$).

Mastitis pathogens were isolated from 76% of samples obtained from untreated control quarters 7 days before expected calving, 47% of samples obtained 3 days after calving, and 29% of samples obtained 10 days postpartum. Throughout the remainder of lactation, mastitis pathogens were isolated in about 30% of control quarters. A similar percentage of samples (70%) was positive for mastitis pathogens at C-7 prior to antibiotic treatment. However, only 8% of samples obtained at 3 days after calving and 4% of samples obtained 10 days postpartum from quarters of antibiotic-treated heifers contained mastitis pathogens. Throughout the remainder of lactation, mastitis pathogens were isolated from an average of about 11% of quarters. Percent of samples with mastitis pathogens was higher in untreated controls than in antibiotic-treated quarters at most sampling intervals during lactation. *Streptococcus uberis, Strep. dysgalactiae* and CNS were isolated most frequently in both untreated control and antibiotic-treated heifer mammary glands.

We conducted another study to determine if antibiotic treatment of heifer mammary glands earlier in the prepartum period reduced the occurrence of inhibitors in milk without influencing efficacy (Oliver et al., 1997a). In this study, 82 Jersey heifers were assigned randomly to two groups: 1) negative control (n=42) and 2) intramammary infusion of cephapirin sodium (n=40) 14 days prior to expected calving. Mammary secretions were collected 14 days before expected calving, at 3 days after calving, at intervals throughout lactation and at the last milking of lactation for microbiological evaluation. Mastitis pathogens were isolated from 67% of samples obtained from control mammary glands 14 days prior to expected calving, 56% of samples obtained 3 days after calving and 36% of samples obtained 30 days postpartum. Throughout the remainder of lactation, mastitis pathogens were isolated from about 45% of quarter samples (Oliver et al., 1997b). A similar percentage of samples (64%) were positive for mastitis pathogens prior to antibiotic treatment. However, only 16% of samples obtained at 3 days after calving and 8% of samples obtained 30 days postpartum from quarters of antibiotic-treated heifers contained mastitis pathogens. Throughout the remainder of lactation, mastitis pathogens were isolated from an average of 12% of antibiotic-treated quarters. Percent of samples with mastitis pathogens was higher in untreated control quarters than in antibiotic-treated quarters at every sampling interval during lactation. Coagulase-negative staphylococci were isolated most frequently followed by environmental mastitis pathogens. Bacteriological results during early lactation were similar to what we observed in our earlier work (Oliver et al., 1992).

More recently, we conducted a study to determine if prepartum therapy of heifer mammary glands with penicillin-novobiocin or pirlimycin hydrochloride was effective for reducing the percentage of heifers and quarters infected with mastitis pathogens during early lactation (Oliver et al., 2004b). Almost 96% of Jersey heifers (67 of 70) and 71.3% of quarters (199 of 279) were infected 14 days before expected calving. Of the quarters infected at 14 d before expected parturition, 75% (54 of 72) were uninfected following treatment with penicillin-novobiocin; 87% (61 of 70) were uninfected following treatment with pirlimycin, and 56% (32 of 57) were uninfected in the untreated negative control group. The majority of IMI in Jersey heifers were due to CNS (61%), *Streptococcus* species, primarily *Strep. uberis* (19%) and *Staph. aureus* (8%). Almost 73% of Holstein heifers (40 of 55) and 34.3% of mammary quarters (73 of 213) were infected 14 days before expected calving. Of the quarters infected at 14 days before expected parturition, 76% (19 of 25) were uninfected following treatment with penicillin-novobiocin; 59% (17 of 29) were uninfected following treatment with pirlimycin, and 26% (5 of 19) were uninfected in the untreated negative control



group. The majority of IMI in Holstein heifers were due to CNS (44%) and *Staph. aureus* (30%). In both herds, the bacteriological cure rate was significantly higher in heifer mammary glands treated with penicillin-novobiocin or pirlimycin hydrochloride than in untreated controls. Prepartum therapy of heifer mammary glands with penicillin-novobiocin or pirlimycin hydrochloride was an effective procedure for significantly reducing the percentage of heifers and quarters infected with mastitis pathogens during early lactation.

An advantage of antibiotic treatment of heifer mammary glands within a few weeks of parturition is that this is a time when mammary glands are highly susceptible to new IMI (Oliver and Sordillo, 1988). Antibiotic treatment at this time eliminates many infections present at the time of treatment and may also prevent new IMI from occurring at a time when mammary glands are highly susceptible to new IMI. In support of this contention, Trinidad et al. (1990c) demonstrated that intramammary infusion of an antibiotic formulation for nonlactating cows into pregnant heifers during different trimesters of pregnancy was effective in reducing the prevalence of mastitis at parturition. However, efficacy of prepartum antibiotic therapy at 7 or 14 d prior to expected calving in our studies (Oliver et al. 1992; 1997b; 2003, 2004b) was higher than that reported by Trinidad et al. (1990c). Furthermore, in an extensive survey involving heifers from many herds located in different regions of the country, Fox et al. (1995) indicated that the prevalence of heifer IMI was highest during the last trimester of pregnancy. Thus, methods of controlling mastitis in heifers would likely be more effective if administered at some point during the last trimester of pregnancy when rates of IMI are highest as opposed to early gestation or at parturition when damage associated with IMI has already occurred.

Inhibitors in Milk Following Prepartum Treatment: One disadvantage of prepartum antibiotic administration for controlling mastitis in heifers is the potential for antibiotic residues in milk. This is especially important if heifers calve sooner than expected. To address this concern, samples of mammary secretion from all quarters of 98 heifers were collected at the first and sixth milking after calving and at 10 days after calving for antibiotic residue analysis. Samples were analyzed qualitatively for inhibitors by the *Bacillus stearothermophilus* disc assay. Zones of inhibition >16 mm in diameter were interpreted as positive for antibiotic residues. Sensitivity of the *B. stearothermophilus* disc assay for cephapirin and cloxacillin has been reported to be 0.025 μg/ml and 0.031 μg/ml, respectively (Bishop and White, 1984; Ginn et al., 1982).

About 17% of colostrum samples from heifer mammary glands infused with cloxacillin were positive for inhibitors by the *B. stearothermophilus* disc assay. The majority of positive samples were from heifers that calved within 5 days of treatment. Only 4 of 88 samples obtained at the first milking after parturition were positive for inhibitors if intramammary infusion of cloxacillin occurred > 7 days before parturition. All samples obtained 3 days after parturition, the time when milk would likely be marketed for human consumption, were negative for inhibitors. Thus, the cloxacillin formulation used in the present study should not result in antibiotic residue problems in marketable milk even if heifers calve earlier than expected.

In contrast, inhibitors were detected frequently during early lactation in samples from heifer mammary glands infused with cephapirin. Almost 85% of colostrum samples and 28.2% of samples obtained 3 days after parturition were positive for inhibitors. Marked variability between time of antibiotic treatment and parturition with persistence of antibiotic residues was observed. For example, two heifers calved 8 days after treatment and all samples obtained 3 days after parturition were negative for inhibitors. Conversely, 4 heifers calved 10 days after cephapirin treatment and 6 of 16 samples were positive for inhibitors. All samples (n = 24) from 6 heifers obtained 3 days after calving were negative for inhibitors if intramammary infusion of cephapirin occurred > 11 days before calving. Thus, it would appear that antibiotic treatment of heifer mammary glands earlier in gestation may be advantageous from an antibiotic residue standpoint. However, the timing of antibiotic treatment and subsequent persistence of antibiotics in mammary secretions following treatment could impact efficacy.

We conducted another study to determine if antibiotic treatment of heifer mammary glands earlier in the prepartum period reduced the occurrence of inhibitors in milk without influencing efficacy (Oliver et al., 1997a). In this study, 82 Jersey heifers were assigned randomly to two groups: 1) negative control (n=42) and 2) intramammary infusion of cephapirin sodium (n=40) 14 days prior to expected calving. Mammary secretions were collected 14 days before calving, and at the first and sixth milking after calving and were analyzed for inhibitors by the *B. stearothermophilus* disc assay. Sixty of 150 samples (40%) from cephapirin treated quarters



were positive at the first milking after calving. However, only 4 of 127 samples (3.1%) obtained from antibiotic treated quarters at the sixth milking after calving were positive and 3 of the 4 positive samples were from a heifer that calved within 3 days of treatment. Thus, as observed in our earlier experiment (Oliver et al., 1992), the interval between prepartum antibiotic treatment and calving was related to the presence of inhibitors in milk during early lactation. Intramammary infusion of antibiotics earlier in the prepartum period reduced the occurrence of inhibitors in milk during early lactation.

Similar results were reported in a more recent study by Andrew et al. (2007). Milk was collected at the 3rd, 6th and 10th milking following parturition from 136 heifers treated with a commercial intramammary antibiotic preparation containing cephapirin sodium at 10-21 days prior to anticipated calving to determine the risk of antibiotic residues occurring in milk resulting from prepartum antibiotic therapy. This was part of a study to determine the effects of prepartum intramammary therapy on milk production, reproductive performance and cure rate of existing IMI in heifers from 9 herds in the U.S. and Canada (Borm et al., 2006). The mean interval between intramammary antibiotic therapy and parturition was 15.0 days. Milk was analyzed for β-lactam residues using a microbial inhibition screening test. Antibiotic residues were confirmed with β-lactamase treatment and re-tested for residues. The percentage of antibiotic residues detected was 26.5, 8.8, and 3.7 in the 3rd, 6th, and 10th milkings following parturition, respectively. An increase in interval and milking number was associated with a decreased risk of antibiotic residues ($P<0.0001$). Prepartum antibiotic therapy increases the risk of antibiotic residues in milk in the periparturient period. Increasing the interval between prepartum antibiotic treatment and parturition and screening for antibiotic residues in milk postpartum will reduce the risk of antibiotic contamination resulting from this treatment.

Treatment of Heifer Mammary Glands with Lactating Cow Antibiotics at Parturition: Prepartum treatment of heifer mammary glands with antibiotics involves treatment of heifers at a time when animals are not generally worked with, would be an additional step in the management of heifers, and also might require restraining facilities for safe treatment that may not be readily available. A more "user friendly" approach would likely benefit the majority of producers that are interested in controlling mastitis in heifers, and this might enhance adoption of techniques shown to be effective for controlling mastitis in heifers.

Evaluation of a more "user friendly" approach was conducted to determine efficacy of intramammary antibiotic therapy of heifer mammary glands following the first milking after parturition on mastitis during early lactation and to determine if antibiotic treatment influenced lactational performance of heifers (Oliver et al., 2007). Jersey (n=43) and Holstein heifers (n= 36) from two dairy research herds were assigned to one of three treatment groups: 1) no intramammary infusion following the first milking after parturition, 2) intramammary infusion of all mammary glands with pirlimycin hydrochloride following the first milking after parturition, and 3) intramammary infusion of all mammary glands with novobiocin sodium plus penicillin G procaine following the first milking after parturition. Almost 93% of Jersey heifers (40 of 43) and 73.1% of quarters (125 of 171) were infected at the first milking after parturition. Of the mammary quarters infected at parturition, 76.7% (33 of 43) were cured following treatment with pirlimycin, 61.8% (21 of 34) were cured following treatment with penicillin-novobiocin, and 39.6% (19 of 48) were uninfected in the untreated negative control group. Significantly fewer infections were observed in pirlimycin or penicillin-novobiocin treated mammary glands of Jersey heifers during early lactation than in untreated control mammary glands. Almost 89% of Holstein heifers (32 of 36) and 52.8% of quarters (76 of 144) were infected at the first milking after parturition. Of the mammary quarters infected at parturition, 57.1% (12 of 21) were cured following treatment with pirlimycin, 41.4% (12 of 29) were cured following treatment with penicillin-novobiocin, and 23.1% (6 of 26) were uninfected in the untreated negative control group. Significantly fewer infections were observed in pirlimycin treated mammary glands of Holstein heifers during early lactation than in untreated control mammary glands. However, no significant differences in infections during early lactation were observed following penicillin-novobiocin treatment of Holstein heifers after the first milking of lactation compared to untreated control quarters. CNS and *Streptococcus* species, primarily *Strep. uberis* and *Strep. dysgalactiae*, were isolated most frequently in heifers from both herds. Thus, a more "user friendly" approach for controlling mastitis in heifers based on intramammary treatment following the first milking after parturition did not appear to be as effective as prepartum antibiotic treatment of heifer mammary glands. Differences are likely due to the timing of antibiotic treatment, persistence of antibiotics



in mammary tissue and secretions, and the time when new IMI occur in heifers during the periparturient period.

Prepartum Treatment of Heifer Mammary Glands with Dry Cow Antibiotics: Another strategy that has received considerable research attention is based on intramammary treatment of heifer mammary glands with a dry cow antibiotic formulation during different trimesters of pregnancy (Owens et al., 1991; 1994; 2001; Owens and Ray, 1996; Trinidad et al., 1990c). Mammary quarters of 35 breeding-age and primigravid Jersey heifers were infused with a nonlactating cow antibiotic formulation containing penicillin/streptomycin. Thirty-eight breeding-age and primigravid Jersey heifers served as untreated controls (Trinidad et al., 1990c). Of the 35 treated heifers, 34 (97.1%) were infected at time of treatment. In the untreated control group, all 38 heifers (100%) were infected at treatment time. At parturition, prevalence of IMI in treated heifers decreased to 40%, whereas prevalence in the control group remained about the same (97.4% of heifers). Prevalence of *Staph. aureus* mastitis in treated heifers was reduced from 17.1% to 2.9% after treatment. In the control group, prevalence of *Staph. aureus* mastitis decreased from 26.3% to 15.8%. Heifers treated during the second trimester of pregnancy had the greatest reduction in prevalence of mastitis. Results of this study suggest that intramammary treatment of primigravid heifers during pregnancy was effective in reducing prevalence of mastitis and SCC at parturition.

However, efficacy of prepartum antibiotic therapy at 7 or 14 days prior to expected calving (Oliver et al., 1992; Oliver et al., 1997a; Oliver et al., 2003) was considerably higher than that reported by Trinidad et al. (1990c). This could be due, in part, to the time when heifers were treated with antibiotics, differences in the pathogens causing IMI, and the time when IMI occur. In support of this hypothesis, Fox et al. (1995) indicated that the prevalence of heifer IMI was highest during the last trimester of pregnancy. Thus, methods of controlling mastitis in heifers would likely be more effective if administered during the last trimester of pregnancy as opposed to early gestation.

In another study, a nonlactating cow antibiotic formulation containing cephapirin benzathine was evaluated in pregnant and nonpregnant Jersey heifers for its effect on experimentally induced *Staph. aureus* mastitis (Owens et al., 1991). Cephapirin was detectable in mammary secretion of nonpregnant heifers for up to 5 weeks and in tissue for 1 week after intramammary infusion. *Staphylococcus aureus* was not detectable in tissue and secretion of treated quarters at 1 and 3 weeks but was not eliminated from two quarters of one heifer tested at 6 weeks after treatment. Histologic evaluation of mammary tissue from nonpregnant heifers revealed significant differences in leukocytosis between uninfected and *Staph. aureus* infected mammary quarters but no differences in epithelium, lumen, and stroma, indicating no difference in secretion potential or glandular development. Pregnant Jersey heifers (n=25) were experimentally infected in two mammary quarters with *Staph. aureus* 12 to 14 weeks prepartum. After 1 to 3 weeks, 13 heifers were infused in 21 *Staph. aureus*-infected mammary quarters with a commercial cephapirin formulation approved for use in nonlactating cows. Nine infected mammary quarters were left untreated. All treated mammary quarters were bacteriologically negative both at calving and through 2 months after calving. Of the 9 infected mammary quarters not treated prepartum, 1 spontaneously cured and 2 became non-functional. The remaining quarters were treated at calving with a commercial cephapirin formulation approved for use in lactating cows. Of these, 3 cured and 3 failed to resolve. Heifers with cured *Staph. aureus* IMI produced 16.4 kg of milk per day while heifers that remained infected with *Staph. aureus* produced 14.5 kg of milk per day, or 11% less (Owens et al., 1991).

In a subsequent study, Owens et al. (1994) showed that intramammary infusion of a nonlactating cow formulation containing cephapirin into mammary quarters of 18 Jersey heifers 10 to 12 weeks prepartum resulted in cure rates of existing IMI of 96% (24/25), 100% (4/4), and 90% (28/31) for *Staph. aureus*, *Streptococcus* species, and *Staphylococcus* species, respectively. Cure rates of IMI that had been treated with a commercial cephapirin formulation approved for use in lactating cows at parturition were 62.5% (15/24), 100% (22/22), and 100% (3/3) for *Staph. aureus*, *Streptococcus* species, and *Staphylococcus* species, respectively. Initial SCC of secretions from infected mammary quarters were greater than from uninfected mammary quarters. At 2 months postpartum, the SCC of milk from treated and cured mammary quarters were reduced in comparison with mammary quarters that remained infected. Cephapirin was present at detectable concentrations in 94, 80, 68, and 61% of treated mammary quarters at 1, 2, 3, and 4 weeks, respectively after infusion of the commercial cephapirin formulation approved for use in nonlactating cows.

At parturition, 24% of treated mammary quarters were positive for inhibitors, however, no mammary quarters remained positive for inhibitors at 5 days postpartum. An additional 40 heifers from a commercial herd were sampled and infused in all mammary quarters with the commercial cephapirin formulation approved for use in lactating cows at 16 to 20 weeks prepartum. Cure rates for the commercial herd were 94% (29/31), 94% (16/17), 100% (44/44), and 100% (3/3), respectively, for mammary quarters infected by *Staph. aureus*, *Streptococcus* species, *Staphylococcus* species, and coliforms.

A follow-up study in 42 dairy heifers was conducted (Owens and Ray, 1996). Prepartum bacteriologic examination of mammary secretions from 42 dairy heifers 12 to14 weeks prepartum revealed a total of 24 *Staph. aureus* infected mammary quarters, 53 *Staphylococcus* species infected mammary quarters, and 20 *Streptococcus* species infected mammary quarters. Prepartum intramammary therapy of primigravid dairy heifers with two commercially available antibiotic formulations approved for use in nonlactating cows (penicillin-novobiocin or cephapirin) resulted in cure rates of 94%, 97%, and 100% for *Staph. aureus*, *Staphylococcus* species, and *Streptococcus* species, respectively. No protective effect was observed for dry cow treatment of uninfected mammary quarters of heifers for either of the commercially available antibiotic formulations approved for use in nonlactating cows. No antibiotic was detectable in heifer secretions collected at parturition indicating that antibiotic concentrations may have fallen below protective levels prior to parturition.

In a much larger study, 233 dairy heifers were treated 0 to 90, 90 to 180, or 180 to 270 days prepartum with one of five different antibiotic formulations for use in nonlactating cows to determine the best time to treat and the most effective product to use (Owens et al., 2001). At the initial sampling, 56.5% of mammary quarters were infected and 15.4% of mammary quarters were infected with *Staph. aureus*. Treatments included a commercially available cephapirin dry cow product, a commercially available penicillin-novobiocin dry cow product, a commercially available penicillin-streptomycin dry cow product, an experimental dry cow product containing tilmicosin, and a dry cow product containing cephalonium. Cure rates for the five antibiotic products were equally effective against *Staph. aureus* and all were significantly more effective than the spontaneous cure rate observed in untreated control mammary quarters. Furthermore, no differences in efficacy were observed due to the different treatment times prepartum. However, fewer new *Staph. aureus* infections occurred after treatment in the third trimester of pregnancy. Fox et al. (1995) indicated that the prevalence of heifer IMI was highest during the last trimester of pregnancy. Thus, methods of controlling mastitis in heifers would likely be more effective if administered during the last trimester of pregnancy as opposed to early gestation.

Prepartum Intramuscular Treatment of Heifers with Antibiotics: Recent research evaluated intramuscular injection of penethamate hydriodide in heifers before calving as a means of controlling mastitis in heifers. Penethamate hydriodide is a diethylaminoethyl ester of penicillin. After intramuscular injection, it is rapidly absorbed from the site of injection and upon entering the blood, partially dissociates by hydrolysis into penicillin G and diethylaminoethanol (Friton et al., 2003). Upon administration, undissociated penethamate hydriodide circulates in the blood (pH 7.2) in a non-ionized form and easily crosses the blood-milk barrier because of the pH gradient present between milk (pH 6.6-6.8) and plasma (pH 7.2) and its weakly basic state (pKa = 8.4). Passage across the lipo-proteineic blood-milk barrier is further facilitated by its highly lipophylic properties. Penethamate hydriodide starts to dissociate as it passes over the blood-milk barrier and this continues during diffusion of the drug through the udder, releasing increasing quantities of penicillin G. Penicillin G is rapidly ionized in the udder (pKa = 2.8) thus limiting its return to the circulation. It therefore becomes "trapped" in the udder in increasing concentrations (Friton et al., 2003). Results from a recent study by Almeida et al. (2007) showed that penethamate hydriodide at concentrations 0.032 mg/ml killed > 87% of intracellular *Strep. uberis, Strep. dysgalactiae and Staph. aureus located in the mammary epithelial cell cytoplasm. Confocal laser and transmission electron microscopy confirmed what was observed when intracellular killing assays were used, reaffirming the effective intracellular killing activity of penethamate hydriodide. Thus,* penethamate hydriodide is capable of entering mammary epithelial cells in culture and effective at killing intracellular mastitis pathogens without affecting mammary epithelial cell viability.

A study by Moroni et al. (2002) was conducted in an Italian dairy herd with a high prevalence of *Staph. aureus* mastitis. Heifers in this study received two intramuscular injections of penethamate hydriodide 24 hours apart 2 months prior to expected calving. In addition, heifers confirmed healthy were segregated



from infected heifers. Authors concluded that this strategy significantly decreased *Staph. aureus* IMI at calving and resulted in a lower SCC and increased milk yield of heifers.

A prospective cohort study was carried out evaluating parenteral use of 10 g of penethamate hydriodide in heifers before calving in a commercial dairy herd in New Zealand (Bryan and Friton, 2005). Heifers (n=96) were enrolled and treated 3.5 $\pm$ 2.1 days (mean $\pm$ SD) before expected calving; 57 were treated parenterally with penethamate hydriodide and 39 heifers were untreated controls. A significant reduction in the incidence of mastitis (22.8% vs. 41.0%; RR = 0.52, P=0.029) was observed in antibiotic-treated heifers after calving, and treatment was associated with increased milk production (P=0.06 at first herd test after calving, corrected for days in milk). Authors suggested that therapy shortly before calving with penethamate hydriodide in heifers with a high risk of mastitis during the periparturient period would likely be of significant preventative and economic benefit.

Economic Implications of Antibiotic Administration for the Control of Heifer Mastitis: Data are equivocal regarding the influence of antibiotic treatment of heifers before or near calving on milk production in the subsequent lactation. Some studies reported that prepartum antibiotic-treated heifers produced significantly more milk than control heifers (Owens et al. 1991; Oliver et al. 2003; Bryan and Friton 2005; Sampimon and Sol, 2005). A prospective cohort study by Bryan and Friton (2005) demonstrated that heifers treated parenterally near calving had a significant reduction in the incidence of mastitis after calving, and treatment was associated with increased milk production at first herd test after calving. Cost benefit and sensitivity analysis using a deterministic model showed an overall return on investment of $186 New Zealand per heifer, or > 6 times the investment based on $30 treatment cost.

Oliver et al. (2003) determined the influence of prepartum antibiotic treatment on subsequent lactational performance of Jersey heifers. Prepartum antibiotic treatment to reduce the rate of mastitis in Jersey heifers during early lactation was economically beneficial (Oliver et al., 2003). Milk production and SCC score data from 82 control heifers and 111 heifers treated with antibiotics before calving were evaluated. Milk production (actual and 305-day) was significantly higher in heifers treated with antibiotics. Heifers treated with antibiotics before calving had a significantly lower SCC score than control heifers (2.63 vs. 2.04). Actual milk production averaged 11,429 pounds (5,195 kg) for untreated heifers and 12,597 pounds (5,726 kg) for antibiotic-treated heifers. Multiplying the increase in actual milk production (1168 pounds, 531 kg) in prepartum antibiotic-treated heifers by a milk price of $18.50/cwt ($0.407/kg) yielded a $216.24 per-heifer increase in gross revenue. Treatment costs of $15.60 were as follows: teat hygiene ($0.10) which included the cost of a premilking teat disinfectant, barrier postmilking teat disinfectant and disposable paper towel; antibiotics ($10.00); and labor ($2.50). Another cost that may arise is the cost of testing for antibiotic residues in milk of heifers that calve too soon after treatment that we estimated to be $3.00. Subtracting the cost of treatment ($15.60/heifer) from gross revenue resulted in a net revenue increase of $200.64 per heifer. These net revenue figures included the cost of testing for antibiotic residues for all antibiotic-treated heifers.

Break-even analysis indicated that it would be profitable to treat heifers before calving as long as the milk price was above $0.013 per pound or $1.30/cwt ($0.029/kg). Milk price would not likely fall low enough to make treatment of prepartum heifers unprofitable. A similar relationship between the increase in net revenue and the hourly wage rate of labor was determined. Given a milk price of $0.185/pound ($0.407/kg), net revenue is equal to zero where the hourly wage rate of labor equals $812.56 per hour. This suggests that treating heifers with antibiotics before calving would be profitable for wage rates below $812.56/hour. The relationship between net revenue increases and the increase in pounds (kg) of milk produced due to treatment, given a wage rate of $10.00/hr and a milk price of $0.185/pound ($0.407/kg) was determined also. Treatment would be profitable as long as the increase in milk production is greater than 84 pounds (38.2 kg; Oliver et al., 2003).

Conversely, other studies have shown that antibiotic treatment of heifers before or near calving reduced IMI but did not increase milk production or lower SCC in the subsequent lactation (Borm et al. 2006; Middleton et al. 2005). Reasons for this are unclear and need to be delineated. One potential explanation for differences or lack thereof in milk production following prepartum antibiotic therapy could be due to the prevalence of infection in the herds evaluated. In support of this contention, a recent trial by Sampimon and Sol (2005) indicated that prepartum antibiotic treatment of heifers was beneficial on high prevalence

farms but not on low prevalence farms. This study was conducted in 13 Dutch dairy farms where 196 heifers were treated with cloxacillin 8 to 10 weeks before expected calving and another 196 heifers served as untreated controls. Farms with < 15% of heifers with a cow SCC > 150,000 cells/ml at the start of the trial were considered low prevalence (LP) while farms with > 15% were considered as high prevalence farms (HP). Expected 305-day milk production was significantly higher (496 L) in antibiotic-treated heifers from HP farms in comparison with untreated animals but this difference was only 77 L (not significant) in heifers from LP farms. In both groups of farms, cow SCC was significantly lower in antibiotic-treated heifers compared to untreated controls. An IMI had a significant influence on milk production and cow SCC in the treated and also in the untreated group in comparison to animals without an IMI. Authors concluded that treatment of heifers is beneficial on HP but not on LP farms. Thus, treatment of heifers in a high prevalence herd may be more advantageous from a milk production perspective than in lower prevalence herds. However, high and low prevalence herds still need to be defined.

Another potential explanation for differences or lack thereof in milk production following prepartum antibiotic therapy could be due to the types of pathogens causing infection and the incidence of clinical mastitis in heifers in the herds evaluated. Some IMI in heifers result in clinical mastitis during the prepartum period and during early lactation. Nickerson et al. (1995) indicated that 29% of heifers and 15% of mammary quarters exhibited clinical mastitis at breeding age as evidenced by clots or flakes in mammary secretions. In another study, *Strep. dysgalactiae* and *Strep. uberis* were isolated from 34.4% and 19.5%, respectively, of heifers with clinical mastitis occurring from puberty up to 14 days after calving involving bacterial analyses of 2069 udder secretions isolated from 1481 heifers with clinical mastitis in Sweden (Jonnson et al. 1991). Waage et al. (1999) reported results of a one-year field investigation of clinical mastitis in heifers in Norway. The study included 1,361 cases of clinical mastitis in 1,040 heifers that occurred prepartum or within 14 days after calving. Mastitis pathogens isolated most frequently from mammary quarters with clinical mastitis were *Staph. aureus* (44.3%), *Strep. dysgalactiae* (18.2%), *Staph. aureus* together with *Strep. dysgalactiae* (1.2%), CNS (12.8%), *A. pyogenes* (3.5%), *A. pyogenes* together with *Strep. dysgalactiae* (0.5%) or *Staph. aureus* (0.4%), and *Escherichia coli* (6.4%). Of the CNS isolated, *Staph. simulans* (53.7%), *Staph. hyicus* (14.8%) and *Staph. chromogenes* (14.8%) were the most prevalent species.

Vaccination Strategies to Control Heifer Mastitis: Vaccination as a method to control mastitis in heifers also been conducted, however, results of those studies are equivocal. Nordhaug et al. (1994) used 108 heifers in a placebo-controlled multicenter study to evaluate an experimental *Staph. aureus* mastitis vaccine containing whole, inactivated bacteria with pseudocapsule, alpha and beta toxoids, and a mineral oil as adjuvant. Heifers were injected in the area of the supramammary lymph nodes twice before calving. None of the vaccinated animals developed clinical *Staph. aureus* mastitis and 8.6% developed subclinical *Staph. aureus* mastitis. Conversely, 16.0% of control heifers developed clinical or subclinical *Staph. aureus* mastitis. Mean SCC in vaccinated and control heifers were the same throughout lactation. In the statistical analyses, when cow was used as the unit of concern, no significant differences occurred between groups. However, when all parameters on udder health were considered together, results indicated a potential protective effect of this vaccine during the entire lactation. Nickerson et al. (2000) suggested a positive effect of vaccination with a polyvalent *Staph. aureus* vaccine by increasing antistaphylococcal antibody titers and in preventing new *Staph. aureus* infections when the program was initiated at an early age in heifers from a herd with a high exposure to *Staph. aureus*. More recently, Nickerson et al. (2008) reported that the percentage of heifers with *Staph. aureus* IMI at calving was significantly lower in heifers vaccinated with a commercially available vaccine containing a lysed culture of polyvalent *S. aureus* somatic antigens containing 5 phage types than in unvaccinated heifers. SCC were also lower in vaccinated heifers during the first week of lactation.

A placebo-controlled field study was performed to evaluate the effect of a herd-specific vaccine against *Staph. aureus* on IMI, SCC, and clinical mastitis (Tenhagen et al., 2001). Heifers in the vaccination group (n=164) were vaccinated twice at 5 and 2 weeks before expected calving. Heifers in the control group (n=157) received the same treatment with a placebo containing no bacterial antigen. The prevalence of *Staph. aureus* in quarter milk samples taken at calving and 3 to 4 weeks after calving did not differ significantly between the vaccine and control group. Incidence of clinical mastitis during the first 3 months after calving and the prevalence of *Staph. aureus* in quarter milk samples taken before the onset of treatment did not



differ significantly between groups. The SCC was lower in vaccinated than in control heifers. However, the difference was only significant on the third milk test day. Use of a herd-specific vaccine against *Staph. aureus* did not prove to be effective on this farm.

Thus, based on the few studies that have been reported, data are equivocal regarding efficacy of vaccination for the prevention of mastitis in heifers. One significant advantage of strategies based on vaccination is that this is a non-antibiotic approach for controlling mastitis and potential problems associated with antibiotic residues and antibiotic resistance are avoided. One important limitation, however, is that vaccination is pathogen specific. Since mastitis in heifers is caused by many different pathogens, vaccination against a single pathogen will not eliminate IMI caused by pathogens not targeted in the vaccine.

Prepartum Teat Disinfection to Control Heifer Mastitis: Another approach for controlling mastitis in heifers was based on prepartum teat disinfection with a germicide barrier teat disinfectant (Edinger et al., 2000). The effect of teat dipping with a barrier teat dip prior to parturition on IMI and clinical mastitis during the first 5 days postpartum was investigated in a split udder trial in 149 Holstein-Frisian heifers. Two mammary quarters were dipped three times weekly with a barrier teat disinfectant containing 0.1% polyvidon iodine from day 260 of gestation until parturition, and the remaining mammary quarters served as untreated controls. Bacteria were isolated from 52.2% of quarter milk samples collected immediately after parturition prior to first machine milking. *Staphylococcus aureus* and CNS were isolated most frequently (29.2 and 35.6% of the positive samples, respectively). At parturition, 6.7% of heifers showed signs of clinical mastitis and another 27.5% developed signs of clinical mastitis during the first five days of lactation. No significant differences in IMI and clinical mastitis were found between mammary quarters dipped in the barrier teat dip prior to parturition and undipped control quarters. Authors concluded that teat disinfection prior to parturition in primigravid dairy heifers did not improve udder health in this trial (Edinger et al., 2000).

Conclusions: Intramammary infections in breeding age and pregnant heifers is much higher than previously thought. Many of these infections can persist for long periods of time, are associated with elevated SCC, and may impair mammary development during gestation and affect milk production after calving. Several potential heifer mastitis risk factors have been identified including calving in summer, high herd SCC, presence of *Staph. aureus* and *Mycoplasma spp.*, absence of fly control, feeding calves mastitic milk, contact among calves, absence of antibiotic therapy to heifers, contact with adult cows, inadequate milking practices, poor housing conditions, increased incidence of clinical mastitis in a herd, an increase in herd mean milk yield, calving in late spring or early summer, increased age at first calving, milk leakage, blood in the milk, udder and teat edema, and presence of pathogens on heifer body sites. Presence of IMI before calving increased risk of infection during lactation, IMI at calving increased the risk of clinical mastitis within the first week after calving, and mastitis prior to parturition and mastitis within the first week after calving increased the risk of further cases of mastitis and culling during the first 45 days of lactation. Several strategies have been evaluated to control mastitis in heifers. Those strategies that were shown to be most effective involve the use of antibiotics. Prepartum intramammary antibiotic infusion of heifer mammary glands is an effective procedure for eliminating many infections in heifers during late gestation and for reducing the prevalence of mastitis in heifers both during early lactation and throughout lactation. Some studies reported that prepartum antibiotic-treated heifers produced significantly more milk than control heifers and had significantly lower SCC scores than untreated control heifers. These observations are likely associated with or due to the lower prevalence of mastitis pathogen isolation in prepartum antibiotic-treated heifers throughout lactation. One disadvantage of this strategy for controlling heifer mastitis is the potential for antibiotic residues in marketable milk. If heifers are treated with antibiotics before calving, dairy producers must make sure that milk is free of inhibitors since milk contaminated with antibiotics is unfit for human consumption. While much has been learned about mastitis in heifers, many issues remain unanswered such as: (1) identification of herds where this strategy would be most advantageous and cost effective, (2) should all heifers in the herd be treated or only certain heifers?, (3) are there certain CNS species that are more problematic than others?, and (4) identification of key risk factors that could have a significant impact on prevention of heifer mastitis so that antibiotic treatment could be minimized. Additional studies are needed to address these fundamentally important questions.

Acknowledgments: Studies conducted at The University of Tennessee were supported by the Tennessee



Agricultural Experiment Station, and The University of Tennessee College of Veterinary Medicine Center of Excellence Research Program in Livestock Diseases and Human Health. The author expresses his appreciation to personnel in the Lactation/Mastitis/Food Safety Research Program at The University of Tennessee and to personnel at DREC and MTREC for excellent technical assistance.

Literature Cited

- Aaerstrup, F. M., and N. E. Jensen. 1997. Prevalence and duration of intramammary infection in Danish heifers during the peripartum period. J. Dairy Sci. 80:307-312.
- Almeida, R. A., D. A. Patel, G. M. Friton, and S. P. Oliver. 2007. Intracellular killing of mastitis pathogens by penethamate hydriodide following internalization into mammary epithelial cells. *J. Vet. Pharmacology & Therapeutics* 30(2):151-156.
- Andrew, S. M., K. M. Moyes, A. A. Borm, L. K. Fox, K. E. Leslie, J. S. Hogan, S. P. Oliver, Y. H. Schukken, W.E. Owens, and C. Norman. 2007. Factors associated with the risk of antibiotic residues and intramammary pathogen presence in milk from heifers administered prepartum intramammary antibiotic therapy. pp. 98-99 *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,* Ghent, Belgium.
- Bishop, J. R., and C. H. White. 1984. Antibiotic residue detection in milk: a review. *J. Food Prot.* 47:647-65.
- Borm, A. A., L. K. Fox, K. E. Leslie, J. S. Hogan, S. M. Andrew, S. P. Oliver, Y. H. Schukken, D. D. Hancock, C. T. Gaskins, W. E. Owens, and C. Norman. 2006. Effects of prepartum intramammary antibiotic therapy on udder health, milk production, and reproductive performance in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 89:2090-2098.
- Bryan, M. A., and G. M. Friton. 2005. Stochastic economic modeling of the use of penethamate hydriodide (Mamyzin) in heifers pre-calving to control peri-parturient mastitis. *In: Proc. IDF Intl. Conf. on Mastitis.*
- Burvenich, C., D. D. Bannerman, J. D. Lippolis, L. Peelman, B. J. Nonnecke, M. E. Kehrli,, and M. J. Paape. 2007. Cumulative physiological events modulate the inflammatory response of the bovine udder to *Escherichia coli i*nfections around parturition. pp. 75-76 *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,* Ghent, Belgium.
- Detilleux, J. C. 2007. Genetic factors affecting susceptibility to udder pathogens. pp. 100-102. *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,* Ghent, Belgium.
- Edinger, D., B. A. Tenhagen, W. Heuwieser, P. Kalbe, G. Klunder, and B. Baumgartner. 1999. Effect of puerperal mastitis in primiparous cows on milk production, cell count and culling. *Dtsch. Tierarztl. Wochenschr.* 106:470-474.
- Edinger, D., B. A. Tenhagen, P. Kalbe, G. Klunder, B. Baumgartner, and W. Heuwieser. 2000. Effect of teat dipping with a germicide barrier teat dip in late gestation on Intramammary infection and clinical mastitis during the first 5 days postpartum in primiparous cows. *J. Vet. Med. A* 47:463- 468.
- Fox, L. K., S. T. Chester, J. W. Hallberg, S. C. Nickerson, J. W. Pankey, and L. D. Weaver. 1995. Survey of intramammary infections in dairy heifers at breeding age and first parturition. *J. Dairy Sci.* 78:1619-28.
- Fox, L. K. 2007. Prevalence and incidence of clinical and subclinical heifer mastitis. pp. 62 – 64 *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,* Ghent, Belgium.
- Friton, G. M., J. C. Van Hattum, and D. Horstermann. 2003. Pharmacokenetics in plasma and milk of benzylpenicillin following repeated intramuscular administration of Mamyzin (penethamate hydriodide) in lactating cows. *J. Vet. Pharmacol. Ther.* 26 (Suppl. 1): 100-101.
- Gillespie, B. E., W. E. Owens, S. C. Nickerson, and S. P. Oliver. 1999. Deoxyribonucleic acid fingerprinting of *Staphylococcus aureus* from heifer mammary secretions and from horn flies. *J. Dairy Sci.* 82:1581-1585.
- Gillespie, B. E., S. I. Headrick, S. Boonyayatra, and S. P. Oliver. 2007. Prevalence of coagulase-negative *Staphylococcus* species from three Tennessee dairy research herds. pp. 40-41 *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,* Ghent, Belgium.
- Ginn, R. E., R. Case, V. S. Packard, and S. Tatini. 1982. Quantitative assay of beta lactam residues in raw milk using a disc assay method. *J. Food Prot.* 45:571-57.
- Harmon, R. J., W. L. Crist, R. W. Hemken, and B. E. Langlois. 1986. Prevalence of minor udder pathogens after intramammary dry treatment. *J. Dairy Sci.* 69:843-49.
- Heinrichs, A. J., S. S. Costello, and C. M. Jones. 2007. Control of heifer mastitis by nutrition. pp. 105-106 *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,* Ghent, Belgium.
- Jonsson, P., S. O. Olsson, A. S. Olofson, C. Falth, O. Holmberg, and H. Funke. 1991. Bacteriological investigations of clinical mastitis in heifers in Sweden. *J. Dairy Res.* 58:179-185.



- Matthews, K. R., R. J. Harmon, and B. E. Langlois. 1992. Prevalence of *Staphylococcus* species during the periparturient period in primiparous and multiparous cows. *J. Dairy Sci.* 75:1835-39.
- Martin-Richard. 2001. Prevalence of mastitis in heifers and associated risk factors. *In: Proc. 3rd Symposium de Calidad de Leche y Seguridad Alimentaria.*
- McDougall, Scott, Fiona M. Anniss, Laura Haakma, Katrina I. Parker, and Chris W.R. Compton. 2007. Management approaches to controlling heifer mastitis. pp. 109-110 *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,* Ghent, Belgium.
- Middleton, J. R., L. L. Timms, G. R. Bader, Lakritz, C. D. Luby, and B. J. Steevens. 2005. Effect of prepartum intramammary treatment with pirlimycin hydrochloride on prevalence of early first-lactation mastitis in dairy heifers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 227:1969-1974.
- Moroni, P. A. Casula, G. Spreafico, G. Ruffo, and V. Bronzo. 2002. New strategy in management and control of *Staphylococcus aureus* intramammary infections in heifers in Italian dairy herd. *In: Proc. Natl. Mastitis Counc.*, pp. 182-183.
- Myllys, V. 1995. Staphylococci in heifer mastitis before and after parturition. *J. Dairy Res.* 62:51-60.
- Nickerson, S. C., W. E. Owen, and R. L. Boddie. 1995. Mastitis in dairy heifers: initial studies on prevalence and control. *J. Dairy Sci.* 78:1607-18.
- Nickerson, S. C., W. E. Owens and R. L. Boddie. 2000. Efficacy of a *Staph. aureus* mastitis vaccine in dairy heifers. *In:* Proc. Symp. Immunol. Ruminant Mammary Gland, Stresa, Italy, pp. 426-431.
- Nickerson, S. C., E. P. Hovingh, C. Peterson, S. Brannock, E. Schaffer, and P. W. Widel. 2008. Efficacy of a *Staphylococcus aureus* bacterin in reducing the new infection rate and somatic cell count in a commercial dairy herd. *In: Proc. NMC*, pp. 234-235.
- Nickerson, S. C. 2007. Control of heifer mastitis I – Antimicrobial treatment. pp. 90-91 *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,* Ghent, Belgium.
- Nordhaug, M. L., L. L. Nesse, N. L. Norcross and R. Gudding. 1994. A field trial with an experimental vaccine against *Staphylococcus aureus* mastitis in cattle. 1. Clinical parameters. *J. Dairy Sci.* 77:1267-1275.
- Oliver, S. P., and B. A. Mitchell. 1983. Intramammary infections in primigravid heifers near parturition. *J. Dairy Sci.* 66:1180-83.
- Oliver, S. P. 1987. Intramammary infections in heifers at parturition and during early lactation in a herd with a high prevalence of environmental mastitis. *Tennessee Farm Home Science* 143:18-22.
- Oliver, S. P., and L. M. Sordillo. 1988. Udder health in periparturient period. *J. Dairy Sci.* 71:2584-2606.
- Oliver, S. P. 1988. Frequency of isolation of environmental mastitis causing pathogens and incidence of new intramammary infection during the nonlactating period. *Am. J. Vet. Res.* 48:1789-93.
- Oliver, S. P., M. J. Lewis, B. E. Gillespie, and H. H. Dowlen. 1992. Influence of prepartum antibiotic therapy on intramammary infections in primigravid heifers during early lactation. *J. Dairy Sci.* 75:406-14.
- Oliver, S. P., M. J. Lewis, B. E. Gillespie, and H. H. Dowlen. 1997a. Antibiotic residues and prevalence of mastitis pathogen isolation in heifers during early lactation following prepartum antibiotic therapy. *J. Vet. Med.* B 44:213-220.
- Oliver, S. P., M. J. Lewis, B. E. Gillespie, and H. H. Dowlen. 1997b. Mastitis pathogen isolation in heifers throughout lactation following prepartum antibiotic treatment. *In: Proc. Natl. Mastitis Council,* pp. 254-255.
- Oliver, S. P., M. J. Lewis, B. E. Gillespie, H. H. Dowlen, E. C. Jaenicke, and R. K. Roberts. 2003. Milk production, milk quality and economic benefit associated with prepartum antibiotic treatment of heifers. *J. Dairy Sci.* 86:1187-1193.
- Oliver, S. P., R. N. Gonzalez, J. S. Hogan, B. M. Jayarao, and W. E. Owens. 2004a. **Microbiological procedures for the diagnosis of bovine udder infection and determination of milk quality.** 4th Edition, The National Mastitis Council, Inc., Verona, WI.
- Oliver, S. P., S. J. Ivey, B. E. Gillespie, M. J. Lewis, D. L. Johnson, K. C. Lamar, H. Moorehead, H. H. Dowlen, S. T. Chester and J. W. Hallberg. 2004b. Influence of prepartum intramammary infusion of pirlimycin hydrochloride or penicillin-novobiocin on mastitis in heifers during early lactation. J. Dairy Sci. 87:1727-1731.
- Oliver, S. P., S. J. Headrick, B. E. Gillespie, M. J. Lewis, D. L. Johnson, K. C. Lamar, H. Moorehead, H. H. Dowlen, and J. W. Hallberg. 2007. Mastitis in heifers during early lactation following intramammary infusion of pirlimycin hydrochloride or penicillin-novobiocin at the first milking after parturition. *J. Dairy Res*. 74 (2) 211-217.



- Oliver, S. P. 2007. Types and sources of mastitis pathogens associated with heifer mastitis. pp. 69-70 *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,* Ghent, Belgium.
- Owens, W. E., S. C. Nickerson, P. J. Washburn, and C. H. Ray. 1991. Efficacy of a cephapirin dry cow product for treatment of experimentally induced *Staphylococcus aureus* mastitis in heifers. *J. Dairy Sci.* 10:3376-3382.
- Owens, W. E., S. C. Nickerson, P. J. Washburn, and C. H. Ray. 1994. Prepartum antibiotic therapy with a cephapirin dry-cow product against naturally occurring intramammary infections in heifers. *Zentralbl. Veterinarmed. B* 41:90-100.
- Owens, W. E., and C. H. Ray. 1996. Therapeutic and prophylactic effect of prepartum antibiotic infusion of heifers. *Zentralbl. Veterinarmed. B* 43:455-459.
- Owens, W. E., S. P. Oliver, B. E. Gillespie, C. H. Ray, and S. C. Nickerson. 1998. The role of horn flies (*Haemetobia irritans*) in *Staphylococcus aureus* mastitis in dairy heifers. *Am. J. Vet. Res*. 59:1122-1124.
- Owens, W. E., S. C. Nickerson, R. L. Boddie, G. M. Tomita, and C. H. Ray. 2001. Prevalence of mastitis in dairy heifers and effectiveness of antibiotic therapy. *J. Dairy Sci.* 84:814-817.
- Palmer, C. C., J. C. Kakavas, and J. Hay. 1941. Studies on bovine mastitis in heifers. *Am. J. Vet. Res.* 2:18.
- Pankey, J. W., P. A. Dreschsler, and E. E. Wildman. 1991. Mastitis prevalence in primigravid heifers at parturition. *J. Dairy Sci.* 74:1550-52.
- Piepers, S., S. De Vliegher, G. Opsomer, and H. W. Barkema. 2007. pp. 81-83 *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,* Ghent, Belgium.
- Roberson, J. R., L. K. Fox, D. D. Hancock, J. M. Gay, and T. E. Besser. 1998. Sources of intramammary infections from *Staphylococcus aureus* in dairy heifers at first parturition. *J. Dairy Sci.* 81:687-693.
- Sampimon, O., and J. Sol. 2005. Efficacy of a cloxacillin dry cow product for treatment of heifers on farms with a low and high prevalence of heifer mastitis in the Netherlands. pp. 278 – 284 *In: Proc. IDF Intl. Conf. on Mastitis.*
- Sawant, A.A, B. E. Gillespie, and S. P. Oliver. 2007a. Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative *Staphylococcus* species isolated from bovine intramammary infections. pp. 52-53 *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,*Ghent, Belgium.
- Sawant, A. A., B. E. Gillespie, and S. P. Oliver. 2007b. Pathogenicity factors and antimicrobial resistance of *Staphylococcus epidermidis* isolated from bovine mammary glands. pp. 54-55 *In: Proc. Symp. on Coagulase-Negative Staphylococci in Bovine Mastitis and the Heifer Mastitis Conference,* Ghent, Belgium.
- Schalm, O. W. 1942. *Streptococcus agalactiae* in the udder of heifers at parturition traced to suckling among calves. *Cornell Vet.* 34:49.
- Smith, K. L., J. S. Hogan, D. A. Todhunter, W. P. Weiss, and P. S. Schoenberger. 1994. Intramammary infection and clinical mastitis in heifers at calving and dynamics over a 14 year period in a dairy herd. *J. Dairy Sci. 77*(Suppl. 1):197. (Abstr).
- Tenhagen, B. A., D. Edinger, B. Baumgartner, P. Kalbe, G. Klunder, and W. Heuwieser. 2001. Efficacy of a herd-specific vaccine against Staphylococcus aureus to prevent post-partum mastitis in dairy heifers. *J. Vet. Med. A* 48:601-607.
- Trinidad, P., S. C. Nickerson, and T. K. Alley. 1990a. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 73:107-14.
- Trinidad, P., S. C. Nickerson, and R. W. Adkinson. 1990b. Histopathology of staphylococcal mastitis in unbred heifers. *J. Dairy Sci.* 73:639-47.
- Trinidad, P., S. C. Nickerson, T. K. Alley, and R. W. Adkinson. 1990c. Efficacy of intramammary treatment in unbred and primigravid dairy heifers. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 197:465-70.
- Trinidad, P., S. C. Nickerson, and D. G. Luther. 1990d. Antimicrobial susceptibilities of staphylococcal species isolated from mammary glands of unbred and primigravid dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 73:357-62.
- Waage, S., S. Sviland, and S. A. Odegaard. 1998. Identification of risk factors for clinical mastitis in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 81:1275-1284.
- Waage, S., T. Mork, A. Roros, D. Aasland, A. Hunshamar, and S. A. Odegaard. 1999. Bacteria associated with clinical mastitis in dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 82:712-719.
- Waage, S., S. A. Odegaard, A. Lund, S. Brattgjerd, and T. Rothe. 2001. Case-control study of risk factors for clinical mastitis in postpartum dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 84:392-399.
- Watts, J. L., S. A. Salmon, R. J. Yancey, Jr., S. C. Nickerson, L. J. Weaver, C. Holmberg, J. W. Pankey, and L. K. Fox. 1995. Antimicrobial susceptibility of microorganisms isolated from the mammary gland of dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 78:1637-48.





PUNTOS SOBRE LOS QUE EL VETERINARIO PUEDE INFLUIR PARA GARANTIZAR LA CALIDAD DE LA CARNE.

Carlos Sañudo Astiz
Cátedra de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Miguel Servet 177, 50.013 Zaragoza, España.

I. INTRODUCCIÓN

El veterinario es sin duda el técnico que, en el momento actual, más directamente tiene que ver con la calidad de la canal, de la carne y de sus productos, al encontrarse profesionalmente integrado en todos los eslabones de la cadena, desde la producción al sacrificio y la transformación. Esto es especialmente verdad en países como España, en donde sus competencias van mucho más allá de la Clínica y Patología Animal y de las Campañas Sanitarias.

Su papel en los programas reproductivos y de mejora en muchas explotaciones ganaderas y ADS, e incluso a nivel de las propias razas (Asociaciones de Ganaderos), su labor como técnico en nutrición y en la formulación de raciones, su actividad profesional en el campo del diagnóstico, de la profilaxis y de las buenas prácticas de manejo, su función como inspector sanitario en mataderos, industrias cárnicas y puntos de venta, incluyendo restauración, y su papel como técnico en industrias cárnicas y alimentarias, le hacen ser claro merecedor del título de "profesional de la calidad" de los productos de origen animal y muy especialmente de la carne. Prácticamente, "menos de lo que hace la vaca", al veterinario se le puede hacer "responsable" de todo lo demás.

Sobre la calidad de la carne, la calidad final que el consumidor va a encontrarse en el momento del consumo o que previamente ha motivado su decisión de compra, influyen una gran cantidad de factores. Factores que van desde aquellos relacionados con el medio (temperatura, humedad, altitud, etc.), intrínsecos del propio animal (raza, edad, sexo, factores genéticos, etc.), con el sistema productivo (grado de intensificación, alimentación, manejo, instalaciones, etc.), con el pre sacrificio y sacrificio propiamente dicho (transporte, espera, aturdimiento), con la conservación y manipulación posterior del producto (tiempo y condiciones



de temperatura, ventilación y humedad de la conservación, sistemas de envasado, sistemática de fileteado, etc.) hasta aquellos que tienen que ver con la imagen del producto, el cocinado y el momento mismo del consumo. Todos ellos ejercen un papel, una influencia pequeña o decisiva en la aceptabilidad del producto y, en definitiva, en futuras intenciones de compra y por lo tanto en la estabilidad y bonanza económica del mercado. Un estómago agradecido, un paladar satisfecho y un bolsillo no excesivamente castigado serán las claves del éxito de futuro.

La canal es el elemento de transición más importante entre el animal vivo y la carne, constituyendo la unidad primordial de comercio entre los productores primarios y los sectores de transformación y comercialización que intervienen en la cadena cárnica. Su calidad determina los precios y por ello figura como objetivo prioritario de técnicos y ganaderos. Sin embargo, este hecho no deja de guardar en sí mismo un fuerte contrasentido: la carne es lo que se consume, no la canal, y por ello aquella debería ser el objetivo prioritario del Sector, sólo debemos esperar que sea posible, en el futuro, pagar por calidad de carne.

Quizás las nuevas tendencias del mercado, con la venta del producto en bandejas, el desarrollo de las atmósferas protectoras con la necesidad de adecuar tiempos de caducidad y fechas óptimas de consumo a músculos concretos, según sus particulares composiciones, estructuras y fisiologías, y el imparable avance de las marcas, harán que, quizás, los planteamientos cambien y las lonjas establezcan los precios en previsión de la calidad del producto que se consume. De todas formas, ese momento está, hoy por hoy, todavía lejano, al menos aquí en España, ya que hoy otros mercados, y otros países, en los que la idea empieza a cuajar.

Por otra parte, en definitiva, dentro del concepto global de calidad se debería entender a todos los "aspectos" de un animal de carnicería, es decir: resultados productivos, económicos y rendimientos, aspectos sanitarios de ese animal, calidad de la canal, calidad de la carne, calidad de la grasa y calidad del quinto cuarto. La carne de vacuno posee, a nivel mundial, un elevado concepto en términos de calidad sensorial. Es, sin duda alguna, uno de los productos de origen animal que más prestigio social tiene a la hora de su demanda y más satisfacción organoléptica produce en el momento de su consumo. Por estas razones, y otras de tipo cultural, alcanza en determinados países cotas de consumo *per cápita* inimaginables en los otros tipos de carnes frescas. Por otra parte, a pesar de este indudable potencial gastronómico, existen otras regiones mundiales con consumos de carne de vacuno realmente bajos, con cifras que no se justifican ni por problemas de precio ni con el nivel adquisitivo del mercado, como es el caso de España, y si por competencia manifiesta con otras especies y percepciones negativas en el consumidor, no sólo con aquellas relacionadas directamente con la calidad sensorial, que algunas veces también se pone en entredicho, sino con aquellas que se relacionan con problemas de salud pública o con fraudes en el ámbito de la producción.

Así, en este mundo cada día más globalizado y más próximo, donde el consumo *per cápita* total de carne está claramente limitado por una cifra que rondaría los 100 kilos/persona y año, el Sector productor como Sector Primario, y todo el mercado detrás, debe conceptualmente preocuparse por la calidad y atender a una serie de "necesidades" impuestas. Estas "necesidades" pueden venir tanto de los posibles países importadores como del mercado nacional o local, o por ambos conjuntamente.

De forma conjunta, para el mercado nacional y para el mercado al que van dirigidas las exportaciones, hay que ofertar productos que sean sanos, con adecuados niveles de grasa total, colesterol y composición de esa grasa en ácidos grasos, en términos absolutos y relativos; homogéneos en el tiempo dentro de una marca; nutritivos, con cantidades elevadas de aminoácidos, minerales (Fe y Zn) y vitaminas; seguros, sin contamimantes ambientales como las dioxinas y metales pesados o contaminantes biológicos nocivos tanto para el consumidor de forma directa (coli, toxoplasmas, priones) como para la cabaña ganadera (fiebre aftosa).

Pensando en el mercado local, nuestro primer, más fiel y pricipal cliente, al que nunca hay que defraudar, tenemos que procurar trabajar con sistemas de producción sostenibles, que utilicen recursos endógenos, y que sean rentables, que generen puestos de trabajo de calidad, que funcionen con sistemas de comercialización eficientes y obtengan productos de calidad a precios razonables. Todo ello con el objetivo de dar a la carne de vacuno una credibilidad, que en determinados sectores ha perdido y que será su activo más importante.

Si pensamos en nuestro Sector productivo de carne de vacuno, como posible o real Sector con capacidad exportadora (recordemos que España produce, de forma mayoritaria, un tipo de producto bovino único a escala mundial y con aceptabilidad desconocida en los posibles mercados de destino) debemos contar con un sitema integrado y eficaz que permita producir a precios competitivos, que nos posibilite hacer frente a los gastos extras de fletes, aranceles, burocracia, primas y subvenciones y posibles "mordidas". Igualmente debemos tener un conocimiento real y profundo del posible mercado de destino. Conocimiento que incluye la legislación local (arancelaria, sanitaria, sobre bienestar animal, transporte, sacrifico, etiquetado, etc.), integral del mercado (canales de distribución, lideres o interlocutores válidos, idiomas), hay que asegurar los cobros, conocer las modas y aptitudes (tendencias de consumo y presentación, cortes, creencias religiosas, mitos y luchar contra la idea de que el producto local es siempre mejor) y, además, conocer las preferencias de ese mercado (visuales en relación con el color y engrasamiento, hábitos culinariós y gustos y preferencias). Queda pués mucho por hacer y el veterinario debería estra detrás de todo ello, como obligación, reto profesional y apuesta de trabajo futuro.

En relación con este último punto, y supuestamente una vez conocida las preferencias de un posible mercado, caben dos posibilidades: una, quizás la más comunmente aceptada, sería producir pensando en ese mercado de destino, cambiando para ello los sistemas de producción para adaptarlos al tipo de producto deseado, otra, la más racional, sería buscar nichos de mercado en los que gusten nuestros productos y dirigir nuestros esfuerzos exportadores hacia ellos. Con eso consegimos, un último extremo, no modificar nuestros sistemas productivos, sistemas a los que está mayoritariamente adaptado el mercado local. Además de ser un objetivo enormemente caro y suponer una acción con mal retorno, de la que sería dificíl volver, si los vaivenes de los mercados internacionales nos obligaran a ello.

En definitiva, el mantenimiento, consolidación y expectativas de crecimiento del mercado, requieren de estudios y reflexiones que analicen los puntos críticos que puedan perjudicar la calidad y que nos guíen en las buenas prácticas para conseguir un producto que haga fidelizarse a los compradores, estimular la demanda y asegurar rentas al Sector. En este camino de análisis de puntos críticos no solo cuenta su identificación, también es importante su cuantificación. Es decir: qué es y qué no es importante en la búsqueda de la calidad. Lo cual genera un problema extremadamente complejo. Su solución, si existe, requiere de esfuerzos multiples, en pasos cortos y bien direccionados, aunque posiblemente no unidireccionales, en los que el veterinario debe involucrarse necesariamente. Bajo el punto de vista del estudio de los puntos críticos, tenemos diversos caminos para acercarnos a la verdad: observación, trabajos de investigación, encuestas al sector y estudios de ámbito comercial. Pasamos a continuación a enumerar algunos de ellos, según trabajos que se han desarrollado, como grupo único o en franca colaboración con otras instituciones (CITA, DFAS-UK, INIA-España; INIA-Uruguay, INRA-Francia, IRTA, ISZ-Italia, Universidad de Dinamarca, UE, etc.), en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza.

II OBSERVACION

La toma de información diaria y la preocupación por las alteraciones o modificaciones de la apariencia y calidad del producto que ocurren de forma ocasional, buscando sus porqués, pueden ser uno de esos caminos de estudio de los puntos críticos.

1. Desangrado.

El lapso de tiempo entre el aturdimiento y el desangrado es otro de los aspectos que merecen ser considerados a la hora de obtener un producto de calidad. Una duración excesiva de este tiempo, especialmente si el aturdimiento ha sido defectuoso, puede provocar la aparición de petequias en el producto que lo hagan poco apetecible y, por lo tanto, de peor calidad.

2. Frío.

Un problema ampliamente descrito, pero mal comprendido en la carne, es las acciones negativas que una temperatura excesivamente alta, combinada con un pH demasiado bajo, generan sobre el producto. La suma de ambos fenómenos produce un degradación proteica lo que conlleva alteraciones en su estructura y, consecuentemente, una excesiva exudación y una modificación del color hacía tonos excesivamente pálidos o hacia la presencia de diferentes tonalidades en el mismo corte. Evidentemente, razas o tipos



genéticos bien musculados, con predominio de fibras de tipo glocolítico, posiblemente individuos con cierta sensibilidad especial, épocas calidas y eventuales déficits de frio, son agentes predisponentes a este problema.

III TRABAJOS DE INVESTIGACION

Un trabajo de investigación suele requerir objetivos concretos y un material y metodología adecuados. La revisión bibliográfica y el conocimiento de la realidad del Sector en el ámbito internacional, nacional o local, son un buen complemento para ir, paso a paso, entendiendo los puntos críticos que existen en la búsqueda y obtención de un producto de calidad.

3. Genética (efecto padre).

Una de las líneas de investigación actuales que, en relación con la calidad de la carne, recibe más atención es la búsqueda de genes o secuencias génicas que pudieran estar relacionadas con la calidad. Previamente, hemos realizado un trabajo de seguimiento de la calidad del producto de añojos procedentes de tandas de selección de sementales de raza Pirenaica. En la Tabla 3.1 se analizan los resultados obtenidos, una vez que los 9 toros estudiados se agruparon según su índice de selección. Se observa que los toros con índice positivo producen una progenie con canales mejor conformadas y musculadas y carne, en general, con unas características intermedias entre los otros dos grupos. En general se puede observar como este índice de selección está mucho más relacionado (Tabla 3.2) con las variables que definen la calidad de la canal, que con aquellas que definen la calidad de la carne.

Tabla 3.1. Calidad del producto en los descendientes de toros de raza Pirenaica según su índice de selección (peso de la descendencia a los 210 días de edad).

	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	P
Indice de selección	-24.22 (6.87)	-3.72 (5.73)	19.80 (6.00)	
Peso vivo (kg)	564.9 (60.3) ^{b}	577.9 (62.6) ^{b}	616.7 (67.7) ^{a}	0.005
Rdto. canal (%)	63.0 (2.10) ^{b}	63.8 (2.39) ^{b}	64.9 (1.65) ^{a}	0.003
Conformación (1-15)	10.4 (1.33) ^{c}	11.4 (1.72) ^{b}	12.5 (1.91) ^{a}	0.000
Engrasamiento (1-15)	5.2 (0.88)	5.2 (0.99)	5.1 (1.41)	0.943
Compacidad (kg/cm)	2.76 (0.27) ^{b}	2.85 (0.27) ^{b}	3.05 (0.26) ^{a}	0.000
S^2 (cm^2)	46.7 (7.62) ^{b}	46.5 (7.34) ^{b}	56.5 (9.01) ^{a}	0.000
% Músculo	73.2 (3.09) ^{b}	74.8 (3.81) ^{ab}	75.9 (3.66) ^{a}	0.010
% Grasa	10.4 (2.33) ^{a}	9.5 (2.98) ^{ab}	5.6 (1.92) ^{b}	0.064
% Hueso	14.8 (2.59) ^{a}	14.4 (1.89) ^{ab}	13.6 (1.79) ^{b}	0.104
% otros	1.4 (0.27) ^{a}	1.1 (0.27) ^{b}	1.5 (0.38) ^{a}	0.000
L*	36.9 (2.23)	37.7 (3.36)	36.6 (3.52)	0.226
a*	21.5 (2.83)	20.7 (2.61)	21.1 (2.86)	0.377
b*	11.6 (3.05)	12.3 (2.58)	12.4 (2.60)	0.375
pH a 7 días	5.55 (0.09)	5.53 (0.08)	5.49 (0.06)	0.017
Mioglobina (mg)	3.62 (0.65) ^{a}	3.26 (0.63) ^{b}	3.52 (0.64) ^{ab}	0.021
CRA (%)	22.7 (2.48) ^{ab}	21.9 (2.84) ^{b}	23.5 (2.64) ^{a}	0.051
C20% (N/cm^2)	5.6 (2.06) ^{b}	6.3 (2.74) ^{b}	3.5 (0.64) ^{a}	0.020
C80% (N/cm^2)	30.1 (8.12) ^{a}	25.7 (7.09) ^{b}	27.2 (7.09) ^{ab}	0.020

Pérdidas cocinado (%)	18.2 (3.01) [a]	16.4 (2.57) [b]	17.7 (3.26) [ab]	0.008
I. olor	52.3 (4.73)	53.0 (4.39)	52.0 (3.77)	0.546
Terneza	54.6 (10.68)	55.0 (9.82)	55.1 (7.96)	0.981
Jugosidad	46.7 (8.97)	47.0 (7.38)	47.40 (7.59)	0.950
I. flavor	55.1 (4.34) [ab]	53.2 (5.79) [b]	55.8 (4.12) [a]	0.039
Aceptabilidad	51.4 (11.68) [a]	44.8 (7.34) [b]	48.9 (9.99) [ab]	0.003

Letras distintas en la misma fila indican diferencias significativas ($p<0.05$) entre grupos. C20% y C80% indican la fuerza necesaria para comprimir la muestra (crudo) un 20% y un 80% de su espesor.

Table 3.2. Coeficientes de correlación de Pearson entre los índices de selección y las variables estudiadas. Sólo se muestran los coeficientes significativos.

	I. selección
Peso sacrificio (kg)	0.243**
Peso canal (kg)	0.288**
Rendimiento canal (%)	0.237**
Width carcass (cm)	0.321**
Longitud del autópodo (cm)	0.264**
Longitud de la pierna (cm)	0.250**
Perimetro de la pierna (cm)	0.305**
Profundidad de la pierna (cm)	0.228*
Compacidad (kg/cm)	0.304*
S^2 (cm^2)	0.348**
Profundidad del lomo (cm)	0.219*
Conformación (1-15)	0.349**
Músculo %	0.231**
Grasa %	-0.225*
pH 7 días	-0.233**
C 80 % (N/cm^2)	-0.192*
C 100 % (N/cm^2)	-0.234**

Correlaciones significativas al $p\leq0.05$; ** correlaciones significativas al $p\leq0.01$

4. Raza.

El factor raza, como criterio de variación de la calidad del producto, está muy controvertido. Existen trabajos en los que no se encuentran diferencias significativas entre razas, o tipos geneticos, y otros en los que se juzga a este factor como fundamental. Las diferencias de resultados entre los diferentes autores pueden ser debidas a los momentos y critrios de comparación elegidos. Según los animales sean comparados a la misma edad, mismo peso, mismo grado de madurez, sean machos o hembras, edad, según sea la dieta y el manejo general y, sobre todo, según el acierto, intención y representatividad de la muestra, los resultados serán, o podran ser, ciertamente diferentes.

En las Tablas 4.1., 4.2 y 4.3, se presentan algunos de los resultados sobre la calidad de la canal y textura de la carne obtenidos del trabajo de un proyecto Europeo (GemQual) en el que se compararon 450 animales de 15 razas bovinas, procedentes de 5 países diferentes (Dinamarca, España, Francia, Italia y Reino Unido). Los animales fueron cebados en sus respectivos países de origen con dietas de la misma densidad energética (12.5 kJ/Kg matería seca) y sacrificados a la edad de 15 meses. SE observa como algunas razas españolas se corresponden, en relación con las variables de calidad de la canal observadas, con las características propias de las grandes razas cárnicas europeas. Es decir: elevados rendimientos a la canal, buenas notas



de conformación, elevada musculsidad y bajos engrasamientos (Sañudo et al., 2004, Campo et al.,2005, Monsón et al., 2005, Panea et al., 2005 y Ertbjerg et al., 2006, Albertí et al., 2008). En relación con la calidad de la carne podemos observar que, igualmente, la raza es un factor de variación significativo de la calidad de la textura del producto (Jurie et al., 2004, Failla et al., 2004).

Ver Tabla 4.1 al final de la ponencia

Tabla 4.2. Evaluación sensorial de la terneza (1-8) por paneles español y británico, medias y desviación estandar, en diversas razas bovinas europeas sacrificadas a los 15 meses de edad. Análisis de varianza a una vía, con la raza como efecto fijo.

Raza	Terneza (panel británico)	Terneza (panel español)
Pirenaica	4.81a	5.62a
Avileña Negra Ibérica	4.63a	5.34ab
Piamontesa	4.55a	5.30ab
Asturiana de los Valles	4.52ab	5.23abc
Jersey	4.48ab	5.19 abc
South Devon	4.47abc	5.19 abc
Limousin	4.47abc	5.21 abc
Charolais	4.44abc	5.18 abc
Red Cattle	4.41abc	5.11 abc
Holstein	4.28abc	4.97abcd
Aberdeen Angus	4.16abc	4.93abcd
Casina	4.12abc	4.40cd
Marchiagiana	3.74bc	4.18d
Highland	3.67c	4.47bcd
Simmental	3.61c	4.16d

[a-d] Letras distintas, dentro de la misma columna, indican diferencias significativas (P< 0.05)

Ver Tabla 4.3 al final de la ponencia

5. Raza sistema de producción.

La adaptación de las razas a los sistemas de producción y al medio ambiente, y del mercado, gustos y preferencias, a todo ello, ha hecho que cada raza y en cada zona, aún con mínimas variaciones, se produzca de forma distinta (dieta, manejo, instalaciones, peso de sacrificio). En trabajo subvencionado por la UE (FAIR CT95 0702) se estudiaron más de 700 animales de 10 razas-sistemas de producción diferentes de España (Asturiana de los Valles, Avileña-Negra Ibérica, Bruna dels Pirineus, Casina, Morucha, Pirenaica y Retinta) y Francia (Aubrac, Gasconne y Salers).

Dentro de cada raza sistema se analizarón las relaciones entre las diferentes variables de calidad de carne estudiadas, con el peso vivo al sacrificio, ganancia media diaria, nota de conformación y nota de engrasamiento de cada individuo.

Los resultados obtenidos indican que cada raza-sistema presenta sus propias peculiaridades y las relaciones entre los aspectos productivos y de calidad de carne pueden llegar a ser, en algunos casos, diferentes según la raza-sistema considerado. Así, dentro de cada raza-sistema, un aumento en la ganancia media diaria implica carne más clara y menos pigmentada, con mayor cantidad de colageno insoluble y con menor dureza instrumental. Un mayor el peso al sacrificio implica, igualmente carne más clara y sin efectos claros sobre la textura y cantidad de garsa del producto. Los animales mejor conformados, dentro de la raza-sistema, tienen carne más clara y pigmentada, menos engrasada, más exudativa y con menor contenido en colageno total e instrumentalmente menos dura. Por último, los más engrasados tienen carne con mayor contenido en grasa, mayor cantidad de colágeno y más pigmentada, sin tendencias claras en relación con

la textura de la carne. Todo ello parecería indicar que la mejora de los indices productivos dentro de raza, conformación y ganancia media diaría y el aumento del peso al sacrificio, lleva consigo una mejora de la calidad del producto para los gustos españoles: carnes más claras, menos engrasadas y, ocasionalmente, más tiernas o sin modificar la textura del producto.

6. Origen de los animales (pasteros o mamones), sexo y maduración.

Se estudiaron un total de 23 animales repartidos en cuatro lotes expermentales. El lote 1, estaba compuesto por 3 machos procedentes del lote comercial estándar, que habían sufrido un estrés previo al sacrificio (Carnes DFD). El lote 2 se componía de 5 machos de tipo comercial estándar. El lote 3 estab compuesto por 8 hembras "mamonas". Y en el lote 4 había 8 hembras "pasteras".

En la Tabla 6.1 se observa cómo, a pesar de que no existieron diferencias significativas entre los pesos canal de los cuatro grupos de animales (213-237 kg), sí que se encontraron diferencias en todas las demás variables analizadas, tanto a nivel de su clasificación comercial, como en las medidas lineales tomadas sobre la canal. Así, la peor conformación y el menor engrasamiento, se encontraron en el grupo de machos control.

Tabla 6.1. Medias y desvíos estándar, valores de F y significación de las variables del estudio de la canal.

	TIPO 1	TIPO 2	TIPO 3	TIPO 4	F y SIGNIFICACION
Peso canal (kg)	237.5 (35.8)	222.9 (14.1)	213.5 (6)	221.9 (46.5)	0.44 ns
Conformación	9b (2)	6a (3)	9b (1)	10b (2)	4.44 *
Engrasamiento	7ab (2)	6a (2)	8b (1)	8b (1)	3.29 *

a, b, c: letras diferentes en la misma fila significan diferencias entre tipos.
Tipo 1: machos DFD, Tipo 2: machos normales, Tipo 3: hembras mamonas, Tipo 4: hembras pasteras.

Los resultados obtenidos para el pH, la capacidad de retención de agua (CRA) y el color se presentan en la Tabla 6.2.

Tabla 6.2. Medias, desviaciones estándar, valores de F y significación de las variables de análisis instrumental.

	TIPO 1	TIPO 2	TIPO 3	TIPO 4	F Y SIGNIFICACION
pH 48h	6.20b (0.19)	5.55a (0.11)	5.49a (0.08)	5.41a (0.07)	49.49 ***
Capacidad retención agua (%)	8.46a (1.35)	13.18b (1.39)	15.51b (2.69)	19.58c (1.93)	22.24 ***
L*	29.83a (0.54)	37.32b (2.87)	40.74c (2.68)	39.21bc (1.86)	17.30 ***
a*	15.78 (5.44)	17.76 (3.52)	16.09 (1.29)	18.69 (1.85)	1.67 ns
b*	2.72a (3.42)	7.87b (1.57)	7.98b (1.47)	9.68b (1.46)	11.07 ***
Hornsey (µg hematina/gr músculo)	103.65 (14.05)	119.80 (32.46)	105.42 (27.41)	105.19 (14.30)	0.45 ns

a, b, c : letras diferentes en la misma fila significa diferencias entre tipos.
Tipo 1: machos DFD, Tipo 2: machos normales, Tipo 3: hembras mamonas, Tipo 4:hembras pasteras.



Los valores de pH se encuentran dentro del rango normal para la especie en ambos orígenes de hembras y en los machos control. Se encontró una lógica diferencia estadísticamente significativa entre estos animales y los del grupo de animales estresados. Por sí sola, la presencia de estos animales implica un mal manejo y selección del grupo de machos control, lo cual nos justifica la necesidad de hacer un esfuerzo, a todos los niveles, para evitar este tipo de problemas. Las diferencias encontradas en la CRA de los diferentes lotes están en concordancia con las diferencias en pH. Así, se observa un esperable aumento de la exudación con el descenso del pH.

La significación de los diferentes efectos estudiados sobre la textura se presenta en la Tabla 6.3. Se observa cómo la maduración fue el efecto significativamente más importante sobre la textura del producto, especialmente sobre la dureza aportada por el componente miofibrilar (C20) y sobre la fuerza necesaria para romper la muestra (carga máxima) y dureza. El componente conectivo (C80) se vio afectado, de manera especial, por el tipo de producto. Este último fue también importante para las pérdidas en el proceso de calentamiento.

Tabla 6.3. Tabla de valores de F y significación de las variables de textura instrumental

	C20	C80	Carga máxima	Dureza	Pérdidas
Tratamiento	3.49 *	3.38 *	1.54 ns	2.58 t	52.09 ***
Maduración	283.14 ***	0.11 ns	302.89 ***	150.23 ***	0.06 ns
Tratamiento x Maduración	0.98 ns	2.25 ns	0.94 ns	0.97 ns	2.58 *

En la Tabla 6.4. se observa cómo el tiempo de maduración produce un ablandamiento manifiesto del producto en C20 y sobre la textura de la carne cocinada, siendo claramente más dura la carne con una maduración más corta. No hubo efectos significativos sobre el componente conectivo (C80), ya que es dudoso un efecto de maduraciones cortas o de media duración sobre este tejido. Igualmente las pérdidas por el proceso de cocinado no se vieron afectadas por el proceso de maduración.

Tabla 6.4. Medias y desvíos estándar para las variables de textura instrumental.

		C20	C80	Carga máxima	Dureza	Pérdidas
TIPO 1	1 Día	8.16c (1.21)	30.38y (1.52)	5.24b (1.11)	2.78c (0.33)	7.17x (0.33)
	3 Días	6.59b (0.39)	28.93 (1.22)	4.21bz (0.05)	1.97b (0.12)	8.35x (1.54)
	10 Días	4.20ay (0.14)	28.33x (1.13)	2.29ay (0.23)	1.45ay (0.06)	6.06x (2.52)
TIPO 2	1 Día	8.56c (0.44)	30.08y (1.40)	5.02c (0.21)	2.83c (0.29)	19.64y (3.16)
	3 Días	5.77b (0.89)	30.12 (0.96)	4.09byz (0.18)	2.10b (0.09)	19.03y (1.99)
	10 Días	4.23ay (0.30)	30.43y (1.80)	2.23axy (0.16)	1.40ay (0.13)	15.94y (2.77)
TIPO 3	1 Día	7.72c (0.62)	28.19ax (0.62)	5.22c (0.43)	2.69c (0.30)	18.16y (2.93)
	3 Días	5.83b (0.64)	29.23ab (1.03)	3.80bx (0.19)	1.94b (0.18)	17.53y (2.03)
	10 Días	3.66ax (0.22)	29.78bxy (1.82)	1.92ax (0.21)	1.07ax (0.20)	19.55yz (0.88)
TIPO 4	1 Día	8.01c (0.54)	29.08xy (1.04)	5.21c (0.59)	2.51c (0.41)	18.71aby (1.44)
	3 Días	5.79b (0.46)	29.20 (1.14)	3.92bxy (0.17)	2.03b (0.17)	17.53ay (2.88)
	10 Días	3.87ax (0.26)	28.47xy (0.66)	2.37ay (0.31)	1.21axy (0.29)	21.49bz (4.37)

a, b, c: letras diferentes en la misma columna significan diferencias entre tiempos de maduración dentro del mismo tipo
x, y, z: letras diferentes en la misma columna significan diferencias entre tipos dentro del mismo tiempo de maduración.
Tipo 1: machos DFD, Tipo 2: machos normales, Tipo 3: hembras mamonas, Tipo 4: hembras pasteras
Entre grupos hubo diferencias para el esfuerzo al 20%, siendo, en general, más tiernas las hembras que los machos, teniendo éstas a unos niveles de terneza muy aceptables, con 10 días de maduración. Además, las hembras del tipo "mamonas" fueron ligeramente menos duras. Igualmente, se encontraron diferencias en la compresión al 80%, y también las hembras presentaron unos valores inferiores. Considerando la carga máxima y la dureza las diferencias entre tipos de animales no fueron significativas, aunque, en correspondencia con lo anterior, las hembras presentaron carnes más blandas. Como era de esperar, los animales DFD presentaron carnes con muy pocas pérdidas por el cocinado e inferiores a los otros tres lotes.
Para los consumidores, tanto el tipo de animal como la maduración resultaron significativos para las tres variables analizadas, pero siempre el tipo de animal resultó con valores de F más altos y por ello se podría decir que es más importante que la maduración. Los resultados obtenidos en el panel de consumidores se presentan en la Tabla 6.5. En general puede observarse que, globalmente, la carne mejora en terneza, calidad del sabor y aceptabilidad conforme aumenta el tiempo de maduración. Igualmente, para las tres variables encuestadas, los consumidores prefirieron la carne de las hembras a la de los machos y, a tiempos de maduración cortos (3 días), la carne de las hembras "pasteras".



Tabla 6.5. Medias y desvíos estándar para las variables empleadas en consumidores

	TIPO 1			TIPO 2			TIPO 3		
	1 Días	3 Días	10 Días	1 Días	3 Días	10 Días	1 Días	3 Días	10 Días
TERNEZA	4.08ax (2.35)	4.42ax (2.60)	5.59bx (2.31)	5.95aby (2.60)	5.14axy (2.55)	6.67by (2.59)	6.20y (2.34)	6.02y (2.41)	6.58y (2.50)
CALIDAD SABOR	5.45x (1.82)	5.94x (1.93)	6.08x (1.68)	6.31aby (2.22)	5.97ax (1.72)	6.77by (2.08)	6.52y (1.80)	6.73y (1.95)	7.03y (1.97)
ACEPTABILIDAD	5.08x (1.91)	5.16x (2.23)	5.81x (2.11)	6.06aby (2.37)	5.63ax (2.19)	6.78by (2.39)	6.34y (2.13)	6.45y (2.23)	6.94y (2.27)

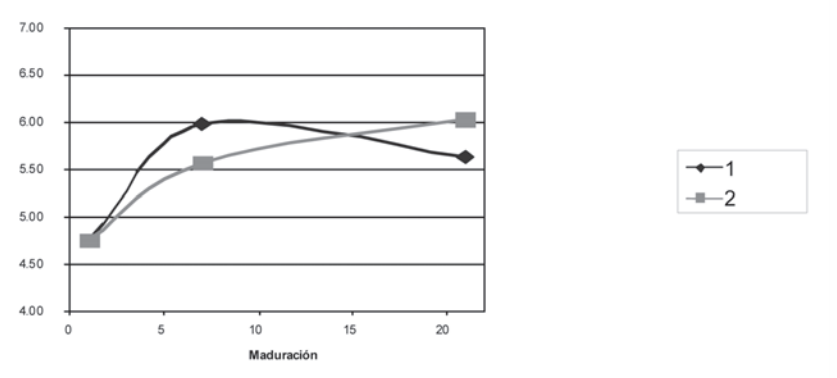
a, b, c: letras diferentes en la misma fila significan diferencias entre tiempos de maduración dentro del mismo tipo.
x, y, z: letras diferentes en la misma fila significan diferencias entre tipos dentro del mismo tiempo de maduración.
Tipo 1: machos, Tipo 2: hembras mamonas, Tipo 3: hembras pasteras.

7. Raza, peso y tiempo de maduración.
Ya en 1874 Bouley definió la maduración como el proceso que consiste en mantener la carne fresca a una temperatura superior al punto de congelación y durante el cual la carne se hace más tierna y aromática. Este ablandamiento no se debe a la disociación de la actomiosina, ya que el músculo sigue siendo inextensible, sino principalmente a una ruptura-desintegración de la estructura muscular (Matsukura et al., 1984).

Profundizando en la aceptabilidad y sigiendo la metodologia de Diéz et al.(2006), podemos observar como es posible diferenciar, dentro de poblaciones de consumidores "a priori" homogeneas, grupos con gustos claramente diferentes. En la Tabla 7.1 se pueden ver las notas promedio para las diferentes razas, ordenadas por su orden de preferencia, existiendo razas que para ambos grupos de consumidores ocupan un puesto similar y otras, como la Asturiana o la Retinta, que ocupan puestos muy diferentes. Igualmente, si seguimos el mismo procedimiento, pero en lugar de con las diferentes razas con los diferentes tiempos de maduración, veremos (Figura 7.1) como hay consumidores con un preferencia clara hacia maduraciones largas, mientras que otros prefieren claramente carne poco madurada.
Tabla 7.1. Promedios de los rangos de preferencia en diferentes razas de ganado bovino españolas, obtenidos tras hacer un estudio de tipo Cluster.

Grupo 1				Grupo 2		
Rango	Raza	Nota media		Rango	Raza	Nota media
1	Retinta	6.67		1	Asturiana	6.03
2	Gallega	5.97		2	Avilena	5.73
3	Pirenaica	5.73		3	Pirenaica	5.62
4	Avilena	5.36		4	Gallega	5.47
5	Morucha	5.33		5	Parda	5.44
6	Parda	4.96		6	Retinta	5.10
7	Asturiana	4.23		7	Morucha	4.84

Figura 7.1. Aceptabilidad de la carne de vacuno (promedios de los rangos de preferencia) según dos grupos de consumidores (análisis Cluster), en cada tiempo de maduracion.



8. Raza, individuo y tiempo de maduración.
Cuarenta bovinos de cuatro razas (Frisona, Parda Alpina, Limousine y Blonde d'Aquitaine), cebados con concentrado y paja de ceral a voluntad y sacrificados a sus respectivos pesos comerciales (Tabla 8.1) y fueron evaluados instrumentalmente, célula de compresión (Figura 8.1). Se observa una clara disminución de las diferencias en textuta (fuerza de compresión al 20%) entre individuos, dentro de la misma raza, conforme se incrementa el tiempo de maduración, llegando a los 21 dias, y especialmente a las 5 semanas, con diferencias prácticamente nulas (Monsón et al., 2006).

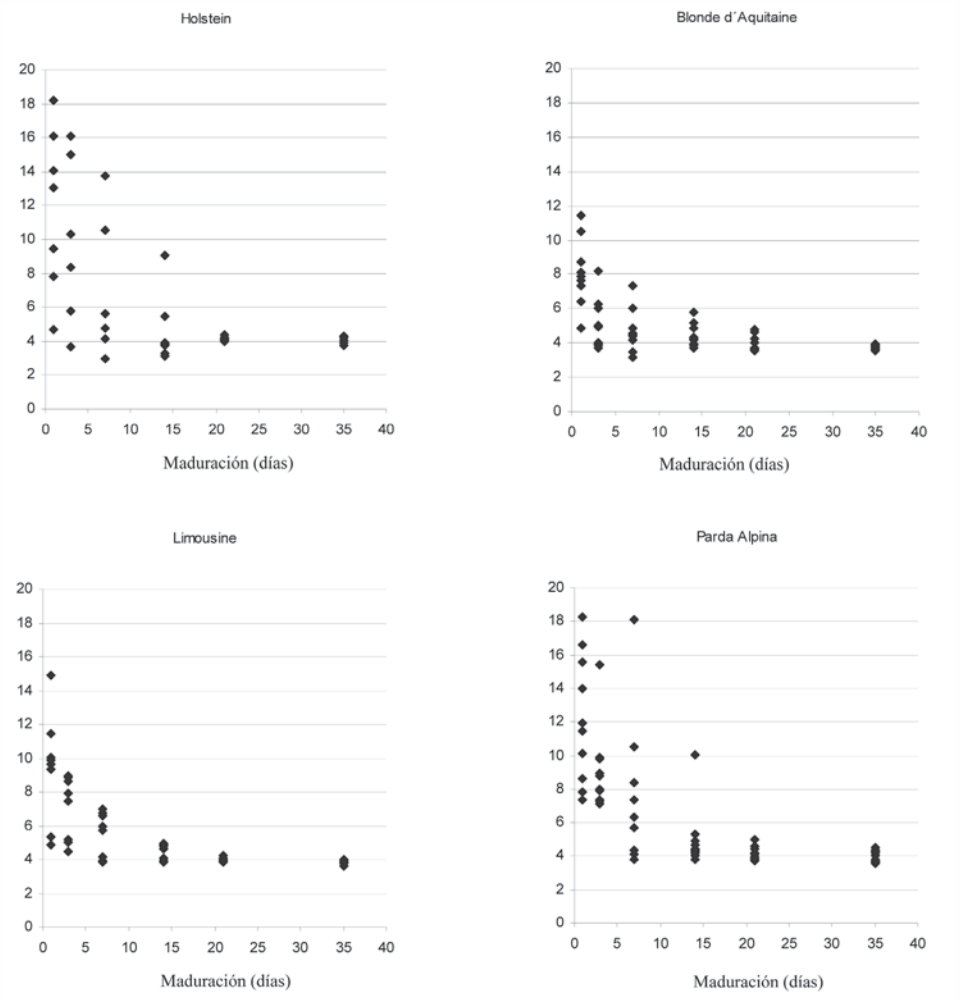
Table 8.1. Calidad de la canal en cuatro razas bovinas.

	Frisona	Parda Alpina	Limousine	Blonde d´Aquitaine	F	Significación
Peso sacrificio (Kg)	505.00 a (4.00)	550.50 b (27.33)	560.63 b (9.47)	617.33 c (9.53)	63.17	***
Rendimiento canal (%)	51.39 a (2.05)	57.25 b (1.74)	61.40 c (1.51)	62.98 c (0.92)	81.95	***
Conformación (SEUROP)	(R-) a	(U-) b	(U) bc	(E-) c	20.70	***
Engrasamiento (UE)	(2) b	(2) b	(2-) ab	(1+) a	7.62	**
[1] Músculo (%)	58.07 a (1.87)	62.38 b (0.75)	68.47 c (0.37)	74.05 d (0.57)	406.98	***
[1] Grasa (%)	15.42 d (0.76)	11.96 c (0.43)	8.94 b (0.42)	6.29 a (0.33)	512.37	***
[1] Hueso (%)	21.05 d (1.02)	19.67 c (0.46)	16.94 b (0.49)	14.07 a (0.17)	240.34	***

ns = not significant; **= p≤0.01; ***= p≤0.001; [1]disección de la 6ª costilla.



Figura 8.1. Compresiónn al 20% (M. Longissimus dorsi, carne cruda) a diferentes tiempos de maduración (1, 3, 7, 14, 21 o 35 días) en 4 razas de bovino.



9. Utilización de antioxidantes.

El mercado actual y su tendencia a la venta de carne en bandejas en las que la oxidación es mucho más fácil, por una mayor superfice de exposición al oxígeno, junto con la presencia de agentes favorecedores de esa oxidación, como la luz de los expositores y variaciones inebitables de temperatura, obligan al sector a la utilización de antioxidantes naturales, preferiblemente en la dieta de los animales, campo en el que queda mucho trabajo por hacer. En este trabajo se plantea la utilización de flavoniodes naturales y de Vitamina E, con tres lotes experimentales de animales (hembras de raza Parda de Montaña):

- 8 Terneras lote testigo, sin adición de antioxidantes (Sin suplemento, aportando la dosis comercial de vitamina E consistente en 150 UI).
- 8 Terneras suplementadas con 2000 UI de vitamina E cabeza y día (más la dosis comercial).
- 8 Terneras suplementadas con flavonoides naturales (2 gramos por cabeza y día) compuestos de vitamina C y bioflavonoides cítricos de origen natural.

En la Tabla 9.1 se pueden apreciar los resultados que durante su cebo obtuvieron los tres lotes de las terneras estudiadas. No se apreciaron diferencias significativas entre lotes, aunque, sin razón aparente, el lote sin suplemento presentó un mayor peso final y superior crecimiento diario. En todo caso, los resultados obtenidos son normales considerando la edad, sexo y genética de los animales en estudio.

Tabla 9.1. Parámetros productivos en tres lotes de terneras de raza Parda de Montaña (medias y desviación estándar).

	Sin suplemento		Suplemento Vit. E		Suplemento Flavonoides	
Peso inicial (kg)	331,4	39,6	328,9	36,4	330,0	34,3
Peso final (kg)	427,1	48,7	408,9	36,3	407,8	29,8
G.M.D. (kg/día)	1,54	0,31	1,29	0,14	1,25	0,30

De una forma global se puede ver (Tabla 9.2) como todos los efectos analizados, y sus respectivas interacciones, resultaron ser estadísticamente significativos sobre la apreciación visual del color. Así, la suplementación con vitamina E produjo la carne que fue la mejor aceptada, con una nota global de 4.15, seguida de la carne procedente del lote suplementado con flavonoides y por último del lote testigo. Igualmente se aprecia el efecto positivo del envasado en atmósfera protectora frente al film y la paulatina pérdida de calidad conforme se incrementa el tiempo de conservación.

Gráficamente (Figura 9.1) se observa como la carne procedente del lote suplementado con vitamina E mantiene una nota de aceptabilidad más alta a cualquier tiempo considerado, manteniendo hasta prácticamente los 8 días de conservación en atmósfera protectora (MAP) y hasta los 3 días en film una nota superior a la nota media. En el caso del Flavonoides, esta nota superior a la media se mantiene hasta los 6 días en MAP y hasta los 3 días en film y tan solo hasta los 3 días, en ambos tipos de envasado, en la carne procedente de animales sin suplementar. Por faltar las valoraciones en los días 4 y 5 no se puede tener una idea exacta del tiempo que los distintos suplementos pueden alargar la vida útil del producto, pero se puede extrapolar que la vitamina E alargaría hasta 3 días esta vida útil en carne envasada en MAP y hasta un día en carne envasada en film, mientras que el Flavonoides alargaría la vida útil en un día en ambos sistemas de conservación.

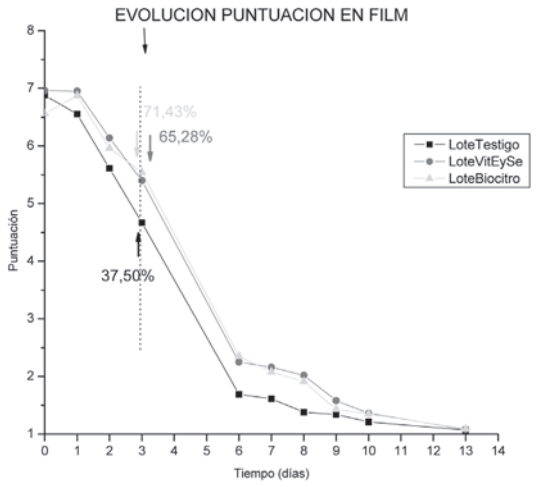
Si consideramos la opción de compra, 0 % de consumidores que estarían dispuestos a comprar la carne en el momento de la apreciación visual (Figura 9.2), observamos que al día 6 de conservación, el 68.9 % de los consumidores compraría la carne procedente de los animales que recibieron la suplementación en vitamina E, frente a un 43,8 % para la procedente de animales suplementados con Flavonoides y 30.8 % en el caso de los animales del lote testigo – sin suplemento. En todo caso, el lote que recibió vitamina E mantiene la opción de compra por encima del 30% hasta el día 8 de conservación.



Tabla 9.2. Efecto de la suplementación, envasado y tiempo de conservación sobre la apreciación visual de un grupo de consumidores (n=16) en filetes del m. longissimus dorsi, de terneras de raza Parda de Montaña, expuestos en vitrina frigorífica con iluminación

	Apreciación Visual (1=Muy desagradable; 8=Muy agradable)
Suplementación	***
Normal	3,61a
Vit. E	4,15c
Flavonoides	3,76b
	(0,024)
Envasado	***
Atmósfera (80%O_2+20%CO_2)	4,25
Film	3,43
	(0,019)
Tiempo de conservación (días)	***
0	6,92h
1	6,80h
2	6,23g
3	5,72f
6	3,26e
7	2,75d
8	2,35c
9	1,67b
10	1,50b
13	1,20a
	(0,043)
Tiempo x Alimentación	***
Tiempo x Envasado	***
Alimentación x Envasado	***
Tiempo x Alimentación x Envasado	***
Medias marginales estimadas (± error típico)	
a-h: diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas *** (p<0,001)	

Figura 9.1. Evolución de la apreciación visual por consumidores de la carne de ternera de Raza Parda de Montaña envasada en atmósferas protectoras (MAP) o film.



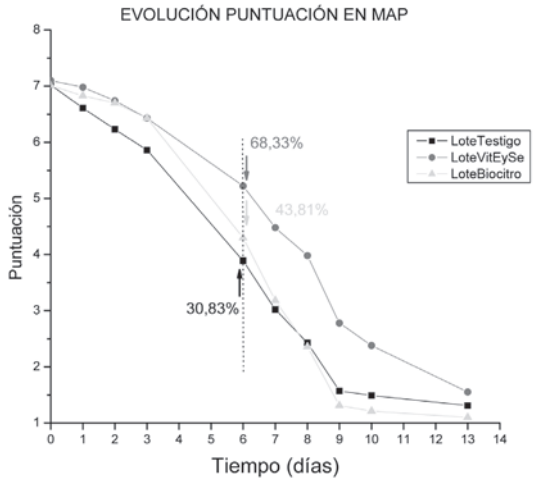
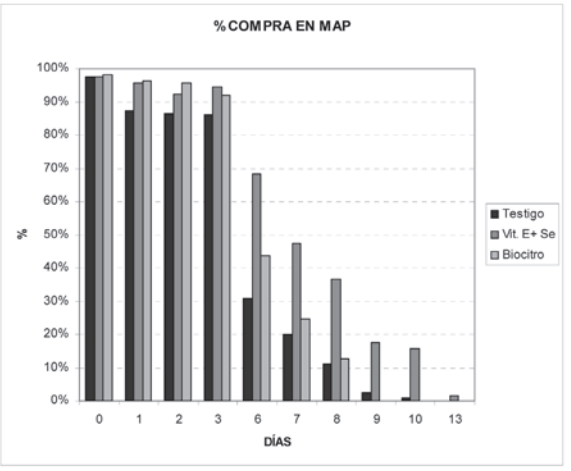
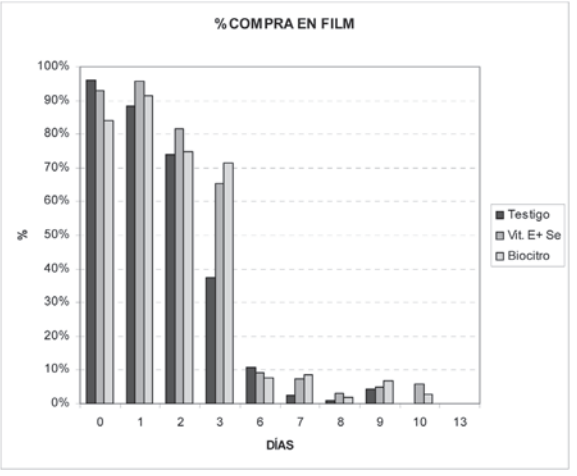


Figura 9.2. Evolución de la opción de compra (%) por consumidores de la carne de ternera de Raza Parda de Montaña envasada en atmósferas protectoras (MAP) o film.





En el caso de la carne conservada en film, la carne de los animales suplementados con vitamina E o Flavonoides mantiene unos niveles de opción de compra superiores al 65% en el día 3 de conservación, frente al 37.5% en el caso de la carne del lote que no recibió ningún suplemento. En el día 6, los tres lotes se encuentran a niveles inferiores, o muy próximos, al 10 % de opción de compra.

En la Tabla 9.3 se presentan los valores de la significación para los dos efectos analizados (suplementación y tiempo de exposición a la atmósfera protectora) y su interacción. La suplementación fue significativa para las notas de aceptabilidad, terneza y calidad del sabor, el tiempo de exposición fue significativo exclusivamente sobre la calidad del sabor y no se encontraron interacciones significativas (suplementación x tiempo de exposición).

Tabla 9.3. Valores F y nivel de significación de los descriptores sensoriales evaluados en longissimus dorsi de terneras de raza Parda de Montaña por consumidores (n=80) en condiciones de laboratorio

	Suplementación (S)	Exposición (80%O_2+20%CO_2) (E)	(S) x (E)
Aceptabilidad	10,72***	n.s.	n.s.
Terneza	8,42***	n.s.	n.s.
Sabor	9,96***	3,43*	n.s.

n.s., Diferencias no significativas; *P<0,05; *** P<0,001

En general (Tabla 9.4), se observa como el tiempo de exposición a la MAP produce una pérdida de calidad del sabor, no encontrándose diferencias significativas ni en terneza, ni en aceptabilidad por este efecto.

Tabla 9.4. Efecto del tipo de suplementación y tiempo de exposición en MAP sobre la valoración sensorial (medias marginales estimadas ± error típico) en longissimus dorsi de terneras de raza Parda de Montaña. Estudio de consumidores

	Aceptabilidad	Terneza	Sabor
Suplementación			
Sin suplemento	5,23a	5,08a	5,39a
Suplemento vit. E	5,89b	5,70b	5,98b
Suplemento Flavonoides	5,58b	5,50b	5,55a
	(±0,126)	(±0,133)	(±0,121)
Exposición (80%O_2 + 20%CO_2)			
0 días	5,56	5,33	5,75b
4 días	5,56	5,34	5,62a
8 días	5,46	5,44	5,54a
	(±0,100)	(±0,110)	(±0,100)
a-b: diferentes letras en la misma columna indican diferencias significativas			

Las peores notas fueron, en cualquiera de las tres variables analizadas, para la carne procedente de los animales que no recibieron suplementación y las mejores para la carne del lote suplementado con vitamina E, aunque no hubo diferencias significativas entre este lote y el lote que fue suplementado con Flavonoides para las notas de aceptabilidad y terneza.

10. Sistema de producción y aceptabilidad.

En este trabajo se analizó la aceptabilidad en Europa de la carne de animales procedentes del Cono Sur (madurada 20 días) en comparación con los productos locales europeos (madurada 7 ó 20 días). Los animales de los sistemas de producción extensiva sudamericanos (EX) fueron novillos de dos y de tres años de edad, machos castrados de raza Hereford, procedentes de pastoreo exclusivo. Estos animales se compararon con productos comerciales de Alemania (DE), España (ES) y el Reino Unido (UK) (Montossi y Sañudo, 2004). En DE los animales fueron mayoritariamente de raza Fleckvieh y con una edad de 19-24 meses, acabados en estabulación con silo de maíz a voluntad y complementados con cantidades restringidas de harina de soja y cereal. En el caso español, los animales fueron frisones, machos enteros con edades comprendidas entre los 10 y los 11 meses y criados con concentrado de alta densidad energética y paja de cereal a voluntad. En UK, los animales tenían bases genéticas muy diferentes, su edad al sacrificio osciló entre 18 y 22 meses, los animales fueron criados con pasto complementado con concentrado. Los resultados obtenidos se aprecian en las tablas 10.1, 10.2 y 10.3.

Tabla 10.1. Medias por mínimos cuadrados y error cuadrático medio (RMSE) de las puntuaciones de los consumidores alemanes para la carne de vacuno.

	Terneza	Flavor	Aceptabilidad global
EX 2 años	5.5^{a}	5.6^{b}	5.6^{a}
EX 3 años	5.3^{a}	5.6^{b}	5.5^{a}
DE 7 días	4.7^{b}	5.5^{b}	5.1^{b}
DE 20 días	5.4^{a}	5.9^{a}	5.6^{a}
RMSE	1.38	1.12	1.13
Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).			

En España y en el Reino Unido los resultados obtenidos fueron muy similares. En ambos países, la carne local, especialmente la madurada 20 días, fue considerada como más tierna, con un flavor de más calidad y como de mayor aceptabilidad que la carne de los sistemas extensivos. En ninguno de los tres países europeos se encontraron diferencias entre la carne de los dos productos de hierba.

Tabla 10.2. Medias por mínimos cuadrados y error cuadrático medio (RMSE) de las puntuaciones de los consumidores españoles para la carne de vacuno.

	Terneza	Flavor	Aceptabilidad global
EX 2 años	5.6^{b}	5.4^{b}	5.4^{c}
EX 3 años	5.5^{b}	5.5^{b}	5.5^{bc}
ES 7 días	5.6^{b}	5.8^{a}	5.8^{ab}
ES 20 días	6.1^{a}	6.0^{a}	6.0^{a}
RMSE	1.38	1.32	1.31
Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).			

Tabla 10.3. Medias por mínimos cuadrados y error cuadrático medio (RMSE) de las puntuaciones de los consumidores británicos para la carne de vacuno.

	Terneza	Flavor	Aceptabilidad global
EX 2 años	4.8^{c}	5.3^{bc}	5.0^{b}
EX 3 años	4.7^{c}	5.2^{c}	4.9^{b}
UK 7 días	5.5^{b}	5.9^{a}	5.7^{a}
UK 20 días	6.1^{a}	5.6^{ab}	5.7^{a}
RMSE	1.55	1.41	1.43
Diferentes letras dentro de una misma columna indican diferencias significativas (P<0.05).			



11. Intensificación alimenticia y calidad

Un total de 84 animales Hereford con un año y medio de edad promedio y 391 kg. de peso vivo promedio, fueron estratificados por su peso vivo y posteriormente distribuidos al azar entre cuatro tratamientos con tres repeticiones. Los tratamientos fueron definidos según el régimen nutricional al que fueron sometidos durante la última fase del proceso de engorde (peso vivo objetivo de faena fue aproximadamente 500 kg.). Los tratamientos fueron: 1) Alimentación sólo en base a pasturas a un nivel de oferta de forraje (NOF) de 4% del peso vivo (PV), 2) Alimentación sobre pasturas a un NOF de 3% del PV más suplementación con maíz al 0.6% del PV, 3) Alimentación sobre pasturas a un NOF de 3% del PV y una suplementación con maíz al 1.2% del PV y 4) Alimentación a corral con concentrado y heno de alfalfa a voluntad hasta peso de sacrificio (Montossi y Sañudo, 2007).

El concentrado se suministró en forma de pellet y estuvo compuesto por 85% de maíz quebrado, 12.8% de expeler de girasol, 0.98% de urea, 0.61% de carbonato de calcio, 0.61% de sal (%MS) y 2 gr. de rumensin al 10% por animal por día. El heno de alfalfa (124.3 gr/kg de PC y 3.26 Mcal/kg de MS) se suministró picado (2-3 cm) y mezclado con el concentrado. La base forrajera consistió en una pastura mezcla de alfalfa (*Medicago sativa*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y festuca (*Festuca arundinacea*) (158.6 gr/kg de PC y 1.93 Mcal/kg de MS), la cual fue dividida en 9 parcelas en las que pastorearon los tratamientos 1 al 3, y se dispuso de tres corrales con piso de hormigón para el tratamiento 4. A los animales siempre se les ofreció agua fresca y una mezcla de sales minerales *ad libitum.* Se utilizó un diseño de parcelas completamente al azar con tres repeticiones, los datos fueron analizados mediante el procedimiento GLM del programa SAS. Diversos resultados productivos y de calidad de la canal se presentan en la Tabla 11.1.

Tabla 11.1. Resultados productivos y calidad de la canal

TRATAMIENTO	**1**	**2**	**3**	**4**
Peso inicial (kg)	387b ± 4	386b ± 3	384b ± 3	406a ± 4
Peso final (kg)	493a ± 5	496a ± 5	489a ± 5	492 ± 6
Ganancia de PV (kg/an/día)	0.516d ± 0.05	0.936c ± 0.05	1.115b ± 0.05	1.560ª ± 0.05
Días hasta el sacrificio	181	111	83	41
PV (kg.)	497.9 b	492.6 b	498.3 b	539.4 a
PCC (kg.)	264.2 b	271.2 a	271.6 a	264.6 b 2.42 b
Dentición	3.18 a	2.10 b	2.10 b	
Conformación Europa	4.44 a	4.07 b	4.15 b	4.10 b
Terminación Europa	3.06 d	3.56c	3.93 b	4.18 a
Longitud Pierna (cm.)	71.36 a	70.64 a	69.29 bc	69.06 c
Longitud Canal (cm.)	128.52 a	127.66 a	126.97ab	125.27 b
Perímetro Pierna (cm.)	108.85ab	109.85 a	109.16 a	107.54 b
Profundidad Pecho (cm)	47.64 a	48.06 a	47.27 a	45.54 b
Músculo (%)	64.3	65.0	65.2	63.6
Grasa (%)	13.7 b	13.0 b	13.1 b	16.7 a
Hueso (%)	22.0 a	22.0 a	21.7 a	19.7 b

Nota: a, b y c, Medias en la misma fila con letras diferentes difieren P<0.05. Conformación Europea SEUROP (S=1 mejor conformación, P=6 peor conformación) S=Superior, E=Excelente, U= Muy buena, R=Buena, O= Menos buena, P=Mediocre. Terminación Europea (0= pobre engrasamiento, 5= excesivo engrasamiento).

El músculo *Longissimus lumborum* fue extraído a las 24 h post mortem y cortado en cuatro trozos de 6 cm de espesor entre las vértebras L1-L5 correspondientes a las muestras evaluadas en Alemania (DE), Francia (FR), Reino Unido (UK) y España (ES). Para la evaluación sensorial de los consumidores las muestras fueron

envasadas al vacío, maduradas a 4º C durante 20 días, congeladas y enviadas a DE, FR, UK y ES. La carne fue descongelada a 4º C durante 24 horas, cortada en bifes de 2 cm de espesor y cocinada en un grill de contacto pre-calentado a 200 º C hasta alcanzar una temperatura interna de 72ºC (55ºC en FR).
Se realizaron 20 sesiones sensoriales en cada país incluyendo 10 consumidores por sesión. Cada consumidor asignó una aceptabilidad global y una aceptabilidad de terneza y de flavor utilizando una escala de 8 puntos (1: me disgusta extremadamente hasta 8: me gusta extremadamente). Los datos de aceptabilidad global y de aceptabilidad de la terneza y el flavor fueron analizados utilizando el procedimiento MIXED de SAS (SAS Inst. Inc., Cary, NC). El modelo estadístico incluyó el tipo de muestra de carne como efecto fijo, el consumidor como aleatorio y la sesión como bloque. La separación de las medias se realizó utilizando la prueba de Tukey.
Para el análisis conjunto los consumidores ordenaron por preferencia de compra, 15 tarjetas en las que se modificaba el país de origen de la carne, la dieta del animal y el precio de la carne. La mitad de los consumidores evaluaron las tarjetas para la carne de vacuno y la otra mitad para la de ovino.
En la Tabla 11.2, se presentan las puntuaciones de aceptabilidad global, terneza y flavor de la carne de vacuno uruguaya proveniente de 4 sistemas productivos evaluada por consumidores españoles, alemanes, franceses y británicos.

Tabla 11.2. Medias por mínimos cuadrados de la puntuación de aceptabilidad global, terneza y flavor de carne bovina uruguaya evaluada por consumidores españoles, alemanes, franceses y británicos.

Aceptabilidad	**n**	**T1**	**T2**	**T3**	**T4**	**Error estándar**
España						
Global	200	5.5ab	5.7a	5.6a	5.3b	0.09
Terneza	200	5.6a	5.6a	5.6a	5.1b	0.10
Flavor	200	5.3	5.6	5.5	5.3	0.10
Alemania						
Global	200	5.4b	5.6ab	5.8a	5.5b	0.10
Terneza	200	5.2b	5.4ab	5.7a	5.4ab	0.11
Flavor	200	5.3c	5.6ab	5.8a	5.4bc	0.10
Francia						
Global	200	5.5a	5.6a	5.7a	5.1b	0.10
Terneza	200	5.6a	5.6a	5.8a	5.2b	0.11
Flavor	200	5.3a	5.5a	5.4a	5.0b	0.11
Reino Unido						
Global	186	5.5a	5.8a	5.7a	5.1b	0.10
Terneza	186	5.4a	5.5a	5.5a	4.9b	0.12
Flavor	186	5.3b	5.7a	5.6a	5.1b	0.11
Todos los países						
Global	786	5.5b	5.7a	5.7a	5.2c	0.05
Terneza	786	5.4b	5.5ab	5.6a	5.1c	0.05
Flavor	786	5.3b	5.6a	5.6a	5.2b	0.05

Nota: T1: pastura (4% PV), T2: pastura (3% PV) y concentrado (0.6% PV), T3: pastura (3% PV) y concentrado (1.2% PV) y T4: concentrado y heno *ad libitum*. Las medias con letras diferentes dentro de cada atributo y país fueron significativamente diferentes ($P<0.05$).
La aceptabilidad global de la carne evaluada por los consumidores españoles fue más elevada para los tratamientos con suplementación de concentrado en pastura (T2 y T3) en comparación con la dieta de concentrado (T4), mientras que no se encontraron diferencias entre la dieta de pastura (T1) y los demás tratamientos. La aceptabilidad de la terneza de la carne fue superior para los tratamientos que incluyen pastura en comparación con el tratamiento de concentrado + heno. Los consumidores españoles no detectaron diferencias en el flavor de la carne proveniente de los diferentes tratamientos.
La aceptabilidad global de la carne por parte de los consumidores alemanes fue superior para el T3 en comparación con los T1 y T4. No se encontraron diferencias en aceptabilidad global entre T2 y T3 o entre T1, T2 y T4. Los consumidores alemanes asignaron una puntuación mayor a la aceptabilidad de la terneza de la carne de animales suplementados con 1.2% PV de concentrado en comparación con animales en



pastoreo sin suplementación. La puntuación de aceptabilidad de la terneza de la carne fue similar para los tratamientos T1, T2 y T4 y los tratamientos T2, T3 y T4. Los consumidores alemanes asignaron mayor puntuación al flavor del tratamiento T3 en comparación con T1 y T4 y al tratamiento T2 en relación con T1.

Los consumidores franceses asignaron mayor puntuación a la aceptabilidad global, de terneza y de flavor de la carne proveniente de animales alimentados en base a pastura (T1, T2 y T3) en comparación con la carne de animales alimentados con concentrado + heno (T4).

Los consumidores británicos asignaron una mayor puntuación a la aceptabilidad global y de terneza de la carne proveniente de animales alimentados en base a pastura en comparación con la carne de animales alimentados con 100% de concentrado. La puntuación del flavor de la carne fue superior para los tratamientos con suplementación de concentrado en pastura que para los tratamientos que incluyeron únicamente pastura o concentrado.

La aceptabilidad global de la carne uruguaya considerando 786 consumidores provenientes de 4 países europeos fue superior para los tratamientos que incluyen suplementación con concentrado en pastoreo, seguida por el tratamiento de 100% pastura, observando la aceptabilidad más baja en el tratamiento de concentrado + heno. La puntuación de la aceptabilidad de la terneza de la carne fue superior para los tratamientos con suplementación en pastura. Sin embargo, no hubo diferencias entre los tratamientos T1 y T2. La puntuación más baja correspondió a la carne de animales que fueron alimentados con concentrado + heno. En cuanto a flavor se observa que los consumidores europeos prefieren la carne proveniente de animales en pastoreo que fueron suplementados con concentrado en comparación con la carne de animales que fueron alimentados únicamente con pastura o concentrado + heno. Oliver *et al.* (2006) evaluaron la calidad sensorial de la carne vacuna uruguaya en comparación con la carne producida en Alemania, España y Reino Unido. Los consumidores alemanes, españoles y británicos no prefirieron el mismo tipo de carne dentro del mismo país sugiriendo que las preferencias individuales pueden dar lugar a la segmentación de mercados según las preferencias sensoriales.

En la Figura 11.1, se observa la importancia relativa de cada atributo para todos los consumidores y para los 4 grupos de consumidores españoles. En forma global, el país de origen fue el factor más importante en la elección de la carne vacuna, seguido por la dieta animal mientras que el precio de la carne fue el atributo menos importante. Los resultados del análisis de grupos de consumidores mostraron que el Grupo 1 asignó mayor importancia al país de origen, seguido por la dieta animal y por último el precio de la carne con una valoración similar al conjunto global de consumidores. El Grupo 3 que incluye el mayor número de consumidores asignó menor importancia a la dieta del animal y al precio en comparación con todos los consumidores y mayor importancia al país de origen. El atributo principal en el momento de compra de la carne vacuna fue la dieta animal con menor importancia asignada al país de origen seguido por el precio de la carne para el Grupo 2 (segundo más grande). Finalmente, el atributo principal que determinó las decisiones de compra en el Grupo 4 fue el precio de la carne. La dieta animal y el país de origen fueron menos importantes para este segmento de consumidores.

Figura 11.1. Importancia relativa de cada atributo para todos los consumidores y para cada grupo de consumidores españoles.

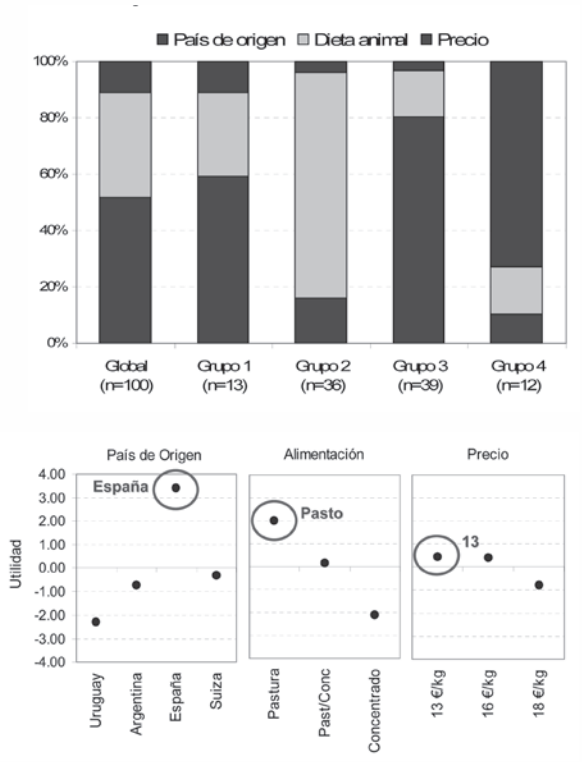
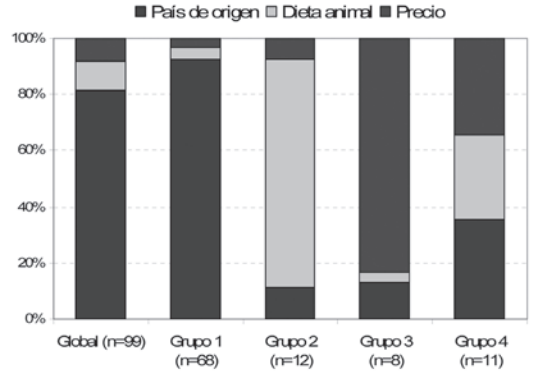


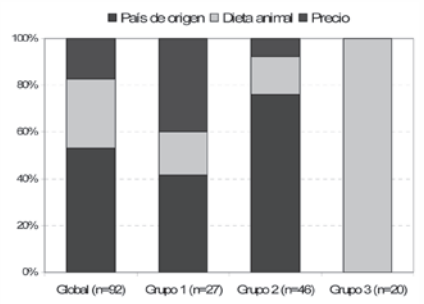
Figura 11.2. Importancia relativa de cada atributo para todos los consumidores y para cada grupo de consumidores franceses.



La Figura11.2, presenta la importancia relativa del país de origen, la dieta animal y el precio de la carne para todos los consumidores y para cada grupo de consumidores franceses. Globalmente, los consumidores franceses atribuyen la mayor importancia al país de origen, dando muy poca importancia a la dieta animal y al precio de la carne. El Grupo 1 (mayoría de los consumidores) presenta una clara preferencia por el país de origen de la carne otorgando una importancia mínima a la dieta animal o al precio. El Grupo 2 esta representado por consumidores que atribuyen la mayor importancia a la dieta animal seguido por el país de origen y el precio. El precio de la carne es el atributo más importante para los participantes del Grupo 3, mientras que el Grupo 4 muestra importancias relativas similares entre los 3 atributos evaluados.
La Figura 11. 3, presenta la importancia relativa del país de origen, la dieta animal y el precio de la carne

para todos los consumidores y para cada grupo de consumidores británicos. El factor más importante para los consumidores británicos en forma global es el país de origen seguido por la dieta animal y por último el precio. El Grupo 2 (mitad de los participantes) asignó mayor importancia al país de origen, siendo la dieta animal y el precio atributos de poca importancia. El Grupo 1 atribuyó similar importancia al país de origen y al precio de la carne siendo la dieta animal un atributo secundario. Finalmente, el Grupo 3 consideró que la dieta animal es el único atributo importante en la compra de la carne vacuna.

Figura 11.3. Importancia relativa de cada atributo para todos los consumidores y para cada grupo de consumidores británicos.



En definitiva se podría decir que los consumidores europeos prefieren la carne proveniente de sistemas de producción en base a pasturas con suplementación con concentrado. La producción de carne vacuna que incluya suplementación con concentrado (por lo menos 0.6% del PV) tendrá mayor aceptabilidad sensorial y será un producto mas competitivo que la carne proveniente de animales alimentados únicamente en base a pastura o concentrado.

El análisis conjunto muestra en forma global que el país de origen es el atributo más importante en las decisiones de compra de la carne vacuna seguido por la dieta animal siendo el precio de la carne el factor menos importante. En todos los países se observan grupos de consumidores que difieren en la importancia relativa asignada a cada atributo en las decisiones de compra de la carne vacuna. Estos resultados respaldan el desarrollo de diferentes estrategias de mercado para satisfacer cada segmento de consumidores.

IV. ENCUESTAS AL SECTOR

Como ejemplo de encuesta mostramos los resultados de una que hicimos en una reunión de expertos europeos de 7 países en la que se planteaba cuales eran los criterios más (+++) o menos (---) importantes a la hora de valorar el bienestar animal (BA) o la calidad del producto (CP) (Tabla 12). Se observa que todo lo relacionado con el transporte, seguido por la espera en el matadero, fue considerado como lo más importante sobre el bienestar animal, y el tipo de animal (raza, edad, sexo...) lo que menos. Sobre la calidad del producto el tipo de animal y la espera en matadero fueron los criterios considerados como los más relevantes y el ambiente y el transporte los que menos. Se entendería, con arreglo a estos resultados, que la espera en matadero merece ser especialmente cuidada, ya que bienestar y calidad dependerían directamente de ella.

Tabla 12. Número de veces que diversos factores [(1)] son considerados como más (+++) o menos (---) importantes sobre el bienestar animal (BA) y la calidad del producto (CP).

	BA		CP	
	+++	---	+++	---
Tipo de animal	0	9	16	1
Sistema de producción	5	4	6	0
Transporte	22	2	3	7
Medio ambiente	1	4	0	17
Espera en matadero	7	2	7	0
Día de sacrificio	0	8	3	4

[(1)] Grupo de expertos europeo (sin publicar)

V ESTUDIOS COMERCIALES

13. Tipo comercial, maduración y tipo de cocinado.

Estudios de campo y la recogida de información son aspectos básicos para conseguir detectar puntos críticos de la cadena producción-comercialización-consumo. En un trabajo se usaron un total de 9 lomos de vacuno. Tres de cada una de las categorías comerciales: ternera lechal, añojo y vaca.

Los lomos fueron troceados a los 8 días de maduración en filetes congelados ese día, o tras ser madurados hasta los 24 días. Tras la descongelación los filetes destinados a la valoración instrumental fueron cortados y analizados según tres tratamientos: crudo, cocinado al baño maría (BM) en agua a 75ºC y cocinado al grill. La temperatura final de cocinado en ambos casos, en el interior de las muestras, fue de 70ºC. Una mayor descripción de las condiciones del experimento se puede encontrar en Campo et al. (2000).

En la Tabla 13.1 se muestran los valores de F y su significación (GLM). Se observa que globalmente el efecto más importante fue el tipo de cocinado, seguido por el tipo comercial y el tiempo de maduración. La ternera lechal presentó valores menores de C20, en carne cruda, seguida de añojos y vacas (entre los que no hubo diferencias significativas). Al considerar la carne cocinada vemos el tipo comercial añojo fue el que sufrió una mayor contracción muscular (mayores valores de C20) con cocinados lentos a temperaturas moderadas (BM). Sin embargo, con cocinados rápidos (grill) fue la carne de los animales más viejos la que presentó valores de C20 más elevados. En C80, las terneras lechales presentaron valores significativamente más altos en carnes crudas y sometidas al BM. Con cocinados rápidos la carne de vaca presentó los valores más elevados en esta variable. La carne valorada con la célula de WB (relacionada con ambos componentes: miofibrilar y conectivo) mostró mayores valores en crudo para los animales más jóvenes (lechales y añojos).

Maduraciones largas (25 días), incluso comparando con maduraciones de tipo medio (8 días), tienen un efecto beneficioso sobre la dureza miofibrilar (C20) y global (WB) de la carne, tanto en crudo como en carne cocinada. El tiempo de maduración no influyó, por el contrario y como era de esperar, sobre C80.

En general el cocinado endurece el producto (C20, C80, WB), especialmente el baño maría, ya que posiblemente la temperatura no fue lo suficientemente alta para producir una solubilización del colágeno. Exclusivamente en los lechales el grill produjo algún efecto beneficioso.

Tabla 13.1. Valores de F* de la textura instrumental de la carne de vacuno según el tiempo de maduración y el tratamiento culinario en tres tipos comerciales diferentes

	C 20	C 80	WB (kg)	Dureza (kg/cm^2)
Tipo comercial (T)	27.9	5.8	96.4	170.8
Cocinado (C)	260.5	277.7	131.0	264.3
Maduración (M)	104.1	10.1	70.4	177.7
(TxC)	34.8	20.1	28.1	25.5
(TxM)	6.9	3.2	NS	5.6
(CxM)	11.7	NS	NS	3.4

* Todos los valores de la tabla son estadísticamente significativos, mínimo: P<0.05.

VI. CONCLUSION

Solo con la implicación de todos los eslabones de la cadena de producción, sacrificio, comercialización, venta y consumo, seremos capaces de obtener un producto de calidad y cumplir con las expectativas del consumidor.

VII AGRADECIMIENTOS

Al grupo consolidado de Calidad y Tecnología de la carne de la Diputación General de Aragón, actual, pasado y futuro. A los grupos de trabajo involucrados en los proyectos europeos Catra, Eurobov y GemQual y a la Unión Europea. Al INIA España, al INIA Uruguay, a la DGA y a la CICYT. Al Sector (Probena, INZAR, Grupo Montalbán, ASOCIACIONES DE GANADEROS, ASOVAC, INVAC) y a los otros grupos de investigación españoles. Sin ellos nada de esto hubiera sido posible.



VIII REFERENCIAS.

- Albertí, P. y cols. (2008). Live weight, body size and carcass characteristics of young bulls of fifteen European breeds. Livestock Science, In Press.
- Campo, M.M., Santolaria, P., Sañudo, C., Lepetit, J., Olleta, J.L., Panea, B. & Albertí, P. (2000). Assessment of breed type and ageing time effects on beef meat quality using two different texture devices. Meat Science, 55, 371-378.
- Campo, M. M., Sañudo, C., Panea, B., Albertí, P. & Santolaria, P. (1999). Breed type and ageing time effects on sensory characteristics of beef strip loin steaks. Meat Science, 51, 383-390.
- Campo, M.M., Monsón, F., Panea, B., Sañudo, C., Olleta, J.L., Albertí, P., Ertbjerg, P., Christiansen, M., Gili, S., Failla, B., Gaddini, A., Hocquette, J.F., Jailler, R., Nute, G.R. y Williams, J.L. (2005) Valoración objetiva y subjetiva del engrasamiento de la canal en diferentes 15 razas bovinas europeas sacrificadas a peso comercial. XI Jornadas sobre Producción Animal (AIDA), Zaragoza. Actas congreso, Extra, 26, II: 726-728.
- Díez J.J.,, del Coz, J. Bahamonde, A., Sañudo, C., Olleta, J.L., Macie, S., Campo, M.M., Panea, B y Alberti, P.(2006) Identifying market segments in beef: breed slaughter weight and ageing time implications. Meat Science, 74: 667-675.
- Ertbjerg, P., Christiansen, M., Failla, B., Gili, S., Olleta, J.L., Sañudo, C., Panea, B., Albertí, P., Hocquette, J.F., Richardson, I., Nute, G.R. y Williams, J.L. (2006) The calpain system in 15 European cattle breeds and relationship to shear force. 52nd International Congress of Meat Science and Technology, Dublín. Actas congreso, 281-282.
- Lepetit, J. & Culioli, J. (1994). Mechanical properties of meat. Meat Science, 36: 203-237.
- Matsukura, U., Matsumoto, T., Tashiro, Y., Okitani, A. and Kato, H. (1984) Morphological changes in myofibrils and glycerinated muscles fibres on treatment whit cathepsin D and L. International Journal of Biochemistry, 16: 957-962.
- Monsón, F., Campo, M.M., Panea, B., Sañudo, C., Olleta, J.L., Albertí, P., Ertbjerg, P., Christiansen, M., Gili, S., Failla, B., Gaddini, A., Hocquette, J.F., Jailler, R., Nute, G.R. y Williams, J.L. (2005) Relación entre medidas objetivas y subjetivas de la conformación en 15 razas europeas de vacuno. XI Jornadas sobre Producción Animal (AIDA), Zaragoza. Actas congreso, Extra, 26, II: 723-725.
- Monsón, F., Sañudo, C., & Sierra, I. (2005). Influence of breed and ageing time on the sensory meat quality and consumer acceptability in intensively reared beef. Meat Science, 71, 471-479.
- Montossi, F. y Sañudo, C. (2004). Evaluación y promoción de la calidad de la carne y otros productos agroalimentarios uruguayos en base a los estándares de calidad de la Unión Europea y en función de distintos sistemas productivos del Uruguay. INIA-Uruguay, 56 pp.
- Montossi, F. y Sañudo, C. (2007). Diferenciación y valoración de la carne ovina y bovina del Uruguay en Europa, influencia de los sistemas de producción sobre el bienestar animal, atributos sensoriales, aceptabilidad, percepción de los consumidores y salud humana. INIA, Serie Técnica, 168: 117 pp.
- Panea, B., Albertí, P., Ripoll, G., Olleta, J.L., Monsón, F., Pardos, J.J., Sañudo, C., Christiansen, M., Ertbjerg, P., Failla, B., Gili, S., Gaddini, A., Hocquette, J.F., Nute, G.R. y Williams, J.L. (2005) Estudio de la calidad de la canal de 15 razas bovinas europeas mediante un análisis discriminante. XI Jornadas sobre Producción Animal (AIDA), Zaragoza. Actas congreso, Extra, 26, II: 717-719.
- Pringle, T.D., Calkins, C.R., Koohmaraie, M. and Jones, S.J. (1993) Effects over time of feeding a B-adrenergic agonist to wether lambs on animal performance, muscle growth, endogenous muscle proteinase activities and meat tenderness. Journal of Animal Science, 71: 636-644.
- Sañudo, C., Albertí, P., Campo, M. M., Olleta, J. L. & Panea, B. (1998). Calidad instrumental de la carne de bovino de siete razas españolas. Archivos de Zootecnia, 48: 397-402.
- Sañudo, C., Macie, E. S., Olleta, J. L., Villaroel, M., Panea, B. & Albertí, P. (2004). The effects of slaughter weight, breed type and ageing time on beef meat quality using two different texture devices. Meat Science, 66, 925-932.
- Sañudo, C., Panea, B., Olleta, J.L., Monson, F., Sierra, I., Alberti, P., Ertbjerg, P., Christiansen, M., Gigli, S., Failla, S., Gaddini, A., Hocquette, J. F., Jailler, R., Nute, G.R. y Williams, J.L. (2004). Carcass quality of several European cattle breeds: Preliminary results. 50th ICoMST, Helsinki. Actas congreso, 516-519

Tabla 4.1. Medias y desviaciones típicas de las características de la canal de 15 razas bovinas europeas sacrificadas a 15 meses de edad. Valores de F para la raza como efecto fijo.

N	JER	SD	AA	HIG	HOLS	RED	SIMM	ASV	ASM	AV-NI	PI	PIE	MARC	LIM	CHAR	F (p)
	31	27	30	29	29	29	20	30	31	30	31	30	28	31	30	
Peso canal (kg)	189.68 a (10.74)	346.92 fg (23.03)	335.72 ef (21.10)	245.12 b (12.58)	319.97 cde (26.65)	318.72 cd (35.30)	344.35 fg (54.06)	348.74 fg (34.43)	244.69 b (22.94)	324.70 de (49.16)	371.45 hi (30.14)	335.86 ef (28.59)	307.52 c (23.24)	360.02 gh (20.83)	386.64 i (27.42)	99.06***
Rendimiento canal	50.11 a (2.35)	58.69 d (3.64)	56.15 b (2.05)	55.16 bc (1.61)	55.68 bc (1.60)	54.90 c (1.80)	55.46 d (1.50)	62.56 gh (3.32)	56.17 d (2.15)	58.81 e (1.88)	61.14 f g (2.41)	63.67 gh (1.81)	58.75 de (1.84)	63.67 h (1.09)	60.97 f (1.60)	100.51***
Grasa renal (kg)	7.48 g (2.31)	5.37 de (2.68)	7.06 fg (2.39)	8.45 h (2.67)	6.13 ef (1.89)	6.23 ef (2.29)	2.43 b (1.20)	2.32 b (1.47)	3.86 c (1.28)	3.85 c (1.18)	3.24 bc (1.79)	0.77 a (0.28)	1.36 a (0.49)	5.09 d (1.53)	5.84 de (1.24)	47.64***
Conformación (1-18)	4.38 a (1.29)	10.20 d (1.47)	9.83 c (1.83)	8.16 b (1.07)	4.55 a (0.74)	5.10 a (0.90)	8.35 b (1.98)	12.10 e (2.80)	7.58 b (1.03)	8.00 b (1.23)	11.48 de (1.31)	14.57 f (1.28)	11.11 d (1.31)	10.16 c (1.16)	9.83 c (1.23)	102.77***
Engrasamiento (1-15)	4.48 bc (1.09)	6.00 de (2.52)	11.00 i (2.30)	6.84 f (1.34)	8.21 g (0.77)	9.14 h (1.68)	7.15 f (1.84)	4.07 ab (1.53)	5.90 e (1.16)	5.77 e (1.17)	4.94 cd (0.57)	3.60 a (0.62)	4.96 cd (0.96)	8.35 g (0.55)	8.87 gh (0.61)	70.88***
Indice de compacidad (kg/cm)	1.56 a (0.14)	2.66 fgh (0.20)	2.58 ef (0.20)	2.07 b (0.13)	2.37 c (0.16)	2.41 cd (0.23)	2.63 fg (0.31)	2.74 hij (0.24)	2.02 b (0.14)	2.43 cd (0.27)	2.80 ijk (0.19)	2.72 ghi (0.18)	2.48 de (0.14)	2.84 jk (0.14)	2.91 k (0.18)	103.09***
S^2 (cm^2)	24.95 a (3.22)	51.57 hi (8.61)	41.78 de (7.36)	35.00 b (4.60)	35.58 b (5.17)	37.79 bc (5.84)	42.10 de (6.76)	52.71 i (8.25)	35.85 b (5.78)	40.31 cd (6.65)	48.68 gh (5.41)	52.17 i (6.79)	47.83 fgh (5.35)	44.72 ef (4.13)	43.91 e (6.77)	46.94***
Grasa (%) (disección 6ª costilla)	13.04 cde (3.51)	14.20 def (5.66)	21.65 h (3.87)	19.60 g (4.51)	19.31 g (4.21)	19.49 g (3.68)	11.67 c (3.72)	7.77 b (4.56)	14.75 ef (3.67)	12.63 cd (2.43)	9.67 b (2.83)	3.23 a (1.09)	8.94 b (1.90)	13.18 cde (2.29)	15.43 f (2.68)	60.23***
Músculo (%) (disección 6ª costilla)	66.55 cd (2.53)	68.51 def (6.15)	61.43 b (3.12)	62.84 b (3.56)	58.89 a (2.95)	61.15 b (2.89)	67.84 cde (2.80)	75.04 h (5.74)	66.31 c (3.30)	69.05 ef (2.59)	72.87 g (3.24)	79.91 i (2.12)	70.04 f (2.43)	71.85 g (2.82)	67.69 cde (3.55)	18.94***
Hueso (%) (disección 6ª costilla)	20.41 ef (2.74)	17.30 bc (2.14)	16.92 b (2.54)	17.57 bc (2.69)	21.80 g (3.05)	19.36 de (2.95)	20.49 ef (2.22)	17.19 bc 2.61)	18.94 d (2.15)	18.32 cd (2.47)	17.46 bc (1.74)	16.86 b (1.90)	21.03 fg (2.04)	14.97 a (1.56)	16.88 b (1.89)	76.77***

JER.- Jersey; SD.- South Devon; AA.- Aberdeen Angus; HIG.- Highland; HOLS.- Holstein; RED.- Danish Red Cattle; SIMM.- Simmental; ASV.- Asturiana de los Valles; ASM.- Asturiana de la Montaña; AV-NI.- Avileña-Negra Ibérica; PIE.- Piemontese; MARC.- Marchigiana; LIM.- Limousin; CHAR.- Charolais.



Tabla 4.3. Textura instrumental (fuerza de compresión al 20% y al 80%), medias y desviación estandar, en diversas razas bovinas europeas sacrificadas a los 15 meses de edad. Análisis de varianza a una vía, con la raza como efecto fijo.

	JER	SD	AA	HIG	HOLS	RED	SIMM	ASV	ASM	AV-NI	PI	PIE	MARC	LIM	CHAR
48 horas de maduración															
C20 (N/cm^2)	7.18 cde (2.17)	7.01 cde (1.95)	7.31 cde (1.98)	9.77 a (2.51)	5.45 f (2.02)	6.25 ef (1.94)	8.29 abc (2.52)	6.96 cde (2.78)	8.07 abc (4.21)	8.37 abc (3.30)	6.63 def (2.45)	6.48 def (2.72)	9.37 ab (3.44)	6.45 def (1.84)	7.43 cde (3.07)
C80 (N/cm^2)	37.58 cd (8.95)	35.46 de (9.13)	39.89 cd (6.58)	42.27 abc (12.30)	43.50 ab (7.35)	46.29 a (6.76)	40.22 bc (8.27)	30.68 f (6.99)	42.35 abc (10.57)	37.76 cd (6.44)	31.28 ef (6.35)	29.81 f (6.37)	42.87 ab (8.85)	31.83 ef (5.06)	39.40 bcd (7.96)
10 días de maduración															
C20 (N/cm^2)	4.21 bc (0.76)	4.06 bc (0.50)	4.49 b (0.84)	4.35 bc (0.79)	4.03 bc (0.47)	4.40 bc (0.66)	5.15 a (1.81)	3.84 c (0.39)	4.22 bc (0.60)	4.20 bc (0.84)	4.03 bc (0.46)	4.13 bc (0.81)	5.48 a (2.54)	4.00 bc (0.42)	4.26 bc (0.74)
C80 (N/cm^2)	39.58 bcd (8.15)	35.21 def (9.03)	39.93 bc (6.61)	36.45 cde (6.64)	49.52 a (8.99)	52.52 a (11.35)	40.01 bc (7.63)	32.57 ef (9.17)	39.03 bcd (6.52)	41.56 b (6.19)	36.38 cde (8.16)	27.83 g (6.17)	41.82 b (7.12)	31.21 fg (3.71)	43.25 b (8.12)

[a-f] Letras distintas, dentro de la misma fila, indican diferencias significativas (P< 0.05)

JER: Jersey; SD: South Devon; AA: Aberdeeen Angus; HIG: Highland; HOLS: Holstein; RED: Danish red Cattle; SIMM: Simmental; ASV: Asturiana de los Valles; ASM: Casina; AV-NI: Avileña-Negra Ibérica; PI: Pirenaica; PIE:Piamontese; MARC: Marchigiana; LIM: Limousin; CHAR: Charolaise.

Survival rates and risk factors for culling in dairy herds

Albert De Vries
Department of Animal Sciences, University of Florida
P.O. Box 110910, Gainesville, FL 32611, USA
devries@ufl.edu

Introduction

Culling is the departure of cows from the herd because of sale, slaughter, salvage, or death (Fetrow et al., 2006). A cow that survives avoids being culled. On average, approximately one third of all cows are culled in the US each year. Cows stay in the herd therefore on average approximately 3 years before being culled. Culled cows are typically replaced with calving heifers. The price of heifers is often $2000 per head or more. Cull prices are usually around $500 per head. Cow replacement is therefore a significant cost on most dairy farms and premature culling is especially costly. Fetrow et al. (2006) point out that all culling is primarily the result of an economic decision making process. Traditionally, voluntary culling refers to cows that are culled because of low production, cow behavior, or a sale to another dairy farm as a milking cow. This is in contrast to involuntary culling, which means the cow leaves primarily because she is not healthy or not pregnant. Dairy producers believe they have no choice but to cull such cows (Hadley et al., 2006; Fetrow et al., 2006). An understanding of risk factors for culling and when cows leave the herd may help dairy farmers focus on areas that may need extra attention, such as the transition period, facilities, or reproduction.

Survival rates and culling reasons

Many of the results presented in this paper were calculated from DHIA lactation records from 38 states primarily east of the Mississippi obtained from Dairy Records Management Systems in Raleigh, NC (De Vries and Olson, 2008). Each lactation record started with a calving date between January 2001 and February 2007. Lactation records contained primarily data on milk production, reproduction, and



culling. Only Holstein lactation records were used. Herds had to have on average more than 200 cows per year from 2001 to 2006 in order to be included in the study. Therefore, the herds in this study were thought to be on progressive farms that were to remain in business for the foreseeable future. After all edits, 2,275,631 lactation records remained in the final dataset.
Herd voluntary waiting period per year was calculated as the number of days after calving by which 10% of the cows with a first service had received a first service (Miller et al., 2007). Herd 21-day pregnancy rates were calculated for 2 stages of lactation: days 61 to 100 after calving and days 101 to 365 after calving. Percentage 21-day pregnancy rates per herd per year were calculated as follows: (cumulative number of conceptions in the period) / (cumulative number of eligible days in the period / 21) × 100.
For each herd and year, the likelihood of the use of an ovulation synchronized breeding program was determined following the method of Miller et al. (2007). Based on herd size and the distribution of inseminations across days, the likelihood of synchronized breeding was: not synchronized, possibly synchronized, probably synchronized, or synchronized.
Table 1 lists the descriptive data for the 707 herds that had consistently at least 200 cows from 2001 to 2006 in the study of De Vries and Olson (2008). The average herd size was just over 1000 cows. Average annual cull rate was around 33%. Thus, one third of the cows on these farms left the herd each year. Results for 2006 may be slightly biased. Otherwise, results are typical for larger herds in the US.

Table 1. Descriptive data in the study of De Vries and Olson (2008).

Variable	---- Year ----					
	2001	2002	2003	2004	2005	2006[1]
Number of herds[2]	707	707	707	707	707	707
Herd size (cows)	932	1135	1164	1213	1242	1192
% lactation 1	38.9	39.2	37.9	37.9	37.1	38.3
% lactation 2	28.4	27.5	28.1	27.6	27.8	26.9
% lactation 3	16.7	17.1	17.0	17.4	17.5	17.3
% ≥ lactation 4	15.9	16.2	17.0	17.2	17.6	17.6
ME milk (kg/year)[3]	10,707	10,773	10,733	10,800	11,006	10,762
Milk @ 70 DIM (kg)	37.5	38.0	38.3	38.3	39.2	39.2
Milk @ 170 DIM (kg)	34.2	34.6	34.6	34.9	35.7	35.7
Annual cull rate (%)	28.6	31.5	34.0	32.2	32.2	34.4
VWP (days)[4]	48.2	48.6	49.6	50.5	53.2	51.7
Days to first service	83.3	81.8	81.1	79.8	81.6	75.7
Days to conception	162.7	163.1	159.8	155.4	156.2	126.1
Pregnancy rate (%):						
60 – 100 DIM	14.3	14.1	14.0	15.0	14.6	14.4
101 – 365 DIM	14.2	13.9	14.0	15.1	14.4	16.0
SBP (% of herds)[5]:						
Not synchronized	62.9	62.1	57.1	55.7	52.6	53.9
Possibly	14.2	11.7	12.6	8.9	9.9	8.6
Probably	21.9	24.6	28.2	29.7	30.2	29.5
Synchronized	1.0	1.6	2.1	5.7	7.3	8.0

[1] Results for 2006 may be slightly biased because end of study period was February 2007.
[2] All DHIA herds ≥ 200 cows.
[3] ME = mature equivalent, a method to standardize every cow to a mature 3rd lactation cow.
[4] VWP = voluntary waiting period, interval between calving and start of breeding period.
[5] Synchronized breeding program.

Figures 1 and 2 are survival curves and pregnancy status curves for first and second calvings. By days after current calving, the graphs illustrate the proportion of cows that are culled, open in the current lactation, pregnant in the current lactation, or present (open or pregnant) in the following lactation. Approximately 77% of cows survived the first lactation. The percentage culled over time is greater for second lactation cows than for first lactation cows.
Hare et al. (2006) compared survival rates for 13.8 million US dairy cows that calved from January 1,

1980, through March 2, 2005. Mean survival rates were 73% to lactation two, 50% to lactation three, 32% to lactation four, and 19, 10, 5, and 2% to lactations five through eight.

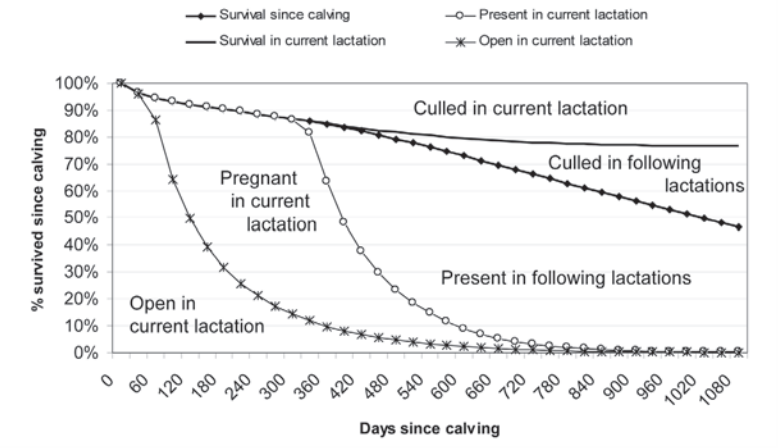


Figure 1. Survival and pregnancy status curves with calving starting lactation 1 (current lactation). Following lactations are cows that survived lactation 1 and moved to the second lactation.

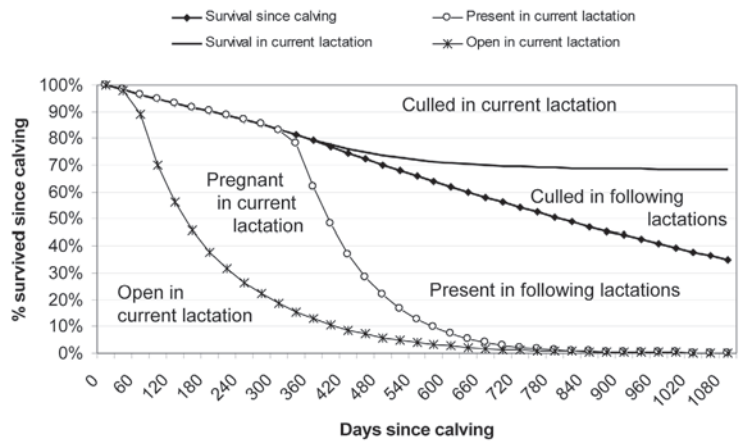


Figure 2. Survival and pregnancy status curves with calving starting lactation 2 (current lactation). Following lactations are cows that survived lactation 2 and moved to the third lactation.

The daily risk of culling for selected days after calving typically follows the "bath tub" shape (**Table 2**). Initially, the risk of culling is greater the first two months after calving because of fresh cow problems such as displaced abomasum or death. After that, the cow goes through a period of reduced risk of culling until approximately 250 days after calving, after which the daily risk of culling increases again. Open cows have much greater risk of culling than pregnant cows. These observations were also made by Gröhn et al. (1998).

Interestingly, the risk of culling at day 5 was typically lower than the risk of culling at day 30 after calving, except for first lactation cows. The daily risk of culling increased with lactation number, except compared to fresh first lactation cows.

Early after calving, death was the major reason for cows leaving the herd, as reported by dairy producers. Low milk production and reproductive problems were more prevalent reasons later in lactation. In a National Animal Health Monitoring System (2002) study, udder or mastitis problems were the leading reason (27%) given for culling. This was followed by reproductive problems (26%), poor production not

related to other reasons (19%), lameness or injury (16%), disease (6%), and aggressiveness (1%). The remainder of the cows (4%) were culled for other unspecified reasons. Hadley et al. (2006) reported similar results, but noticed some marked differences between states.

Table 2. Risk of culling per day (x 100,000^{-1}) for selected days after calving per lactation number and culling reason (De Vries and Olson, 2008).

Category	---- Days after calving[1] ----							
	5	30	60	120	200	300	400	500
Average open cow	72.7	124.0	149.9	145.0	145.9	275.3	381.0	445.9
Average pregnant cow	-	-	4.4	35.2	42.6	46.2	65.6	79.3
Average cow	71.8	119.8	76.4	59.2	59.4	82.8	117.2	154.8
Lactation number:								
1	131.6	101.9	57.7	34.9	31.0	34.3	60.2	103.4
2	32.2	83.7	59.4	53.7	56.5	79.6	118.8	161.6
3	38.9	145.9	91.5	73.5	77.4	113.7	157.8	191.8
4	52.3	172.6	112.2	91.7	95.6	143.4	183.2	223.4
5	59.8	186.1	128.8	109.1	104.3	172.4	207.7	240.6
6	63.5	193.6	139.5	107.0	109.1	189.1	225.9	252.6
Culling reasons (average cow):								
Feed and legs	2.1	10.1	8.0	6.9	7.3	7.6	7.7	7.9
Low production	2.6	11.3	9.8	7.7	9.1	11.1	15.3	19.8
Disease	0.6	15.3	7.6	5.0	4.4	6.0	8.0	8.3
Mastitis	7.4	13.4	12.4	12.2	11.5	9.5	8.4	7.8
Died	36.6	34.8	16.2	11.5	10.1	18.7	24.1	29.4
Injury/other	11.6	22.7	14.0	9.5	8.4	10.6	12.3	13.8
Udder problems	4.1	4.8	2.5	1.6	1.6	2.9	3.9	4.0
Repro problems	1.6	3.3	2.2	2.5	4.6	14.2	36.4	60.4
Not reported	2.1	4.2	3.6	2.4	2.3	2.8	3.8	5.6

[1] 5, 30, 60, 120 DIM: average of 8-day intervals (1 to 9, 26 to 34, 56 to 64, 116 to 124 DIM).
[2] 200, 300, 400, 500 DIM: average of 50-day intervals (175 to 225, 275 to 325, 375 to 425, 475 to 525).

Others reported that reproductive disorders were the most frequently reported culling reasons (one third of all reasons), followed by udder disorders (mastitis, high somatic cell count, and teat injuries) (Beaudeau et al., 2000). In their review, half of the cows that were culled were culled for health disorders. Beaudeau et al. (2000) concluded from the literature that factors not directly associated with the cow considered for culling have great effects on the culling decision. Examples of such factors are the availability of heifers, milk quota, milk and beef prices, and dairy producers' risk attitudes.
The process of categorizing culls with a single reason for disposal is subject to many errors and biases (Fetrow et al., 2006). Many cows are culled for multiple reasons (Bascom and Young, 1998), for example low milk production, failure to get pregnant, high somatic cell count, and somewhat lame. Therefore, using culling reasons alone is not sufficient to quantify the impact of health disorders on surivival (Beaudeau et al., 2000).
From **table 2**, hazard ratios can be calculated by dividing the risk of culling of interest by the reference risk of culling. For example, the hazard ratio of culling at 300 days after calving is 381.0/65.6 = 5.8 for open cows compared to pregnant cows.
In the study by Schneider et al. (2007), open cows in the first lactation had much higher risks of culling than pregnant cows. Compared to open cows in the first 30 days after calving, hazard ratios were 2



between days 151-240, 5 between days 241-305 and 12 if the cow was open more than 305 days. These hazard ratios were respectively 11, 30, and 60 for open cows in the second lactation. In their study, treatment for mastitis slightly increased these hazard ratios.

Milk production

In our study (De Vries and Olson (2008), relative milk production on day 70 after calving was a significant factor in survival to day 365 and day 486 (**Table 3**). Cows that produced < -5 kg/day compared to their herd mates were 2 to 3 times as likely to be culled in the first year than cows that produced > +5 kg/day. In a study of Wisconsin dairy herds that expanded between 1994 and 1998, Weigel et al. (2003) found that the 20% highest producing cows in a herd had a relative risk (hazard ratio) of (involuntary) culling of 0.68 from 1996 to 2000 compared to average producing cows. The 20% lowest producing cows had a relative risk of (voluntary) culling of 2.55 in the same time period. Herds with a rolling average for milk greater than 11,343 kg/cow/year had a slightly greater risk of involuntary culling of high-producing cows than herds with a rolling herd average less than 11,343 kg/cow/year. Higher producing herds in Sweden had also higher risk of culling than low producing herds (Schneider et al. 2007).
Schneider et al. (2007) observed that Swedish cows with the lowest peak test-day milk yield were 10-times more likely to be culled than high-producing cows. Gröhn et al. (1998) and Hadley et al. (2006) also found that higher milk production was protective against culling.

Table 3. Effect of relative milk yield at 70 days after calving on percent cows present and culled in the and current and following lactations at 365 days and 486 days after current calving[1] (De Vries and Olson, 2008).

Lac-tation	Cohort	---- Days after calving ----							
		---- 365 days ----				---- 486 days ----			
		Present	Present	Culled	Culled	Present	Present	Culled	Culled
		Current	Following	Current	Following	Current	Following	Current	Following
1	< -5 kg/day	59.5	22.2	16.8	0.2	17.9	55.4	21.4	3.3
1	-5 to +5 kg/day	68.0	24.8	6.2	0.2	23.1	63.5	9.5	2.7
1	> +5 kg/day	70.8	22.9	5.5	0.2	26.9	60.9	8.4	2.7
2	< -5 kg/day	52.3	18.2	27.7	0.3	13.9	45.1	35.2	4.1
2	-5 to +5 kg/day	64.5	20.9	13.3	0.3	19.7	55.6	19.3	4.1
2	> +5 kg/day	69.1	19.2	10.7	0.3	24.4	54.6	16.2	3.8
3+	< -5 kg/day	45.9	12.9	40.0	0.4	12.0	33.5	48.6	4.6
3+	-5 to +5 kg/day	59.2	15.8	23.6	0.3	17.8	43.5	32.6	4.7
3+	> +5 kg/day	64.2	15.8	18.7	0.3	21.9	44.9	27.5	4.2

[1] Relative milk yield calculated per cow compared to her herd mates. Herd mates were all cows with 70 days in milk in the same lactation, year, and season.

Reproduction

A lower herd pregnancy rate between 61 and 100 days in milk caused a small increase in culling (**Table 4**). The effect appeared independent of lactation.

Table 4. Effect of herd 21-day pregnancy rate between 61 to 100 days after calving on percent cows present and culled in the current and following lactations at 365 days and 486 days after current calving



(De Vries and Olson, 2008).

Lac-tation	Cohort	---- Days after calving ----							
		---- 365 days ---				---- 486 days ----			
		Present	Present	Culled	Culled	Present	Present	Culled	Culled
		Current	Following	Current	Following	Current	Following	Current	Following
1	< 12%	64.5	18.2	15.9	0.2	24.7	51.0	20.0	2.3
1	12-16%	62.4	22.6	13.7	0.2	21.2	57.6	17.1	2.6
1	> 16%	60.4	25.8	12.4	0.2	18.5	61.8	15.4	2.9
2	< 12%	60.9	15.5	22.3	0.2	21.4	44.6	29.2	3.3
2	12-16%	59.5	18.7	20.5	0.3	18.5	50.0	26.5	3.8
2	> 16%	57.6	21.9	19.1	0.3	16.0	54.0	24.5	4.2
3+	< 12%	52.4	11.2	35.4	0.3	17.7	33.1	44.5	3.4
3+	12-16%	51.4	13.5	33.9	0.3	15.5	37.1	42.1	4.2
3+	> 16%	50.4	15.8	32.3	0.2	14.1	39.7	40.3	4.6

Pregnancy status on day 90 and day 150 after calving was a major factor explaining culling until day 365 or day 456 (**Table 5**). Cows open on day 90 were up to 1.5 times more likely to be culled by day 486 than cows pregnant on day 90. Cows open on day 150 were up to 2 times more likely to be culled by day 486 than cows pregnant on day 90. Older cows again were more at risk to get culled than younger cows. Cows in herds with greater than 90 days between calving and first service remained longer in the current lactation, but the effects of days to first service on survival were small (not shown here).

Table 5. Effect of cow's pregnancy status at 90 and 150 days after calving on percent cows present and culled in the current and following lactations at 365 days and 486 days after current calving (De Vries and Olson, 2008).

Lac-tation	Days after calving	Cohort	---- Days after calving ----							
			---- 365 days ----				---- 486 days ----			
			Present	Present	Culled	Culled	Present	Present	Culled	Culled
			Current	Following	Current	Following	Current	Following	Current	Following
1	90	Open	89.3	1.4	9.1	0.0	33.7**	50.4	14.0	1.7
2	90	Open	80.5	1.1	18.2	0.0	27.6**	43.1	26.6	2.6
3+	90	Open	70.0	0.9	29.1	0.0	23.5**	33.2	40.4	2.9
1	150	Open	91.2	0.0	8.5	0.0*	55.1**	28.4	15.9	0.5
2	150	Open	80.8	0.0	19.0	0.0	43.3**	24.4	31.4	0.8
3+	150	Open	70.4	0.0	29.8	0.0	35.3**	18.1	45.7	0.8
1	90	Pregnant	9.5	83.7	5.6	0.6	0.9**	88.0	5.7	5.5

2	90	Pregnant	9.6	78.1	10.2	1.1	1.0**	80.4	10.4	8.2
3+	90	Pregnant	9.3	70.9	17.1	1.5	0.9**	70.7	17.4	10.7
1	150	Pregnant	48.7	45.9	4.4	0.4*	0.6**	89.7	4.9	4.9
2	150	Pregnant	49.0	41.3	8.0	0.6	0.7**	82.9	9.0	7.4
3+	150	Pregnant	47.8	36.6	13.2	0.8	0.5**	74.9	14.7	9.7

* Estimated as culled total – culled current because model failed to converge.
** Estimated as present total – present next because model failed to converge.

Table 6 presents hazard ratios (also known as relative risks) for pregnancy and culling for various cohorts in the study of De Vries and Olson (2008). The reference has a hazard ratio of 1. A lower hazard ratio indicates less risk of pregnancy or culling compared to the reference, for example 0.80 means 20% less risk. Greater lactation cows had less risk of pregnancy and greater risk of culling. Cows with a lower relative milk yield on day 70 had slightly less risk of getting pregnant (0.92), but almost 3 times more risk of getting culled than cows with a higher relative milk yield. The risk of pregnancy was slightly greater in herds with a synchronization program but culling was hardly affected. Herds with less than 75 days to first service had slightly greater risks of pregnancy and also reduced their risk of culling compared to herds with greater than 90 days to first service. As expected, cows in herds with lower pregnancy rates had less risk of pregnancy, but increased their risk of culling. The results in this table support the results in Tables 3, 4 and 5.

Cohort	---- Pregnancy ----			---- Culling ----		
	Lower 95%	Hazard ratio	Upper 95%	Lower 95%	Hazard ratio	Upper 95%
Lactation number						
Lactation 3+	0.68	0.68	0.68	4.18	4.23	4.28
Lactation 2	0.82	0.82	0.82	2.15	2.18	2.21
Lactation 1	-	1.00	-	-	1.00	-
Milk yield at day 70						
< -5 kg	0.92	0.92	0.93	2.93	2.97	3.01
-5 to +5 kg	1.02	1.03	1.03	1.27	1.29	1.31
> +5 kg	-	1.00	-	-	1.00	-
SBP						
No synchronization	0.92	0.93	0.94	1.00	1.03	1.06
Possibly	0.94	0.96	0.97	0.96	0.99	1.02
Probably	0.95	0.96	0.96	0.98	1.01	1.03
Synchronized	-	1.00	-	-	1.00	-
Herd days 1st service						
< 75	1.03	1.04	1.05	0.94	0.96	0.98
75 – 90	0.99	0.99	1.00	0.94	0.95	0.97
> 90	-	1.00	-	-	1.00	-
Herd pregnancy rate						
< 12%	0.70	0.70	0.71	1.27	1.30	1.32
12 – 16%	0.88	0.89	0.89	1.11	1.12	1.14
> 16%	-	1.00	-	-	1.00	-
Season						
Winter	0.99	0.99	1.00	0.91	0.92	0.93
Spring	0.76	0.76	0.76	0.78	0.79	0.80
Summer	0.63	0.63	0.63	0.88	0.89	0.91
Fall	-	1.00	-	-	1.00	-



Summer and spring were the seasons with the lowest risk of pregnancy. The risk of culling was also lower in the summer and spring compared to the fall. Increased culling in the fall is economically optimal in seasonal herds such as predominantly in the Southeastern US. Cows and heifers that calve in the fall reach higher milk production and are easier to get pregnant in the winter (DeLorenzo et al. 1992). Meadows et al. (2006) found that herds in Ohio that used a contract breeding program had a pregnancy hazard ratio of 1.3 to 1.4 compared to herds that managed their own breeding program. Contract breeding was offered by a breeding cooperative and featured tail chalking and daily evaluation of cows for insemination by cooperative technicians. Herds that used synchronized breeding had hazard ratios of 1.2 for pregnancy compared to herds that relied more on estrus detection. These authors also found reduced hazard ratios for pregnancy in the spring (0.81) and summer (0.89). Greater lactation cows had lower hazard ratios for pregnancy compared to first lactation cows, from 0.95 for second lactation cows to 0.82 for cows in their fifth lactation or greater.

Genetics, breeds, and type traits

Dairy cow survival is moderately heritable. Estimates range from 15 to 20% in survival analysis models (Weigel et al., 2003).

For cows that calved for the first time in 2000, 76.2% of Jerseys survived to the second lactation (Hare et al., 2006). For the other four major breeds, survival through the first lactation was lower: 71.8% (Ayrshire), 68.8% (Brown Swiss), 66.3% (Guernsey), and 74.1% (Holstein). Survival to lactation three was 56.7% (Jersey), 50.8% (Ayrshire), 47.3% (Brown Swiss), 41.8% (Guernsey) and 49.0% (Holstein). Survival to lactation four was also greatest in Jersey cows, followed by Ayrshire, Brown Swiss, Holstein and Guernsey.

Jersey cows with an inbreeding coefficient of >10% had a slightly higher risk of being culled than those with an inbreeding coefficient of <5% (Caraviello et al., 2003). Jersey cows with undesirable scores for udder depth, fore udder attachment, front teat placement, and udder support had 1.3 to 1.8 times greater risk of being culled than those cows with intermediate scores. Intermediate scores were desirable for rear leg set, dairy form, and strength. Stature, rump angle, and rump with had negligible effects on survival. Among Holstein cows, survival was increased in cows with more desirable udder debt, fore udder attachment, udder cleft, rear legs side view, and final type score (Caraviello et al., 2004).

Management

Weigel et al. (2003) investigated management and housing factors that affected culling in expanding herds in Wisconsin. They found that the risk of involuntary culling of productive, profitable cows was lower for herds with fewer cows per employee and in herds where family members provided the labor. Further, herds with fans, sprinklers, self-locking stalls, palpation racks, and maternity pens also had lower culling risks for high-yielding cows. Third, involuntary culling was lower for 100% AI herds than for non-AI herds. Herds that used AI a lot had a more favorable balance of voluntary and involuntary culling. The use of rbST did not affect culling. Finally, farms with 3-times daily milking and custom grown heifers had higher involuntary culling rates. Voluntary culling was often relaxed during expansion, presumably because facilities need to be filled as soon as possible which causes a shortage of replacement animals. On the other hand, involuntary culling increased in expanding herds. Overall culling rate was not a consistent predictor of the amount of voluntary and involuntary culling. These results seem to indicate that cows under stress of high production are at greater risk of (involuntary) culling, particularly in larger herds where less individual attention is possible. Seasonally calving Holstein and Jersey grazing herds in North Carolina had higher survival rates than did confined cows (White et al., 2002).

Disease

Disease sometimes increases the risk of culling, but the direct effects are not always clear. Reduced mastitis in the grazing herds partially accounted for the lower culling rates compared to confined herds (Washburn et al. 2002). Impact of mastitis on culling varied with stage of lactation for Holstein herds in New York (Gröhn et al. 1997). In Italy, cows with the highest test-day somatic cell scores (SCS) had 3 times the risk of being culled compared to those with the lowest SCS (Samoré et al., 2003).

Beaudeau et al. (2000) reviewed the literature for the effects of health disorders on culling in dairy cows. The literature supports that dairy producers consider health events for making culling decisions. Dystocia and udder diseases (mastitis and teat injuries) clearly increased the risk of culling. But the direct

effects of metabolic and reproductive disorders on culling were not clearly demonstrated. Instead, these disorders may lower milk production and increase days open, thus leading indirectly to increased culling. Statistical models that adjust for milk production and reproduction therefore often fail to show direct effects of disease on the risk of culling. It appears that farmers essentially take into account events in the current lactation for making decisions, whereas the contribution of health disorders from previous lactations is low.

Mastitis after the peak of the lactation, metabolic and reproductive disorders generally have a delayed effect on culling (Beaudeau et al., 2000). That is, they increase the risk of culling, but not immediately when the events are observed. In contrast, health disorders such as teat injuries, mastitis occurring before the peak of the lactation, non traumatic udder disorders other than mastitis, ketosis and displaced abomasums are likely to lead to immediate culling.

Economic considerations

The selection index Net Merit is a combination of breeding values and their economic weights of 10 dairy cattle traits (VanRaden et al., 2006). It is the expected extra lifetime profit of an animal's offspring compared to the breed average. The Net Merit values for bulls and cows are calculated 4 times per year by the Animal Improvement Programs Laboratory of the US Department of Agriculture. Survival is accounted for in the trait productive life. Productive life is a measure of how long cows survive in the herd. Other terms are longevity or herd life. Cows get credit for productive life based on standard lactation curves, with the highest credits at the peak of lactation and diminishing credits across the remainder of the lactation. First lactations get less credit and later lactations slightly more credit in proportion to average production. These lactation curve credits ensure that cows with multiple lactations get more total credit than cows with just one long lactation. Nevertheless, productive life is highly associated with survival and cull rate. Longer productive life was valued at $29 per month in the 2006 Net Merit revision. The $29 per month is largely based on the difference between heifer replacement cost ($1800), salvage value ($675), and average productive life (3 years). On individual farms, the value of productive life can be significantly higher when heifer prices are greater and average productive life is shorter. For example, when heifer replacement costs are $2200 and average productive life is 27 months, one month longer productive life is worth approximately $50.

The consensus in the dairy literature is that lower cull rates are generally more profitable, with optimal cull rates of < 30% based on modeling or surveys of dairy farm financial records (Fetrow et al. 2006; Hadley et al. 2006). However, the optimal cull rate varies from dairy farm to dairy farm and from time to time. As prices and risk factors change, optimal cull rates change. Furthermore, cull rates do not describe if individual cows are culled at the optimal time. Two farms might have the same cull rate, where one farm makes optimal culling decisions for individual cows, and the other farm keeps some cows too long and culls others too early. If the dairy farmer has made optimal culling decisions for individual cows, than the resulting cull rate is optimal for that farm. Nevertheless, high cull rates should trigger an investigation to identify risk factors that devalue cows prematurely in the herd.

The value of productive life ($29 per month) does not indicate the losses from premature culling of individual cows. Premature culling of young, pregnant, and high producing cows is more costly than premature culling of older cows that are open later in lactation. The cost of premature culling for individual cows can be estimated from their retention values. The retention value is defined as the is the profit anticipated by keeping the cow until the optimum time for replacement, instead of immediate replacement, taking into account the risk of involuntary culling (Van Arendonk, 1984). Retention values for individual cows can be calculated with the program DairyVIP (De Vries, 2006a, 2006b). The management information system DairyComp 305, widely used in the US, calculates a "cow value" for individual cows, which is loosely based on the retention value approach (Eicker and Fetrow, 2003). Retention values for average open cows in lactations 1 and 2 are shown in **Figure 3**. Premature culling early in lactation, and consequently replacement with a heifer, creates on average an economic loss of $1200 to $1500. These losses decrease when the cow remains open later in lactation. When the retention value drops below $0, the optimal decision is to replace the cow with a heifer. Premature culling of open cows later in lactation, is therefore less costly. Premature culling of pregnant cows later in lactation, on the other hand, is usually quite costly. Also shown in Figure 3 are the retention values



of cows that got pregnant on day 92. By the time these cows are about to calve nine months later, their retention value is still approximately $1500. Cows that got pregnant later in lactation still have much higher retention values than cows that remained open. The retention values depend on the level of milk production. For example, open first lactation cows that produce 80% of the milk yield of the average first lactation cows have retention value that are $600 to $900 lower than average. Premature culling of low producing cows is clearly much less costly than premature culling of high producing cows.

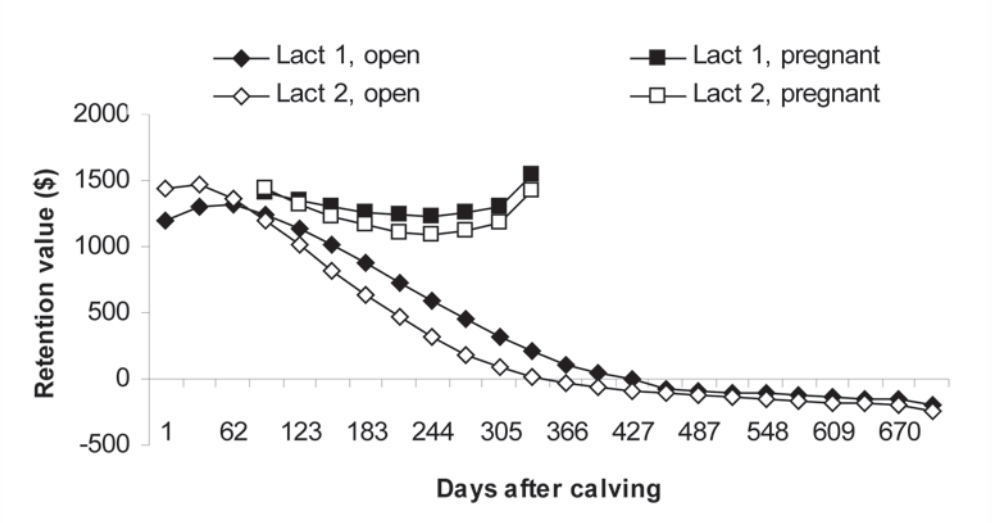


Table 6. Hazard ratios ("relative risk") of pregnancy and culling for various cohorts (De Vries and Olson, 2008).

References

- Bascom, S. S. and A. J. Young. 1998. A summary of reasons why farmers cull cows. Journal of Dairy Science 81:2299-2305.
- Beaudeau, F., H. Seegers, V. Ducrocq, C. Fourichon, and N. Bareille. 2000. Effect of health disorders on culling in dairy cows: a review and a critical discussion. Annales de Zootechnie 49:293-311.
- Caraviello, D. Z., K. A. Weigel, and D. Gianola. 2003. Analysis of the relationship between type traits, inbreeding, and functional survival in Jersey cattle using a Weibull proportional hazards model. Journal of Dairy Science 86:2984-2989.
- Caraviello, D. Z., K. A. Weigel, and D. Gianola. 2004. Analysis of the relationship between type traits and functional survival in US Holstein cattle using a Weibull proportional hazards model. Journal of Dairy Science 87:2677-2686.
- De Vries, A. 2006a. The DairyVIP program to evaluate the consequences of changes in herd management and prices on dairy farms. University of Florida Extension Document AN177.
- De Vries, A. 2006b. Economic value of pregnancy in dairy cattle. Journal of Dairy Science 89:3876–3885.
- De Vries, A., and J. Olson. 2008. Survival curves and reproductive risk factors for culling in dairy herds. Journal of Dairy Science 91 (Suppl. 1): abstract (accepted).
- DeLorenzo, M. A., T. H. Spreen, G. R. Ryan, D. K. Beede, and J. A. M. Van Arendonk. 1992. Optimizing model: Insemination, replacement, seasonal production, and cash flow. Journal of Dairy Science 75:885–896.
- Eicker, S., and J. Fetrow. 2003. New tools for deciding when to replace used dairy cows. Pages 33–46 in Proceedings Kentucky Dairy Conference, Cave City, KY. University of Kentucky, Lexington.
- Fetrow, J., K. V. Nordlund, and H. D. Norman. 2006. Invited review: culling: nomenclature, definitions, and recommendations. Journal of Dairy Science 89:1896-1905.
- Gröhn, Y. T., V. Ducrocq, and J. A. Hertl. 1997. Modeling the effect of a disease on culling: an illustration of the use of time-dependent covariates for survival analysis. Journal of Dairy Science 80:1755-1766.
- Gröhn, Y. T., S. W. Eicker, V. Ducrocq, and J. A. Hertl. 1998. Effect of disease on the culling of Holstein dairy cows

in New York State. Journal of Dairy Science 81:966-978.
- Hadley, G. L., C. A. Wolf, and S. B. Harsh. 2006. Dairy cattle culling patterns, explanations, and implications. Journal of Dairy Science 89:2286-2296.
- Hare, E., H. D. Norman, and J. R. Wright. 2006. Survival rates and productive herd life of dairy cattle in the United States. Journal of Dairy Science 89:3713-3720.
- Meadows, C., P. J. Rajala-Schultz, G. S. Frazer, R. W. Meiring, and K. H. Hoblet. 2006. Evaluation of a contract breeding management program in selected Ohio dairy herds with event-time analysis. I. Cox proportional hazards models. Preventive Veterinary Medicine 77:145-160.
- National Animal Health Monitoring System. 2002. Dairy 2002 Part I: Reference of Dairy Health and Management in the United States. USDA Animal and Plant Health Inspection Service, Veterinary Services, Center for Epidemiology and Animal Health, Fort Collins, CO.
- Samoré, A. B., M. del P. Schneider, F. Canavesi, A. Bagnato, and A. F. Groen. 2003. Relationship between somatic cell count and functional longevity assessed using survival analysis in Italian Holstein-Friesian cows. Livestock Production Science 80:211-220.
- Van Arendonk, J. A. M. 1984. Studies on the replacement policies in dairy cattle. I. Evaluation of techniques to determine the optimum time for replacement and to rank cows on future profitability. Zeitschrift fuer Tierzuechtung and Zuechtungsbiologie 101: 330-340.
- VanRaden, P. M. and Multi-State Project S-1008. 2006. Net merit as a measure of lifetime profit: 2006 revision. USDA-AIPL Research Report NM$3 (7-06).
- Washburn, S. P., S. L. White, J. T. Green, Jr., and G. A. Benson. 2002. Reproduction, mastitis, and body condition of seasonally calved Holstein and Jersey cows in confinement or pasture systems. Journal of Dairy Science 85:105-111.
- Weigel, K. A., R. W. Palmer, and D. Z. Caraviello. 2003. Investigation of factors affecting voluntary and involuntary culling in expanding dairy herds in Wisconsin using survival analysis. Journal of Dairy Science 86:1482-1486.
- White, S. L., G. A. Benson, S. P. Washburn, and J. T. Green, Jr. 2002. Milk production and economic measures in confinement or pasture systems using seasonally calved Holstein and Jersey cows. Journal of Dairy Science 85:95-104.



Public Health and Food Safety Issues Associated with Foodborne Pathogens From the Dairy Farm Environment

S. P. Oliver
Food Safety Center of Excellence and Department of Animal Science,
The University of Tennessee, Knoxville, Tennessee, USA 37996
http://www.agriculture.utk.edu/ansci/faculty/oliver.htm
http://www.foodsafe.tennessee.edu/
http://www.tqml.utk.edu
soliver@utk.edu

Introduction: We hear much these days about food safety. What's the concern? More than 200 known diseases are transmitted through food by a variety of agents that include bacteria, fungi, viruses, and parasites. According to public health and food safety experts, each year millions of illnesses in this country and throughout the world can be traced to foodborne pathogens. While the food supply in the United States is one of the safest in the world, the Center for Disease Control and Prevention (CDC, 2003; CDC, 2004) estimates that 76 million people get sick, more than 300,000 are hospitalized, and 5,000 Americans die each year from foodborne illness. Shiga- toxin producing *Escherichia coli* (STEC, O157 and non-O157 serotypes), *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni,* and *Salmonella* spp generally have low infective doses, can cause diseases with extensive debilitating effect(s), and are a major public health concern worldwide (Mead et al., 1999). Reducing bacterial pathogen contamination of our food supply could save both lives and billions of dollars in costs annually. Consequently, preventing illness and death associated with foodborne pathogens remains a major public health challenge.

Why has the risk of foodborne illness increased? There are several reasons. Much has changed in what we eat and where we eat. A greater variety of foods are consumed, particularly seafood, fresh fruit, and fresh vegetables, and consumers demand these foods year round. To satisfy this demand, more foods are



imported from foreign countries. Another factor is that more meals are eaten away from home. As more people become involved in preparing our meals, the chance for foodborne illness increases dramatically. In addition, the threats are numerous and varied such as *E. coli* O157:H7 in meat and apple juice; *Salmonella* in meat, eggs, on vegetables and poultry; *Vibrio* in shellfish; *Cyclospora* on fruit; and *Cryptosporidium* in drinking water. These pathogens can be deadly, especially for people at highest risk. This situation becomes even more problematic because of rapidly changing demographics, with an increasing number of elderly people and immunocompromised individuals who are more susceptible to foodborne pathogens (Notermans and Hoogenboom-Verdegaal, 1992).

Dairy farms are an important reservoir of foodborne pathogens. Should the dairy industry be concerned about food safety? **YES** and there are several very good reasons why including: (1) foodborne pathogens are found throughout the dairy environment and can gain entrance into bulk tank milk, (2) several outbreaks of disease in humans have been traced to the consumption of raw unpasteurized milk that is consumed directly by dairy producers and their families, farm employees and their families, neighbors, etc., (3) raw unpasteurized milk is consumed directly by a much larger segment of the population via consumption of several types of cheeses including ethnic cheeses manufactured from unpasteurized raw milk, (4) raw milk enthusiasts are becoming very vocal advocating the sale and consumption of raw unpasteurized milk by the general public, (5) entry of foodborne pathogens via contaminated raw milk into dairy food processing plants can lead to persistence of these pathogens in biofilms and subsequent contamination of processed food products, (6) pasteurization may not destroy ALL foodborne pathogens in milk, and (7) faulty pasteurization will not destroy all foodborne pathogens.

This paper reviews public health and food safety issues associated with foodborne pathogens found in the dairy farm environment Results of studies investigating the major habitats of pathogens on dairy farms that could act as reservoirs or transient carriers of foodborne pathogens are described. In addition, this communication discusses the prevalence of foodborne pathogens (primarily *C. jejuni,* STEC*, L. monocytogenes*, and *Salmonella*) in milk, the role of foodborne pathogens as mastitis-causing bacteria and their impact on milk quality, and public health and food safety issues associated with foodborne pathogens found in the dairy environment.

Prevalence of Foodborne Pathogens in the Dairy Farm Environment: Dairy farms are an important reservoir of foodborne pathogens (Nam et al., 2005a; 2005b). The presence of foodborne pathogens in milk is due to direct contact with contaminated sources in the dairy farm environment and in some cases to excretion from the udder of an infected animal. Most foodborne pathogens inhabit the ruminant intestinal tract, and therefore, dairy cattle are considered a major reservoir of *Salmonella*, *Campylobacter,* and STEC. *Listeria* species are found widespread in nature and lives naturally in plants and soil environments. Epidemiological studies have shown that cattle probably become infected through consumption of water and feedstuffs contaminated with feces and other cattle secretions/excretions. Presence of foodborne pathogens in bulk tank milk seems to be directly linked to fecal contamination that occurs primarily during the harvesting of raw milk, however, some foodborne pathogens can cause mastitis in which the organism was directly excreted into milk. Introduction of raw milk contaminated with foodborne pathogens into processing plants and persistence in biofilms represents an important risk of post-pasteurization contamination that could lead to exposure of consumers to pathogenic bacteria. (Arizcun et al., 1998; Roberts and Wiedmann, 2003; Wong, 1998).

Campylobacter jejuni/coli are very versatile and metabolically active organisms capable of exploiting a variety of environments, especially the intestinal tract of warm-blooded mammals and birds. The intestinal tract and feces of susceptible (carrier) animals are considered the major reservoir of this foodborne pathogen. A similar theme was described for *L. monocytogenes*. Data reported by Nightingale et al. (2004) support the model in which the presence of the pathogen depends on the ingestion of contaminated feed followed by amplification in bovine hosts and fecal dissemination in the farm environment. A similar series of events seems to occur with STEC. The influence of the diet (grains vs. forage) on the shedding of STEC in

feces suggests that an amplification stage also occurs in the GI tract of ruminants. The terminal rectum region of the GI tract was an important site where this pathogen showed specific tropism (Naylor et al., 2003). *Escherichia coli* O157:H7 was detected in the terminal rectum region regardless if animals were experimentally or naturally infected. The pathogen was detected in feces up to 4 weeks after experimental inoculation or 22 days in those that cohabited with infected animals (Naylor et al., 2003). The authors described the finding of a naturally infected calf with positive detection of *E. coli* O157: H7 in the terminal rectum mucosa. This calf was detected in a straw court from where 16 of 35 calves were positive for *E. coli* O157:H7 in feces from which 3 calves showed high numbers of this pathogen (> 10^4 colony forming units/g) in feces. These findings lead authors to propose the existence of "super-shedders" and colonization of the terminal rectum was a condition for this status (Naylor et al., 2003). Taken together, colonization of the GI tract of the bovine and amplification of *C. jejuni/coli, L. monocytogenes* and *E. coli* O157: H7 appears to be a required stage in the cell cycle of these foodborne pathogens. Shedding of foodborne pathogens in feces and distribution in the environment where cows live assures animal re-infection and persistence of the pathogen on the farm. This together with the infection of other warm-blooded mammals, birds and insects that live on the farm place these production units as major reservoirs for foodborne pathogens.

The occurrence patterns and molecular characteristics of *Salmonella* are important for surveillance and control of the pathogens. We conducted a study to determine month-to-month variation and seasonal effects on the occurrence of *Salmonella* in dairy animals and environments, and to characterize selected *Salmonella* isolates (Pangoli et al., 2008). A total of 7,680 animal and environmental samples, collected monthly from a dairy farm, were analyzed for the presence of *Salmonella* during a 12-mo study. Major sources of *Salmonella* on the dairy farm (% positive) were milking parlor air (62%) and bird droppings (63%) during winter; feeds (50-58%), water (53-67%), calf-bedding (63%), soils (60-63%), milking parlor air (60%), and bird droppings (50%) in spring; all animal and environmental samples (40-92%) except milking parlor air (25%) and bulk tank milk (29%) in summer; and feeds (60-71%), cow-beddings (59%), cow-soils (50%), air (46-71%), and insects (63%) during fall. *Salmonella* ribotyping indicated that most serovars came from different sources but some might have originated from a common source and transmitted from site to site on the farm. These data provide some important information on key animal and environmental sampling sites needed to initiate on-farm management programs for control of this important foodborne pathogen.

We also investigated the major habitats of pathogens on dairy farms that could act as reservoirs or transient carriers of *Salmonella* spp., *L. monocytogenes*, *C. jejuni,* and O157 and non-O157 STEC (Murinda et al., 2004b). Previous studies from our laboratory on 30 dairy farms confirmed that bulk tank milk (BTM) and culled dairy cow feces were potential sources of *E. coli* O157:H7 (Murinda et al., 2002a) and *Salmonella* spp. (Murinda et al., 2002b). Four farms (A, B, C and D) that represented the diversity of farms in stockmanship, management styles and types of pathogens isolated were selected for further study. Farms A and D were positive for both *Salmonella* and *E. coli* O157:H7. Farm C was negative for *E. coli* O157:H7, but positive for *Salmonella*, whereas farm B was negative for both pathogens. This study was conducted to investigate the major habitats of pathogens on dairy farms that could act as reservoirs or transient carriers of foodborne pathogens.

Six visits were conducted to 4 dairy farms to collect swab, liquid and solid dairy farm environmental samples (165 to 180/farm; 15 sample types). Pathogens were isolated on agar media, typed biochemically, and confirmed using multiplex polymerase chain reaction protocols. *Campylobacter jejuni*, *Salmonella* spp. and *L. monocytogenes*, sorbitol-negative (SN)-STEC O157:H7 and sorbitol-positive (SP)-STEC, respectively, were isolated from 5.1%, 3.8%, 6.5%, 0.7%, and 17.3% of samples evaluated (**Table 1**). Whereas other pathogens were isolated from all 4 farms, SN-STEC O157:H7 were isolated from only two farms. Diverse serotypes of SP-STEC including O157:H7, O26:H11, O111, and O103 were isolated. None of the five pathogen groups studied were isolated from bulk tank milk. Most foodborne pathogens (44.2%) were isolated directly from fecal samples. Bovine fecal samples, lagoon water, bedding, bird droppings and rats constituted areas of major concern on dairy farms. Although in-line milk filters from two farms tested



positive for *Salmonella* or *L. monocytogenes*, none of the pathogens were detected in the corresponding bulk tank milk samples.

Among the four farms studied, farm A had the best rodent and manure-management practices; and this appeared to be reflected in fewer pathogens isolated (59.4% - 61.5% less) than farm B, C and D (Murinda et al., 2004b). As in our earlier studies (Murinda et al., 2002a; 2002b), farm D was positive for both STEC O157: H7 and *Salmonella* spp., while farm C was negative for STEC O157:H7 and positive for *Salmonella*. These data appear to indicate persistence of these pathogens on both farms and presence of locally cycling populations. Farm A was positive for both pathogens in the first study, although in the subsequent study, it was O157:H7 STEC-negative, but *Salmonella*-positive. Farm A had the most improved manure management practices and had eradicated rats, which were rampant in the first study. On the other hand, farm B was negative for both pathogens in the first study, but was *Salmonella* and SN-STEC O157:H7-positive in the subsequent study; this might suggest a deterioration of management conditions at this farm. Our observations at farm B support these inferences. The retrogression of farm B from negative to positive was correlated to certain poor management practices. Visually there were infrequent changes of heavily manure-laden straw bedding and frequent changes in milking staff. Furthermore, due to off-farm commitments, the farm owner spent less time on the farm than during the first study. Good manure management practices, including control of feral animals, are critical in assuring dairy farm hygiene.

Table 1: Isolation of foodborne pathogens from the dairy farm environment[1].

Sample type	No. samples	Foodborne pathogens isolated			
		L. monocytogenes	*Salmonella*	*C. jejuni*	*STEC O157:H7*
Feed/silage	97	6	3	1	0
Trough water	92	1	3	0	0
Lagoon water	94	7	2	13	0
Fecal slurry/pats	98	14	4	7	2
Calf fecal swab	86	1	2	4	1
Heifer fecal swab	4	0	0	1	0
Bedding	90	13	6	5	0
Milking parlor	10	0	0	3	0
Bulk tank milk	49	0	0	0	0
In-line milk filters	24	1	1	0	0
Parlor hose water	17	0	0	0	0
Bird droppings	20	2	2	1	2
Flies	5	0	0	0	0
Rats	4	0	3	0	0
Birds	1	0	0	0	0
Total	691	45 (6.5%)	26 (3.8%)	35 (5.1%)	5 (0.7%)

[1] From Murinda et al., 2004b.

Several reports indicated that cattle are a major reservoir of STEC and feces was the main vehicle for contamination of raw food (milk and beef) produced on dairy farms. STEC O157:H7 serotype has been



isolated frequently from cattle feces, and most human EHEC O157:H7 infections originate, either directly or indirectly, from this source (Besser et al., 1997; 2001). Investigations to identify possible intervention strategies to control the prevalence of *E. coli* O157:H7 have linked production practices (critical points) with persistence of this foodborne pathogen in cattle and generation of reservoirs in the farm environment (Elder et al., 2000; Garber et al., 1995; Hancock et al., 1997; Shere et al., 1998; Zhao et al., 1995). Among these, diet (Buchko et al., 2000; Cray et al., 1998; Diez-Gonzales et al., 1998; Herriot et al., 1998), age of cattle (Cray and Moon, 1995; Garber et al., 1995), management of manure and fecal slurry, contaminated animal drinking water (Faith et al., 1996; Shere et al., 1998), and management of pre-and postweaned calves (Faith et al., 1996; Garber et al., 1995; Shere et al., 1998) have been identified as risk factors for infection and shedding of *E. coli* O157:H7 by cattle. Especially important is use of manure as a fertilizer or contaminated water to irrigate field crops. Contaminated manure and irrigation water were probable vehicles for the pathogen in many human disease outbreaks. Supporting data were obtained from a study where the occurrence and persistence of *E. coli* O157:H7 was determined on lettuce and parsley grown in soil fertilized with contaminated poultry or bovine manure composts or treated with contaminated irrigation water. Result from this study indicated that *E. coli* O157:H7 could persist for 154 to 217 days in soils fertilized with contaminated composts. After seedlings were planted, *E. coli* O157:H7 could be detected on lettuce and parsley for up to 77 and 177 days, respectively. In addition, *E. coli* O157:H7 persisted in soil for more than 5 months after application of contaminated compost or irrigation water, regardless of source or crop type (Islam et al., 2004).

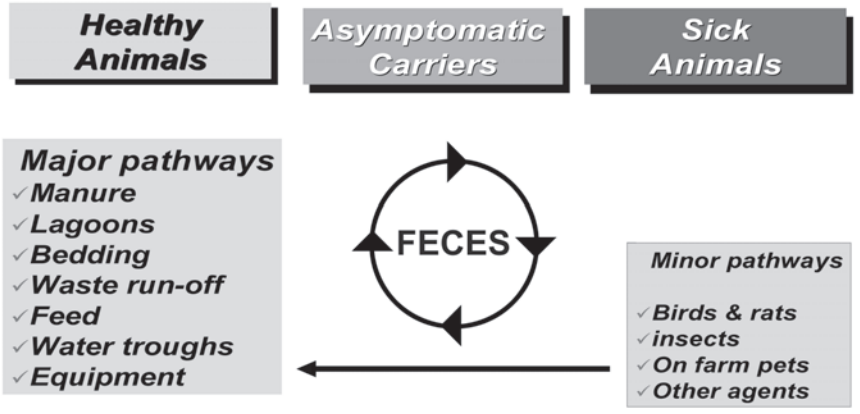


Fig. 1. Maintenance and recycling of foodborne pathogens on the dairy farm. Foodborne pathogens originate from direct contact with contaminated sources, primarily feces, in the dairy farm environment. The primary source of foodborne pathogens in milk appears to be directly linked to fecal contamination that occurs during the milking process (from Oliver et al., 2005).

Dairy farms constitute a major source of pathogens that could be transmitted to humans. Good manure management practices are critical in assuring hygiene. Our data indicate that there could be many environmental habitats of pathogens outside cattle on dairy farms (**Fig. 1**). It is not known whether these habitats are merely transient carriers, or are true reservoirs that sustain pathogens for long durations in the absence of cattle. Further studies, genetic or otherwise, are required to establish the reservoir status of habitats, including if or how these habitats are responsible for cycling pathogens on the farms, and to verify whether the same subtypes are persistent on farms. These data are relevant for purposes of pathogen control or eradication. The current hypothesis is that the presence of pathogens on the farm depends on ingestion of contaminated feed followed by amplification in bovine hosts and fecal dissemination in the farm environment. The final outcome of this cycle is a constantly maintained reservoir of foodborne pathogens that can reach the human population by direct contact, ingestion of raw contaminated food (raw milk or cheese made with raw milk), or contamination during the processing of milk.

Prevalence of Foodborne Pathogens in Milk: The dairy farm environment and animals on the farm serve as important reservoirs of pathogenic and commensal bacteria which could potentially gain access to milk in the bulk tank via several pathways. Pathogenic Gram-negative bacteria can gain access to bulk tank milk

from infected mammary glands, contaminated udders and milking machines, and/or from the dairy farm environment. Contaminated raw milk when consumed by humans or fed to animals on the farm can result in gastroenteric infections in humans and animals and also provide an opportunity for organisms to colonize the farm environment. This scenario
becomes much more complicated when pathogenic bacteria such as *Salmonella,* STEC*,* and commensal Gram-negative enteric bacteria encode for antimicrobial resistance determinants. In recent years, the role of commensal bacteria as reservoirs of genetic determinants for antimicrobial resistance has come under closer scrutiny. Commensal bacteria in bulk tank milk can be a significant reservoir of antimicrobial determinants. Raw milk consumption can result in exposure to antimicrobial resistant commensal Gram-negative bacteria based on data that has shown that: 1) antimicrobial resistant pathogenic Gram-negative bacteria can gain access to BTM either from infected mammary glands, contaminated udders and milking machines, or from the dairy farm environment; 2) commensal bacteria in BTM can be a significant reservoir of antimicrobial determinants, 3) raw milk consumption can result in exposure to antimicrobial resistant commensal GNB, and 4) antimicrobial genetic determinants of resistant *E. coli* can be transferred to suitable recipient strain of *E. coli* (Strayley et al., 2006).
Several surveys have detected foodborne pathogens in bulk tank milk (Davidson, 1989; Doyle and Roman, 1982; Farber et al., 1988; Fedio and Jackson, 1990; Hassan et al., 2000; Jayarao and Henning , 2001; Liewen and Plautz, 1988; Lovett et al., 1983; Lovett et al., 1987; McEwen et al., 1988; McManus and Lanier, 1987; Murinda et al., 2002a; 2002b; 2004a; 2004b; Rohrbach et al., 1992; Slade et al., 1988; Steele et al., 1997; Van Kessel et al., 2004; and Waak et al., 2002). Results of those studies have shown clearly that prevalence rates of foodborne pathogens including *C. jejuni*, STEC*, L. monocytogenes,* and *Salmonella* spp. in milk vary considerably (**Table 2**).
Numerous factors likely contribute to the variation observed such as geographical location, season, farm size, number of animals on the farm, hygiene, farm management practices, variation in sampling, variation in types of samples evaluated, and differences in detection methodologies used. However, in spite of the variation, all of these surveys demonstrated quite clearly that milk can be a significant source of foodborne pathogens of human health significance.
Rohrbach et al. (1992) reported that the frequency of isolation of foodborne pathogens from 292 bulk tank milk samples from dairies in east Tennessee and southwest Virginia was 12.3% *for C. jejuni,* 8.9% for *Salmonella* species, 4.1% for *L. monocytogenes,* and 15.1% for *Yersinia enterocolitica.* One or more foodborne pathogens were isolated from 32.5% of bulk tank milk samples evaluated. One of the four foodborne pathogens was isolated from 73 of 95 positive
samples, and 22 samples contained two or more foodborne pathogens. Grade classification of the dairy, milking facilities, barn type, milking hygiene, reported incidence of clinical mastitis
among cows, or the number of cows per farm were not significantly associated with the isolation of foodborne pathogens in bulk tank milk. Of 84 dairy producers who used teat disinfection and antibiotic dry cow therapy that were classified as having good milking hygiene, 29 (35%) had bulk tank milk contaminated with foodborne pathogen(s) compared to 12 of 29 (31%) dairies with poor milking hygiene (odds ratio 1.2, $P = 0.7$). Almost 35% of dairy producers who participated, indicated that they consumed raw milk produced on their farm, and 25% of the bulk tank milks from these farms were contaminated with one or more foodborne pathogens (Rohrbach et al., 1992).
In a similar study, bulk tank milk from 131 dairy herds in eastern South Dakota and western Minnesota was examined for the presence of foodborne pathogens (Jayarao and Henning, 2001). Thirty-five of 131 (26.7%) bulk tank milk samples contained one or more species of pathogenic bacteria. *Campylobacter jejuni*, STEC, *L. monocytogenes, Salmonella* spp., and *Y. enterocolitica* were detected in 9.2, 3.8, 4.6, 6.1, and 6.1% of bulk tank milk samples, respectively. Isolates of *Salmonella* belonged to group D (n = 4), B (n = 2), C (n = 1), and E (n = 1) "O" serogroups. All six isolates of *Listeria monocytogenes* were identified as O antigen type 1. Four of five isolates of *E. coli* encoded for the Shiga-toxin 2 gene, while one strain encoded for the Shiga-toxin 1 gene. *Escherichia coli* O157:H7 was not isolated from bulk tank milk samples. Manufacturing grade raw milk producers were at a higher risk (odds ratio 4.98; confidence interval, 1.96 to 12.22) of having one or more foodborne pathogens in their bulk tank milk than were Grade A milk producers. Twenty-one of 79 (26.6%) dairy producers who consumed raw milk produced on their farm had one or more pathogenic bacteria in

their bulk tank milk.
Van Kessel et al. (2004) reported results on the prevalence of foodborne pathogens in bulk tank milk samples obtained as part of the National Animal Health Monitoring System Dairy 2002 survey. The objective of this study was to determine the national prevalence of *Salmonella*, *L. monocytogenes*, and fecal coliforms in bulk tank milk in the United States. Bulk tank milk samples (n=861) were collected from farms in 21 states. Coliforms were detected in 95% (818 of 860) of samples, and the average somatic cell count (SCC) was 295,000 cells/ml. Twenty-two samples (2.6%) were culture-positive for *Salmonella*, and 9 serotypes were identified: Montevideo (n = 7), Newport (n = 4), Muenster (n = 2), Meleagridis (n = 2), Cerro (n = 2), 44:Z36 (Z38) (n = 2), Dublin (n = 1), Anatum (n = 1), and 9, 12:nonmotile (n = 1). *Listeria monocytogenes* was isolated from 56 (6.5%) samples, and serotyping of these isolates yielded 5 serotypes (1/2a, 1/2b, 3b, 4b, and 4c). Of the *L. monocytogenes* isolates, 93% were serotypes 1/2a, 1/2b, and 4b, the most common human clinical isolates. There were no apparent relationships between SCC or specific plate count and incidence of *Salmonella* or *L. monocytogenes*.

Table 2. Surveys on the isolation of foodborne pathogens from bulk tank milk.

Campylobacter jejuni	0.9	Doyle & Roman (1982)
	1.5	Lovett et al. (1983)
	0.4	McManus & Lanier (1987)
	1.2	Davidson et al. (1989)
	12.3	Rohrbach et al. (1992)
	0.5	Steele et al. (1997)
	9.2	Jayarao & Henning (2001)
Shiga-toxin producing *Escherichia coli*	0.9	Steele et al. (1997)
	3.8	Jayarao & Henning (2001)
	0.8	Murinda et al. (2002b)
Listeria monocytogenes	4.2	Lovett et al. (1987)
	1.3	Farber et al. (1988)
	5.4	Slade et al. (1988)
	4.0	Liewen & Plautz (1988)
	1.6	Davidson et al. (1989)
	1.9	Fedio & Jackson (1990)
	4.1	Rohrbach et al. (1992)
	2.7	Steele et al. (1997)
	4.6	Jayarao and Henning (2001)
	12.6	Hassan et al. (2000)
	1.0	Waak et al. (2002)
	4.9 to 7.0	Muraoka et al. (2003)
	6.5	Van Kessel et al. (2004)
Salmonella spp.	4.7	McManus & Lanier (1987)
	2.9	McEwen et al. (1988)
	8.9	Rohrbach et al. (1992)
	0.2	Steele et al. (1997)
	6.1	Jayarao and Henning (2001)
	1.5	Hassan et al. (2000)
	2.2	Murinda et al. (2002a)
	2.6	Van Kessel et al. (2004)



Another pathogen that is found frequently in bulk tank milk and is a significant cause of mastitis in dairy cows throughout the world is *Staphylococcus aureus.* Tondo et al. (2000) conducted a study on a milk processing plant to determine the source of *Staph. aureus* contamination and showed that contaminated raw milk was the main source of contamination of the final dairy products. The bovine mammary gland can be a significant reservoir of enterotoxigenic strains of *Staph. aureus.* Enterotoxins produced by enterotoxigenic strains of *Staph. aureus* are classified according to serotypes into A-H and toxic shock syndrome toxin (TSST)-I. The frequency of enterotoxigenicity amongst staphylococcal strains is highly variable (Genigeorgis, 1989; Mossel and Van Netten, 1990). Studies on *Staph. aureus* isolated from cows showed enterotoxigenicity ranging from 0 to 56.5% (Bennet et al., 1986; Castro et al. 1986; Kenny et al., 1993; Masud et al., 1993; Ruzickova, 1994). *Staphylococcus aureus* was isolated from 183 of 300 raw milk samples at a milk cooperative in Kenya and 72 of 97 (74.2%) isolates produced one or more enterotoxins. It was inferred that raw milk was a potential source of enterotoxigenic *Staph. aureus* in milk and milk products (Ombui et al., 1992). Adesiyun et al. (1998) studied the prevalence of *Staph. aureus* in bulk milk collected from dairy farms in Trinidad. Mean counts of *Staph. aureus* in bulk milk ranged from 5,900 to 12,000 cfu/ml. A total of 105 strains of *Staph. aureus* from bulk milk were tested for production of enterotoxins, 45 of 105 (42.9%) produced Staphylococcal enterotoxin A, B, C, D or a combination of these toxins. The findings of this study concluded that bulk tank milk containing relatively high counts of enterotoxigenic *Staph. aureus* may constitute a health hazard to consumers.

Takeuchi et al. (1998) examined *Staph. aureus* isolated from cows with mastitis and farm bulk milk samples. They reported that TSST was detected in 25 of 43 (58.1%) *Staph. aureus* isolated in milk from cows with clinical mastitis, 79 of 103 (76.7%) from cows with subclinical mastitis, and 85 of 126 (67.5 %) *Staph. aureus* isolated from farm bulk tank milk. The TSST from bovine isolates had similar molecular weight and isoelectric point to that from human isolates. Lee et al. (1998) applied a PCR-based assay to detect toxin genes of staphylococcal isolates from cases of bovine mastitis and observed that none of these isolates encoded for enterotoxins or TSST-1. Conversely, 4 of 13 isolates from Washington State and 6 of 20 isolates from Korea expressed enterotoxins. The study by Lee et al. (1998) demonstrated genetic variation of enterotoxin genes in that there are significant differences in toxicity of mastitis isolates with reference to geographical locations. Enterotoxigenic strains of *Staph. aureus* have been reported to cause a number of diseases or food poisoning outbreaks because of ingestion of contaminated dairy products or milk (Adesiyun et al., 1998; Asao et al., 2003; Genigeorgis, 1989). The most recent large-scale outbreak occurred during June 2000 in Japan and it was caused by consumption of low-fat milk produced from skim milk powder contaminated with *Staph. aureus* enterotoxin A (Asao et al., 2003).

A recent study in my laboratory (Srinivasan et al., 2006) evaluated the prevalence of 16 enterotoxin genes (*sea – see* and *seg – seq*) and toxic shock syndrome toxin gene (*tsst-1*) in *Staph. aureus* isolated from milk of cows with mastitis. Of 78 *S. aureus* examined, 73 (93.6%) were positive for one or more enterotoxin genes and these were divided into 36 groups by the presence of the gene. Enterotoxin genes including *sen* (84.6%), *sem* (71.8%), *sei* (60.3%) and *sed* (52.6%) were found frequently while *seg* (24.4%), *seq* (16.7%), *seo* (12.8%), and *seb* (1.3%) were found at lower frequencies. Toxic shock syndrome toxin (*tsst-1*) gene was detected in 20 (25.6%) isolates and was always found in combination with other enterotoxin genes. The majority of *S. aureus* (88.5%) harbored more than one enterotoxin gene in different combinations. Eight *S. aureus* isolates (10.3%) were positive for *sed*, *sei*, *sem*, and *sen*; 6 (7.7%) possessed *sed*, *seg*, *sei*, *sem*, *sen*, and *tsst-1*; 5 (6.4%) had *sei*, *sem*, and *sen*; and 4 (5.1%) had *sei*, and *sen*. One isolate was positive for *seb* along with other SE genes including *sed*, *seh*, *sem*, *sen*, *seq*, and *tsst-1*. None of the isolates carried other enterotoxin genes (*sea*, *sec*, *see*, *sej*, *sek*, *sel*, and *sep*). Pulse-field gel electrophoresis (PFGE) fingerprint profiles revealed 15 distinct pulsotypes among the 78 *S. aureus* isolates evaluated. PFGE and enterotoxin gene profiles did not correlate with each other because a single pulsotype carried different combinations of enterotoxin genes. The majority of *S. aureus* isolated in milk from cows with mastitis carried newly described SE genes *sem*, *sen* and *sei* along with classical SE genes, *sed* and *tsst-1*. This is the first report on the prevalence of newly described enterotoxin genes, *sem* and *sen*, in *S. aureus* from bovine mastitis. The high prevalence of enterotoxin genes and *tsst-1* in *S. aureus* may be important for udder pathogenicity and food hygiene.

The prevalence of *C. jejuni* in bulk tank milk has been reported to range from < 1% to > 13% (**Table 2**).



Campylobacter jejuni is the most frequently identified cause of acute infectious diarrhea in developed countries and is the most commonly isolated bacterial intestinal human pathogen in the United States. Foodborne illness caused by *Campylobacter* is characterized by sporadic cases of chronic gastritis, enterocolitis, and septicemia. About 2.4 to 4 million cases of campylobacteriosis associated with 120 deaths occur each year (Mead et al., 1999). Foodborne infections by *Campylobacter* can result in *Campylobacter*-associated Guillian-Barré Syndrome. Humans get infected through ingestion of untreated water, contaminated non-pasteurized milk, and milk not properly pasteurized (Evans et al., 1996; Fashey et al., 1995). *Campylobacter jejuni/coli* are excreted through feces and animal secretions and dairy cattle get infected through ingestion of water and feeds contaminated with manure. *Campylobacter jejuni* can cause mastitis in cows and it can be shed in milk of carrier asymptomatic cows. Direct milk excretion of *C. jejuni/coli* by clinically healthy cows has been described and implicated in the etiology of human enteritis following consumption of contaminated milk (Orr et al., 1995). Large outbreaks due to *Campylobacter* have been associated with drinking unpasteurized milk or contaminated water. Cow manure is a principal reservoir and farm practices using manure as fertilizer on cropland are considered a risk factor for occurrence of *Campylobacter* foodborne disease.

Far less is known about the prevalence of STEC in milk than the other major foodborne pathogens. STEC are of immense economic and public health significance. STEC O157:H7 are characterized by low infectious doses, 1-100 colony-forming units (Paton and Paton, 1998). STEC are highly pathogenic in humans where they cause serious acute illness and long-term sequelae (Karmali, 1989; Nataro and Kaper, 1998; Paton and Paton, 1998). Manifestations of illnesses caused by STEC that are linked to production of Shiga toxins include, non-bloody diarrhea, diarrhea-associated hemorrhagic colitis, hemolytic uremic syndrome (HUS) and thrombotic thrombocytopenic purpura (Karmali, 1989). HUS cases in North America are predominantly caused by O157:H7 STEC. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) strains constitute a subtype of STEC serotypes that have been firmly associated with bloody diarrhea and HUS. EHEC are generally more pathogenic than other STEC because they possess a fuller complement of virulence determinants that encode production of intimin and enterohemolysin (Karmali, 2004). Serotypes O26, O111, O103, and especially O157, have been the predominantly isolated EHEC (Nataro and Kaper, 1998).

Of the few reports published, the prevalence of STEC in bulk tank milk has been reported to occur in 0.8% to 3.8% of samples evaluated (**Table 1**). Murinda et al. (2002b) reported the detection of *E. coli* O157:H7 from 8 of 30 (26.7%) dairy farms at different sampling times. Two of 268 (0.75%) bulk tank milk samples and 8 of 415 (1.93%) cull dairy cow fecal samples tested positive for *E. coli* O157:H7. Murinda et al. (2004b) isolated O26, O111, O103, and O157:H7 EHEC serotypes from dairy cows and/or the dairy farm environment. It appears that these serotypes could be of epidemiological significance in the United States. However, since there are presently no well-defined serotype-specific methods for their routine isolation, the epidemiological significance of non-O157:H7 STEC remains undefined.

The prevalence of *L. monocytogenes* in bulk tank milk has been reported to range from 1 to > 12% (**Table 2**). *Listeria monocytogenes* causes septicemia and meningitis in humans. Pregnant women are particularly susceptible since *L. monocytogenes* infection may result in spontaneous abortions or stillbirth of the fetus. *Listeria monocytogenes* has been isolated from mammals, birds, fish, crustaceans and insects. In addition, *Listeria* species are widespread in nature and live naturally in plants and soil environments. It can grow in a wide range of temperature and pH. This adaptability enables *Listeria* to grow in refrigerated raw milk and in low quality silage with a pH > 4.5. At high bacterial concentrations, *L. monocytogenes* can survive minimum HTST pasteurization (Bunning et al., 1988). *Listeria monocytogenes* can cause mastitis in cows and it can be shed in milk of carrier asymptomatic cows. Human contamination occurs through consumption of raw milk or products manufactured with raw milk or through ingestion of processed food cross-contaminated with pathogens present in the food processing plant environment (Gravani, 1999). In cattle, *L. monocytogenes* can cause neurological disease, abortion, or no symptoms of disease. Healthy, but infected animals, shed *Listeria* in feces and fecal contamination of pastures or vegetables was incriminated as a source of contamination for humans and ruminants. Therefore, spreading of untreated manure onto pastures and cropland was regarded as a risk factor for *Listeria* foodborne disease.

The prevalence of *Salmonella* species in bulk tank milk has been reported to range from < 1% to almost 9% (**Table 2**). *Salmonella* species have been linked with illness in animals and humans, and are one of the most commonly reported causes of human foodborne disease (Bean and Griffin, 1990). *Salmonella* live in



the intestinal track of various animal species, including cattle, and therefore represent a major reservoir for human foodborne disease. Humans get infected primarily via fecal contamination of food products or water, however, direct contact with ill animals is also another source of contamination, especially for farm families. A high percentage of human salmonellosis occurs through consumption of raw milk or dairy products manufactured with raw milk.

Several *Salmonella* serotypes have been isolated from clinically ill cattle. *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium definitive type 104 (DT 104) is of particular concern to animal and public health agencies because of its multiple antibiotic resistance (Besser et al., 1996). In-line milk filters from farms located in central, east, north, and west regions of New York State were evaluated to determine the prevalence of *Salmonella* in New York dairy herds. Six of 404 (1.5%) milk filters were positive for *Salmonella* spp. From these isolates, one was confirmed as *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium DT 104 (Hassan et al., 2000). In another study conducted on 12 dairy farms from Minnesota, Michigan, New York and Wisconsin where fecal, bulk tank milk and environmental samples were analyzed for *Salmonella*, it was found that 1.1% of bulk tank milk (n = 91) and 12.6% of in-line milk filter samples (n = 87) were positive for *Salmonella* spp. The higher percentage of isolation from environmental samples corresponded to sick cow pen floor (26.3 %, n = 57), calving pen floor (16.7 %, n = 72), milking cow feed bunk (16.3%, n = 92), lagoon or other manure storage (15.6%, n = 90), and cow water tank or drinking cups (13.5 %, n = 89). From 4049 fecal samples tested, 9.3% were *Salmonella*-positive and the percentage of positive samples per farm ranged from 0.3 to 28%. From 811 environmental samples, 12.9 % were positive for *Salmonella* spp. with a range from 0 to 40 % per farm (Warnick et al., 2003).

Foodborne Pathogens, Mastitis, and Milk Quality: *Staphylococcus aureus* continues to be the most prevalent contagious mastitis pathogen worldwide. Mastitis prevention and control practices targeted at *Staph. aureus* have been shown to reduce the incidence on *Staph. aureus* intramammary infections. However, mastitis prevention and control practices need to be followed rigorously and applied continuously to achieve successful control of *Staph. aureus* intramammary infections. To add to the complexity of *Staph. aureus* mastitis, introduction of apparently healthy lactating cows and heifers can introduce *Staph. aureus* into a herd. This could result in a new or exacerbate an existing *Staph. aureus* problem in the herd. The biology of *Staph. aureus* has been fairly well understood both at the genetic and functional level, however, attempts to translate this knowledge to develop an effective vaccine for the prevention of *Staph. aureus* mastitis has met with limited success. Very recent evidence also suggests that *Streptococcus agalactiae*, another common contagious mastitis pathogen which has long been recognized as an important cause of mastitis in dairy cows, may be associated with human neonatal infection (Bisharat et al., 2004).

Some foodborne pathogens can cause mastitis in dairy cows and impact milk quality. *Campylobacter jejuni* has been isolated from cows with mastitis. However, this organism is isolated infrequently and does not appear to be a significant cause of bovine mastitis. Lander and Gill (1980) experimentally infected 5 mammary quarters of two lactating cows by intramammary inoculation of *C. coli/jejuni* in doses ranging from 2.6 colony forming units (cfu) to 3.8 x 10^9 cfu. Infected mammary quarters developed clinical mastitis and *Campylobacters* were isolated in large numbers from milk of experimentally infected mammary glands. Milk from uninfected mammary quarters, and blood and feces remained free of the organisms. *Campylobacter* could only be isolated by incubation of culture plates in a microaerophilic atmosphere. Results of this study demonstrated that *C. coli/jejuni* can cause mastitis in the cow and suggests that the bovine udder is a potential source of *C. coli/jejuni* in raw milk. Gudmundson and Chirino-Trejo (1993) indicated that *C. jejuni* mastitis occurred in a Holstein cow 60 days into the first lactation. The infection was characterized by a sudden onset, pyrexia, a painful mammary quarter and pink milk with a few small clots present. A treatment protocol consisting of parenteral oxytetracycline, frequent stripping and intramammary infusions of erythromycin was effective.

Hutchinson et al. (1985) described a community outbreak of *Campylobacter* enteritis associated with consumption of raw milk, apparently contaminated by two cows with *Campylobacter* mastitis. The outbreak occurred in two phases. Strains of *C. jejuni* of the Penner serogroup complex 4, 13, 16, 50 and Preston biotype code 6100 were isolated from patients in both episodes and from the feces of cattle, milk filters, bulk milk and retail milk. Milk samples from two of 40 milking cows were found to contain *C. jejuni*, and whey samples from these two cows had high *C. jejuni* antibody titres. Waterman et al. (1984) evaluated

samples of milk from 1501 cows with mastitis and all were negative for *C. jejuni*. However, feces of 74 apparently healthy Friesian cows were screened for *C. jejuni* and 13% of samples were positive during the summer when the cows were on pasture, and 51% were positive in the winter when cows were housed. Positive samples contained on average 1 x 10^4 *Campylobacters* per gram of feces.

The high frequency of *Campylobacter* isolation in feces of cows suggests that contamination of bulk tank milk occurs primarily via feces of *Campylobacter*-carrier cows during harvesting and/or storage of raw milk (Waterman et al., 1984). To investigate environmental and animal sources in the dairy farm environment that could act as a reservoir or transient carriers of foodborne pathogens, a study was conducted in selected dairy farms located in East Tennessee. Although *C. jejuni* was not detected in samples of bulk tank milk, the organism was isolated frequently in lagoon water, fecal slurry/pats and bedding (Murinda et al., 2004b). These results support the concept that cattle feces are an important source of *Campylobacter* and that hygiene during milking is an important critical point to control contamination of raw milk with *Campylobacter.*

Equally important is the contamination of ground water with dairy farm organic effluents (*i.e.,* lagoon water). Hydrological evidence suggested a dairy farm was the source of water contamination with *C. jejuni*. Results from systematic microbiological monitoring of the polluted spring showed presence of *C. jejuni* and some strains isolated from water had identical biotypes with strains isolated from the dairy herd (Stanley et al., 1998). In another report, the occurrence of *Campylobacter* in fecal samples from a dairy herd and in a lake used as the source of cattle drinking water was studied. More cows were found *Campylobacter*-positive in the summer and fall when the water source was the nearby lake than during the winter when animals were housed inside and the water source was municipal chlorinated tap water. *Campylobacter jejuni* was isolated from most of the lake water samples. Serotyping of isolates with heat stable antigens and molecular typing by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) identified an animal that was chronically infected with *C. jejuni* sero-/PFGE-type PEN 0:6, 25/I/ND that most likely contaminated the lake water in the summer (Hanninen et al., 1998).

Listeria monocytogenes has also been isolated from cows with mastitis, but like *C. jejuni, L. monocytogenes* has not been isolated frequently and does not appear to be a significant cause of mastitis in dairy cows. In support of this contention, Jensen et al. (1996) examined quarter milk samples during a 23-year period from 1972 through 1994 for the presence of *L. monocytogenes*. During this time, 1,132,958 cows from 36,199 herds were sampled. The percentage of cows infected with *L. monocytogenes* varied from 0.01 to 0.1% (mean 0.04%). The percentage of herds with a *L. monocytogenes* infected cow ranged from 0.2 to 4.2% (mean 1.2%) showing a low but constant level of infection. A comparison of 33 *L. monocytogenes* isolates from bovine mastitis and 27 human clinical *L. monocytogenes* isolates showed that all bovine and 17 (63%) of the human isolates belonged to serogroup 1, whereas 10 (37%) of the human isolates belonged to serogroup 4. Ribotyping divided the 60 isolates into 16 different types, 7 of which were found among both the bovine and human types. The combination of typing methods showed that 26 (79%) bovine and 13 (48%) human isolates shared common types. This study showed that a low but constant percentage of Danish dairy herds have cows infected with *L. monocytogenes* and that some of the bovine types could be found among types causing human infections.

Listeria monocytogenes was isolated from the milk of two cows and two sheep with mastitis (Winter et al., 2004). Animals were observed over a 2 to 12 month period. Clinical examination of the udder, bacteriological examinations and determination of SCC of milk samples were performed monthly. All four cases resulted in subclinical mastitis characterized by an elevated SCC (0.8 - 10.1 x 10^6 cells/ml), persistent shedding of *L. monocytogenes* and a normal appearance of milk. Animals did not show systemic reactions, but all animals developed atrophy of the infected mammary gland. Histological examination revealed chronic interstitial mastitis with diffuse infiltration of lymphocytes, plasma cells and macrophages. All internal organs showed no abnormalities and no *L. monocytogenes* was isolated. *Listeria monocytogenes* was, however, isolated from the affected mammary parenchyma and from the mammary lymph node. Results of the bacteriological examination were confirmed by PCR and all *L. monocytogenes* isolates from the same animal were identical based on PFGE profiling.

Similar results were reported by Tzora et al. (1998) following experimental infection of ovine mammary glands with *L. monocytogenes*. No distinct variation in the pathogenicity of *L. monocytogenes* isolates was



evident, all resulted in subclinical mastitis independent of their origin or serotype. A *L. innocua* isolate caused only a transient increase in milk SCC. After challenge, *L. monocytogenes* was isolated for 88 days from the milk of inoculated glands, and the milk SCC was > 1.0 x 10^6/ml. The organism was also isolated from mammary lymph nodes, but not from any internal organ of any inoculated ewe.

Bourry et al. (1995) compared results of experimental mastitis in dairy cows following intramammary inoculation of *L. monocytogenes* with two naturally occurring cases of bovine mastitis. Four strains of *L. monocytogenes*, two of serotype 1/2a and two of serotype 4b, were used for experimental infections and two diametrically opposed quarters of four cows were inoculated with 300 cfu. Bacteriological examination and SCC of quarter foremilk samples were performed weekly for at least 6 months after challenge. All inoculated mammary quarters developed chronic subclinical mastitis with occasional clinical episodes. Results were similar to those observed in natural *Listeria* mastitis. Four experimentally infected quarters were treated during lactation (gentamicin and cloxacillin), at drying off (cloxacillin), or at both times. Only one of four mammary quarters was cured after treatment only at drying off. All experimental and naturally infected animals were slaughtered and bacteriological examination was performed on liver, spleen, and supramammary, iliac and mesenteric lymph nodes. *Listeria monocytogenes* was isolated from supramammary lymph nodes of two experimentally and two naturally infected cows and from an iliac lymph node from one of the naturally infected cows. Epidemiological data were supported by serotyping, lysotyping and DNA macro-restriction analysis. Experimental *L. monocytogenes* mastitis was similar to naturally occurring cases of *L. monocytogenes* mastitis.

Reports on the prevalence of STEC associated with mastitis are rare. Stephan and Kuhn (1999) and Barrow and Hill (1989) indicated prevalence rates of STEC in *E. coli* mastitis of 2.75% (4 of 145) and 0.5% (1 of 237), respectively. Conversely, Cullor (1997) indicated the absence of Stx-producing *E. coli* from 500 cases of coliform mastitis that included *E. coli*. A recent study by Murinda et al. (2004a) demonstrated that of 105 *E. coli* mastitis isolates evaluated, all were *stx*-negative suggesting alternative virulence characteristics are involved in mastitis; only 4 of these isolates were positive for *eaeA* gene sequences. Thus, it would appear that STEC are rarely associated as a causative agent of bovine mastitis.

Reports on the prevalence of *Salmonella* associated with mastitis are also very rare. Spier et al. (1991) experimentally infected 5 post-parturient Holstein cows by intramammary inoculation of 5000 cfu of virulent *Salmonella dublin*. Rectal temperature, pulse and respiratory rates, milk yield, and milk quality as assessed by the California Mastitis Test (CMT) and SCC were recorded every 12 hours at milking. Bacteriologic cultures of foremilk quarter samples and feces were obtained daily, as were complete blood counts. ELISA titers for IgG and IgM recognizing *S. dublin* lipopolysaccharide (LPS) were obtained weekly on serum and quarter milk samples. All cows excreted *S. dublin* intermittently from infected quarters, but no changes were detected in rectal temperature, appearance of the mammary gland or secretions, CBC, milk yield, and pulse and respiratory rates. Somatic cell counts were modestly increased in infected quarters as compared with uninfected quarters; however, CMT scores after infection remained low, and were not significantly different from pre-infection scores. After infection, administration of dexamethasone resulted in signs of clinical mastitis and increased excretion of *S. dublin* from mammary quarters. One cow had necrotizing mastitis and *S. dublin* septicemia and was euthanized. In the four surviving cows, clinical improvement was observed after systemic gentamicin therapy and intramammary infusion with polymyxin B, but all cows continued to excrete *S. dublin* intermittently from one or more mammary quarters and occasionally from feces for the remaining period of observation. All infected cows demonstrated a rise in IgG and IgM ELISA titers recognizing *S. dublin* LPS in serum and milk. At necropsy (13 - 25 weeks postinfection), *S. dublin* was recovered only from mammary tissue or supramammary lymph nodes in three of four cows. In one cow, mammary gland and lymph node samples were negative for *S. dublin* despite positive milk cultures. In all cows, histopathologic examination revealed multifocal areas of chronic active mastitis and were similar to histopathologic findings from mammary gland carriers with naturally acquired *S. dublin* infection.

Dairy Food Safety and Public Health Implications: Pasteurization is regarded as an effective method to eliminate foodborne pathogens and other bacteria from milk. However, the increasing number of reports on detection of foodborne pathogens in pasteurized fluid milk and ready-to-eat dairy products clearly indicates that pasteurization alone is not the final solution for the control of milkborne pathogens. In addition, consumption of raw milk has been recognized as a major cause of foodborne diseases. Although the true

incidence of milkborne disease in the United States is unknown, there are reports in which consumption of contaminated raw milk, faulty pasteurized milk, or consumption of dairy products adulterated with contaminated raw milk was linked directly to cases of human foodborne disease (Evans et al., 1996; Fashley et al., 1995; Fleming et al., 1985). For example, a high proportion of human infections caused by *C. jejuni* occurred through ingestion of untreated water, non-pasteurized milk, and faulty pasteurized milk contaminated with this foodborne pathogen (Evans et al., 1996; Fashey et al., 1995). Raw milk is also used to produce hard cheeses that are aged for more than 60 days such as Cheddar, Colby, Parmigiano and Provolone. Eleven foodborne disease outbreaks associated with cheese were reported in the U. S. from 1958-1991 (CDC, 1996; Johnson et al., 1990). Causative factors in cheese-related disease outbreaks were post-pasteurization contamination, faulty pasteurization equipment or procedures, and use of raw unpasteurized milk (Johnson et al., 1990). In 1999, FDA temporarily closed a cheese-making operation and recalled cheese that was supposedly contaminated with *L. monocytogenes*. The recall involved 135 pounds of Colby cheese made from raw milk. *Listeria monocytogenes* contamination showed up in tests conducted by federal health officials.

Outbreaks of human salmonellosis have also been linked to ingestion of raw milk contaminated with *Salmonella*. The 2002 - 2003 multistate (Illinois, Indiana, Ohio, and Tennessee) outbreak of *Salmonella* Serotype Typhimurium infections was linked to an Ohio dairy that comprised a working dairy farm, restaurant, snack bar, and petting zoo with goats, cows, calves, lambs, and pigs. The dairy was the only place in Ohio that sold raw milk in jugs and served raw milk and milk shakes made with raw milk legally to customers. A total of 62 persons had illness consistent with the case definition, including 40 customers, six household contacts, and 16 of 211 dairy workers. Patients were from four states (Illinois, Indiana, Ohio, and Tennessee). Of the 62 patients, 54 (87.1%) reported signs and symptoms of illness, which included diarrhea, cramps, fever, chills, body aches, bloody diarrhea, nausea, vomiting, and headache. A case-study including 40 case-patients from this outbreak and 56 controls revealed that only consumption of raw milk was significantly associated with illness. Consumption of other food items, visiting the petting zoo, and petting animals were not associated with illness. Five of 32 food samples tested including three raw skim milk samples, one sample of butter made from raw milk purchased by a customer, and one sample of cream were positive for *S.* Typhimurium that had a PFGE pattern that matched the strain outbreak pattern (CDC, 2003). These few examples suggest that although highly effective, milk pasteurization should not be considered as the absolute barrier to eliminate foodborne pathogens from milk, and that consumption of raw milk contaminated with one or more foodborne pathogens is a significant risk factor in the acquisition of human foodborne disease.

Even though numerous studies have documented that foodborne pathogens of public health significance have been isolated from bulk tank milk and are capable of causing disease in humans, numerous people continue to consume raw milk. Many farm families consume raw milk simply because it is a traditional practice and it is less expensive to take milk from the bulk tank than buying pasteurized retail milk (Hegarty et al., 2002). Some believe that raw milk has a higher nutritional value than pasteurized milk (Hegarty et al., 2002). A study by Headrick et al. (1997) showed that people with less than a high school education were more likely to consume raw milk than those who had completed high school, suggesting that level of education may influence a person's choice to consume raw milk.

Rohrbach et al. (1992) reported that 68 of 195 (34.9%) dairy producers in East Tennessee and Southwest Virginia consumed raw bulk tank milk produced on their farm. Of the bulk tanks from which raw milk was consumed by dairy producers, 25% (17 of 68) contained one or more species of *L. monocytogenes*, *C. jejuni*, *Y. enterocolitica* and *Salmonella* (Rohrbach et al., 1992). On farms where producers did not consume raw milk, 32% (40 of 127) of bulk tanks were contaminated with one or more of the above zoonotic pathogens, and bulk tank milk quality was not significantly different from those dairy producers who reported that they consumed raw milk from the bulk tank (25%, 17 of 68). The prevalence of consumption of bulk tank milk containing one or more potential human pathogenic bacteria among all dairy producers was 17/195 or 8.7%. Jayarao and Henning (2001) reported that 79 of 131 (60%) dairy producers in eastern South Dakota and western Minnesota consumed raw bulk tank milk produced on their farm. Of the 79 dairy producers who consumed raw milk, 21 (26.6) contained one or more species of *L. monocytogenes*, *C. jejuni*, *Y. enterocolitica*, STEC, and *Salmonella*. There was no significant difference in the incidence of pathogenic bacteria in raw milk



of dairy producers who did and did not consume raw milk. Thus, based on the limited information available, it would appear that numerous persons in the rural community consume raw unpasteurized bulk tank milk.
Using data on raw milk consumption by dairy producers of 60% from the survey conducted by Jayarao and Henning (2001), and assuming that 25% of bulk tanks contain one or more potential human pathogens based on data reported by Rohrbach et al. (1992) and Jayarao and Henning (2001), the prevalence of consumption of contaminated bulk tank milk would be 15%. Nationally, an estimated 14,000 dairy farm families could be exposed daily to several potential human pathogens via consumption of raw unpasteurized bulk tank milk. This estimate DOES NOT include consumption of raw milk by farm employees and their immediate families, neighbors, and other members of the rural community that have access to raw milk produced on these farms. Thus, risk exposure of people in the rural community to potential pathogenic bacteria capable of causing disease in humans via consumption of raw unpasteurized milk can be very high. These data also emphasize the need for educational efforts on health risks associated with consumption of raw unpasteurized milk.
In addition to direct consumption of contaminated raw milk, introduction of raw milk contaminated with foodborne pathogens into dairy processing plants represents an important risk of contamination of milk products that could lead to exposure of consumers to pathogenic bacteria. Although milk pasteurization is regarded as an effective method to eliminate foodborne pathogens, some dairy products do not undergo pasteurization (i.e, specialty cheeses). Furthermore, pathogens such as *L. monocytogenes* survive and thrive in post-pasteurization processing environments thus leading to recontamination of dairy products. These two significant exposure pathways pose a risk to the consumer from direct exposure to foodborne pathogens in unpasteurized dairy products as well as dairy products which are re-contaminated in the post-pasteurization processing environment. The increasing number of incidences in which foodborne pathogens are detected in fluid milk and ready-to-eat dairy products clearly indicate that pasteurization is not the ultimate tool to control milkborne pathogens. It is likely that fecal and foodborne pathogen contamination occurs during the harvesting of raw milk (i.e., milking, collection, and storage) and the farm environment likely plays a major role in the presence of foodborne pathogens in bulk tank milk. Reducing the potential for contamination during harvesting of milk should result in the reduction of foodborne pathogens in raw milk.
Introduction of *L. monocytogenes* into food processing plants results in reservoirs that are difficult to eradicate. For instance, biofilms are a constant issue in food processing environments. *Listeria monocytogenes* survived for extended periods on stainless steel and rubber, materials commonly used in food-processing equipment. Some components in the rubber inhibited growth of the organism, but also affected the efficacy of sanitizers on biofilm inactivation. These conditions lead to the persistence of low numbers of *L. monocytogenes* on equipment surfaces making eradication difficult (Wong, 1998). The level of contamination of milk processing plants was investigated by several research groups. In a survey conducted in frozen milk product plants involving 39 plants in California, *L. monocytogenes* was the only species recovered from 5 (12.8%) plants. Observations of this study indicated that the type of product received and type of pasteurization did not influence recovery of *Listeria* from a plant. However, a significant association with size of the plant and recovery of *Listeria* was observed. Also, it was observed that the level of sanitation and extent of environmental contamination control program (ECCP) were not associated with recovery of *Listeria* from a plant. Still, the rate of recovery of *Listeria* from plants with above average sanitation and excellent or moderate ECCP was 6.81%, whereas the recovery rate from plants with below average sanitation and slight or no ECCP was 27.5%. Interestingly, the highest recovery rates of *Listeria* in frozen milk product plants were in batch flavoring, freezing and ingredient blending, and packaging filling areas (Walker et al., 1991). In a study conducted in 21 dairy processing plants in Vermont, 80 of 378 sites (21.2%) were identified as *Listeria*-positive and of these, 35 (43.8%) were positive for *L. monocytogenes* (Pritchard et al., 1995).
Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* (MPTB), the etiologic agent of Johne's disease in dairy and beef cattle and sheep, is considered by some to be an emerging foodborne pathogen. This concern is based on reports that have shown that Crohn's disease in human patients bears a clinical resemblance to Johne's disease. Current evidence neither supports or refutes a mycobacterial cause of Crohn's disease, but evidence does suggest that either a subset of human patients are infected with MPTB or that the ulcerated tissues of Crohn's disease patients selectively harbor MPTB acquired as an environmental contaminant or opportunistic pathogen (Bannantine et al., 2004; Harris and Barletta, 2001; Sechi et al., 2001). Milk from

dairy cows with Johne's disease could be a potential vector in the transmission of MPTB from cattle to humans based on evidence demonstrating that MPTB can be shed and isolated from raw milk and that MPTB may survive pasteurization (Grant et al. 2002a; 2002b; Millar et al., 1996).

While the role of MPTB is firmly established in Johne's disease in cattle and sheep, its role in Crohn's disease is less clear (Bannantine et al., 2004). The need for a definitive answer to this important question has been recognized by the scientific community and is currently being investigated by several research groups. The biology of MPTB makes its manipulation in the laboratory and development of rapid and accurate diagnostic methods difficult. New detection methods are needed to definitively answer questions surrounding MPTB as a foodborne pathogen and if this pathogen is a contributing factor in Crohn's disease. Recent advances in the study of the MPTB genome have lead to the identification of specific DNA sequences and protein antigens that may allow reliable detection of MPTB (Bannantine et al., 2004). Improving the detection of MPTB would help to answer fundamental questions on the epidemiology and pathogenesis of MPTB including its role in foodborne illness.

Conclusions: Foodborne pathogens can be found throughout the dairy farm environment. Dairy farms are an important reservoir of foodborne pathogens. Should the dairy industry be concerned about food safety? **YES** and there are several very good reasons why including: (1) foodborne pathogens are found throughout the dairy environment and can gain entrance into bulk tank milk, (2) several outbreaks of disease in humans have been traced to the consumption of raw unpasteurized milk that is consumed directly by dairy producers and their families, farm employees and their families, neighbors, etc., (3) raw unpasteurized milk is consumed directly by a much larger segment of the population via consumption of several types of cheeses including ethnic cheeses manufactured from unpasteurized raw milk, (4) raw milk enthusiasts are becoming very vocal advocating the sale and consumption of raw unpasteurized milk by the general public, (5) entry of foodborne pathogens via contaminated raw milk into dairy food processing plants can lead to persistence of these pathogens in biofilms and subsequent contamination of processed food products, (6) pasteurization may not destroy ALL foodborne pathogens in milk, and (7) faulty pasteurization will not destroy all foodborne pathogens.

Information presented in this review supports the model in which the presence of the pathogen depends on ingestion of contaminated feed followed by amplification in bovine hosts and fecal dissemination in the farm environment. The final outcome of this cycle is a self maintained reservoir of a pathogen that can reach the human population by direct contact, ingestion of raw contaminated food (raw milk or cheese made with raw milk), or contamination during the processing of food. Isolation of strains with similar biotypes from dairy farms and human cases and outbreaks substantiate this hypothesis.

The challenges to providing a safe and nutritious food supply are complex because all aspects of food production – from farm to fork – need to be considered. Given the considerable national/international demand for food safety and the formidable challenges of producing and maintaining a safe food supply, food safety research and educational programs has taken on a new urgency. As the system of food production and distribution changes, the food safety system needs to change with it. A strong science-based approach that addresses all the complex issues involved in continuing to improve food safety and public health is necessary to prevent foodborne illnesses. Not only must research be conducted to solve complex food safety problems, results of that research must be communicated effectively to producers and consumers. Research and educational efforts identifying potential on-farm risk factors will better enable dairy producers to reduce/prevent foodborne pathogen contamination of dairy products leaving the farm. Identification of on-farm reservoirs could aid with implementation of farm-specific pathogen reduction programs. Foodborne pathogens, mastitis, milk quality and dairy food safety are indeed all interrelated. A safe, abundant and nutritious milk and meat supply should be the goal of every dairy producer in the world.

Acknowledgments: The author thanks The University of Tennessee Food Safety Center of Excellence, the Tennessee Agricultural Experiment Station, and The University of Tennessee College of Veterinary Medicine Center of Excellence Research Program in Livestock Diseases and Human Health for supporting his research program. The author expresses his appreciation to personnel in the Lactation/Mastitis/Food Safety Research Program at The University of Tennessee for excellent technical assistance.



References

- Adesiyun, A. A., L. A. Webb, and H. T. Romain. 1998. Prevalence and characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from bulk and composite milk and cattle handlers. J. Food Prot. 61:629.
- Arizcun, C., C. Vasseur, and J. C. Labadie. 1998. Effect of several decontamination procedures on *Listeria monocytogenes* growing in biofilms. J. Food Prot. 61:731.
- Asao, T., Y. Kumeda, T. Kawai, T. Shibata, H. Oda, K. Haruki, H. Nakazawa, and S. Kozaki. 2003. An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. Epidemiol. Infect. 130:33.
- Bannantine, J. P., R. G. Barletta, J. R. Stabel, M. L. Paustian, and V. Kapur. 2004. Application of the genome sequence to address concerns that *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* might be a foodborne pathogen. Foodborne Path. Dis. 1:3.
- Barrow, P. A., and A. W. Hill. 1989. The virulence characteristics of strains of *Escherichia coli* isolated from cases of bovine mastitis in England and Wales. Vet. Microbiol. 20:35.
- Bean, N. H., and P. M. Griffin. 1990. Foodborne disease outbreaks in the US 1973-1987: Pathogens, vehicles, and trends. J. Food. Prot. 53:804.
- Besser, T. E., M. Goldoft, and C. G. Gay. 1996. Emergence of *Salmonella typhimurium* DT104 in humans and animals in the Pacific Northwest. Proceedings INCDNCM Meeting.
- Besser, T. E., D. D. Hancock, L. C. Pritchett, E. M. McRae, D. H. Rice, and P. I. Tarr. 1997. Duration of detection of fecal excretion of *Escherichia coli* O157:H7 in cattle. J. Infect. Dis. 175:726.
- Besser, T. E., B. L. Richards, D. H. Rice, and D. D. Hancock. 2001. *Escherichia coli* O157:H7 infection of calves: infectious dose and direct contact transmission. Epidemiol. Infect. 127:555.
- Bennet, R. W., M. Yeterian, W. Smith, C. M. Coles, M. Sassaman, and F. D. McClure. 1986. *Staphylococcus aureus* identification and enterotoxigenicity. J. Food Sci. 51:1337.
- Bisharat, N., D. W. M. Crook, J. A. Leigh, R. M. Harding, P. N. Ward, T. Coffey, M. C. Maiden, T. Peto, and N. Jones. 2004. Hyper-invasive neonatal group B *Streptococcus* has arisen from a bovine ancestor. J. Clin. Microbiol. 42:2161.
- Bourry, A., B. Poutrel, and J. Rocourt. 1995. Bovine mastitis caused by *Listeria monocytogenes*: characteristics of natural and experimental infections. J. Med. Microbiol. 43:125.
- Buchko, S. J., R. A. Holley, W. O. Olson, V. P. J. Gannon, and D. M. Veira. 2000. The effect of fasting and diet on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 by cattle. Can. J. Anim. Sci. 80:741.
- Bunning, V. K., C. W. Donnelly, J. T. Peeler, E. H. Briggs, J. G. Bradshaw, R.G., Crawford, C. M. Beliveau, and J. T. Tierney. 1988. Thermal inactivation of *Listeria monocytogenes* within bovine milk phagocytes. Appl. Environ. Microbiol. 54:364.
- Castro, R., R. Schoebitz, L. Montes, and M. S. Bergdoll. 1986. Enterotoxigencity of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cheese made from unpasteurized milk. Lebensm.-Wiss. U. Technol. 19:401.
- Centers for Disease Control and Prevention. 1996. Surveillance for foodborne-disease outbreaks in the United States, 1988-1992. MMWR, 45 (SS-5):1.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2003. Multistate outbreak of *Salmonella* Serotype Typhimurium infections associated with drinking unpasteurized milk --- Illinois, Indiana, Ohio, and Tennessee, 2002 - 2003. MMWR. 52:613.
- Centers for Disease Control and Prevention. 2004. Preliminary FoodNet data on the incidence of infection with pathogens transmitted commonly through food --- Selected Sites, United States, 2003. MMWR. 53:338.
- Cullor, J. S. 1997. Risks and prevention of contamination of dairy products. Rev. Sci. Tech. Int. Epiz. 16:472.
- Cray, W. C. Jr., T. A. Casey, B. T. Bosworth, and M. A. Rasmussen. 1998. Effect of dietary stress on fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in calves. Appl. Environ. Microbiol. 64:1975.
- Cray, W. C., Jr., and H. W. Moon. 1995. Experimental infection of calves and adult cattle with *Escherichia coli* O157:H7. Appl. Environ. Microbiol. 61:1586.
- Davidson, R. J., D. W. Sprung, C. E. Park, and M. K. Raymond. 1989. Occurrence of *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., and *Yersinia enterocolitica* in Manitoba raw milk. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 22:70–74.
- Doyle, M. P., and D. J. Roman. 1982. Prevalence and survival of *Campylobacter jejuni* in unpasteurized milk. Appl. Environ. Microbiol. 44:1154.
- Diez-Gonzalez, F., T. R. Callaway, M. G. Kizoulis and J. B. Russell. 1998. Grain feeding and the dissemination of acid-resistant *Escherichia coli* from cattle. Science 281:1666.
- Elder, R. O., J. E. Keen, G. R. Siragusa, G. A. Barkocy-Gallagher, M. Koohmaraie, and W. W. Laegreid. 2000. Correlation of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 prevalence in feces, hides, and carcasses of beef cattle during processing. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 97:2999.

- Evans, M. R., R. J. Roberts, C. D. Ribeiro, D. Gardner, and D. Kembrey. 1996. A milk-borne campylobacter outbreak following an educational farm visit. Epidemiol. Infect. 117:457.
- Faith, N.G., J. A. Shere, R. Brosch, K. W. Arnold, S. E. Ansay, M. S. Lee, J. B. Luchansky, and C. W. Kaspar. 1996. Prevalence and clonal nature of *Escherichia coli* O157:H7 on dairy farms in Wisconsin. Appl. Environ. Microbiol. 62:1519.
- Farber, J. M., G. W. Sander, and S. A. Malcolm. 1988. The presence of *Listeria* spp. in raw milk in Ontario. Can. J. Microbiol. 34:95–100.
- Fashey, T., D. Morgan, C. Gunneburg, G. K. Adak, F. Majid, and E. Kaczmarski. 1995. An outbreak of *Campylobacter jejuni* associated with failed milk pasteurization. J. Infect. 31:137.
- Fedio, W. M., and H. Jackson. 1990. Incidence of *Listeria monocytogenes* in raw milk in Alberta. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 23:236.
- Fleming, D. W., S. L. Cochi, K. L. MacDonald, J. Brondum, P. S. Hayes, B. D. Plikaytis, M. B. Holmes, A. Audurier, C. V. Broome, and A. L. Reingold. 1985. Pasteurized milk as a vehicle of infection in an outbreak of listeriosis. N. Engl. J. Med. 312:404.
- Garber, L. P., S. J. Wells, D. D. Hancock, M. P. Doyle, J. Tuttle, J. A. Shere, and T. Zhao. 1995. Risk factors for fecal shedding of *Escherichia coli* O157:H7 in dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 207:46.
- Genigeorgis, C. A. 1989. Present state of knowledge on staphylococcal intoxication. Int. J. Microbiol. 9:327.
- Grant, I. R., H. J. Ball, and M. T. Rowe. 2002a. Incidence of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in bulk raw and commercially pasteurized cows' milk from approved dairy processing establishments in the United Kingdom. Appl. Environ. Microbiol. 68:2428.
- Grant, I. R., E. I. Hutchings, and A. McCartney. 2002b. Effect of commercial-scale high-temperature, short-time pasteurization on the viability of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in naturally infected cows' milk. Appl. Environ. Microbiol. 68:602.
- Gravani, R. 1999. Incidence and control of *Listeria* in food-processing facilities, p. 657–709. *In* E. T. Ryser and E. H. Marth (ed.), *Listeria,* listeriosis and food safety, 2nd ed. Marcel Decker, Inc., New York, N.Y.
- Gudmundson, J., and J. M. Chirino-Trejo. 1992. A case of bovine mastitis caused by *Campylobacter jejuni*. Zentralbl. Veterinarmed. B. 40:326.
- Hancock, D. D., D. H. Rice, L. A. Thomas, D. A. Dargatz, and T. E. Besser. 1997. Epidemiology of *Escherichia coli* O157:H7 in feedlot cattle. J. Food Prot. 60:462.
- Hanninen, M. L., M. Niskanen, and L. Korhonen. 1998. Water as a reservoir for *Campylobacter jejuni* infection in cows studied by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis. Zentralbl. Veterinarmed. B. 45:37.
- Harris, N. B., and R. G. Barletta. 2001. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in veterinary medicine. Clin. Microbiol. Rev. 14:489.
- Hassan, L., H. O. Mohammed, P. L. McDonough, and R. N. Gonzalez. 2000. A cross-sectional study on the prevalence of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* in New York dairy herds. J. Dairy Sci. 83:2441.
- Headrick, M. L., B. Timbo, K. C. Klontz, and S. B. Werner. 1997. Profile of raw milk consumers in California. Public Health Rep.112:418.
- Hegarty, H., M. B. O'Sullivan, J. Buckley, and C. Foley-Nolan. 2002. Continued raw milk consumption on farms: why? Commun. Dis. Public. Health. 5:151.
- Herriott D. E., D. D. Hancock, E. D. Ebel, L. V. Carpenter, D. H. Rice, and T. E. Besser. 1998. Association of herd management factors with colonization of dairy cattle by Shiga-toxin-positive *Escherichia coli* O157:H7. J. Food Prot. 61:802.
- Hutchinson, D.N., F. J. Bolton, P. M. Hinchliffe, H. C. Dawkins, S. D. Horsley, E. G. Jessop, P. A. Robertshaw, and D. E. Counter. 1985. Evidence of udder excretion of *Campylobacter jejuni* as the cause of milk-borne campylobacter outbreak. J. Hyg. (Lond.) 94:205.
- Islam, M., M. P. Doyle, S. C. Phatak, P. Millner, and X. Jiang. 2004. Persistence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in soil and on leaf lettuce and parsley grown in fields treated with contaminated manure composts or irrigation water. J. Food Prot. 67:1365.
- Jayarao, B. M., and D. R. Henning. 2001. Prevalence of foodborne pathogens in bulk tank milk. J. Dairy Sci. 84: 2157.
- Jensen, N. E., F. M. Aarestrup, J. Jensen, and H. C. Wegener. 1996. *Listeria monocytogenes* in bovine mastitis. Possible implication for human health. Int. J. Food Microbiol. 32:209.
- Johnson, E. A., J. H. Nelson, and M. Johnson. 1990. Microbiological safety of cheese made from heat treated milk. Part I: executive summary, introduction and history. J. Food Prot. 53:441.
- Karmali, M. A. 1989. Infection by verocytotoxin-producing *Escherichia coli*. Clin. Microbiol Rev. 2:15.
- Karmali, M. A. 2004. Infection by Shiga toxin-producing *Escherichia coli*: an overview. Mol. Biotechnol. 26:117.



- Kenny, K., R. F. Reiser, F. D. Bastida-Corcuera, and N. L. Norcross. 1993. Production of enterotoxins and toxic shock syndrome toxin in bovine mammary isolates. J. Clin. Microbiol. 31:706.
- Lander, K. P., and K. P. Gill. 1980. Experimental infection of the bovine udder with *Campylobacter coli/jejuni*. J. Hyg. (Lond). 84:421.
- Lee, S. U., M. Quesnell, L. K. Fox, J. W. Yoon, Y. H. Park, W. C. Davis, D. Falk, C. F. Deobald, and G A. Bohach. 1998. Characteristics of staphylococcal bovine mastitis isolates using the polymerase chain reaction. J. Food Prot. 61:1384.
- Liewen, M. B., and Plautz M. W. 1988. Occurrence of *Listeria monocytogenes* in raw milk in Nebraska. J. Food Prot. 51: 840.
- Lovett, J., D. W. Francis, and J. M. Hunt. 1983. Isolation of *Campylobacter jejuni* from raw milk. Appl. Environ. Microbiol. 46: 459.
- Lovett, J., D. W. Francis, and J. M. Hunt. 1987. *Listeria monocytogenes* in raw milk: detection, incidence, and pathogenicity. J. Food Prot. 50:188.
- Masud, T., A. M. Ali, and M. A Shah. 1993. Enterotoxigenicity of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy products. Aust. J. Dairy Technol. 48:30.
- McEwen, S. A., S. W. Martin, R. C. Clarke, S. E. Tamblyn, and J. J. McDermott. 1988. The prevalence, incidence, geographical distribution, antimicrobial sensitivity patterns and plasmid profiles of milk filter *Salmonella* isolates from Ontario dairy farms. Can. J. Vet. Res. 52:18.
- McManus, C., and J. M. Lanier. 1987. *Salmonella, Campylobacter jejuni,* and *Yersinia enterocolitica* in raw milk. J. Food Prot. 50:51.
- Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. McCaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin, and R. V. Tauxe. 1999. Food-related illness and death in the United States. Emerg. Infec. Dis. 5:607.
- Millar, D., J. Ford, and J. Sanderson. 1996. IS900 PCR to detect *Mycobacterium paratuberculosis* in retail supplies of whole pasteurized milk in England and Wales. Appl. Environ. Microbiol. 62:3446.
- Mossel, D. A. A., and P. Van Neten. 1990. *Staphylococcus aureus* and related Staphylococci in foods: ecology, proliferation, toxinogenesis, control and monitoring. J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl. 69:123.
- Muraoka, W., C. Gay, D. Knowles, and M. Borucki. 2003. Prevalence of *Listeria monocytogenes* subtypes in bulk tank milk of the Pacific Northwest. J. Food Prot. 66:1413.
- Murinda, S. E., L. T. Nguyen, S. J. Ivey, B. E. Gillespie, R. A. Almeida, F. A. Draughon, and S. P. Oliver. 2002a. Molecular characterization of *Salmonella* spp. isolated from bulk tank milk and cull dairy cow fecal samples. J. Food Prot. 65:1100.
- Murinda, S. E., L. T. Nguyen, S. J. Ivey, B. E. Gillespie, R. A. Almeida, F. A. Draughon, and S. P. Oliver. 2002b. Prevalence and molecular characterization of *Escherichia coli* O157:H7 in bulk tank milk and fecal samples from cull cows: a 12-month survey of dairy farms in east Tennessee. J. Food Prot. 65:752.
- Murinda, S. E., L. T. Nguyen, T. L. Landers, F. A. Draughon, A. G. Mathew, J. S. Hogan, K. L. Smith, D. D. Hancock, and S. P. Oliver. 2004a. Comparison of *Escherichia coli* isolates from humans, food, farm and companion animals for presence of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* virulence markers. Foodborne Pathogens & Disease.1:178.
- Murinda, S. E,. L. T. Nguyen, H. M. Nam, R. A. Almeida, S. J. Headrick, and S. P. Oliver. 2004b. Detection of sorbitol-negative and sorbitol-positive Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes, Campylobacter jejuni* and Salmonella spp. in dairy environmental samples. Foodborne Pathogens and Disease. 1: 97.
- Nam, H. M., V. Srinivasan, B. E. Gillespie, S. E. Murinda, and S. P. Oliver. 2005a. Application of SYBR green real-time PCR assay for specific detection of *Salmonella* spp. in dairy farm environmental samples. *Int. J. Food Microbiol.* 102:161-171.
- Nam, H. M., V. Srinivasan, S. E. Murinda and S. P. Oliver. 2005b. Detection of *Campylobacter jejuni* in dairy farm environmental samples using SYBR Green real-time polymerase chain reaction. *Foodborne Pathogens & Disease* 2 (2):160–168.
- Nataro, J. P., and J. B. Kaper. 1998. Diarrheagenic *Escherichia coli*. Clin. Microbiol. Rev. 11:142.
- Naylor, S. W., J. C. Low, T. E. Besser, A. Mahajan, G. J. Gunn, M. C. Pearce, I. J. McKendrick, D. G. E. Smith, and D. L. Gally. 2003. Lymphoid follicle-dense mucosa at the terminal rectum is the principal site of colonization of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 in the bovine host. Infect. Immun. 71:1505.
- Nightingale, K. K., Y. H. Schukken, C. R. Nightingale, E. D. Fortes, A. J. Ho, Z. Her, Y. T. Grohn, P. L. McDonough, and M. Wiedmann. 2004. Ecology and transmission of *Listeria monocytogenes* infecting ruminants and in the farm environment. Appl. Environ. Microbiol. 70: 4458.
- Notermans, S., and A. Hoogenboom-Verdegaal. 1992. Existing and emerging foodborne diseases. Int. J. Microbiol. 15:197.
- Ombui, J. N., S. M. Arimi, and M. Kayihura. 1992. Raw milk as a source of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* and enterotoxins in consumer milk. East Afr. Med. J. 69:123.



- Oliver, S. P., B. M. Jayarao, and R. A. Almeida. 2005. Foodborne pathogens in milk and the dairy farm environment: food safety and public health implications. *Foodborne Pathogens and Disease* 2 (2):115-129.
- Orr, K. E., N. F. Lightfoot, P. R. Sisson, J. L Tweedle, P. Boyd, A. Carroll, C. J. Jackson, D. R. A. Wareing, and R. Freeman. 1995. Direct milk excretion of *Campylobacter jejuni* in a dairy cow causing cases of human enteritis. Epidemiol. Infect. 114:14.
- Pangloli, Philipus, Yobouet Dje, Omaima Ahmed, C.A. Doane, S. P. Oliver, and F. A. Draughon. 2008. Seasonal incidence and molecular characterization of *Salmonella* from dairy cows, calves and the farm environment. *Foodborne Pathogens & Disease* 5:87-97.
- Paton, J. C., and A. W. Paton . 1998. Pathogenesis and diagnosis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections. Clin. Microbiol. Rev. 11: 450.
- Pritchard, T. J., K. J. Flanders, and C. W. Donnelly. 1995. Comparison of the incidence of *Listeria* on equipment versus environmental sites within dairy processing plants. Int. J. Food Microbiol. 26:375.
- Roberts, A. J., and M. Wiedmann. 2003. Pathogen, host and environmental factors contributing to the pathogenesis of listeriosis. Cell. Mol. Life Sci. 60:904.
- Rohrbach, B. W., F. A. Draughon, P. M. Davidson, and S. P. Oliver. 1992. Prevalence of *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, and *Salmonella* in bulk tank milk: risk factors and risk of human exposure. J. Food Prot. 55:93.
- Ruzickova, V. 1994. Characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy farms. Vet. Med. Czech. 39:37.
- Sechi, L.A., M. Mura, F. Tanda, A. Lissia, A. Solinas, G. Fadda, S. Zanetti, M. Manuela, T. Francesco, L. Amelia, S. Antonello, F. Giovanni, and Z. Stefania. 2001. Identification of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in biopsy specimens from patients with Crohn's disease identified by in situ hybridization. J. Clin. Microbiol. 39:4514.
- Shere, J. A., K. J. Bartlett, and C. W. Kaspar. 1998. Longitudinal study of *Escherichia coli* O157: H7 dissemination on four dairy farms in Wisconsin. Appl. Environ. Microbiol. 64:1390.
- Slade, P. J., D. L. Collins-Thompson, and F. Fletcher. 1988. Incidence of *Listeria* species in Ontario raw milk. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 21:425.
- Spier, S. F., B. P. Smith, J. S. Cullor, H. J. Olander, L. D. Roden, and G. W. Dilling. 1991. Persistent experimental *Salmonella dublin* intramammary infection in dairy cows. J. Vet. Intern. Med. 5:341.
- Stanley, K., R. Cunningham, and K. Jones. 1998. Isolation of *Campylobacter jejuni* from groundwater. J. Appl. Microbiol. 85:187.
- Steele, M. L., W. B. McNab, C. Poppe, M. W. Griffiths, S. Chen, S. A. Degrandis, L. C. Fruhner, C. A. Larkin, J. A. Lynch, and J. A. Odermeru. 1997. Survey of Ontario bulk tank milk for foodborne pathogens. J. Food Prot. 60:1341.
- Stephan, R., and K. Kuhn. 1999. Prevalence of verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC) in bovine coli mastitis and their antibiotic resistance patterns. Zentralbl. Veterinarmed. B. 46:423.
- *Straley, B. A., S. C. Donaldson, N. V. Hedge, A. A. Sawant, V. Srinivasan, S. P. Oliver, and B. M. Jayarao. 2006. Public health significance of antimicrobial Gram-negative bacteria in raw bulk tank milk.* Foodborne Pathogens & Disease *3:222-233.*
- Srinivasan, V., A. A. Sawant, B. E. Gillespie, S. J. Headrick, L. Ceasaris, and S. P. Oliver. 2006. Prevalence of enterotoxin and toxic shock syndrome toxin genes in *Staphylococcus aureus* isolated from milk of cows with mastitis. *Foodborne Pathogens & Disease* 3:274-283.
- Takeuchi, S., K. Ishiguro, M. Ikegami, T. Kaidoh, and Y. Hayakawa. 1998. Production of toxic shock syndrome toxin by *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic cow's milk and farm bulk milk. Vet. Microbiol. 59:251.
- Tondo, E. C., M. C. M. Guimarães, J. A. P. Henriques, and M. A. Z. Ayub. 2000. Assessing and analyzing contamination of a dairy products processing plant by *Staphylococcus aureus* using antibiotic resistance and PFGE. Can J. Microbiol. 46:1108.
- Tzora, A., G. C. Fthenakis, and K. Linde. 1998. The effects of inoculation of *Listeria monocytogenes* into the ovine mammary gland. Vet. Microbiol. 59:193.
- Van Kessel, J. A., J. S. Karns, L. Gorski, B. J. McCluskey, and M. L. Perdue. 2004. Prevalence of Salmonellae, *Listeria monocytogenes* and fecal coliforms in bulk tank milk on US dairies. J. Dairy Sci. 87:2822.
- Waak, E., W. Tham, and M. L. Danielsson-Tham. 2002. Prevalence of *Listeria monocytogenes* strains isolated from raw whole milk in farm bulk tanks and dairy plants receiving tanks. Appl. Environ. Microbiol. 68:3366.
- Walker, R. L., L. H. Jensen, H. Kinde, A. V. Alexander, and L. S. Owen. 1991. Environmental survey for *Listeria* species in a frozen milk products plant in California. J. Food Prot. 54:178.
- Warnick, L. D., J. B. Kaneene, P. L. Ruegg, S. J. Wells, C. Fossler, L. Halbert, and A. Campbell. 2003. Evaluation of herd sampling for *Salmonella* isolation on midwest and northeast US dairy farms. Prev. Vet. Med. 60:195.
- Waterman, S. C., R. W. Park, and A. J. Bramley. 1984. A search for the source of *Campylobacter jejuni* in milk. J. Hyg. (Lond). 93:333.



- Winter, P., F. Schilcher, Z. Bago, D. Schoder, M. Egerbacher, W. Baumgartner, and M. Wagner. 2004. Clinical and histopathological aspects of naturally occurring mastitis caused by *Listeria monocytogenes* in cattle and ewes. J. Vet. Med. B 51:176.
- Wong, A. C. 1998. Biofilms in food processing environments. J. Dairy Sci. 81:2765.
- Zhao, T., M. P. Doyle, J. Shere, and L. Garber. 1995. Prevalence of enterohemorragic *Escherichia coli* O157:H7 in a survey of dairy herds. Appl. Environ. Microbiol. 61:1290.

La leche y productos derivados: más allá de sus cualidades nutritivas

Sergio Calsamiglia
Dpt. Ciencia Animal y de los Alimentos
Universidad Autónoma de Barcelona
08193-Bellaterra
Sergio.Calsamiglia@uab.es

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades crónicas, incluyendo las enfermedades cardiovasculares (ECV), el cáncer y el síndrome metabólico, se han convertido en la principal preocupación en salud pública. De hecho, las ECV (41%) y el cáncer (25%) son la causa principal de mortalidad en la UE (Eurostat), y la incidencia del síndrome metabólico es del 20 a 30% y sigue aumentando. Aunque la naturaleza de estas enfermedades es multifactorial, todos tienen un componente causal asociado a los hábitos alimentarios. En la segunda mitad del siglo XX se implementaron varios estudios epidemiológicos de gran envergadura con el objetivo de determinar la relación entre los hábitos alimentarios y la incidencia de estas enfermedades. Los resultados de estos estudios han servido para que las autoridades sanitarias de muchos países establecieran recomendaciones dietarias que permitieran una mayor esperanza de vida. Un ejemplo del impactos de estas recomendaciones en los hábitos alimentarios ha sido el énfasis en reducir el consumo de grasas saturadas y de origen animal, incluyendo la leche. Como resultados de estas recomendaciones, el consumo medio de leche y derivados lácteos no sólo ha disminuido, sino que se ha transformado en el consumo de derivados bajos en grasa o desnatados.

Sin embargo, las recomendaciones sobre cambios de hábitos alimentarios deben realizarse con precaución, ya que si bien los motivos de dichas recomendaciones se basan en los efectos de nutrientes individualmente (gasa total, grasas saturadas y/o colesterol), la leche y sus derivados son alimentos complejos que contribuye de forma sustancial al aporte de otros nutrientes que pueden compensar dichos efectos negativos o,



simplemente, contribuyen de forma sustancial a aporte de nutrientes. Es importante reflexionar sobre el hecho que, a medida que nos acostumbramos a alimentos con menor contenido calórico, es necesario aportar alimentos que sean más densos en otros nutrientes. En este sentido, la leche aporta de media un 16% de las necesidades proteicas y un 54% de las necesidades de calcio, mientras que sólo contribuye al 12% de los aportes energéticos (Givens et al., 2005). Las consecuencias de reducir el consumo de leche son una reducción moderada del consumo de calories, pero que se acompaña de una reducción considerable del consumo de proteína y calcio, y eso, por sí solo, puede tener consecuencias negativas sobre la salud del consumidor. No hay que olvidar que el consumo medio de calcio en la población europea está muy por debajo de las recomendaciones establecidas, y puede tener implicaciones importantes en el riesgo de padecer algunas enfermedades crónicas. Además, los estudios epidemiológicos recientes no sólo no han podido demostrar una relación entre le consumo de leche y sus derivados y una mayor incidencia de enfermedades crónicas, sino que el consumo de leche parece tener un efectos protector en algunas de estas enfermedades. Es probable que mientras algunos nutrientes son en sí mismos un factor de riesgo para algunas enfermedades, éstos se compensan con la presencia de otros nutrientes que tienen un efecto positive sobre la salud.

El objetivo de este artículo es revisar la literatura reciente que relaciona el consumo de leche y sus derivados sobre la incidencia de patologías crónicas en humanos. Para la elaboración de este trabajo sólo se han considerado los estudios epidemiológicos prospectivos (o de cohorte) que, por diseño, son robustos y mucho más fiables que otro tipo de estudios.

2. El consumo de leche y derivados y su impacto sobre la incidencia de enfermedades cardiovasculares

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son la principal causa de mortalidad en la UE (49%). La asociación entre los hábitos alimentarios y la incidencia de ECV ha sido reconocida desde hace mucho tiempo. Esta percepción ha sido construida a partir de datos epidemiológicos y estudios de investigación controlados que han establecido una relación sólida entre el consumo de colesterol, el nivel de colesterol en sangre y el riesgo de padecer una ECV (Kannal et al., 1961; Connor et al., 1961). Sin embargo, esta máxima ha sido rechazada, y recientemente el riesgo de padecer ECV se ha asociado más con una dislipidemia y el consumo de ácidos grasos saturados (AGS) y ácidos grasos de cadena media (AGCM). La principal limitación (y crítica) de la mayor parte de los estudios que han soportado estas hipótesis es que se han centrado en la valoración de los efectos de unos nutrientes específicos aislados (colesterol, AGS, AGCM,,….), mientras que la leche es un alimento complejo que contiene una mezcla de diferentes nutrientes donde los efectos negativos de unos pueden ser compensados por los efectos positivos de otros frente a las ECV. Por ello, en el presente trabajo sólo se considerarán los estudios epidemiológicos prospectivos (estudios de cohorte) de larga duración, en los que se evalúa el consumo de un alimento (leche y derivados), y no de nutrientes individualmente.

Datos procedente de 11 estudios epidemiológicos prospectivos indican que, después de ajustar por factores de error (incluyendo la edad, el índice de peso corporal, el consumo de alcohol, hábitos fumadores, clase social, ejercicio,…), el consumo de leche y sus derivados reduce la incidencia de ECV (Tabla 1).

Tabla 1. Asociación entre el consume de leche y sus derivados y la incidencia de ECV

Referencia	Población	Casos	Riesgo Relativo
Bostic, 1999	35,000 Mujeres	387	0.94
Shaper et al 1991	7,000 Hombres	608	0.88
Amnn et al 1997	11,000	63	1.50
Elwood et al., 2003	2,500	613	0.84
Iso et al., 1999	86,000 Mujeres	1,088	0.70
Ness et al., 2001	6,000	1,599	0.90
Kinjo et al., 1999	223,000	544	0.85
Abbott et al., 1996	3,000	347	0.66
Snowden et al., 1984	25,000	3,085	0.94
Vijver et al., 1992	2,600	229	0.77
MEDIA	400,000	8,500	0.84

Otros estudios de casos controlados (menos fiables) donde el consumo de leche se asoció a una reducción del riesgo de padecer ECV fue del 10-20% (Gramenzi et al., 1990; Tavani et al., 2002), también apoyan esta hipótesis. No está claro si el efecto protector de la leche está relacionado con componentes asociados a la fracción grasa o a la fracción no grasa, pero la mayor parte de los estudios referidos se realizaron en su mayor parte durante un periodo donde el consume mayoritario era de leche entera. Sólo un estudio comparó los efectos de la leche entera frente a la desnatada, e indica que el riesgo de padecer una ECV fue similar en ambos casos (0.89) y menor respecto a los individuos que consumían poca leche, lo que sugiere que el factor potencialmente protector se encuentra en la fracción no grasa de la leche (Tavani et al., 2002).

Aunque se podría discutir que estos estudios epidemiológicos podrían tener errores en su estructuración y análisis, parece poco probable que 11 estudios epidemiológicos prospectivos ajustados por los factores conocidos de error y realizados en diferentes lugares del mundo durante un periodo de duración muy prolongado, llegaran a la misma conclusión. Por lo tanto, los datos deben confirmar la hipótesis de que el consumo de leche tiene un efecto protector sobre la incidencia de ECV. Para aportar más datos de apoyo a esta conclusión, es necesario desarrollar hipótesis razonables sobre los factores presentes en la leche que provocan o protegen de dicha patología, y cómo la percepción tanto del sector sanitario como del consumidor ha llegado a ser equivocada.

2.1. ¿Qué hay en la leche que pueda causar ECV?

La causa principal por la que se aconseja la reducción del consumo de grasa animal en general, y de leche en particular, es la asociación entre el contenido en colesterol, su impacto sobre el nivel de colesterol en sangre y su relación con el riesgo de padecer una ECV. Sin embargo, y tal como se ha discutido anteriormente, dicha asociación no está demostrada, y existe un consenso entre los investigadores que el nivel sanguíneo de colesterol no es un buen indicador del riesgo de ECV (Hegsted y Auman, 1988; McNamara 2000a; Ravnskov, 1995; Stamler y Shekelle 1988; Kritchevsky y Kritchevsky, 2000). De hecho, el nivel de colesterol en sangre entre individuos que consumen mucha o poca leche es muy similar (Tabla 2).



Tabla 2. Asociación entre el consumo de leche y el nivel de colesterol en sangre (mmol/L)

Referencia	Consumo Bajo	Consumo Alto
Abbott et al., 1996 Nagaya et al., 1996 Ness et al., 2001 Caerphilly	5.60 5.20 5.87 6.05	5.70 5.28 5.90 6.14
AVERAGE	5.68	5.76

Más recientemente, la atención sobre la relación entre la alimentación y el riesgo de padecer una ECV se ha centrado en el consumo de AGS y su efecto sobre el perfil lipídico sanguíneo, principalmente sobre el HDL-colesterol total, aunque este tema sigue siendo motivo de controversia. Ravnskov (1998) observó, después de revisar los estudios epidemiológicos disponibles, que de 26 estudios realizados, sólo 3 pudieron demostrar una correlación positive entre el consumo de AGS y la incidencia de ECV, 1 mostró una correlación negativa, y los otros 22 no pudieron mostrar ningún efecto. La misma conclusión es válida cuando el análisis se realizó con AG de cadena larga. De hecho, una gran proporción de los AG de la leche son de cadena corta o de cadena larga, ninguno de los cuales parecen afectar negativamente a los niveles de colesterol. Parece ser que la hipótesis más creíble que relaciona el consume de grasa, la dislipidemia y el riesgo de ECV parece implicar a los AG de cadena media (AGCM; C12, C14 y C16) (Grundy y Denke, 1990, Berner, 1993; Katan et al., 1995) y/o a los AG-trans. La leche es un alimento que contiene una concentración elevada de AGCM, así como un contenido elevado de AG-trans naturales. Los AGCM se sintetizan en la glándula mamaria a partir de acetato y butirato por la vía de la acetil-CoA carboxilasa. La afinidad de estos encimas por los AG disminuye a medida que la longitud de cadena aumenta, lo que causa la acumulación progresiva de intermediarios de cadena media. Además, la actividad de esta encima está regulada por la concentración de AGCL que reduce su actividad. Por otro lado, la bibliografía parece indicar que los AG-trans presentes en la leche (trans-11) no son negativos para la salud, sino que la mayor parte de la ingestión de AG-trans negativos para la salud proceden de la hidrogenación industrial de aceites vegetales (margarinas) y aceites marinos (fundamentalmente trans 9 y 10).
En consecuencia, podemos resumir los datos actuales diciendo que los AG de cadena media presentes en la leche son los únicos componentes presentes en la leche que pueden tener una cierta asociación con la dislipidemia y tal vez la incidencia de ECV.

3.2. ¿Que tiene la leche que proteja frente a las ECV?
Parece obvio que si los estudios epidemiológicos prospectivos indican que la leche protege frente a las ECV pero la leche contiene AGCM potencialmente asociados con un incremento en la incidencia de ECV, otros nutrientes en la leche deben ejercer un efecto protector. De hecho, Berner (1993) demostró que los cambios en el perfil de lípidos sanguíneos causados por el consumo de leche no pueden predecirse a partir del perfil lipídico de la leche. Entre estos nutrientes, se han propuesto el calcio, el magnesio, los péptidos bioactivos, las vitaminas y el ácido linoleico conjugado (CLA).
a) Calcio: La hipótesis más sólida que relaciona el consumo de leche y la reducción del riesgo de padecer ECV es el consume de calcio. El calcio tiene un efecto muy potente como reductor de la presión arterial y de la digestión de la grasa (Miller y Groziak, 1997; Reusser y McCarron, 1994). Un estudio de 23 trabajos epidemiológicos observacionales concluyó que por cada 100 mg de incremento en el consumo de calcio se produce una reducción de 0.39 mmHg en la presión sistólica y de 0.35 mmHg en la presión diastólica (Birkett, 1998). Además, el resumen de 43 estudios controlados diferentes concluyó que la reducción media fue de 1.44 y 0.84 mmHg en la presión sistólica y diastólica, siendo el efecto mayor y más consistente cuando el calcio formaba parte de un alimento completo (y principalmente cuando es en forma de leche) comparado con la suplementación de calcio no-alimentario (Griffith et al., 1999). La importancia del calcio de la leche se incrementa cuando consideramos que la leche aporta el 50% de nuestra ingestion media de

calcio y el consumo medio de los ciudadanos de la UE está por debajo de las necesidades. El mecanismo de acción por el cual el calcio afecta a la presión arterial no está claro, pero probablemente está asociado a su capacidad de reducir la permeabilidad de la membrana resultando en la modificación de hormonas regulatorias del metabolismo y/o el equilibrio de electrolíticos (Hatton et al., 1995).
Un segundo mecanismo de acción atribuido al calcio es su capacidad de formar jabones cálcicos de ácidos grasos en el intestino delgado que reducen su digestibilidad, mejorando el perfil lipídico sanguíneo (Vaskonen, 2003).
b) Péptidos bioactivos: Durante la digestión de las proteínas, se forman algunos péptidos de bajo peso molecular que tienen una actividad fisiológica determinada. Un grupo de estos péptidos se conocen con el nombre de inhibidor del encima conversor de la angiotensina I (de hasta 10 AA), y que se ha encontrado en la leche fermentada o puede producirse durante el proceso de fermentación o digestión, y tiene un claro efecto hipotensor. Entre ellos, las casokininas redivadas de la alfa y beta s-1-caseína tiene la actividad más elevada. Varios estudios han confirmado esta actividad en humanos alimentados con leche fermentada (Hata et al., 1996; Sharpe te al., 1994).

c) Otros componentes: Aunque con menos evidencia, otros nutrientes en la leche han sido asociados con una reducción del riego de padecer una ECV. Entre ellos, el aporte de ácido fólico, vitamina B6 y vitamina B12 parecen reducir la concentración sanguínea de homcisteína (Verhoef et al., 1998), y la reducción de la concentración sanguínea de homocisteína se ha asociado con una reducción del riesgo de padecer una ECV (Duell y Malinow, 1997; Verhoef et al., 1998; Stamfer et al, 1992; Amesen 1995; Perry et al., 1995). Por otra parte, la leche contiene cantidades elevadas de CLA, siendo el 9-11 (76%), 7-9 (7%) y 10-12 (1.1%) los isómeros más comunes. El CLA es hipocolesterolémico e hipotensor (Pfeuffer-Schrezenmeier, 2000), y se le ha implicado en la reducción de la aterogénesis, un factor causal importante de ECV.
En resumen, mientras que sólo los AG de cadena corta parecen aumentar el riesgo de padecer ECV, parece que los efectos del calcio y de los péptidos bioactivos en la leche contrarrestan dicho efecto reduciendo la presión arterial y el desarrollo de ateriosclerosis, resultando en una reducción global del riesgo de ECV.

3. Consumo de leche y derivados y el riesgo de padecer cáncer
El cáncer es responsable del 25% del total de muertes en la UE, siendo los de pulmón (13.2%), el colorrectal (13.0%) y el de mama (12.8%) los más comunes (Eurostat; Boyle y Ferlay 2005). La baja incidencia de otras formas de cáncer y la falta de indicadores metabólicos de estos cánceres dificulta el estudio de la relación entre el consume de leche y la incidencia de otros tipos de cánceres.
Cáncer colorrectal. Los resultados de 13 estudios epidemiológicos prospectivos están resumidos en la Figura 1. En casi todos los casos, el riesgo de incidencia de cáncer colorrectal de los individuos que consumen leche es inferior a 1.00, aunque solo en 3 (Kesse et al 2005; Kato et al., 1997 and Larsson et al., 2006) las diferencias fueron significativas. Norat y Riboli (2003) revisaron 12 estudios epidemiológicos prospectivos y observaron una relación inversa entre el consumo de productos lácteos y el riesgo de padecer cáncer colorrectal (Riesgo relativo = 0.62). Resultados similares fueron observador por Cho et al. (2004) en un estudio con un total de 4,992 casos, y calcularon una reducción del riesgo de 0.73 para el colon distal y del 0.80 para el cáncer de recto (Figura 2), sin diferencias entre sexos. En cualquier caso, todos los estudios realizados apuntan a que el consumo de leche reduce el riesgo de padecer un cáncer colorrectal

Figura 1: Evaluación del riesgo de padecer un cáncer colorrectal: Resumen de 13 estudios epidemilógicos prospectivos. Los valores por debajo de 1.00 indican el grado de reducción del riesgo debido al consumo de leche.

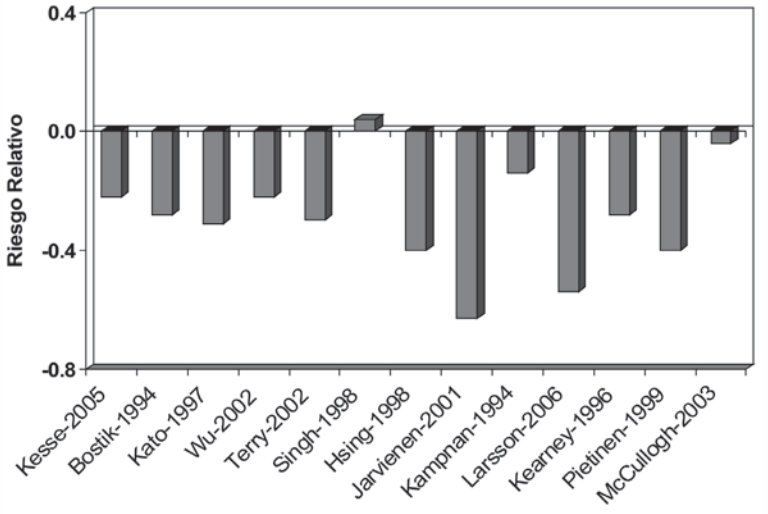
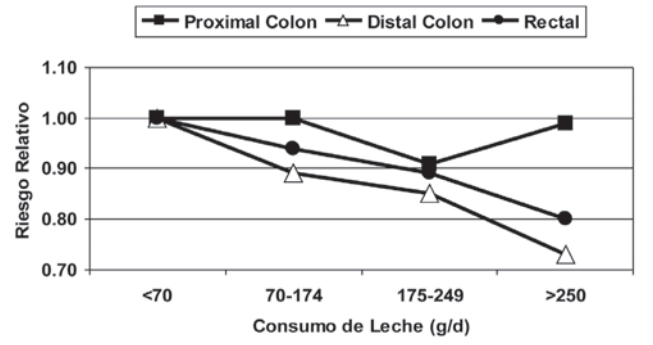


Figura 2. Relación entre el nivel de consumo de leche y la reducción del riesgo de padecer un cáncer colónico o rectal.



b) Cáncer de mama: Los estudios epidemiológicos prospectivos sobre el efecto de la leche y sus derivados sobre la incidencia del cáncer de mama han sido controvertidos. Aunque hay más de 10 estudios desarrollados, sólo tres de ellos tienen más de 500 casos registrados, lo que limita el poder estadístico de los resultados (McCullogh et al., 2005, 2855 casos; Shin et al., 2002, 3482 casos; y Voorrips et al., 2002, 941 casos). Missmer et al. (2002) analizaron los datos de 8 de estos estudios epidemiológicos prospectivos que incluían un total de 7379 casos, y concluyeron que no existía una relación significativa entre el consume de leche y el riesgo de padecer cáncer de mama.

¿Qué hay en la leche que pueda causar cáncer?

Hay muy poca información sobre nutrientes en la leche que puedan provocar cáncer:
La grasa: El alto contenido en grasa, especialmente de grasas saturadas, y la presencia de posibles contaminantes en la grasa láctea (como pesticidas) han sido propuestas como riesgos potenciales de padecer cáncer de mama. El consumo de grasa también se ha asociado al incremento en la cantidad de estrógenos circulantes, aunque la evidencia científica es limitada. La posible implicación de la grasa en el desarrollo del cáncer colorrectal o de mama puede estar relacionado con el aumento del flujo total de grasa y sales biliares al intestino grueso. La flora microbiana del intestino grueso puede hidrolizar estos ácidos grasos biliares cuyos metabolitos pueden lesionar el epitelio celular del colon, resultando en la hiperproliferación celular y al aumento de riesgo de cáncer colorrectal (van der Meer et al., 1991). Sin embargo, los estudios epidemiológicos no apoyan esta visión en relación a la grasa láctea en particular, y no hay trabajos que

estudien la relación de fracciones específicas de AG sobre la incidencia de cáncer. Sólo se han encontrado 6 estudios en animales donde el consumo de dietas isocalóricas con grasa vegetal o láctea, y se concluyó que, en cualquier caso, la grasa láctea tiene un efecto protector frente al desarrollo de cáncer.
Las hormonas: El factor IGF puede jugar un papel en el desarrollo del cáncer colorrectal mediante la estimulación de la proliferación celular y de la inhibición de la apoptosis (Singh y Rubin, 1993). Las IGF también pueden estar implicadas en el desarrollo de cáncer de mama. Sin embargo, estos estudios son muy especulativos y no hay evidencia sólida para apoyar esta hipótesis.

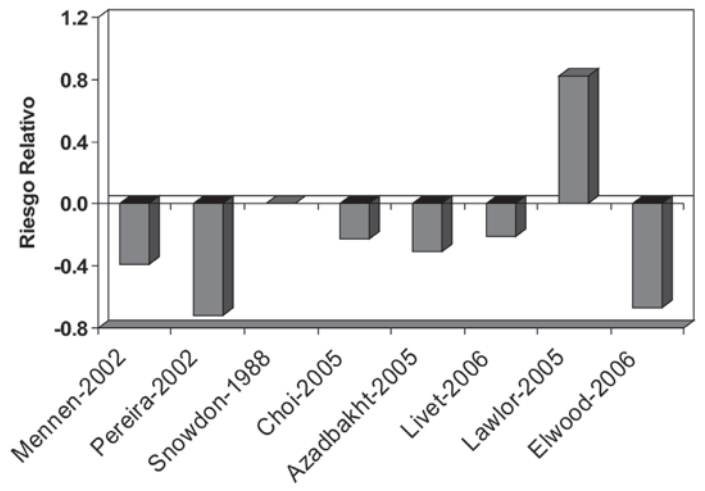
3.2. ¿Qué hay en la leche que proteja del cáncer?
Tenemos poca información sobre los factores que hacen de la leche un alimento protector frente al desarrollo de cáncer colorrectal y de mama. La mayor parte de la evidencia procede de investigación in vitro o en modelos animales:
a. Calcio: La hipótesis más clara sobre el efecto protector de los productos lácteos frente al cáncer es su contenido en calcio, particularmente en la prevención del cáncer colorrectal. Hoy tenemos evidencias claras que el calcio tiene una actividad chemoprotectora, ya que la suplementación de calcio ha resultado en la reducción en la incidencia de cáncer colorrectal tanto en modelos animales (Appleton et al., 1987; Sitrin et al., 1991; Llor et al., 1991) como en varios estudios de intervención en humanos. Bergsma-Kadiji et al. (1996) analizaron los resultados de numerosos estudios para determinar la relación entre el consumo de calcio y el riesgo de desarrollar cáncer de colon, y obtuvieron una relación inversa (reducción del riesgo del 0.86). Cho et al. (2004), utilizando datos de ingestión de calcio, concluyeron que el nivel de calcio necesario para reducir el riesgo de cáncer de colon es de 1000 mg/d, y cada 500 mg/d de aumento sobre este nivel resultó en una reducción del riesgo de cáncer de colon del 12%. El calcio ha demostrado su capacidad de reducir la proliferación celular epitelial del colon y la recurrencia de adenomas colorrectales. Uno de los mecanismos de acción propuestos es su capacidad de secuestrar las sales y ácidos grasos biliares, reduciendo sus efectos negativos (Newnark et al., 1984; van der Meer et al., 1991). Otro posible mecanismo se relaciona con la actividad intracelular del calcio que inhibe la proliferación celular del colon mediante la inducción de la diferenciación celular (Lipkin y Newmark, 1995). Sin embargo, es muy difícil diferenciar si los efectos del consumo de leche son debidos específicamente al calcio o a otros componentes de la leche.
b. El butirato también se ha propuesto como un agente quemoprotector del desarrollo de cáncer colorrectal debido a su efecto inhibidor de la proliferación de tumores in vitro (McBain et al., 1997; Velazquez et al., 1996). Los productos lácteos son la única fuente natural de ácido butírico. Sin embargo, la cantidad de butírico que puede llegar al intestino grueso es probablemente demasiado limitada como para justificar un acción quemoprotectora en condiciones fisiológicas (Parodi, 1999).
c. CLA: La leche es la fuente natural más rica en CLA, y se ha demostrado su capacidad de reducir el desarrollo de células cancerígenas en el colon y recto (Parodi, 1999; Ip et al., 1991). Otros estudios epidemiológicos han apuntado la asociación entre el consumo de CLA y la reducción de la incidencia de algunos tipos de cáncer. El efecto anticancerígeno del CLA parece estar mediado a través de la fluidificación de la membrana celular, la reducción de la síntesis de prostaglandinas, y/o el estímulo del sistema inmune (Parodi, 1997).
d. Otros factores: Los ácidos grasos ramificados (presentes principalmente en la leche), la vitamina D (Garland et al., 1989; Blutt et al., 1997, 2000; Schwartz et al., 1995), los esfingolípidos y la lactoferrina (Bezault et al., 1994; Yoo et al., 1997; Sekine et al., 1997), pueden también estar implicados en la reducción del riesgo de padecer algún tipo de cánceres, pero la evidencia es aún limitada.

4. El síndrome metabólico y el consumo de leche y sus derivados
La incidencia del síndrome metabólico en EEUU es del 24% (Ford et al., 2002), y entre el 20 y 30% en la UE (Eurostat). El síndrome metabólico se diagnostica cuando al menos tres de los siguientes eventos se desarrollan: obesidad, hiperglicemia, dislipemia, resistencia a la insulina y/o hipertensión. Mientras que la naturaleza de la enfermedad es multifactorial, la dieta juega un papel muy importante (Hollenberg, 2002). Pocos estudios epidemiológicos se han desarrollados para estudiar la relación entre la ingestión de productos lácteos y la incidencia de esta enfermedad. Sin embargo, todos parecen apuntar que el consumo de leche reduce el riesgo de padecer dicha enfermedad (Figura 3).



Debido a que el síndrome metabólico abarca varias condiciones, éstas se discutirán separadamente.
a. Obesidad: El efecto del consumo de leche sobre el peso es controvertido. Mientras algunos estudios han demostrado una relación inversa entre el consumo de productos lácteos y la acumulación de grasa y el índice de masa corporal (IMC) en niños (Carruz et al., 2001; Dixon et al., 2005), Berkey et al. (2005) observaron resultados contrarios. En adultos, los estudios epidemiológicos prospectivos confirman una relación inversa entre el consumo de leche y el peso e IMC (Pererira et al., 2002; Elwood et al., 2005). En los estudios controlados, dos observaron una relación inversa (Zemel et al., 2004 y 2005), y otros no pudieron demostrar ninguna relación (Thomson et al., 2005; Harvey-Berino et al., 2005). Parece que el consumo de productos lácteos en el rango del 10 al 40% de la ingestión total de energía tiene poca relación con el desarrollo de obesidad o la pérdida de peso. En cualquier caso, parece haber consenso que el consumo de productos lácteos en cantidades razonables no resulta en un incremento de peso.

Figura 3: Evaluación del riesgo de padecer el síndrome metabólico. Los valores por debajo de 1.00 indican el grado de reducción del riesgo debido al consumo de leche.



b. La hiperglicemia: La hiperglicemia está íntimamente asociada a la dieta, y a medida que el índice glicémico aumenta, el colesterol-HDL disminuye. De entre todos los alimentos, la leche es el que tiene un índice glicemico más bajo.
c. La hipertensión: La leche tiene un fuerte efecto hipotensor debido al efecto directo del calcio y de péptidos bioactivos (principalmente el péptido inhibidor del ACE, tal como se ha visto en las secciones anteriores.
d. La dislipemia: En términos generales, el consumo de leche se ha relacionado con la dislipemia (Pereira et al., 2002; $P < 0.07$; Sjogren et al., 2004). El consumo de leche parece no tener efectos sobre la concentración plasmática de colesterol, tal como se ha visto en secciones anteriores.

4.1. ¿Qué tiene la leche que proteja del síndrome metabólico?
La obesidad: El calcio y el magnesio interactúan con las grasas y las sales biliares para formar jabones cálcicos que son menos digestibles que las formas libres de las grasas, resultando en una menor absorción de grasa y colesterol. En muchos casos se ha observado un incremento en la excreción de grasa en las heces debido al consumo de leche. Además, el calcio parece regular la actividad metabólica de los adipocitos, reduciendo la síntesis de ácidos grasos e incrementando la lipólisis. Heaney et al. (2002) resumió una serie de estudios observacionales para concluir que existe una reducción de peso corporal de 1 (en niños) a 3 kg (en adultos) debido al consumo de leche. Sin embargo, no sólo el calcio es importante, ya que la suplementación de calcio no-lácteo no pudo replicar los resultados (Linn et al., 2000). Aparentemente, los AG de cadena media regulan el metabolismo oxidativo de las grasas, y la leche es un alimento rico en éstos AG. Ha et al. (2003) también sugirieron que la fracción proteica, particularmente la fracción proteica del suero, contiene una serie de péptidos bioactivos que afectan al centro de la saciedad (efectos opioides).

También es posible la intervención de algunos isómeros del CLA, que participan en la movilización de grasa corporal (Award et al., 1990, Belury et al., 1997).
La hiperglicemia: El consumo de leche reduce la respuesta glicémica (Schrezenmeier et al., 1989; Nilson et al., 2004; Ostman et al., 2001). Por ejemplo, el consumo de leche en el desayuno reduce la glicemia y la insulinemia (Ostman et al., 2001). El mecanismo de acción parece incluir una reducción del tránsito digestivo y el efecto de algunos péptidos bioactivos en el tracto gastrointestinal. La leche, además, parece tener un efecto hipoinsulinémico, tal vez asociado a los efectos de algunos isómeros del CLA presentes en la leche.
La hipertensión: Los mecanismos hipotensores de la leche (calico y péptidos bioactivos) han sido discutidos en apartados anteirores.
La dislipemia: No está claro qué components en la leche afectan al perfil lipídico de la sangre. El calcio, por su efecto sobre la digestión de las grasas y la absorción del colesterol, puede jugar un papel importante. La acción de algunos péptidos bioactivos tamabién ha sido sugerida (Boing et al., 004). Además, el consumo de leche fermentada reduce le colesterol en una proporción mayor respecto a la lache no fermentada (Vaskonen et al., 2003; Agerhold-Larsen et al., 2000; Xiao et al., 2003), y se ha propuesto que el proceso de fermentación genera una serie de péptidos bioactivos que tienen un efecto sobre el perfil lipídico plasmático. Finalmente, los AG de cadena corta y media parecen reducir la magnitud del incremento postpandrial de triglicéridos en sangre (Marten et al., 2006).

Conclusiones
Los estudios presentados parecen coincidir en que el consumo de leche y sus derivados reduce:
- el riesgo de padecer una enfermedad cardiovascular
- el riesgo de padecer cáncer colorrectal y de mama.
- el riesgo de padecer el síndrome metabólico, incluyendo la obesidad y el desarrollo de diabetes.

Frente al efecto potencialmente negativo de algunos nutrientes de la leche (aparentemente limitados a la presencia de ácidos grasos de cadena media: C12, C14 y C16), la leche juega un papel importante en el aporte de otros nutrientes (calcio, péptidos bioactivos y CLA) que contrarrestan los estos posibles efectos negativos y aportan un beneficio adicional para la salud del consumidor.
Ante estas conclusiones, con frecuencia contrarias a la percepción popular del efecto del consumo de leche y sus derivados sobre la salud, es necesario desarrollar programas a diferentes niveles:
Investigación:
Reducir el contenido en AG de cadena media mediante la suplementación de aceites vegetales insaturados que inhiben la vía enzimática de su síntesis.
Mejorar el contenido en los componentes saludables (CLA, calcio y péptidos bioactivos) presentes en la leche mediante la alimentación o su procesado posterior.
Educación al sector
Al consumidor, para que conozca los beneficios del consume de leche y sus derivados.
Al profesional sanitario, para que establezcan pautas y recomendaciones sobre el consumo de leche que sean coherentes con los resultados científicos disponibles.

Referencias
Solicitarlas al autor





XIII CONGRESO INTERNACIONAL
ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

SALAMANCA del 7 al 10 de mayo de 2008

A la cabeza del conocimiento conectando tradición y futuro

Comunicaciones Libres



Inmunomodulación inducida por Lipoarabinomananos de *Mycobacterium avium subsp. avium* (LAMs) en la respuesta inmune de terneros

Colavecchia, S.B.*, Fernández, B.*, Jolly, A.*, Fernández, E.** y Mundo, SL.*
*Área de Inmunología. **Área Clínica de Rumiantes
Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires. Argentina
smundo@fvet.uba.ar

Resumen
Se presenta un caso clínico de la intervención quirúrgica en una novilla Holstein de 7 meses de edad para reducir una hernia umbilical de gran tamaño, reproducida dos meses después de una primera operación. La operación consiste en una herniorrafia convencional reforzada con la colocación intraabdominal de una malla de polipropileno no reabsorbible.

Introducción
La actual situación del mercado de las hembras para recría Holstein, en la que se conjugan una demanda elevada y una limitada oferta, origina un aumento del valor de venta en origen de las mismas, o de su propio potencial económico interno para autoreposición. Esta coyuntura hace que se tengan en cuenta posibilidades terapéuticas que no se considerarían en condiciones de mercado con precios más bajos.
La utilización de material protésico como adyuvante en cirugías umbilicales es una de esas posibilidades que tienen actualmente una clara justificación económica.
La aparición de este tipo de alteraciones en bovino tiene una base genética, de carácter autosómico y poligénico, influido por modulaciones ambientales.
La raza Holstein presenta una clara predisposición a este tipo de patología con frecuencias observadas de hasta el 7% en algunos rebaños, aunque estas cifras varían bastante en función de las líneas paternas usadas, dada su alta heredabilidad.
Entre los factores causales adquiridos, podemos mencionar: desgarros en la pared abdominal por excesiva tracción en partos distócicos, complicaciones tras infecciones umbilicales, o distensiones abdominales por

timpanismos, o movimientos violentos.
Las hernias pequeñas, de hasta 4 cm. de anillo, suelen cerrar espontáneamente a los 3 o 4 meses de edad, con lo que el tratamiento recomendado en estos casos es conservador.
Es en hernias de mayor tamaño donde procede la cirugía aunque, si no aparecen complicaciones, esta debe demorarse al menos hasta los tres meses de vida. Hay que resaltar que un gran saco herniario no tiene por que representar necesariamente mayor peligro para el animal que uno menor, porque la posibilidad de incarceración y estrangulamiento de alguna estructura abdominal es más alta a través de un anillo más estrecho

Material y Métodos
Paciente
Novilla Holstein de 7 meses de edad, presenta una eventración local en la zona umbilical, reducible y parcialmente dolorosa, de unos 25 cm. de diámetro. En la parte más ventral del saco se observan lesiones ulcerosas purulentas, así como restos de nylon de una sutura previa. Esta novilla había sido sometida a una operación convencional de reducción de una hernia de 10 cm. de anillo dos meses antes. Pocos días después de la operación, en la zona comenzó a aparecer un saco indurado y doloroso, en principio no reducible pero cuyo contenido fue evolucionando a una masa fluctuante y reducible hacia la cavidad abdominal; la exploración previa del resto de constantes vitales arroja un resultado normal, la novilla presenta un hipodesarrollo en comparación a las compañeras de edad similar del mismo lote. Se decide volver a someterla a cirugía;
Material
- Malla de polipropileno (Braun premilene mesh de 150 x 150 Mm.)
- Sutura no reabsorbible de nylon, (Braun Supramid Nº 6)
- Sutura reabsorbible de Catgut (Braun Catgut crómico Nº 4)
- Sutura no reabsorbible de seda (Braun seda Nº 4)

Métodos
- Dieta de sólidos 24 hrs. previas a la intervención.
- Tranquilización previa del animal con Xilazina al 2% dosis 20 mg. / 100kg. (2ml/200 Kg.)
- Colocación en decúbito supino atando las 4 extremidades por separado, la parte dorsal ha de protegerse con un saco acolchado para evitar traumatismos vertebrales
- Limpieza, depilación y desinfección de todo el saco herniado.
- Anestesia local con Lidocaína en un perímetro excéntrico 2 cm. al anillo herniario.
- Incisión anular de todo el saco herniario, mientras se tracciona del extremo medial. La incisión se hace en la totalidad de las capas tisulares, hasta su extirpación completa, prestando especial atención al llegar al saco interno de no seccionar ninguna estructura abdominal.
- Reavivamiento de los bordes del anillo interno e inspección de la cavidad abdominal, en busca de posibles adherencias, uraco persistente, abscesos locales, etc.
- Colocación intraabdominal de la malla de polipropileno, mediante 8 puntos sueltos en U, con Supramid del nº 6, transfixiantes a toda la pared intestinal. Los puntos han de fijarse a 2 cm. del borde de la malla y dispuestos de manera que los bordes del cuello herniario puedan aproximarse. Ha de cuidarse de que la malla no quede excesivamente tensa, porque dada la posición del paciente y su atonía muscular la malla sufrirá un considerable aumento de tensión al recolocarse el animal en estación.
- Sutura del anillo herniario en dos planos,
- Mediante puntos sueltos horizontales en X, con objeto de que parte de la tensión la soporte el hilo de sutura. Estos puntos los daremos a una distancia de dos cm. del borde de la herida y con Supramid.
- Posteriormente se vuelven a suturar con Supramid los labios de la herida con una sutura continua de peletero procurando que reviertan los bordes hacia dentro.
- Sutura del tejido subcutáneo, se efectúa con Catgut del nº 4.La elección es una continua reinvertida de Lembert con objeto de solapar todo el cierre inferior de la hernia.
- Sutura de la piel mediante una continua entrelazada de Reverdin con seda del nº4

Tras la operación se instauró terapia antibiótica a la paciente con Penicilina-Estreptomicina a dosis de 3 millones y 3 gr. /24 horas, durante 10 días.
Alos 15 días se retiraron los puntos de la piel, ésta estaba bien cicatrizada, desplazable y sin señales

de dehiscencia de las suturas subyacentes. La zona intervenida no presentaba signos inflamatorios a excepción de un aumento de calor en toda la zona en la que estaba colocada la malla.
Tres meses después el abdomen de la novilla presentaba un aspecto perfectamente normal.
Cinco meses después la novilla había recuperado el nivel de desarrollo de sus compañeras de lote.

Discusión

La colocación intraabdominal de una malla sintética comporta obviamente un riesgo de rechazo por cuerpo extraño y un peligro de adherencias a estructuras abdominales. En medicina humana estos materiales protésicos se vienen usando con éxito desde los años 60, y existe una sólida evidencia clínica de su eficacia, si bien en colocaciones intraabdominales actualmente se usan materiales compuestos como el Gore –Tex., con una menor reactividad tisular.
Otra opción a considerar sería la colocación preperitoneal de la lámina sintética.
Esta técnica creemos que presenta mayores complicaciones a nivel de campo. Por un lado requiere una herniorrafia tradicional y sobre ella se fijaría la malla, pero la sutura transabdominal habríamos de hacerla a ciegas, sin la certeza de no interesar alguna estructura abdominal en los puntos.
Por otro lado, en vacuno, la imposibilidad de recubrir la totalidad de la malla con ninguna capa tisular anterior a la piel, complica mucho la cicatrización, lo que supone un mayor riesgo de infección y de mala integración de la prótesis. Hay que recordar que la estructura de este tipo de mallas permite una colonización de tejido conectivo a través de sus poros, para que se pueda regenerar el defecto en la pared abdominal. Esta colonización es tanto más rápida cuanto mayor es la vascularización de los tejidos circundantes.
La valoración riesgo/beneficio nos lleva a decantarnos por la colocación intraabdominal, aunque habría que estudiar en un futuro la sustitución del uso de la malla de polipropileno por otros materiales con menor capacidad inflamatoria.

Conclusiones

La utilización de este tipo de material protésico, susceptible de evolucionar hacia materiales más seguros, constituye hoy en día una herramienta práctica y asequible para el clínico de vacuno. Su precio en el mercado en 2008 (unos 70 euros para el tamaño descrito) apoya claramente su utilización no sólo en la resolución de hernias recidivadas, sino en primeras intervenciones para reducir el porcentaje de fracasos. La combinación de una herniorrafia convencional tras exéresis del saco herniario externo, con la colocación de un refuerzo sintético para reparar el defecto en la pared abdominal, constituye una técnica eficaz, rápida y económicamente viable para la resolución quirúrgica de hernias umbilicales en el ganado vacuno.

Referencias

- Reformulación conceptual de la técnica de reparación doble: una solución sencilla para defectos muy complejos de la pared abdominal, Alfredo Moreno-Egea, José Antonio Torralba, Germán Morales, y José Luis Aguayo Unidad de Pared Abdominal. Servicio de Cirugía General. Hospital Universitario J.M. Morales Meseguer. Murcia. España.
- Enfermedades del ganado vacuno lechero. William C. Rebhum, editorial Acribia
- Veterinary Medicine: Otto M. Radostits, Clive C. Gay, Kenneth W. Hinchcliff,
- Medicina interna y cirugía del bovino, Gerrit Dirksen, Hans-Dieter Gründer, Matthaeus Stöber,
- Técnica quirúrgica en animales, Alfonso Alexander ed. Interamericana 1986

DATOS IDENTIFICATIVOS DEL REMITENTE

Nombre: Jesús García Collado, Joaquín González Rodríguez
DNI 30616834 Q, 76950194Z
Institución: COOPERATIVA VALLES UNIDOS DEL ASON
Dirección: Bº VEGACORREDOR S/N
Población: Ramales de la Victoria 39800
Provincia: Cantabria
Teléfono/s 639615288,639615345
Fax 942678320
E-mail: veterinario@vallesunidos.com,alcomba@terra.es

Formato de presentación: Oral
En Ramales a 13 de Marzo de 2008





RESOLUCION QUIRURGICA DE UNA HERNIA UMBILICAL RECIDIVADA MEDIANTE LA COLOCACION DE UNA MALLA INTRAABDOMINAL

Jesús García Collado Joaquín González Rodríguez
Cooperativa Valles Unidos del Asón, Cantabria

Resumen
Los Lipoarabinomananos (LAMs) son lipoglicanos anfipáticos de las paredes celulares de las micobacterias patógenas descriptos como inmunomoduladores en modelo murino.
El objetivo de este trabajo es la evaluación del efecto producido por los LAMs en la respuesta inmune de terneros frente a antígenos no relacionados como OVA y GRc a fin de conocer su posible utilidad como adyuvante en vacunas bovinas.
La respuesta inmune (RI) innata fue evaluada por estallido respiratorio frente a levaduras (ER), la específica por linfoproliferación en células periféricas (LP), ELISA y Hemaglutinación (HA) en suero. Los grupos inoculados con LAM mostraron una disminución significativa del ER, un incremento en la LP específica para ambos antígenos y la disminución de los anticuerpos frente a OVA y GRc. Las IgM, IgG1, IgG2 e IgG3 específicas disminuyeron sus niveles en los terneros inoculados con LAM, siendo IgG2 el isotipo más afectado. Nuestros resultados muestran que los LAMs modulan la RI de los terneros frente a Ag T dependientes.

Introducción
Los LAMs se encuentran presentes en las paredes celulares de la micobacterias patógenas y no patógenas. Son moléculas anfipáticas compuestas por un esqueleto de mananos y arabinanos, un ancla de fosfomyo-inositol y finalmente una cubierta o no. Esto permite clasificarlos en: **MANLAM** (cubierta de manosas de cadena corta) característica de micobacterias patógenas como *Mycobacterium tuberculosis*, *M leprae*, *M*

avium subsp. *avium*; **PILAM** (una cubierta de fosfoinositol) encontradas en micobacterias oportunistas como *M. smegmatis* y *M fortuitum*; y **ARALAM** (sin motivo de cubierta) descripta en *M chelonae*.
Los LAMS son considerados un factor de virulencia ya que facilitan la supervivencia de la bacteria en células fagocíticas. Son reconocidos por diferentes receptores celulares como el receptor de manosa, receptores tipo Toll (TLR-2 o TLR-4) y DC-SIGN entre otros, además, pueden insertarse directamente en la membrana del huésped (Nigou *et al*, 2003).
Estudios realizados *in vivo* en modelos murinos o *in vitro* con células humanas o de ratón describen a esta molécula como inmunomoduladora. La producción de IL-12 y TNF-α por parte de células T humanas fue inhibida por **MANLAM** de *M. tuberculosis* (Nigou *et al*, 2001). Mientras que los linfocitos T $CD4^{-}CD8^{-}$ fueron estimulados identificando a los CD1 como moléculas presentados (Sieling *et al*, 1995).
Dado que los LAMs ejercen una acción inmunomoduladora, y que no se han realizado estudios *in vivo* en la especie bovina, el objetivo de este trabajo es la evaluación del efecto producido por los LAMs en la respuesta inmune de terneros frente a antígenos T dependientes no relacionados como OVA y GRc a fin de conocer su posible utilidad como adyuvante en vacunas bovinas.

Material y métodos
Se realizó la extracción química y purificación de LAM a partir de un cultivo de *Mycobacterium avium* subsp. *avium* inactivado por calor (Maai) según el protocolo descripto por Hamasur y colaboradores (1999). La caracterización antigénica se realizó por la técnica de ELISA usando el anticuerpo monoclonal anti-LAM CS-35 (provistos por Dr J. Belisle, Colorado State University). Se utilizaron 15 terneros de 1 año de edad, mantenidos en campos naturales libres de tuberculosis. Se asignaron 3 animales al azar en 5 grupos: **I:** PBS en adyuvante de Freund incompleto (AFI); **II**: 1mg de OVA-AFI y 5% GRc; **III**: 1mg de OVA +1 mg de LAMs-AFI y 5% GRc; **IV**: 2 mg de Maa-AFI; **V**: 2 mg de Maa+ 1 mg de LAM-AFI. El plan de inmunización fue de tres dosis de diferentes combinaciones de antígenos con o sin LAMs por vía subcutánea cada 15 días.
A fin de evaluar la respuesta inmune innata se midió ER de células adherentes frente a levaduras utilizando la técnica de NBT (Virella *et al*, 1990) adaptada por L. Ramayo (comunicación personal). Los resultados se expresan como Unidades de ER (UER= X DO de la muestra/ X DO del control negativo *100). La inmunidad específica fue evaluada mediante LP de células periféricas frente a OVA, 1mg/ml, GRc lisados, 1mg/ml y PPD aviar e inespecíficamente frente a ConA, 2.5ug/ml utilizando sangre entera heparinizada (Benyoucef, F, *et al*, 1997). Los resultados se expresan como Índice de Estimulación (IS= X cpm muestra/X cpm control).
La presencia de anticuerpos específicos fue determinada frente a OVA y Maai por la técnica de ELISA y para GRc se titularon los anticuerpos específicos utilizando la técnica de HA con GRc al 5%. Los resultados se expresan como rango de títulos obtenidos por ELISA y HA o Unidades de ELISA, UE= X DO de la muestra/ X DO control negativo*100 para los isotipos. Los análisis estadísticos se realizaron por t de Student para muestras apareadas o para dos poblaciones según corresponda. Los resultados se expresan como promedio +/- desvío estándar (DS). Los valores de $p<0.05$ se consideraron significativos.

Resultados y discusión
El LAM disminuye el ER: El ER de células adherentes disminuyó en animales inmunizados con OVA, GRc y LAM respecto de los animales inmunizados solo con OVA y GRc (Tabla).
La producción de IRO disminuyó significativamente en los animales inmunizados con LAM también cuando se evaluó el ER antes (130+/-25.24) y post inmunización (61.11+/-15.52, p=0.0058), sin embargo en los animales utilizados como control no se encontrados dichas diferencias (92.5+/-11.5 y 127.78+/- 38.49, p=0.28). Dicha disminución coincide con los resultados obtenidos por Chan, y colaboradores, (1989, 1991, 2001) quienes demostraron que tanto LAM de *M. tuberculosis* como los fenolglicolipidos presentes en las paredes celulares de *M leprae* inhiben la producción IROs en macrófagos humanos.
El LAM incrementa la proliferación de células periféricas: La LP de células periféricas se incrementó en animales inmunizados con OVA, GRc y LAM cuando fueron estimulados con antígenos específicos (OVA y GRc) y con mitógenos (ConA), ver Tabla.
En estudios realizados por Prigozy y col. en 1997 y Sieling y col. en 1995 se vió que el LAM de micobacterias es reconocido por células presentadoras de antígeno y presentado por CD1b a linfocitos T y de esa forma induce la activación de citoquinas proinflamatorias y la inducción de respuesta inmune celular, posiblemente

el incremento en el IS detectado en los terneros inmunizados con LAM se deba a un aumento en la proliferación de células T que reconocen moléculas presentadas por CD1.

El LAM inhibe la respuesta de anticuerpos: El título de anticuerpos específicos disminuyó en los animales inmunizados con LAM independientemente de tipo de antígeno utilizado, soluble (OVA) o particulado (GRc) (ver Tabla).

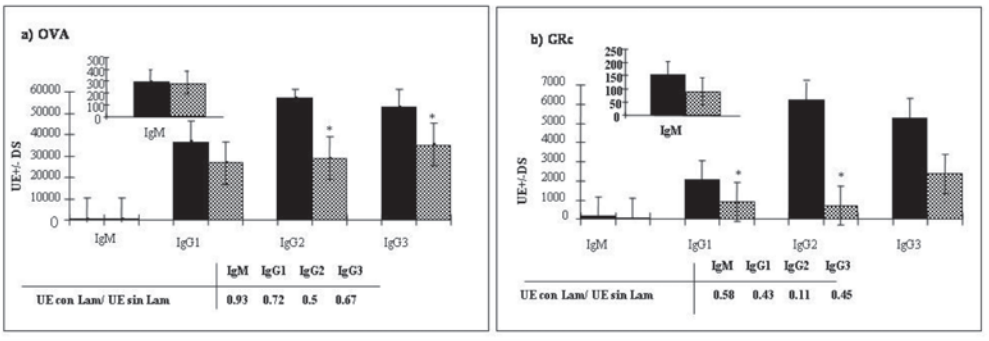
Tabla: Estallido Respiratorio, proliferación y títulos de anticuerpos en terneros inmunizados con y sin LAM.

Tratamiento	IER (UER+/-DS)	LP (IS+/-DS)			Rango de Títulos	
		ConA	OVA	GRc	OVA (ELISA)	GRc (HA)
OVA+GRc+AFI	127,78±38,49	12.05± 4.53±	1.91± 0.51	1.851± 0.76	[80000-160000]	[400-800]
OVA+GRc+LAM+AFI	61.11±15.52*	19.9± 7.76*	2.74± 0.85*	2.8± 0.58*	[10000-20000] *	[50-100] *

Asterisco (*) indica p<0.05.

La respuesta de todos los isotipos evaluados disminuyó en animales inmunizados con LAM siendo el más afectado el isotipo IgG2 tanto para OVA como para GRc (Figura) mostrando el efecto supresor producido por LAM.

Figura: Isotipos específicos frente a OVA y GRc. Asterisco (*) indica p<0.05.



Conclusiones

Nuestros resultados muestran que los LAMs afectan la RI de los terneros:

-Disminuyendo la producción de Intermediarios Reactivos del Oxígeno de células adherentes.

-Incrementando la proliferación de células periféricas.

-Disminuyendo los niveles de anticuerpos circulantes específicos frente a los antígenos utilizados para la inmunización, siendo IgG2 el isotipo mas afectado.

Referencias

- Benyoucef, F *et al* 1997. *Pathol. Biol (Paris)* **45(5):**400-3
- Chan, J *et al*, 1989. *Proc. Natl. Acad. Sci*. **86**: 2453-2457.
- Chan, J *et al*, 1991 *Infect Immun*. **59(5):**1755-61.
- Flynn, J and Chan, J, 2001 *Annu. Rev. Immunol*. **19**:93-129.
- Hamasur, B *et al*, 1999. *Immunol. Med. Microbiol*. **24**, 11-17.
- Nigou, J *et al*, 2001 *J. Immunol*. **166**:7477-7485.
- Nigou, J *et al*, 2003. *Biochimie*, **85**:153-166
- Prigozy TI *et al*, 1997, *Immunity* **6(2)**: 187-197.
- Sieling, PD *et al*. 1995.*Science* **269(5221)**:227-30.
- Virella, G *et al*, 1990. *J. Clin, Lab, Anal*. **4(2):**86-9.

DATOS IDENTIFICATIVOS DEL REMITENTE
Nombre: Eloy Carlos.
Apellidos:..Fernández.
Institución: Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad de Buenos Aires.
Dirección: Chorroarin 280 Localidad:Ciudad de Buenos Aires.
C.P.: 1427
País:..ARGENTINA
Tel.: 54 1145248435 Fax: 54 1145248435
email: eloy@ fvet.uba.ar

EXTIRPACIÓN QUIRÚRGICA DE FIBROPAPILOMAS DE PENE EN SEMENTALES BOVINOS

Autor: Alfonso Urkitza Jorge
Veterinario BI-235
Gatika-Bizkaia

Introducción: Los fibropapilomas de pene afectan aun porcentaje del 1.5% de machos bovinos, sobretodo entre los 6 meses y dos años de edad. De etiología vírica, normalmente son muy sangrantes, dolorosos y recidivantes. La formas son variadas: racimosos, planos y ocasionalmente pueden ser múltiples. Suelen aparecer en la punta del pene pero también en el cuerpo, sangrando con facilidad ya que tienden a desintegrarse cuando la superficie es rugosa. A menudo imposibilitan la cópula la capacidad reproductiva se ve afectada[1].
El agente etiológico del papiloma genital en bovinos es el Papilomavirus bovino tipo 1 y 2 del género de los Papilomavirus, de la familia *Papovaviridae*[2,3] . No se considera el tratamiento etiológico aunque se pueden utilizar vacunas autógenas para su prevención. Con la inseminación artificial se creía que estaba erradicado en Estados Unidos. ya que mediante la inseminación artificial. se evitaba el contagio a las hembras ya que éstas actuaban como reservorios

Material y Métodos: Este trabajo ha sido realizado entre los años 1998-2007 en el centro de sementales bovinos Aberekin, en el que el semen se utiliza para la inseminación artificial. Dicho centro está ubicado en la localidad vizcaína de Derio La población media de animales es 200-250 anual, con una producción de 1.5 millones de dosis al año que se exportan a 45 países de todo el mundo.



El objetivo de la intervención quirúrgica es doble, por una parte permitir la extracción no dolorosa del semen y que dicho semen no se contamine con sangre y pueda ser comercializado.
La extirpación se hace con el animal en estación, inmovilizado en un potro de sujeción y previa sedación media con xilacina al 20%/im (Xylagesic[R]) 2-3 cc según peso)[4]. Tras la sedación, se deja al animal en una zona próxima al potro de sujeción, pero a su vez tranquila para evitar un posible, aunque no frecuente, efecto paradójico de la droga. Se espera a que la sedación alcance los niveles adecuados (salivación abundante, caída de parpados, somnolencia, etc), para la manipulación del animal, de manera que la intervención posterior se produzca con el menor riesgo posible. Llegado este punto se coloca en el potro de sujeción y se le inmovilizan las extremidades posteriores y anteriores y mediante correas se suspende ligeramente en el aire. También se le inmoviliza la cabeza.
La siguiente fase del proceso es el afeitado y lavado de la zona que se hace con soluciones jabonosas yodadas. En los casos en los que el pene ya se ha exteriorizado por efecto de la sedación, se pinza para evitar su retracción (aunque a menudo dicha retracción se produce. con el simple contacto de la pinza). Cuando la exteriorización del pene no se produce, recurrimos a la utilización de un electroeyaculador.
El funcionamiento de un electroeyaculador consiste en introducir una sonda vía rectal hasta situarla en las zonas anejas a la próstata y vesículas seminales, posteriormente, mediante descargas eléctricas de dos segundos de duración y administradas a intervalos dos segundos de forma automática, se consiguen la estimulación del toro provocándole una erección continua que permite el pinzamiento del pene. Una vez pinzado es sujeta por un operario para poder realizar la exéresis del fibropapiloma con un escalpelo. La exéresis ha de realizarse procurando provocar la mínima agresión en la zona, si bien es muy importante retirar todo el tejido alterado con el objeto de evitar una recidiva. Seguidamente se cauteriza por calor.
En nuestra práctica con todos los toros operados para la cauterización hemos utilizado un quemador de cuernos debido a su fácil manejo ya que permite aplicar calor solo en la zona afectada. Finalizada la exéresis y la cauterización se administra tratamiento farmacológico a base de fármacos antihemorrágicos, antibioticoterapia local y sistémica y reconstituyentes. La pauta administrada fue: Antihemorragico, Etamsilato (Hemo141[R]) 20 ml/iv más 20 ml/im además de Vitamina K 20 ml/im. Antibioticoterapia local: Sulfamidas (Framicas polvo[R]) a discreción en el pene y en la región prepucial. Antibioticoterapia sistémica: Penicilina-estreptomicina 50ml/im (Biopencil strepto 20[R)] 10 millones de unidades de penicilina/día durante 5-7 días .Reconstituyente: Roborante Calier[R] 100 ml/iv en perfusión.
Posteriormente, se deja al animal en reposo durante un mes con el objeto de lograr una buena cicatrización y de minimizar el riesgo de infección. Destacar que la cama del box es de paja y no de serrín o cualquier otro material para evitar elementos de dicha cama puedan penetrar en el interior del prepucio Pasado el mes los animales van a la sala de monta para comprobar que la misma se realiza sin problemas y no hay recidivas. En cuanto todo es correcto se procede al análisis del eyaculado.

Resultados: La incidencia de fibropapilomas en estos años ha sido de 0,5-1,5%.. Se han encontrado situados en el glande y zonas próximas. En estos lugares es donde ocasionan los problemas mas graves, aunque también y en menor frecuencia se encuentran situados a lo largo del pene. Las características de los semsentales se encuentran en la tabla 1
Se han intervenido 20 casos con edades comprendidas entre 18 y 24 meses, salvo uno que tenia 4 años. La detección de los papilomas se realizó en el momento de la monta en la gran mayoría de los casos, ya que es entonces cuando el semental exterioriza el pene y los papilomas son visibles. También es cierto que algunos casos se detectaron al analizar el semen y éste estaba contaminado con sangre y en una revisión posterior se localizaban los papilomas. Los sementales, debido a la sensibilidad de la zona rehusaban por dolor realizar la monta. En otros casos también debido al dolor la erección se producía pero se volvía perder y no se producía la eyaculación.
El semen analizado, al mes de la intervención quirúrgica, no presentó contaminación por sangre en ninguno de los casos. En ningún animal aparecieron complicaciones y sólo hubo un caso que precisó de mas de 30 días de reposo post intervención debido a que la cicatrización no se había completado, hecho que tuvo lugar pocos días después.

En conclusión, la aplicación de esta técnica es fácil, segura y permite una pronta recuperación y una rápida utilización del semental, hecho importante debido a su alto valor genético. El índice de complicaciones es nulo y las recidivas hasta ahora inexistentes.

Raza: Holstein
Edad: 18 a 24 meses (uno 4 años)
Localización de los fibropapilomas: 100% glande, 20% zonas pròximas, 2% cuerpo
Número de papilomas: 80% múltiples
Forma: verrugosos y sangrantes en glande planos en cuerpo de pene
Recuperación media: 30 días (extracción de semen no contaminado)

Tabla 1: Características de la muestra

Bibliografía:

- Quiroz, MMA, Ávila GJ. Alternativa para el tratamiento definitivo del fibropapiloma peneano bovino. Abstract PANVET. Argentina 2004
- El Tayb Ebu Elzein, John P, Sundberg, et al. Genital bovine papillomavirus infection inSaudi Arabia J Vet Diagn Invest 3:36-38 (1991)
- Pacheco J. Estudio morfológico del fibropapiloma bovino. Tesis 297 1974.Universidad central de Venezuela. Facultad de ciencias veterinarias
- Castiñeiras E, Segade M,Villanueva B, Gonzalez A: Administración epidural de lidocaína, morfina y detomidina para la resección quirúrgica de un tumor de pene en un toro joven. REDVET Rev. electrón. vet. Vol. VIII, Nº 4, Abril/2007



EXPLORACIÓN OCULAR Y PRUEBAS COMPLEMENTARIAS.

Ferrer Mayayo, Luis Miguel (2); Ramos Antón, Juan José (2); Cebrián, Yagüe, Luis Miguel (1) y Espada Aguirre, Mónica (1-2)
Gabinete Técnico Veterinario S.L.
Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza

Correo electrónico: lmferrer@unizar.es

Resumen
El órgano de la vista es una de las partes de los bovinos que menos exploramos en nuestras actuaciones clínicas, a pesar de la importancia que tiene en el comportamiento del animal y a su vez en la producción del mismo.
La observación detenida del animal y un mínimo de material son suficientes para llegar a obtener los datos más relevantes de la funcionalidad de este órgano y tomar las muestras necesarias para su análisis.
En esta comunicación se describe la exploración rutinaria de este órgano, siguiendo una exposición ordenada, comenzando por el comportamiento del animal y prosiguiendo con la zona periférica y más externa hasta finalizar en la retina y la interpretación de la función nerviosa. Paralelamente a la rutina de exploración, se van comentando diferentes técnicas, pruebas complementarias y toma de muestras. Acompañando a las descripciones, se comentan algunos procesos patológicos en los que puede ser interesante la realización de esta exploración y su correcta interpretación en la clínica bovina.

Introducción
A la hora de valorar el sentido de la vista debemos estudiar tanto el ojo como las alteraciones nerviosas que influyen sobre él. Asimismo valoraremos la posición del animal, de su cabeza y el comportamiento al caminar por espacios conocidos y desconocidos. Con los datos obtenidos podemos llegar a saber si el



animal ve y cual puede ser el ojo afectado.
Durante esta exploración es fácil comprobar la presencia de anormalidades congénitas o adquiridas en el globo ocular (anoftalmia, microftalmia, enoftamos y exoftalmos), en el eje visual de los mismos (estrabismos) así como movimientos de nigtalmos que puedan ser detectados sin necesidad de más manipulación.
Una vez realizados los pasos anteriores, comenzaremos a explorar el ojo y sus anejos con una delicadeza y cuidado acorde con sus estructuras. La exploración del ojo presenta una serie de pecularíedades:

- Pueden existir signos secundarios que enmascaren al principal.
- Es preciso conocer la secuencia de aparición de los síntomas.
- El ojo refleja enfermedades sistémicas.
- Necesitamos una buena fuente de iluminación en una zona de penumbra.
- A veces, es necesario tranquilizar al animal.

Material y métodos
La exploración del ojo va a ser sistemática y ordenada, comenzando con la evaluación de los reflejos y abordando desde los párpados hasta la retina. Cada una de las zonas tiene sus características y requiere un material especial.
Existe un material básico para realizar una correcta exploración y otro opcional que nos permite realizar maniobras más avanzadas, Este material no es frecuente que se adquiera para su uso en vacuno, pero es fácil que se posea cuando se trabaja además de bóvidos con équidos o pequeños animales.
Entre el básico tenemos:linterna bolígrafo, oftalmoscopio directo portátil (en su defecto podemos utilizar la luz de un otoscopio), lupa planoconvexa 20D, hisopos, cepillos interdentales, portaobjetos, tijeras y pinzas de conjuntiva, tiras oftálmicas de fluoresceína y tiras de Schirmer. En el material opcional encontramos: Verde de lisamina (tiras o solución), gafas lupa, lámpara de hendidura portátil, oftalmoscopio indirecto binocular, tonómetro de Schiötz o ton-pen XL y ecógrafo.
Comenzaremos por evaluar los reflejos, que se pueden dividir en sensoriales y sensitivos. En el primer grupo tenemos el reflejo de amenaza, de tipo consciente (no lo tienen los terneros recién nacidos o muy jóvenes), y el reflejo fotomotor, inconsciente, que ha su vez comprende el pupilar directo y el pupilar indirecto, que se pueden realizar fácilmente con una linterna bolígrafo.
Los reflejos sensitivos a evaluar son el palpebral, tocando suavemente el canto medial o lateral del los párpados, y el corneal, tocando la superficie de la cornea con un objeto romo (es de los últimos reflejos que se pierden).
Una vez comprobados los reflejos, pasaremos a explorar los párpados. Las alteraciones más frecuentes que podemos encontrar en la parte cutánea del párpado son: quemosis, ptosis, entropion (típico de animales muy flacos o deshidratados), ectropion, distiquiasis, triquiasis, blefaritis, blefaroespasmo, orzuelo, lagoftalmos (asociado a bulftalmia y glaucoma con incremento del globo ocular), simblefaron, chalazion, heridas y tumores (papilomas y tumor de células escamosas). La porción conjuntival del párpado puede presentar: palidez (anemias), hemorragias, conjuntivitis, heridas, quistes dermoides y diferentes coloraciones (ictericia, cianosis, etc).
La presión en la zona dorso-medial o en la lateral del globo ocular, a través del párpado, nos permite visualizar el cuerpo clignotante (tercer párpado) y sus alteraciones.
A continuación exploraremos la producción y drenaje de lágrimas. Para medir la secreción lacrimal podemos realizar el Test de Schirmer, colocando una tira graduada en el canto del párpado y midiendo la zona humedecida por las lágrimas. Con esta técnica podemos diferenciar la queratitis seca y los ojos con normal o excesiva producción lacrimal. Si el animal presenta epífora, podemos realizar la prueba de la fluoresceína para comprobar la permeabilidad de los conductos lacrimales, mediante la colocación de tiras o solución de fluoresceína sobre cornea y conjuntiva ocular y comprobando en pocos minutos como drena hasta los ollares cuando está permeable y como rebosa por el párpado cundo no drena suficientemente.
A partir de este punto podemos proseguir con el algoritmo diagnóstico del "ojo rojo", ya que según Marot y Jegou, la lesión ocular, sea del tipo que sea, siempre se caracteriza por la aparición de un enrojecimiento del ojo.

La reacción positiva al test de la neosinefrina, contracción de los vasos conjuntivales y viraje de color rojo a un color aclarado, nos sugerirá una conjuntivitis y el resultado negativo, permanecen rojos los vasos, nos indica la necesidad de observar los vasos episclerales y comprobar la presión intraocular (PIO). La PIO puede ser medida con los dedos, realizando sobre el globo ocular una ligera presión con los dedos índices o pulgares de ambas manos a la vez, o mediante tonómetros (de Schiotz y Tonopen). El glaucoma puede ser diagnosticado con esta técnica.

Las lesiones más frecuentes que encontramos en cornea son: queratitis (especialmente de tipo infeccioso por *Moraxella bovis*), paño (*pannus*), queratocele, úlceras y traumatismos (incluso con perforación de la misma). La comprobación de la existencia de úlceras re realiza con la prueba de la fluoresceína, anteriormente comentada, o mediante flash luminosos dirigidos a la cornea y que nos proporcionan una imagen con los bordes del reflejo del flash difuminados en caso de pérdida de su superficie lisa y nítida cuando no se ha alterado.

A nivel de la úvea anterior (iris y cuerpo ciliar) podemos diagnosticar su inflamación o iridociclitis que generar partículas que queden sueltas y restos de fibrina en la cámara anterior, provocando el efecto Tyndall (imagen similar al polvo visto en suspensión en una habitación muy iluminada). En la úvea posterior (coroides) encontramos la presencia de coroiditis, frecuentemente asociada a la inflamación de la retina, coroidoretinitis.

Mediante la observación del cristalino mediante linterna, oftalmoscopio, ecógrafo o a simple vista podemos diagnosticar luxación (imagen de media luna), esclerosis (ligera opacidad) y cataratas (opacidad total y orificio pupilar blanco).

La observación ecográfica del polo posterior del ojo nos permite comprobar fácilmente la presencia desprendimiento de retina (imagen en forma de V, que llega hasta la mácula al realizar el corte a este nivel).

La toma de muestras es sencilla y específica en cada segmento, pudiendo realizarse con material de rutina como: hisopos, jeringuillas, cepillos interdentales, pinzas, tijeras o parte no cortante de la hoja del bisturí.

Conclusiones

La exploración ordenada del órgano de la vista es una actuación veterinaria que puede realizarse de forma sencilla y sin necesidad de material costoso y específico, permitiéndonos obtener datos importantes para el diagnóstico de enfermedades propias de la vista y de otras que afectando a diferentes partes del cuerpo se reflejan en este órgano.

Bibliografía

- ASHDOWN, R.R. et al. (1996). *Color atlas of veterinary anatomy*. Mosby-Wolfe.
- BLOWEY, R.G. and WEAVER, A.D. (2004). *Atlas a color de enfermedades y trastornos del ganado vacuno*. 2ª Ed. Elsiever España.
- BRAUND, K.G. (1985). *Localizating lesion using neurologyc síndromes*. Vet. Med. 80, (7,8,9).
- BRAUND, K.G. (1986). *Veterinary Neurology*.Ed. Williams and Wilkins, Baltimore, USA.
- DESBROSSE, A.M. (1989). *L´examen clinique de l´œil*. Rec. Med. Vet. 165 (3), 187-198.
- JEGOU, J.P. et MAROT, O. (1989). *L´œil rouge chez les carnivores domestiques*. Rec. Med. Vet., 165, (3), 281-288.
- MAROT, O. et JEGOU ; J.P. (1988). *L´œil rouge : protocole d´approche por le diagnostic differenciel*. Le Point Vet., 20, (112).
- PASTOR MESEGUER, J. (1999). *Manual de Propedéutica y Biopatología clínicas veterinarias*. 2ª Ed. Mira Editores.
- RADOSTIS, O.M., Mathew, I.G., HOUSTIN, D.M. (2001). *Examen y diagnóstico clínico en veterinaria*. Ediciones Harcourt. Madrid.





Estudio de patógenos zoonóticos en granjas de vacuno lechero de Galicia

M. J. Vilar, F. J. García-Peña*, F. J. Diéguez, I. Domínguez, I. Pérez*, M. L. Sanjuán,
J. L. Rodríguez-Otero, E. Yus
Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios (Facultad de Veterinaria de Lugo), Universidad de Santiago de Compostela
* Laboratorio de Microbiología, Laboratorio Central de Veterinaria de Algete (Madrid)

Resumen
En 98 granjas de ganado vacuno lechero se recogieron muestras de leche de tanque, muestras de heces de vacas en lactación y del ensilado usado como alimento, detectándose *L. monocytogenes* en el 6,1%, 9,3% y 6,0%, respectivamente. Se pudo confirmar la relación existente entre la calidad de conservación del ensilado y la presencia de *Listeria* spp. en el mismo, así como con su posterior aislamiento de heces y de la leche. Como potenciales factores de riesgo en la contaminación de la leche del tanque de refrigeración resultaron significativos el orden de ordeño y el sistema de ordeño utilizado.

Así mismo, se recogieron muestras fecales a partir de animales en lactación hasta un total de 254 heces. *Campylobacter* spp. y *Arcobacter* spp. presentaron una prevalencia total en granjas del 36,0% y 68,5%, y en animales individuales del 20,5% y 41,7%, respectivamente. Unas buenas prácticas de cloración del agua disminuía la excreción de las especies de *Arcobacter* y *Campylobacter* en las heces.

Introducción
Las bacterias de los géneros *Listeria* spp., *Campylobacter* spp. y *Arcobacter* spp. son microorganismos potencialmente zoonóticos para el hombre que pueden ser detectadas en explotaciones de ganado vacuno lechero.



La presencia de estas bacterias en la leche cruda del tanque de almacenamiento de la granja puede considerarse como un indicador higiénico indirecto, ya que son reflejo de una falta de higiene durante la rutina del ordeño, de instalaciones sucias, de equipos o tanques de refrigeración deficientemente higienizados, etc. El origen de dicha contaminación láctea puede ser las heces de los animales y, por lo tanto, la infección podría proceder del alimento (ensilado y agua de bebida), o incluso del propio ambiente y suelo de la explotación. Por lo tanto, es importante evaluar las distintas prácticas de manejo e higiene en las explotaciones de ganado vacuno lechero, para valorar el riesgo de la presencia de estos microorganismos en las mismas.

En este trabajo se presentan las prevalencias de *Listeria* spp. en leche de tanque de refrigeración, ensilados y heces de animales en lactación, *Campylobacter* spp. y *Arcobacter* spp. en heces de vacas clínicamente sanas en lactación, en granjas de vacuno de aptitud lechera de las provincias de A Coruña y Lugo.

Material y métodos

98 granjas seleccionadas al azar fueron estudiadas para la presencia de *Listeria* spp. El número medio de animales por granja fue 61,3 (8-480) y de vacas en lactación fue 35,0 (4-260). El 41,2% de estas granjas disponían de estabulación libre y el 58,8% restante eran estabulaciones fijas. Se recogieron de manera aséptica y en envases de plástico estériles las siguientes muestras: i) 98 muestras de leche de tanque de refrigeración, ii) 97 muestras de heces, recogidas de la ampolla rectal de 3 vacas en lactación clínicamente sanas, iii) 83 muestras de ensilado tomado de las partes media y profunda del silo. Todas fueron enviadas al laboratorio bajo refrigeración, el análisis se realizó en las 24 horas posteriores a la recogida de las muestras.

La prevalencia de *Campylobacter* spp. y *Arcobacter* spp. fue analizada en 89 explotaciones, con una media de vacas por explotación de 61,9 (17-239) y de vacas en lactación de 40,4 (13-179). El 65,2% de estas explotaciones presentaban un sistema de producción en estabulación libre y el 34,8% estabulación fija. En cada granja fueron recogidas muestras de heces de la ampolla rectal de vacas en lactación, utilizando guantes humedecidos en solución salina estéril. Se recogieron un total de 254 muestras fecales, aproximadamente 75 gramos por animal, en botes estériles que eran mantenidos en refrigeración hasta su recepción en el laboratorio de análisis, 24 horas posteriores a su recogida. Ninguno de los animales muestreados presentaba una sintomatología compatible con infecciones por *Arcobacter* spp. o *Campylobacter* spp.

Resultados y discusión

La tabla 1 muestra la prevalencia de las distintas **especies de *Listeria*** en leche, heces y ensilados analizados. Se detectó *Listeria* spp. en el 16,3% de las muestras de leche recogidas en tanque, valor superior a los encontrados en otros estudios (Van Kessel y col., 2004. *L. innocua* fue la especie más prevalente, estando presente en un 7,1% de las granjas, seguida de *L. monocytogenes* con un 6,1%.

Tabla 1: Prevalencia de las diferentes especies de *Listeria* en leche de tanque, heces y ensilado en 98 granjas de vacuno lechero

Listeria spp.	Leche	Heces	Ensilado
	nº positivos (%)	nº positivos (%)	nº positivos (%)
L. monocytogenes	6 (6,1)	9 (9,3)	5 (6,0)
L. innocua	7 (7,1)	22 (22,7)	16 (19,3)
L. welshimeri	1 (1,0)	4 (4,1)	4 (4,8)
L. grayi	2 (2,0)	4 (4,1)	2 (2,4)
L. ivanovii	-	1 (1,0)	-
L. seeligeri	-	-	1 (1,2)
Total	16 (16,3)	40 (41,2)	28 (33,7)

Con respecto a las muestras de origen ambiental, se detectó presencia de *Listeria* spp. en un 32,2% de las 180 muestras de ensilados y heces analizadas. Estos valores tan altos confirman la importancia del origen ambiental como fuente de *Listeria* spp. en las explotaciones lecheras. En el 7,2% de las muestras de ensilado y en el 3,1% de las muestras de heces analizadas se encontró más de una especie del género *Listeria*. La eliminación de *Listeria* spp. en las heces de animales clínicamente sanos demuestra que las heces de estos animales pueden ser una fuente de contaminación de la leche (Unnerstad y col., 2000).
En el 4,1% de las explotaciones visitadas se encontró *Listeria* spp. de manera simultánea en los tres tipos de muestras, en el 9,2% se detectó en heces y leche, en el 8,2% en ensilado y heces y en el 6,1% en ensilado y leche. La presencia de *Listeria* spp. en ensilados y heces es un factor de riesgo para que también se encuentre en la leche del tanque de refrigeración. Según Sanaa y Ménard (1994) la presencia de *L. monocytogenes* en ensilados y/o en heces multiplica por 20 el riesgo de contaminación de la leche. En nuestro estudio el aumento de este riesgo estaba comprendido entre un 2 y 3.
En el 28,6% de las explotaciones que presentaron *Listeria* spp. en ensilado también se aisló en leche. El riesgo de contaminación de la leche aumentó en aquellas explotaciones con un ensilado de mala calidad y que además realizaban el ordeño de manera higiénicamente deficiente. El 24,3% de las granjas en las que se encontró *Listeria* spp. en heces también la presentaron en leche. Otros trabajos también consideran el material fecal como una potencial fuente de contaminación exógena de la leche, principalmente durante el ordeño y debido a un mal manejo higiénico (Sanaa y col., 1994). De las granjas con *Listeria* spp. en ensilados, el 38,1% presentaban *Listeria* spp. en heces, aunque no se encontraron diferencias significativas entre la contaminación de heces de animales clínicamente sanos y el consumo de ensilado.
El 68,5% de las 89 explotaciones estudiadas presentaron como mínimo un animal positivo a ***Arcobacter* spp.** Este valor se encuentra por debajo del descrito por Wesley y col. (2000) que en 31 granjas de vacuno lechero localizadas en diferentes regiones de EE.UU., observaron que el 71% de las mismas eran positivas. En relación a los animales individuales, 106 (41,7%) de las 254 muestras de heces analizadas fueron positivas a *Arcobacter* spp. La transmisión de las especies de *Arcobacter* se produce más frecuentemente en climas cálidos (Van Driessche y col., 2005) como el de España. Las infecciones mixtas no fueron frecuentes y únicamente un 15,3% de las vacas presentaron heces contaminadas por una o más especies de *Arcobacter* spp. Estos animales estaban localizados en 30 granjas y representó el 36,8% de las granjas positivas.
De las explotaciones visitadas en nuestro estudio, 32 (36,0%) presentaron como mínimo un animal positivo a ***Campylobacter* spp.** El porcentaje de *Campylobacter* spp. en las muestras fecales de los animales analizados en nuestro estudio fue del 20,5% (52/254), valor superior al 9,2% de 120 vacas analizadas en Dinamarca (Nielsen, 2002). La diversidad en los valores de las prevalencias obtenidos en los distintos estudios puede deberse a los métodos de laboratorio utilizados para su aislamiento e identificación, a las variaciones geográficas y estacionales, siendo mayor en primavera (Sato y col., 2004), a la edad de los animales muestreados (Stanley y col., 1998) o, incluso, a la excreción intermitente o en cantidades menores al límite de detección por las técnicas de laboratorio (Nielsen, 2002).

Referencias

- Nielsen, E. M. 2002. Ocurrence and strain diversity of thermophilic campylobacters in cattle of different age groups in dairy herds. *Lett Appl Microbiol*, 35: 85-89.
- Sanaa, M.; Ménard, J. L. 1994. Contamination du lait cru par *L. monocytogenes*: origines, facteurs de risque, prévention. *Rec Méd Vet*, 170: 437-442.
- Sato, K.; Bartlett, P. C.; Kaneene, J. B.; Downes, F. P. 2004. Comparison of prevalence and antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* spp. isolates from organic and conventional dairy herds in Wisconsin. *Appl Environ Microbiol*, 70: 1442-1447.
- Unnerstad, H.; Romell, A.; Ericsson, H.; Danielsson-Tham, M. L.; Tham, W. 2000. *Listeria monocytogenes* in faeces from clinically healthy dairy cows in Sweden. *Acta Vet Scand*, 41: 167–171.
- Van Driessche, E.; Houf, K.; Vangroenweghe, F.; De Zutter, L.; Van Hoof, J. 2005. Prevalence, enumeration and strain variation of *Arcobacter* species in the faeces of healthy cattle in Belgium. *Vet Microbiol*, 105: 149-154.



Monitorización del *status* de infección por el BVDV en rebaños lecheros

Francisco J. Diéguez [a], Eduardo Yus [a], María L. Sanjuán [a], María J. Vilar [a], Ignacio Arnaiz [b]
[a] *Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios (Facultad de Veterinaria). Universidad de Santiago de Compostela*
[b] *Laboratorio de Sanidade e Produción Animal de la Xunta de Galicia*

1. Resumen

Durante los años 2004 y 2005 se desarrolló una investigación para analizar la relación entre los niveles de anticuerpos frente al BVDV en tanque de leche y la seropositividad del rebaño y fundamentalmente, para evaluar la eficacia de la medida de los niveles de anticuerpos en tanque de leche como método para la monitorización del *status* frente al BVDV de rebaños lecheros. En 81 explotaciones todos los animales de más de 1 año de edad fueron sangrados y los sueros analizados con un ELISA de bloqueo basado en la detección de anticuerpos anti-p80. Al mismo tiempo, se recogieron en todos los rebaños muestras de leche de tanque que fueron analizadas con el mismo ELISA. A continuación, se recogieron dos nuevas muestras de leche de tanque a intervalos de nueve meses desde la primera. Se observó un buen acuerdo entre la seroprevalencia de los rebaños y el porcentaje de inhibición de las muestras de tanque. Durante el seguimiento, granjas con infección activa por el BVDV al comienzo del estudio mostraron un descenso estadísticamente significativo del nivel de anticuerpos en leche tras la eliminación del virus. Por el contrario, en aquellas granjas que se infectaron con el BVDV durante el seguimiento, se observó un incremento significativo. Los restantes rebaños, en los que no se observaron infecciones activas durante todo el estudio, reflejaron siempre elevados porcentajes de inhibición en leche de tanque, con una leve tendencia hacia el aumento.



2. Introducción

Para realizar la monitorización de la BVD, el ELISA de anticuerpos en tanque de leche podría ser una buena herramienta en términos de eficacia y económicos para detectar nuevas infecciones. Se ha podido establecer una buena correlación entre la prevalencia de animales seropositivos en un rebaño y el nivel de anticuerpos en tanque de leche (Niskanen, 1993). Así, los objetivos de este trabajo fueron evaluar la validez de un ELISA de bloqueo en muestras de leche de tanque para la monitorización de la BVD.

3. Material y métodos

3.1. Explotaciones estudiadas

Este estudio fue realizado en 81 explotaciones bovinas de leche de Galicia pertenecientes a Arupaciones de Defensa Sanitaria Gandera (ADSG).

3.2. Diseño del estudio y análisis de muestras

Inicialmente se sangraran todos los animales mayores de un año y se recogio para cada explotación una muestra de tanque de leche (primer muestreo). En caso de evidencia, basándonos en las edades de los animales seropositivos, se investigaba la presencia de animales PI, estos eran eliminados y, por último, los animales neonatos se analizaban durante el siguiente año para lograr la eliminación del BVDV.

Posteriormente, se recogieron dos muestras de leche más en cada explotación, a intervalos de nueve meses desde la primera (segundo y tercer muestreo), junto con una muestra significativa de sueros de animales entre 9 y 15 meses para confirmar la presencia o ausencia de circulación del BVDV.

Las muestras de leche, al igual que las de sangre, fueron analizadas con un ELISA de bloqueo basado en la detección de anticuerpos anti-p80 (BVD/MD p80, Laboratorios Pourquier) siguiendo las instrucciones del fabricante. Los resultados de las muestras son expresados en porcentajes de inhibición.

3.3. Análisis estadístico

El estadístico kappa (k) fue utilizado para evaluar la concordancia entre la seroprevalencia de rebaño y el porcentaje de inhibición en leche de tanque en un estudio categórico. El coeficiente de correlación (ρ) se calculo como medida de la asociación lineal entre la seroprevalencia de rebaño y el porcentaje de inhibición en leche en un estudio cuantitativo. El test no paramétrico de J-T y el ANOVA fueron calculados para estudiar la evolución de los porcentajes de inhibición en las muestras seriadas de tanque de leche.

4. Resultados

Existía un buen acuerdo entre la seroprevalencia de rebaño y el porcentaje de inhibición en tanque de leche. En el estudio categórico, los valores del estadístico k lineal y cuadrático fueron 0,62 ($p < 0,001$) y 0,73 ($p < 0.001$), respectivamente. En el estudio cuantitativo el valor de fue 0,72 ($p<0.001$).

De las 81 explotaciones estudiadas, 12 eran sospechosas de circulación del BVDV en el momento de realizar el análisis serológico y la recogida de la primera muestra de leche. En estas ganaderías procedimos a la búsqueda y eliminación de animales PI, encontrándose al menos uno en cada granja sospechosa. Se pudo constatar en estas, durante los meses siguientes, la ausencia de circulación del BVDV. En las 69 restantes no se sospechaba de circulación al comienzo del estudio. Sin embargo, 4, fueron infectadas por el BVDV en algún momento durante el primer y el segundo muestreo.

En las 12 explotaciones en las que existía circulación del BVDV al comienzo del estudio (y donde los animales PI fueron buscados y eliminados) las medias de los porcentajes de inhibición en tanque se incrementaban significativamente medida que transcurría el tiempo desde las intervenciones realizadas para eliminar el BVDV ($p= 0,001$).

Con respecto a las 4 explotaciones en las que inicialmente no existía circulación del BVDV, pero en las que se produjo la infección durante el período de seguimiento las medias del porcentaje de inhibición se reducían significativamente con cada muestreo ($p=0,028$) .

Por último, en las restantes 65 explotaciones en las que no observamos circulación del BVDV durante todo el estudio, los porcentajes de inhibición se mantenían siempre por encima del 60%.



5. Discusión

La relación positiva entre la prevalencia en un rebaño de vacas positivas a anticuerpos frente al BVDV y el nivel de estos en tanque de leche fue comprobada por Niskanen (1993). Sin embargo, tanto en este estudio como en el presente trabajo, a pesar de la buena correlación general, había un cierto porcentaje de casos que mostraban un fuerte desacuerdo entre la seropositividad del rebaño y el nivel de anticuerpos en leche. Es posible en algunos casos, que un pequeño número de animales con títulos elevados en un rebaño, resulte en altos niveles de anticuerpos en tanque de leche conduciendo a una sobreestimación del número de animales seropositivos (Frediksen y cols., 1998) y a una incorrecta clasificación respecto a si está o no activamente infectado por el BVDV. Por el contrario, una razón para infravalorar la seroprevalencia de rebaño puede ser que el virus excretado por animales PI neutralice anticuerpos en el tanque de leche (Niskanen 1995). Una sobre- o infraestimación puede ocurrir también puntualmente cuando las vacas que están siendo ordeñadas en el momento de recoger la muestra de leche de tanque no son una muestra representativa del *status* sanitario del rebaño en relación al BVDV.

Así, a pesar de la relación positiva encontrada entre los resultados de suero sanguíneo y de leche, los mencionados factores y el hecho de que no es posible conocer la edad de los animales seropositivos, hace difícil determinar si existe una infección activa en el rebaño evaluando una muestra aislada de tanque de leche. Aparentemente una sola muestra de este tipo no permite distinguir rebaños con infección activa de aquellos que han eliminado la infección recientemente (Valle y cols., 2001). Por otro lado, si la infección es reciente los niveles de anticuerpos en tanque pueden ser todavía bajos. Además es posible la existencia de animales PI con baja eliminación durante algún período de tiempo y relacionados con una lenta transmisión de la infección en el rebaño. (Thurmond 2005). Sin embargo, el conocimiento de los niveles previos y actuales de anticuerpos permite conocer la evolución de los mismos a lo largo del tiempo y por tanto proporciona una información muy valiosa sobre el *status* respecto a la BVD, indicando posibles modificaciones que deberían determinar la necesidad de realizar investigaciones adicionales.

6. Referencias

- Frediksen B, Loken T, Odegaard A. 1998. The duration of antibodies against bovine virus diarrhoea virus in bulk milk. *Acta Vet Scand* 39: 89-98.
- Niskanen R. 1993. Relationship between the levels of antibodies to bovine viral diarrhoea virus in bulk tank milk and the prevalence of cows exposed to the virus. *Vet Rec* 133: 341-344.
- Niskanen, R. 1995. Bovine viral diarrhoea virus infections in dairy cattle with emphasis on diagnosis, epidemiology and control. Swedish University of Agricultural Sciences, p 52. Thesis.
- Thurmon, M.C. (2005). Virus transmission. In Bovine Viral Diarrheoa Virus. Diagnosis, Management and Control. Eds S.M. Goyal, J.F. Ridpath, pp 96-97. Blackwell Publishing. Ames, Iowa.
- Valle, P.S., Martin, S.W., Skjerve, E. 2001. A bayesian approach to estimating the performance of a bovine virus diarrhoea virus (BVDV) antibody ELISA bulk-tank milk test. *Prev Vet Med* 50: 71-87.



VIDEO DE PREVENCIÓN Y CONTROL DE LA RABIA PARALÍTICA BOVINA EN MÉXICO

Manzano Martínez María Dolores, De Vega García Alfonso, Ramírez Hernández Roberto, Orozco de la Isla Mauricio, *Comité de Fomento y Salud Animal del Estado de Puebla, México. Echevarría Mayo Juan Emilio, Vázquez Morón Sonia, Instituto de Salud Carlos III, España.*

La Rabia Paralítica Bovina es una enfermedad contagiosa y mortal producida por un lyssavirus que afecta a gran número de especies productivas y al mismo hombre.
En México la distribución geográfica de la Rabia, donde se considera una enfermedad enzoótica, está limitada a 23 de las 31 entidades federativas (y un distrito federal) que forman el país. En dicha zona fueron notificados 1,836 focos de rabia en el período comprendido del 2000 al 2006. La campaña nacional contra la rabia, estima que por cada caso informado existen, aproximadamente, 10 animales más que mueren por la misma causa sin ser comunicados, lo que aumenta el riesgo de presentarse una muerte en humanos y que no se logre controlar a tiempo los brotes por esta enfermedad.
Uno de los factores determinantes para evitar que se presenten casos de Rabia en los animales y en el hombre, sin duda, es la difusión y capacitación sobre las medidas de prevención y de control.
El objetivo del trabajo fue la realización de un video DVD en coordinación con la Fundación PRODUCE, las Uniones Ganaderas y el Comité de Fomento y Salud Animal del Estado de Puebla (Organismo auxiliar de Ministerio de ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación). El DVD está dividido en dos partes: La primera describe el caso de un brote de Rabia Paralítica Bovina, incluyendo las medidas preventivas y de control para esta enfermedad y la segunda parte consta de módulos informativos y de capacitación.
El DVD se distribuyó a lo largo del territorio nacional con la finalidad de dar a conocer la enfermedad, las medidas para su prevención y control y la importancia de la rabia como problema de salud pública. Además el DVD se ha distribuido a los diferentes países de América por parte de la Organización Panamericana de la Salud (OPS).



El XIII Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina, es un excelente medio para poder compartir con la comunidad europea, la problemática y las medidas de difusión, prevención y control de la Rabia Paralítica Bovina en América, pudiendo servir de modelo para el control y prevención de otras enfermedades en el ganado. Así como también hacer mención de un proyecto de colaboración entre España y México que tiene como objetivo crear un modelo de vigilancia epidemiológica para rabia, basado en la biología molecular.

Introducción

La Rabia es una de las zoonosis más importantes en el mundo (Ramírez, 2006).

Sí la Rabia no se previene a tiempo, generará grandes costes económicos a la salud pública como son pago de servicios veterinarios, inversión en revacunación antirrábica, depreciación en las pieles de los animales por presentar mordeduras en el ganado por vampiros y gastos médicos entre otros, siendo la máxima preocupación la posible transmisión de esta enfermedad a humanos (Ramírez, 2006).

Los Países de América, han venido trabajando desde hace 30 años de forma intersectorial entre salud y agricultura en el control de la Rabia. De 1990 a 2005 hubo una reducción del 93% de casos de rabia humana trasmitida por perros en América Latina. En México a partir de 1999, se ha puesto de manifiesto que la fauna silvestre, principalmente los quirópteros, ocupan el primer lugar de transmisión de rabia al hombre y al ganado. (Garay 2005)

En el Estado de Puebla, que se encuentra ubicado al sureste del antiplano de la República Mexicana, se notificaron más de 2,500 muertes masivas en ganado por rabia paralítica, no solamente en bovinos sino que también en otras especies productivas como ovinos, equinos y porcinos, causando un notable desequilibrio social y económico en la zona. Dichos casos comenzaron en el año 1995 en el estado vecino de Veracruz, posteriormente avanzaron al estado de Puebla y al estado colindante de Hidalgo, generándose un descontrol total y confusión con el diagnóstico. En ese año los ganaderos no vacunaban al ganado contra la rabia y creían que no existía en la región esta enfermedad, por lo que fue muy difícil promover la Campaña de Prevención. A partir del inicio del brote hasta la fecha no ha cambiado la forma de manifestación del cuadro clínico y de la ejecución del diagnóstico diferencial, el cual se realiza con las siguientes enfermedades: Anaplasmosis, Piroplasmosis, Pierna Negra, Enfermedades Respiratorias, Desnutrición e Intoxicaciones. Los Animales enfermos de rabia presentan somnolencia, secreción nasal, oral y lagrimal, conjuntiva enrojecida, ojos brillosos, temblores musculares, priapismo, inquietud, dificultad en la deglución, hipersensibilidad en el lugar de la mordedura, y lo más característico incoordinación muscular y parálisis de las articulaciones posteriores. Presentándose la muerte de tres hasta diez días posteriores a los primeros signos. Sumándose a esta pérdida de muerte en el ganado por rabia, el propietario al no saber que hacer, tenía contacto directo con el animal enfermo sin protección alguna, lo que aumentaba el riesgo de contagiarse de rabia, así como también la falta de notificación de animales enfermos o muertos hacía más difícil el control en los diferentes brotes. Por lo anterior, era imprescindible la creación de una herramienta creativa para la difusión, promoción y control de esta enfermedad la cual resultara de alto impacto.

Materiales y Métodos

Por iniciativa de los mismos ganaderos en coordinación con el Comité de fomento y salud animal del estado de Puebla se realizó un DVD sobre la prevención y control de la rabia paralítica bovina, en dicho DVD, estarían vertidas las experiencias de estos 10 años de arduo trabajo de ambas partes. El DVD está dividido en dos partes : la primera narra con un lenguaje propio y caracterizada por los ganaderos, el caso de un brote de Rabia Paralítica Bovina, incluyendo las medidas preventivas y de control para esta enfermedad, y la segunda parte consta de módulos informativos y de capacitación sobre las acciones realizadas por la campaña nacional contra la rabia paralítica bovina, la cual se lleva a cabo en todas las áreas enzoóticas en México, siendo las siguientes: Manejo adecuado de la cadena fría, vacunación antirrábica, toma y envío de muestras de encéfalos sospechosos, clasificación de murciélagos y control de murciélagos hematófagos. El DVD tiene una duración de 55 minutos, cuenta con un índice y menú para clasificar los diferentes módulos, por lo que se facilita su manejo al momento de la capacitación según sea el tema a tratar y el perfil de la población.

Resultados y Discusión
El DVD se distribuyó a lo largo del territorio nacional a través de las reuniones nacionales de Rabia y de encuentros nacionales con ganaderos, haciéndose responsable de la difusión y de las capacitaciones los diferentes Comités de Fomento y el ministerio de salud y los propios ganaderos de cada una de las entidades federativas que a su vez, han reproducido copias del DVD para donarlas de manera gratuita en las diferentes comunidades de difícil acceso donde se presenta la rabia. Logrando con esto, orientar y capacitar a escolares, estudiantes de medicina veterinaria, médicos veterinarios, médicos humanos, enfermeras, ganaderos, gobiernos municipales y locales, instituciones, grupos sociales y población en general.

Conclusiones
Como lo marca la Norma Oficial Mexicana NOM-011-SSA2,1993 Para la prevención y el control de la rabia, el padecimiento de la rabia es controlable y evitable mediante acciones conjuntas de los diferentes sectores al ofrecer información educativa y gracias a la proyección del DVD se ha logrado el aumento de notificaciones por parte de la comunidad de animales sospechosos y enfermos de forma inmediata a las dependencias correspondientes, lo que facilita y activa las medidas de control ante un brote de rabia, la población ya tiene el conocimiento del riesgo que implica manejar y manipular sin protección al ganado, reduciendo así el riesgo de muerte por esta zoonosis y ha motivado a los ganaderos que continúen participando en la campaña contra la rabia.

El DVD se dio a conocer en la XVII Reunión Internacional de Rabia en las Américas en Brasil, el cual resultó de gran interés para los participantes, por ser compartida la misma problemática, por lo que la OPS (Organización Panamericana de la Salud), realizó la distribución a los países miembros que así lo requerían para implementarlo en sus regiones.

Actualmente el Comité de Puebla se encuentra colaborando con el Instituto Carlos III, de España, construyendo el puente en medio del abismo que existe entre personal de campo de la campaña y el equipo de investigadores españoles, que nos dará la pauta a seguir para retomar, conjuntar y analizar los elementos esenciales y ya existentes, que se complementarán con las bases específicas y científicas para lograr crear un **modelo de vigilancia epidemiológica**, para rabia, el cual tomará en cuenta los principales reservorios y el porcentaje de ganado con anticuerpos para prevenir un brote o anticiparlo y controlarlo.

DATOS IDENTIFICATIVOS DEL REMITENTE
Nombre: María Dolores
Apellidos: Manzano Martínez
Institución: Comité de Fomento y Salud Animal del Estado de Puebla, México/ Instituto de Salud Carlos III España
Dirección: Prolongación Av. Hidalgo No. 2123
Localidad: San Pedro, Cholula
C.P.72760 Provincia: Puebla
País: México
Tel: 0034695044958/00522222476168
E-mail:.lolismanzano@yahoo.es
Formato de presentación (marcar el que proceda): ORAL
Firma: María Dolores Manzano Martínez



METAFILAXIA PARCIAL CON FLORFENICOL BASADA EN LA TEMPERATURA FRENTE AL SINDROME RESPIRATORIO BOVINO (SRB) EN UN SISTEMA DE CEBO ESPAÑOL

J. V. González Martín[1,2], L. Elvira Partida[1], N. Pérez Villalobos[1], P. García Jiménez[1], M. Cerviño López[3], E. Calvo López-Guerrero[3] , J. M. Gutiérrez [3] y S. Astiz Blanco [3]

1. TRIALVET SL C/ Encina, 22, 28721 Cabanillas de la Sierra (Madrid) trialvet@gmail.com
2. Dpto. de Medicina y Cirugía Animal, Facultad de Veterinaria de Madrid (UCM) juanvi@vet.ucm.es
4. SCHERING-PLOUGH A.H. Spain C/ Cantabria, Nº2. Edificio Amura 28108 Alcobendas, Madrid (enrique.calvo@spcorp.com, manuel.cervino@spcorp.com, jose.miguel.gutierrez@spcorp.com y susana.astiz@spcorp.com)

Resumen

En el estudio multicéntrico en que participaron cuatro cebaderos y un total de 355 terneros pasteros, evaluamos la aplicación de metafilaxia (M) parcial con florfenicol* (SC, 40 mg/kg PV) basada en la temperatura rectal ≥ 39,7ºC, una vez alcanzada una incidencia de SRB igual o superior al 10%.
Los animales enfermos antes del día "0" fueron eliminados y el resto, n=287, se asignaron a uno de los cuatro grupos experimentales mediante aleatorización estratificada en base a su temperatura rectal: 1 (≥39,7ºC con M), 2 (≥39,7ºC sin M), 3 (≤39,7ºC con M) y 4 (<39,7ºC sin M). Posteriormente, los animales fueron monitorizados diariamente durante 30 días, siendo el criterio diagnóstico de SRB (temperatura rectal igual o superior a 40ºC y presencia de al menos un signo de respiratorio) y el tratamiento (florfenicol* IM, 20 mg/Kg x 2/48h y flunixin meglumine** IM, 2,2 mg/kg x 2/48h).
No hubo diferencias significativas ni en la incidencia de SRB, ni en la tasa de recidivas. Sin embargo, las diferencias de incidencia entre los grupos 1 y 2 fueron numéricamente importantes (36,6% vs 52,6%). Tampoco se encontraron diferencias significativas en la ganancia media diaria (GMD) entre los distintos grupos, pero sí (p=0,01) entre los animales sanos (n=205; 1,2kg/día) y enfermos (n=82; 1,0kg/día).
El criterio temperatura rectal igual o superior a 39,7ºC en el día "0" o día de aplicación de los distintos tratamientos, obtuvo una eficacia diagnóstica del 70,4%, un valor predictivo positivo del 52,6% y un



valor predictivo negativo del 72,7%.
En concusión, el criterio temperatura ha demostrado ser un parámetro objetivo y útil para predecir SRB y en opinión de los autores la metafilaxia parcial con florfenicol* resulta ventajosa para el bienestar animal, balance coste/beneficio y buen uso de antibióticos, comparada con la metafilaxia total y con la ausencia de metafilaxia.
(* florfenicol - Nuflor®, ** flunixin meglumine - Finadyne®)

Introducción

El síndrome respiratorio bovino (SRB) es la principal causa de enfermedad en los terneros de cebo y por ello también la principal causa de pérdidas económicas (Lekeux, 2006; Duff y Galyean, 2007).
La metafilaxia se define como la aplicación de un antibiótico en masa en un momento estratégico para prevenir la instauración del cuadro clínico (Smith, 2001). Los objetivos son: reducir la morbilidad y la mortalidad, mejorar los rendimientos, facilitar el manejo, suplir la inexperiencia del personal y mejorar los beneficios (Smith, 2001, Duff y Galyean, 2007). El criterio para la práctica de la metafilaxia a la entrada de un grupo de terneros al cebadero es según Smith (2001): animales enfermos o de un origen con elevada morbilidad, tasa de SRB > 10% en dos días consecutivos o morbilidad esperada > 20%, descenso de consumo y/o excesivo porcentaje de animales con temperatura rectal elevada. En el mercado español sólo el florfenicol y la tulatromicina poseen la indicación para su aplicación preventiva.
Paralelamente, y en contraposición al uso creciente de protocolos metafilácticos en los cebaderos, existe una tendencia al uso cada vez más reducido de los medicamentos, especialmente en lo que a antibióticos se refiere, en los animales de producción (RD 1470/2001).
Los objetivos del presente estudio son por un lado, evaluar la eficacia de la metafilaxia parcial con florfenicol*, empleando como criterio de aplicación una temperatura rectal ≥39,7ºC, una vez alcanzado un 10% de enfermedad en el cebadero. Por otro lado, se pretende valorar la eficacia de la temperatura como método diagnóstico temprano de SRB.

Material y métodos

Se investigó la administración metafiláctica de florfenicol* (SC, 40 mg/kg PV) en un total de 355 terneros, de 268 kg de peso medio, distribuidos en cuatro cebaderos en España.
La metafilaxia se aplicó el día "0", cuando la incidencia de SRB en los cebaderos alcanzó el 10%. Los animales enfermos se excluyeron del estudio y el resto, 287 animales, fueron asignados mediante aleatorización estratificada en base al peso y al sexo (SPSS 14.0) a uno de los siguientes grupos experimentales:

- Grupo 1: ≥39,7ºC con M
- Grupo 2: ≥39,7ºC sin M
- Grupo 3: <39,7ºC con M
- Grupo 4: <39,7ºC sin M

Diariamente y hasta el día "30" se realizó la inspección visual, en doble ciego, de todos los terneros, siendo el criterio diagnóstico de SRB un índice de enfermedad > 1, temperatura rectal igual o superior a 40ºC y, al menos, un signo respiratorio.
El protocolo de tratamiento para los animales enfermos fue: florfenicol* IM (20 mg/kg x 2/48h) y flunixin meglumine** (2,2 mg/kg x 2/48h). Los animales que recidivaron se trataron con marbofloxacina (2 mg/kg x 3/24h)
Los datos procedentes del estudio experimental de tipo aleatorizado y estratificado fueron analizados mediante chi cuadrado, análisis de varianza (ANOVA) y comparación de proporciones con SPSS versión 14.0, empleando un nivel de significación del 5% ($p<0,05$).

Resultados y discusión

En el día "0", el 20,9% de los terneros tenían una temperatura rectal ≥39,7ºC y se aplicó metafilaxia al 43,4% de los animales en estudio.
El valor predictivo de la temperatura rectal ≥39,7ºC a día "0" como signo para el diagnóstico precoz de SRB fue evaluado, analizándose para ello los resultados de incidencia de enfermedad en los grupos 2 y 4, en que los terneros no habían recibido tratamiento metafiláctico (n=162). La eficiencia diagnóstica de la prueba fue del 70,4%, siendo el valor predictivo positivo (VPP) del 52,6% y el valor predictivo para negativos (VPN) del 72,7%.

No se hallaron diferencias significativas ni en la incidencia de la enfermedad ni en la tasa de recidivas entre los grupos 3 y 4 (21,4% *vs.*27,3% y 5,6% *vs.* 12,8%, respectivamente), así como tampoco entre los grupos 1 y 3 (36,6% *vs.* 52,6% y 13,3% *vs.* 10% respectivamente). Sin embargo, la diferencia en la incidencia de SRB entre los grupo 1 y 2 fue numéricamente importante (36,6% *vs* 52,6%).
Entre los días"0" y "30" no se encontraron diferencias significativas en el incremento de peso (IP) así como tampoco se hallaron en la ganancia media diaria (GMD). Al comparar el IP y la GMD de animales sanos (n=205; 38,8 kg y 1,2 kg/día) y la de animales enfermos (n=82; 33,1 kg y 1,0 kg/día) la diferencia fue significativa (p=0,02 y p=0,01, respectivamente)

Conclusiones

El criterio temperatura ha demostrado ser un parámetro objetivo y útil para predecir SRB y en opinión de los autores la metafilaxia parcial con florfenicol* resulta ventajosa para el bienestar animal, balance coste/beneficio y buen uso de antibióticos, comparada con la metafilaxia total y con la ausencia de metafilaxia

Agradecimientos

Este trabajo ha sido patrocinado por Schering-Plough Animal Health.

Bibliografía revisada

- **Cusack P.M.V., McMenima N., Lean I.J.** (2003) The medicine and epidemiology of bovine respiratory disease in feedlots. Aust. Vet. J. **81** (8):480-486.
- **Cusack P.M.** Effect of mass medication with antibiotics at feedlot entry on the health and growth rate of cattle destined for the Australian domestic market. Aust Vet J (2004) 82 (3): 154-6.
- **De Haas V., Lockwood P.W., Katz T., Varma K.J.** (1994) Efficacy of florfenicol in the treatment of bovine respiratory disease: results of the European clinical trials. International Symposium Proceedings held in conjunction with XVIII World Buiatrics Conference: 37-44.
- **Duff G.C., Galyean M.L.** (2007) Recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. J. Anim. Sci. **85**: 823-840.
- **Galyean M.L., Gunter S.A., Malcolm-Callis K.J.** (1995) Effects of arrival medication with tilmicosin phosphate on health and performance of newly received beef cattle. J. Anim. Sci. **73** (5): 1219-26
- **Godinho K.S., Wolf R.M., Sherington J., Rowan T.G., Sunderland S.J., Evans N.A.** Efficacy of tulathromycin in the treatment and prevention of natural outbreaks of bovine respiratory disease in European cattle. (2005) Vet. Ther. **6** (2): 122-135.
- **Jim G.K., Booker C.W., Guichon P.T., Schunicht O.C., Wildman B.K., Johnson J.C., Lockwood P.W.** (1999) Comparison of florfenicol and tilmicosin for the treatment of undifferentiated fever in feedlot calves in western Canada. Can. Vet. J. **40** (3): 179-84.
- **Lekeux P.** (2006) Estrategia terapeútica para el tratamiento del Síndrome Respiratorio Bovino: fundamentos de la asociación de un fármaco antiinflamatorio no esteroideo y un antibiótico. International Symposium Proceedings held in conjunction with XXIV World Buiatric Congress; Nice, France: 15-19 octubre: 1-12.
- **Libersa H., Van Huffel B., Madelenat A**. (1995) Evaluation of the efficacy of a new antibiotic, florfenicol (Nuflor) in the treatment of bovine respiratory disease. Rec. Med. Vet. 171: 39-44.
- **McClary D., Vogel G.** (1999) Timing of tilmicosin metaphylaxis on BRD control and performance in feeder cattle. Bov. Pract. **33** (2): 155-162.
- **Rooney K.A., Nutsch R.G., Skogerboe T.L., Weigel D.J., Gajewski K., Kilgore W.R.** (2005) Efficacy of tulathromycin compared with tilmicosin and florfenicol for the control of respiratory disease in cattle at high risk of developing bovine respiratory disease. Vet. Ther. **6** (2): 154-66.
- **Schaefer A.L., Cook N.J., Church J.S., Basarab J., Perry B., Miller C., Tong A.K.W.** (2007) The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. Res. Vet. Sci. 83 (3): 373-384.
- **Smith R.A., Stokka G.L., Radostits O.M., Griffin D.D. (2001)** Health and production management in beef feedlots. In: Radostits OM. Herd Health: Food animal production medicine. 3er ed. WB Saunders Company Philadelphia: 581-633.





PRESENCIA DEL TAPÓN DE QUERATINA EN NOVILLAS 60 DÍAS ANTES DEL PARTO Y SU RELACIÓN CON LAS INFECCIONES INTRAMAMARIAS

Luis Miguel Jiménez, Servet talavera SL. luismi-che@servettalavera.es
Raquel Timón, Servet Talavera SL
Juan C. Marco, Laboratorio de salud pública, Departamento de Sanidad, Gobierno Vasco

RESUMEN
Se realizó un estudio con novillas 158 novillas nulíparas de las cuales se tomaron muestras de secreción láctea 2 meses antes del parto. Se estudió la prevalencia de las infecciones intramamarias (IIM) en ese momento detectándose un 36,7% de los cuarterones infectados. Un 75% de estos aislamientos se correspondieron con *Staphylococcus coagulasa negativos* (SCN) y dentro de estos el 90% eran novobiocina sensibles (SCNNS) que son clasificados como los más patógenos. Se estudió la presencia o ausencia del tapón de queratina en un total de 628 pezones y se comprobó que solamente en un 48,7% existía. De los pezones con tapón de queratina, un 13% estaban infectados mientras que en los pezones sin tapón de queratina se observó un porcentaje de infección de un 59%.

INTRODUCCIÓN
La ubre de las novillas antes del parto tradicionalmente se ha considerado como libre de infección y una vez que acontecía el parto la ubre era susceptible de las infecciones intramamarias (IIM). Diversos autores han demostrado que la existencia de infecciones en novillas antes del parto y la persistencia durante largos periodos de tiempo afectando de manera decisiva sobre la producción en la futura lactación. Los *Staphylococcus coagulasa negativos* (SCN) son los causantes de la mayoría de las IIM, esto lo demuestran diferentes estudios (1,2,3). Los SCN más patógenos son los SCN sensibles a la novobiocina (SCNSN) por su capacidad de colonizar el conducto del pezón y por su capacidad de persistir por largos periodos de tiempo. Los SCN resistentes a la novobiocina (SCNRN) se pueden considerar microorganismos oportunistas que están en el medio ambiente. Los SCNSN son los que más se han aislado (2), dentro de estos tenemos al *S. Chromogenes, S. epidermidis* y *S. simulans* entre otros.



Se demuestra que el tapón de queratina, sustancia por encima del estrato córneo que recubre el canal del pezón en toda su longitud es determinante para que el canal del pezón esté abierto o cerrado facilitándole la entrada a las bacterias. Williamson (4) en 2002 observó que un 50 % de los pezones abiertos estaban infectados, el tapón o no se llega a formar nunca o se pierde antes del parto. Krömker en 2007 (5) determinó que un 60 % de los pezones estaban abiertos 60 días antes del parto.

OBJETIVOS

Estudiar la prevalencia de infecciones intramamarias (IIM), su naturaleza y su relación con la presencia o no del tapón de queratina mediante la determinación de:
prevalencia de IMM.
presencia o no del tapón de queratina (TQ)
microbiología de las muestras obtenidas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el estudio se escogieron 158 novillas holstein de dos explotaciones del centro de España. Las instalaciones de las novillas son estabulaciones libres con cama caliente. Se tomaron muestras de leche, una por cuarterón, según el protocolo del Nacional Mastitis Council (NMC) (6) a los 60 días antes del parto. Las muestras se conservaron a 4ºC hasta su posterior análisis que se realizaron según los procedimientos del NMC (7).
En el momento de la extracción de la muestra se evaluó la presencia del tapón de queratina por presión del pezón y visualización del tapón.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La prevalencia de IMM fue la representada en la siguiente gráfica (gráfico 1), con un 36,7% de IMM.

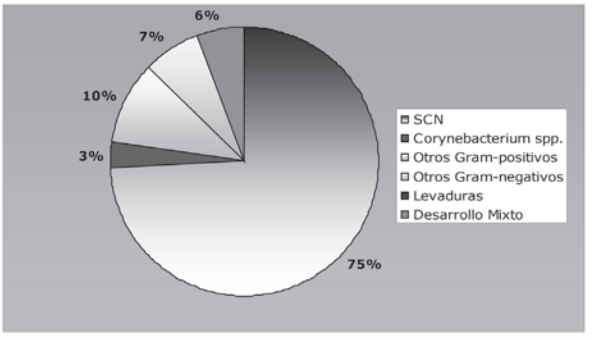


Gráfico 1: distribución de los microorganismos aislados en muestras de leche de novillas 60 días preparto

El 75% de los aislamientos correspondía a estafilococos coagulasa negativos (SCN), habiéndose determinado las siguientes especies (gráfico 2).

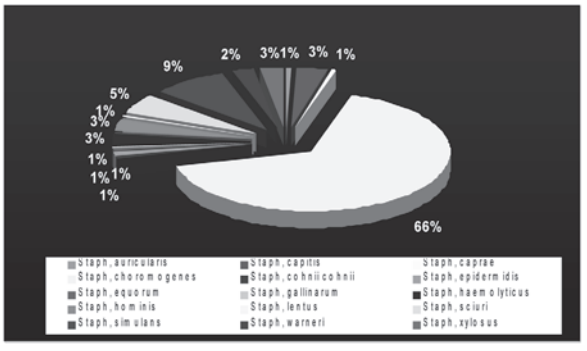
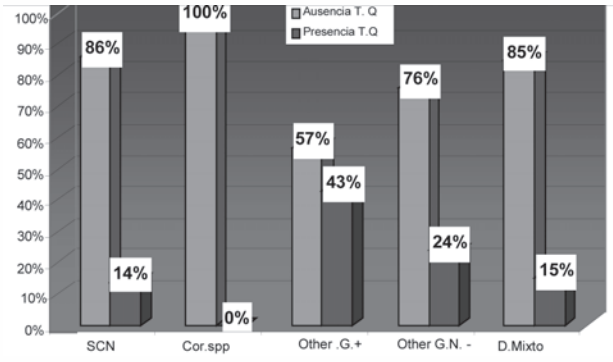


Gráfico 2: distribución de las especies aisladas de SCN (173 cepas) a raíz de muestras de leche de novillas 60 días antes del parto.

Aplicando el criterio de sensibilidad- resistencia a la novobiocina para determinar la patogenicidad, el resultado fue un 90 % de las cepas noviocina sensibles (SCNNS) y un 10 % de novobiocina resistentes (SCNNR).
Se estudió la existencia del TQ en un total de 628 pezones, detectándose su presencia en 306 (48,7%).
El estudio de IIM estratificado según presencia o no del TQ resultó en que las novillas sin TQ presentaban un 59 % de cuarterones con IMI, mientras que los cuarterones con TQ presentaban solamente un 13 % de IMM (P<0,0001).
Con respecto a los distintos microorganismos resultó que, el 86% de los SCN se encontraron en cuarterones sin TQ, así como el 100 % de *Corynebacterium spp*, el 57% de otros Gram +, el 76% de otros Gram – y el 85 % de los crecimientos mixtos (gráfico 3).



CONCLUSIONES

La presencia o ausencia del TQ es un factor de riesgo muy importante para las IMI en novillas.
Su ausencia se encuentra en más de la mitad de las novillas lecheras 60 días antes del parto.

REFERENCIAS

- Oliver S.P., Mitchell B.A. Intramammary infections in primigravid heifers near parturition. JDS 1983;66:1180-1183
- Trinidad P., Nickerson S.C., Alley T.K. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in umbred and primigravid dairy heifers. JDS 1990;73:107-114.
- Fox L.K., Hallberg J.W., Chester S.T., Nickerson S.C., Pankey J.W., Weaver L.D., Survey of intramammary infection in dairy heifers at breeding age and first parturition. JDS 1995;78:1619-1628
- Williamson
- Krömker
- National Mastitis Council., 1996, Current Concepts of Bovine Mastitis Madison, Va. U.S.A.
- National Mastitis Council., 1997. Laboratory and HandBook on Bovine Mastitis. Arlington



EFECTO DEL CEFALONIUM EN LAS INFECCIONES INTRAMAMARIAS Y EN LA PRODUCCIÓN LÁCTEA EN NOVILLAS NULÍPARAS

Luis Miguel Jiménez, Servet talavera SL. luismi-che@servettalavera.es
Raquel Timón, Servet Talavera SL
Juan C. Marco, Laboratorio de salud pública, Departamento de Sanidad, Gobierno Vasco

RESUMEN
Se realizó un estudio con novillas nulíparas, a las cuales se las trató por vía intramamaria con cefalonium viendo el efecto de éste en las infecciones intramamarias, en el recuento celular y en la producción láctea dentro de la siguiente lactación. Para ello se contó con 158 novillas que fueron divididas en dos grupos, el grupo tratamiento y el grupo control. Se cogieron muestras 2 meses antes del parto, 7 días, 21 días, 50 días y 100 días posterior al parto. Dos meses antes del parto a las novillas del grupo tratamiento (n=80) se las trató con cefalonium 250 mg por vía intramamaria. La prevalencia al parto reveló un 75,6% de novillas infectadas en el grupo tratado y un 65% en el grupo control. Un 75% de las infecciones eran causadas por *Staphylococcus coagulasa negativos* y dentro de estos el 90% eran novobiocina sensibles que son clasificados como los más patógenos. En el grupo tratado la curación de las infecciones intramamarias causadas por SCN novobiocina sensibles fue superior a medida que avanzaba la lactación (68,3% vs 28,4%). El recuento de células somáticas no resulto significativamente diferente en ambos grupos. La producción láctea fue superior en el grupo tratado con cefalonium teniendo este grupo 911 litros más que el control.

INTRODUCCIÓN
Las novillas dentro de la producción lechera son el futuro de la explotación, es muy importante dentro del manejo de las explotaciones el preservar este gran patrimonio ya que de él va a depender la futura rentabilidad. El desarrollo de la ubre de una novilla gestante es determinante para la futura producción de leche de ese animal durante toda su vida productiva. La ubre de las novillas antes del parto tradicionalmente



se ha considerado como libre de infección y una vez que acontecía el parto la ubre era susceptible de las infecciones intramamarias (IIM). Diversos autores han demostrado que la existencia de IIM en novillas antes del parto (1) y su persistencia durante largos periodos de tiempo afecta de manera decisiva sobre la producción en la futura lactación así como en el recuento celular (RCS).
La prevalencia de IIM en novillas en el periparto ha sido muy estudiada, dentro de las especies más aisladas están los *Staphylococcus coagulasa negativos* (SCN) y el *Staphylococcus aureus* (2,3,). Las especies de SCN las podemos clasificar por su resistencia o sensibilidad a la novobiocina. Los SCN más patógenos son los SCN sensibles a la novobiocina (SCNSN) por su capacidad de colonizar el conducto del pezón y por su capacidad de persistir por largos periodos de tiempo. Los SCN resistentes a la novobiocina (SCNRN) se pueden considerar microorganismos oportunistas que están en el medio ambiente.
La eficacia del tratamiento ha sido propuesta y discutida por varios autores (4) como alternativa a la prevención de IIM antes del parto, siendo el último tercio de la lactación el periodo más importante para realizar dicho tratamiento.

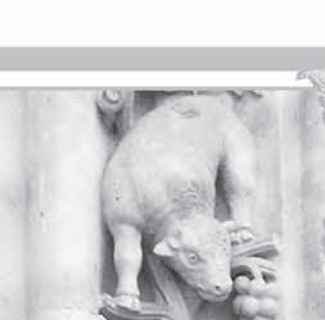
OBJETIVOS
El objetivo general del estudio es demostrar la eficacia curativa y preventiva de Cepravin V.S., aplicado en novillas antes del parto.
Para alcanzar este objetivo general se han planteado 3 objetivos específicos:

- Estudio de la evolución de la prevalencia de la infección en el periodo comprendido entre el día de secado, el periparto y el primer tercio de la lactación en novillas tratadas previamente con cefalonium y novillas control (sin cefalonium).
- Estudio de la evolución de la producción de leche..
- Evaluación del RCS.

MATERIAL Y METODOS
Se escogen dos explotaciones con un número total de novillas de 158, de las cuales 78 novillas se les considera grupo "TRATAMIENTO CEPRAVIN" y a las 80 restantes grupo CONTROL. La selección ambos grupos se hace por el método de muestreo de tabla de números aleatorio, descartándose animales con algún tipo de patología, alteraciones en la glándula mamaria aparentes o que hubiesen recibido algún tipo de tratamiento 30 días antes del comienzo del estudio.
60 días antes del parto se procede a coger una muestra individual por cuarterón a todas las novillas para su posterior cultivo e identificación microbiológico. A las novillas del grupo TRATAMIENTO CEPRAVIN se le aplica el tratamiento de secado Cepravin V.S. (250 mg. de cefalonium).
Posteriormente a los 7 y 21 días postparto se cogen muestras individuales de todos los cuarterones para su posterior cultivo e identificación y para la determinación del RCS. Con esto se persigue estudiar la eficacia del tratamiento, para evaluar la dinámica de las infecciones se cogen muestras a los 50 y a los 100 días de mezcla de los cuatro cuarterones para su posterior cultivo e identificación.
La producción lechera y el RCS individual se determinó mensualmente por el Control Lechero Oficial.
La toma de muestras se realizó según el protocolo del National Mastitis Council (NMC) (5), desinfección con algodón empapado en alcohol etílico de 70º de los pezones más alejados del operario y posterior toma de muestra de los pezones más cercanos al operario tirando previamente los primeros chorros de leche. Se conservaron a 4ºC hasta su posterior análisis microbiológico que se realizó según los métodos del NMC (6)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN
La prevalencia de IIM no resultó ser significativa en los grupos (tabla 1):
Tabla 1: prevalencia (%) de IIM en novillas

Grupo/Momento	AP (%)	7d pp (%)	21d pp (%)	50d pp (%)	100d pp (%)
CON	65	56,6	57,3	40	51,5
CEP	75,6	52,1	55,7	42	47
n	158	149	145	138	140



La tasa de curación del día 7 fue significativamente mayor en el grupo CEP (p<0,05) tanto en cuarterones (37,8 vs. 32,4%), como en animales individuales (31 vs. 12,9%).
Lo más relevante de las IIM provocadas por SCN (tabla 2) fue la reducción de infecciones causadas por SCNNS (estafilococos coagulasa negativos novobiocina sensibles), mucho mayor en CEP el día 7 pp, (51,2 vs. 30,2%; p=0,014). El día 21 pp la diferencia fue de 68,3% vs. 28,4%, (p=0,001).

Tabla 2: tasa de infección por SCN novobiocina resistentes (NR) o sensibles (NS)

	AP (%)		7d pp (%)		21d pp (%)	
	NS	NR	NS	NR	NS	NR
CEP	84	16	41	59	13	87
CON	96	4	67	33	48	52

La evolución de RCS en los 10 primeros meses de la primera lactación no resultó significativa (p>0,01) siendo las medias aritméticas del grupo CEP numéricamente inferiores, con la excepción del 5º mes (mín-máx: 100.000 -224.000 vs. 146.000 -348.000 cél/ml para CEP y CON, respectivamente).
En cuanto a la producción, el grupo CEP produjo 911 litros más que el grupo CONTROL (10.057 vs. 9.146 l; p= 0,0015; tabla 3).

Tabla 3: producción láctea diaria (l; lactación normalizada a 305 días)

Mes	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
CON	30,2	34,4	35,0	34,5	33,6	31,5	28,7	25,9	24,3	22,8
CEP	30,9	36,2	38,6	37,9	36,5	35,1	32,0	30,4	27,6	26,4

CONCLUSIONES

La prevalencia de cuarterones infectados en novillas 60 días antes del parto fue elevada (36,7 %).
Las novillas tratadas con cefalonium (CEPRAVIN) obtuvieron una tasa de curación superior que las no tratadas, un 37,8 % de los cuarterones respecto a las no tratadas en las que hubo un 32,4 % de tasa de curación. Por animales resultó que un 31 % de las novillas se curaron en el grupo tratado con cefalonium (CEPRAVIN) y solamente un 12,9 % de las no tratadas. El grupo tratado con cefalonium (CEPRAVIN) demuestra un efecto de prevención y curación de IIM por SCNNS.
Las novillas tratadas con cefalonium (CEPRAVIN) obtuvieron 911 litros más tratadas en la lactación siguiente que las no tratadas (10.057 vs. 9.146 l; p= 0,0015).

REFERENCIA

- Oliver S.P., Mitchell B.A. Intramammary infections in primigravid heifers near parturition. JDS 1983;66:1180-1183
- Trinidad P., Nickerson S.C., Alley T.K. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in umbred and primigravid dairy heifers. JDS 1990;73:107-114.
- Fox L.K., Hallberg J.W., Chester S.T., Nickerson S.C., Pankey J.W., Weaver L.D., Survey of intramammary infection in dairy heifers at breeding age and first parturition. JDS 1995;78:1619-1628
- Owens W.E., Nickerson S.C., Boddie R.L., Tomita G.M., Ray C.H. Prevalence of mastitis in dairy heifers and effectiveness of antibiotic therapy. JDS 2001;84:814-817.
- National Mastitis Council., 1996, Current Concepts of Bovine Mastitis Madison, Va. U.S.A.
- National Mastitis Council., 1997. Laboratory and HandBook on Bovine Mastitis. Arlington





El efecto de una inyección de closantel/ivermectina en el crecimiento y desarrollo reproductivo de la *Fasciola hepatica* inmadura en bovinos

R.E.B. Hanna [a], L. Cromie [b],*, S.M. Taylor [c], A. Couper [b]
[a] *Veterinary Sciences Division, DARDNI, Stormont, Belfast BT4 3SD, Reino Unido*
[b] *Norbrook Laboratories Limited, 105 Armagh Road, Newry, Co. Down BT35 6JP, Reino Unido*
[c] *Vetpar Services, Bangor, Co. Down BT19 1LE, Reino Unido*

Resumen
Dieciséis terneros, de 6 meses, fueron infestados artificialmente con 500 metacercarias de *Fasciola hepática.* 32 días más tarde, se pesaron y se dividieron en dos grupos, y el día 35, a uno de los grupos se le administró por vía subcutánea, una combinación de closantel/ivermectina a dosis (1ml/25kg). Ambos grupos fueron sacrificados entre los días 70 y 72 para poder contar y examinar las fasciolas recuperadas en los conductos biliares. Una muestra representativa de las fasciolas de cada animal se fijó con formalina para reconocer el estado de las estructuras reproductivas. El tratamiento con closantel/ivermectina disminuyó en un 42,6% la fasciola inmadura, comparado con el grupo control. La media del resultado reproductivo para la fasciola no tratada fue de 8,76 y para la fasciola tratada con closantel/ivermectina fue de 5,64. Por tanto, se observa una reducción del 35,6%. La examinación histológica confirmó que hubo una reducción en el desarrollo de los testículos, ovarios y útero en las fasciolas tratadas con closantel/ivermectina, con la consecuente reducción en la producción de huevos. Por otro lado, en las fasciolas no tratadas observó un desarrollo fisiológico normal de sus órganos internos.

Introducción
Closantel es un antihelmíntico del grupo de las salicilanilidas con elevada unión a proteínas plasmáticas (albumina) (Michiels et al., 1987). Como resultado de su actividad, está indicado para el tratamiento de parásitos internos que se alimentan de sangre como la *Fasciola hepatica, Haemonchus contortus, Oestrus ovis* y *Oesophagostomum larvae*. Se ha creado una nueva formulación inyectable combinando closantel con ivermectina. Las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas demuestran eficacia contra una amplia variedad de parásitos internos y externos en bovinos (Cromie et al., 2006; Borgsteede et al., 2006).



Closantel es más efectivo frente fasciolas inmaduras tardías y fasciolas adultas que han llegado hasta los conductos biliares (Boray, 1997; Fairweather et al., 1998). Los efectos han sido examinados por Pax et al. (1989), quiénes constataron la capacidad del closantel para interferir en el graviente mitocondrial de estos parásitos. Skuce y Fairweather (1990) continuaron los mismos estudios y observaron los efectos de mobilidad *in vitro* y la ultraestructura de la fasciola, especialmente aquellos que afectan a las células asociadas con la estructura del tegumento. El estudio descrito en este artículo ofrece más detalles sobre el efecto de la combinación closantel/ivermectina en el tamaño y desarrollo de los órganos reproductivos, así como en la producción y puesta de huevos de infestaciones artificiales de *Fasciola hepatica* en bovinos.

Materiales y Métodos

Todas las pruebas fueron autorizadas por el Comité de Uso Animal de Norbrook Laboratories Limited. Se utilizaron dos grupos de ocho terneros. Todos eran machos Frisones cruzados y tenían aproximadamente 6 meses. Aunque nunca habían pastado en el campo, se tomaron muestras de heces para asegurar que no tuvieran ningún huevo de vermes y, por tanto, que no estaban infestados. El día 35 se pesaron y se infestaron todos los animales con 500 *Fasciolas hepaticas (metacercarias)* (Compton Paddock Laboratories, Newbury, Berkshire, UK) en cápsulas de gelatina. Las metacercarias no fueron expuestas a antihelmínticos. El día 3 todos los terneros fueron pesados y se calculó la dosis de closantel/ivermectina a administrar a los animales seleccionados para ser tratados. Después de ser pesados, se asignaron los grupos A y B de tratamiento de forma aleatoria en función del peso. El día 0 se inyectó una dosis de 5 µg/kg de closantel y 200 µg/kg de ivermectina, por vía subcutánea en el cuello de los animales del Grupo A. El Grupo B permaneció sin tratar, como grupo de control. Se sacaron muestras de sangre del Grupo A los días 7 y 14, para controlar las concentraciones plasmáticas de closantel. Ambos grupos fueron sacrificados entre los días 70 y 72 para poder contar y examinar las fasciolas recuperadas en los conductos biliares. Una muestra representativa de las fasciolas de cada animal se fijó con formalina para reconocer el estado de las estructuras reproductivas. Los huevos puestos por las fasciolas se recogieron para ser incubados y estimar su viabilidad. Se contaron las fasciolas, se fijaron con un 70% de etanol y se midieron. Los órganos reproductivos se examinaron y se puntuaron en una escala de 0–3 dependiendo de su estado de desarrollo. Las fasciolas fueron evaluadas en función del tamaño, distribución y densidad de los tejidos, así como la cantidad de huevos presentes en el útero. Una muestra representativa de las fasciolas de cada animal se fijó con formalina para poder realizar una examinación histológica más detallada de los órganos reproductivos.

Resultados y Discusión

El tratamiento disminuyó la población de fasciolas inmaduras un 42.6% en los bovinos tratados, comparado con el grupo control. Debido al closantel, el tamaño de las fasciolas tratadas disminuyó al principio del desarrollo un 43.9% (Figura 1). Se observó un patrón bimodal de tamaño y reproducción en las fasciolas de los terneros tratados. El efecto parálisis en fasciolas individuales fue distinto, dependiendo de si habían accedido a los conductos biliares o todavía estaban migrando en los tejidos hepáticos en el momento de la inyección. Se demostró un efecto mayor cuando la fasciola había accedido a los conductos biliares. La media del resultado reproductivo para la fasciola no tratada con closantel/ivermectina fue de 8,76 y para la fasciola tratada con closantel/ivermectina fue de 5,64. Se observa una reducción del 35,6%. La diferencia fue altamente significativa ($p < 0.001$). La puesta de huevos en fasciolas tratadas fue significativamente menor que en el grupo control ($p<0,05$). No hubo diferencias en la incubación, sugiriendo que el tratamiento llevó a defectos funcionales en los órganos reproductivos (Figura 2). La examinación histológica confirmó que hubo una reducción en el desarrollo de los testículos, ovarios y del útero en las fasciolas tratadas con closantel/ivermectina, con la consecuente reducción en la producción de huevos. En las fasciolas tratadas, espermatogonia y oogonia fueron los tipos de células predominantes en los testículos y ovarios, mientras que las células indiferenciadas fueron abundantes en los folículos vitelinos. En las fasciolas no tratadas, las células que presentaban un estado más avanzado en gametogénesis y vitelogénesis predominaban en los órganos respectivos. Es probable que esta inhibición de la gametogénesis y vitelogénesis se llevara a cabo por los efectos del tratamiento con closantel. Estos efectos fueron claramente evidentes desde un estadío relativamente temprano del crecimiento de la fasciola. La disminución en la producción de huevos y la disminución del número de fasciolas tienen importancia epidemiológica.

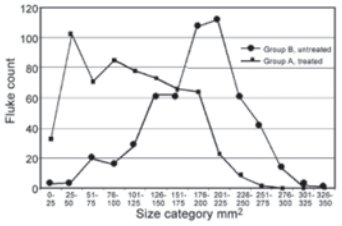


Figura 1. Este diagrama ilustra el total de fasciolas clasificadas por tamaño en cada uno de los grupos: A (tratados) y B (no tratados). Mientras que en el grupo B, se observa un pico de 175-225 mm^2 en el tamaño de la fasciola, el grupo A, muestra un pico de 25-77 mm^2en el tamaño de la fasciola. Por tanto, el tamaño de las fasciolas es menor en el grupo A (tratado), respecto el grupo B (no tratado)

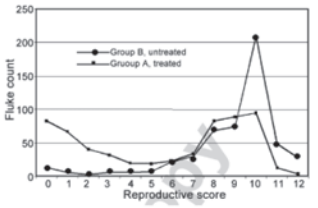


Figura 2. Este diagrama ilustra el total de fasciolas clasificadas por su capacidad reproductiva en cada de los grupos: A (tratados) y B (no tratados). Mientras que en el grupo B, se observa un pico a 10, el grupo A muestra una capacidad reproductiva menor con picos a 10 y 0.

Conclusiones

En conclusión, este trabajo proporciona información adicional sobre los efectos del closantel en la parálisis, crecimiento y capacidad reproductiva de la *Fasciola hepática* inmadura. Este efecto es epidemiológicamente significativo (Maes et al., 1988) cuando el tratamiento se aplica en períodos de alta parasitación y es utilizado como herramienta estratégica en programas de control parasitario (Taylor et al., 1994).

Referencias

- Boray, J.C., 1997. Chemotherapy of infections with fasciolidae. In: Boray, J.C. (Ed.), Immunology, Pathobiology and Control of Fasciolosis. MSDAGVET, Rahway, New Jersey, pp. 83–97.
- Cromie, L., Ferry, M., Couper, A., Fields, C., Taylor, S.M., 2006. The pharmacokinetics of a novel closantel/ivermectin injection in cattle. J. Vet. Pharm. Ther. 29, 205–211.
- Maes, L., Lauwers, H., Deckers, W., Vanparijs, O., 1988. Flukicidal action of closantel against immature and mature Fasciola hepatica in experimentally infected rats and sheep. Res. Vet. Sci. 44, 229–232.
- Michiels, M., Meuldermans, W., Heykants, J., 1987. The metabolism and fate of closantel (Flukiver) in sheep and cattle. Drug Metab. Rev. 18, 235–251.
- Pax, R.A., Bennett, J.l., 1989. Effect of closantel on integumental pH in Schistosoma mansoni and Fasciola hepatica. J. Parasitol. 75,169–171.
- Skuce, P.J., Fairweather, I., 1990. The effect of the hydrogen ionophore closantel upon the pharmacology and ultrastructure of the adult liver fluke Fasciola hepatica. Parasitol. Res. 76, 225– 241.
- Taylor, S.M., Langridge, S.A., Kenny, J., 1994. Anthelmintic suppression of Fasciola hepatica infections in sheep. Vet. Rec. 135, 86–88.



Descripción de un brote de besnoitiosis bovina en el Sistema Central

Fernández-García A.[1], Morales A. [2], Pereda
J. M. [2], Aguado-Martínez A. [1], Marcén J. M. [3], Rojo-Montejo, S. [1], Risco-Castillo V. [1], Alvarez-García G.[1], Ortega-Mora L. M. [1]
1) SALUVET, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, U.C.M., Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid.
2) SAT Coagral, Guadalajara.
3) Departamento de Patología Animal, Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de Zaragoza, 50013 Zaragoza.

Resumen
En el presente trabajo se describe un brote de besnoitiosis bovina en la zona norte de la provincia de Guadalajara. Se trata de la primera descripción que se realiza de la enfermedad en la zona Centro del país. El brote tuvo lugar en 9 explotaciones, implicando a 358 animales que comparten pastos comunales durante la época estival, situados a una altitud superior a los 1300 m. Se realizó una inspección clínica y se obtuvieron muestras de sangre de todos los animales, así como muestras de piel de algunos de ellos mediante biopsia. En el laboratorio se llevó a cabo el diagnóstico serológico utilizando un ELISA indirecto, así como la detección de los quistes mediante su observación microscópica. La mayoría de los animales fueron seropositivos (90,5%), sin embargo sólo un 43% manifestó algún signo clínico asociado y en un 6% sólo se detectaron quistes en la conjuntiva ocular. Se observó la existencia de asociación positiva entre la edad y la presencia de signos clínicos o la seropositividad.

Introducción
La besnoitiosis bovina es una enfermedad causada por el protozoo *Besnoitia besnoiti,* descrita en Africa, Oriente Medio y Europa, y que está considerada como emergente en los países del sur de Europa (Cortes *et al.*, 2006; Alzieu, 2007). En España, la enfermedad se describió inicialmente en el País Vasco y Navarra (Juste et al., 1990), pero en la última década se encuentra en expansión habiéndose descrito también en Aragón, La Rioja, Comunidad Valenciana y Castilla y León (Castillo, 2005). Aunque un porcentaje elevado de los animales afectados cursan de forma asintomática, en otros se observa el desarrollo de lesiones cutáneas,

pérdida de la condición corporal, esterilidad en los machos e incluso la muerte. El ciclo biológico de *B. besnoiti* es heteroxeno, actuando como hospedadores intermediarios (HI) los bóvidos, tanto domésticos (ganado bovino) como silvestres (antílopes) en los que se produce la enfermedad. El hospedador definitivo (HD) no se conoce con seguridad aunque se especula con que pudiera ser el gato. En el HI se desarrolla la fase asexual del ciclo biológico. En un primer momento se desarrollan los endozoítos o taquizoítos, de crecimiento rápido, y asociados a la forma aguda de la enfermedad. En una segunda fase, se producen cistozoítos, o bradizoítos que se replican lentamente dentro de los quistes localizados en las células del tejido conectivo subcutáneo y que pueden llegar a ser macroscópicos. La transmisión de la infección puede tener lugar de HI a HI por contacto directo entre animales a través de las escoriaciones de la piel y las mucosas como ocurriría en la monta natural, así como de forma indirecta a través de vectores mecánicos como los artrópodos hematófagos (Bigalke, 1968). Esto último se ha relacionado con una aparición estacional de la enfermedad fundamentalmente en la época estival. Se desconoce la importancia de posibles HI silvestres que pudieran estar actuando como reservorios de la enfermedad. Por otro lado, se puede producir la transmisión horizontal por ingestión del HI de los posibles ooquistes que eliminara al medio el hospedador definitivo, aunque esto aún no se ha podido demostrar experimentalmente.

Material y Métodos

Caso clínico

Se describe la presencia de lesiones cutáneas con pérdida de condición corporal en diversos animales de varias explotaciones de la zona norte de la provincia de Guadalajara. La aparición de la enfermedad coincide con la entrada de un toro de raza Charolesa tres años antes. A partir de ese momento, se observa un aumento del número de animales afectados, apareciendo 10 animales con signos clínicos compatibles al siguiente año y 20 más el segundo, falleciendo 3 de ellos. La aparición de casos clínicos coincide con la época estival en la que los animales se encuentran en los pastos comunales. En cuanto a los toros, además del citado anteriormente, murieron otros tres que habían manifestado signos clínicos tales como edema en la papada y en las extremidades, problemas respiratorios graves, grietas sangrantes en las patas y orquitis que en uno de los casos evolucionó a atrofia testicular.

Examen clínico y recogida de muestras y datos

Se procedió a realizar un examen clínico detallado de 358 animales pertenecientes a 9 explotaciones. Así mismo, se obtuvieron muestras de sangre de todos los animales y muestras de piel de algunos de ellos mediante biopsia. De todos los animales se recopilaron los siguientes datos: raza, edad, sexo, aptitud y explotación.

Técnicas analíticas utilizadas

El diagnóstico serológico se realizó utilizando un ELISA indirecto (Fernández-García *et al.*, 2007). Los resultados se expresaron como índice relativo por cien (IRPC) y se consideraron positivos aquellos sueros cuyo IRPC era ≥8,1. Así mismo se llevó a cabo la detección de los quistes mediante su observación microscópica en placa triquineloscópica a partir de las biopsias de piel obtenidas.

Análisis estadístico

La seroprevalencia individual se calculó como el porcentaje de animales seropositivos respecto del total de los animales evaluados. Se establecieron 4 grupos de edad (menores de 1 año, de 1 a 3 años, de 3 a 7 años y mayores de 7 años) y la estimación del número de animales con signos clínicos se realizó considerando positivos aquellos animales que al menos mostraron uno de los signos clínicos característicos de la enfermedad. Las diferencias en el porcentaje de animales positivos por ELISA y de animales con signos clínicos en los diferentes grupos de edad se evaluaron mediante la prueba estadística Chi-cuadrado (χ^2).

Resultados y Discusión

Los signos clínicos que se observaron fueron: edema en la papada y en las extremidades, alteraciones de la piel incluyendo hiperqueratosis, oscurecimiento, alopecia y grietas en patas y pezones, así como cojera y pérdida de la condición corporal en los casos graves. En los machos se encontró además orquitis. En la mayoría de los animales que mostraron algún signo clínico pudieron observarse los característicos quistes en la conjuntiva esclerótica y parpebral, y en un 6,04% de los animales sólo se detectaron estos quistes sin otros signos asociados, de los cuales uno era un macho. Los resultados de prevalencia se muestran en la Tabla I.

La mayoría de los animales fueron seropositivos (90,5%) al tercer año de la aparición de la enfermedad. Un 90,8% de las hembras (319/351) y un 71% de los machos (5/7) fueron seropositivos. Sin embargo sólo un 43,2% de los animales examinados manifestó algún signo clínico, un 43% de las hembras (151/351) y un 42,8% de los machos (3/7). Con respecto a la raza, la mayoría de los animales eran de raza conjunto mestizo (93%) y sólo un 7% estaba constituido por las razas Charolesa, Limousina, Negra-Avileña, Parda Alpina, Frisona y Asturiana de los Valles. No se realizó ningún estudio de la asociación infección-raza. En cuanto a la edad, la población se dividió en 4 grupos de edad: 6 meses a 1 año, 1 a 3 años (47), 3 a 7 años (117) y > 7 años (188). Los porcentajes de animales positivos por ELISA y con signos clínicos se incrementaron con la edad de forma estadísticamente significativa (χ^2= 80,7; χ^2= 31,7; P< 0.01) (Fig. 1).

Los resultados obtenidos demuestran la presencia de la besnoitiosis por primera vez en la zona centro de España. La enfermedad una vez ha penetrado en una zona se disemina rápidamente, coincidiendo estos resultados con el único estudio publicado recientemente en una explotación de producción de carne en Portugal, en el que se encontró un rápido aumento de la seroprevalencia pasando de un 36% a un 70% en 18 meses (Cortes *et al.*, 2006). Así mismo se pone en evidencia una aparición de casos clínicos ligada a la época estival, estacionalidad que otros autores han relacionado con la época de actividad trófica de artrópodos hematófagos como los tábanos, los cuales actuarían como vectores mecánicos o la posible concurrencia de reservorios silvestres que participen en la transmisión de la infección hasta el momento desconocidos (Alzieu, 2007).

Conclusiones

Se confirma la extensión de la besnoitiosis bovina a diferentes áreas geográficas de la Península Ibérica. En la situación actual, debe prestarse especial atención a la posible introducción de animales portadores de la infección en los rebaños y a la aparición de los primeros signos clínicos en los animales. En este contexto, las herramientas serológicas son muy útiles a la hora de detectar animales portadores de forma precoz.

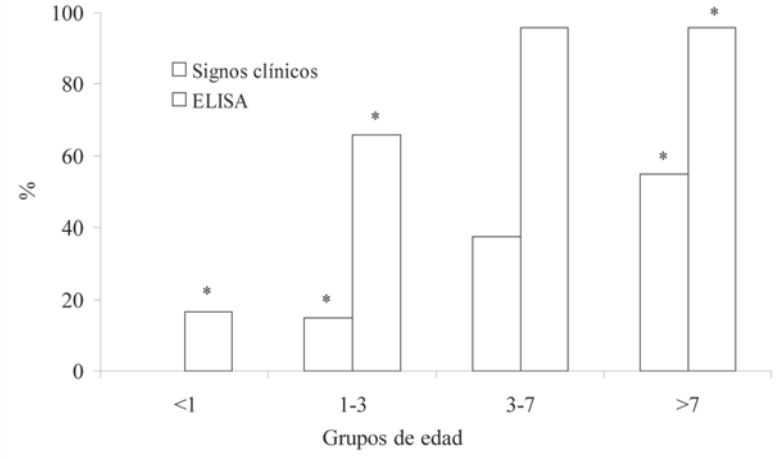
Referencias

- **Alzieu, J.P.** 2007. Re-emerging cattle besnoitiosis (*Besnoitia besnoiti*) in France: update on clinical and epidemiological aspects. In: 21st International Conference WAAVP. p.186
- **Bigalke, R.** 1968. New conception of the epidemiological features of bovine benoitiosis as determined by laboratory investigations. *Onderstepoort J. Vet. Res. 35: 3-137.***Castillo, J. A.** 2005. Besnoitiosis bovina. *X Congreso Internacional de Medicina Bovina. 13-14 Mayo, 2005.*
- **Cortes, H., Reis, Y, Waap, H., Marcelino, E., Vaz, Y., Nunes, T., Fanzendeiro, I., Caerio, V., Leitao, A.** 2006. Longitudinal study of *Besnoitia besnoiti* infection prevalence rates in a beef cattle herd in Alentejo, Portugal. *In: Proceedings of the COST 854 Final Conference, Liège, Belgium. Sept. 6-9. pp: 20.*
- **Fernández-García A.**, Alvarez-García G., Aguado-Martínez A., Risco-Castillo V., Castillo J.A., Ortega-Mora L.M. 2007. Desarrollo y validación de un ELISA indirecto para el diagnóstico de la besnoitiosis bovina. AVEDILA 2007. p. 71. 1-2 de Octubre de 2007. Bilbao, España.
- **Juste, R. A., Cuervo, L. A., Marco, J.C., Oregui, L. M.** La besnoitiosis bovina: ¿desconocida en España?. 1990. *Med. Vet. 7 (11): 613-618*.

Tabla 1: Distribución por explotaciones del porcentaje de bovinos positivos y negativos por ELISA y del porcentaje de bovinos con y sin signos clínicos.

Explotación	ELISA				Signos clínicos				Total general
	Negativo	%	positivo	%	c/signos	%	s/signos	%	
A	2	8,3	22	91,7	18	75	6	25	24
B	2	14,3	12	85,7	5	35,7	9	64,3	14
C	3	5,9	48	94,1	32	62,7	19	37,3	51
D	16	20,8	61	79,2	32	40,3	45	59,7	77
E	-	0,00	24	100	7	29,2	17	70,8	24
F	1	2,6	38	97,4	13	33,3	26	66,7	39
G	1	3	32	96,9	17	51,5	16	48,5	33
H	2	4,5	42	95,5	16	36,4	28	63,6	44
I	7	13,5	45	86,5	14	26,9	38	73,1	52
Total general	**34**	**9,50**	**324**	**90,50**	**154**	**43,02**	**204**	**56,98**	**358**

Figura 1: Distribución por edades del porcentaje de bovinos con signos clínicos y del porcentaje de bovinos positivos por ELISA. El asterisco representa los grupos de edades en los que el porcentaje es estadísticamente diferente al porcentaje del total de la población.



EFICACIA CLINICA DEL DICLAZURIL FRENTE A LA COCCIDIOSIS EN TERNEROS LACTANTES

Salichs Florensa, Marta* DVM – Llena, Jaime# DVM – Arias Vázquez, Marisol† DVM – Homedes Beguer, Josep* DVM, MS, PhD.
**veterinaria Esteve, Laboratorios Dr. Esteve S.A., Avda. Mare de Déu de Montserrat, 221; Barcelona, Spain.*
#COREN S.A, Polígono Ind. San Ciprián de Viñas, 32911 Orense, Spain.
†Departamento de Parasitología, Facultad de Veterinaria, 27002 Lugo, Spain

RESUMEN:
El objetivo del estudio fue demostrar la eficacia de la administración de 1 mg/kg de diclazuril incorporada al lactoremplazante respecto a un control negativo, en la prevención de la coccidiosis. Se seleccionaron 78 terneros que presentaban un recuento positivo de Eimeria y se distribuyeron en dos grupos alojados en corrales independientes. Uno de los dos grupos recibió una única dosis de 1 mg/kg de diclazuril (4 ml/10 kg de Vecoxan®, Laboratorios Dr. Esteve, S.A.) en el lactoremplazante. Durante los 23 días del estudio se realizaron observaciones clínicas diarias y se tomaron muestras de heces en 5 ocasiones para determinar la evolución de la eliminación de ooquistes. Asimismo se registró el peso de los animales los días D0 y D18 para determinar el incremento de peso de cada grupo. A los 2 y 7 días del tratamiento se observaron diferencias significativas en la cantidad de ooquistes eliminados siendo menor en el grupo tratado (p=0.018 y p=0.016 respectivamente). Como medida de la magnitud de la infestación, se calculó individualmente el área bajo la curva concentración/tiempo (AUC) de la cantidad de ooquistes eliminados durante el estudio, observándose una disminución de la carga parasitaria estadísticamente significativa a favor del grupo tratado (p=0.010). Además, los animales del grupo tratado presentaban un incremento de peso (kg) superior al del grupo control (25,43±0,27 vs 23,77±0,31) y cuando se realizó una correlación entre las variables AUC e incremento de peso, se observó un coeficiente de correlación negativo (R2= -0,278; p=0.013), lo que indica que el incremento de peso disminuye a medida que aumenta la cantidad de ooquistes eliminados. Este estudio confirma la eficacia de la administración en el lactoremplazante de 4 ml/10 kg de Vecoxan®, para disminuir de forma rápida la carga parasitaria y favorecer un mayor incremento de peso.



INTRODUCCIÓN:
La coccidiosis bovina, producida principalmente por *E. bovis y E. zuernii*, conlleva una gran destrucción de células del epitelio intestinal alterando su capacidad de absorción de nutrientes y provocando pérdida de líquidos que puede traducirse en diarreas, pérdida de peso, infecciones intercurrentes y aumento de la mortalidad. Se ha descrito que hasta un 27% de los terneros adultos pueden ser portadores subclínicos y eliminar ooquistes en las heces. Sin embargo, la exposición de animales jóvenes (de entre 1 y 4 meses de vida) a dichos ooquistes, aumenta notablemente el riesgo de aparición de coccidiosis clínica, con pérdidas productivas significativas. Estudios anteriores han demostrado la eficacia del diclazuril en el control de la coccidiosis bovina administrado por vía oral forzada (Gradwell et al. 2005; Daugschies et al. 2005). Sin embargo, no se dispone de estudios que avalen la eficacia del diclazuril administrado a través del lactoremplazante en terneros lactantes. El objetivo del presente estudio fue demostrar la eficacia y tolerancia de la administración de 1 mg/kg de diclazuril en forma de suspensión oral incorporada al lactoremplazante respecto a un control negativo, en la prevención de la coccidiosis en terneros lactantes en condiciones reales de campo.

MATERIAL Y METODOS:
En una granja comercial de engorde de terneros se confirmó la presencia de coccidiosis mediante la realización de un análisis coprológico a un 20% de los animales. Posteriormente se seleccionaron 78 terneros de aproximadamente 1 mes de vida, con pesos comprendidos entre los 45 y los 79 kg y que presentaban un recuento positivo de ooquistes de Eimeria en heces. Los animales se identificaron individualmente y se distribuyeron aleatoriamente en dos grupos alojados en corrales independientes (Grupo Tratado y Grupo Control con 37 y 41 terneros respectivamente). Los animales recibieron, durante todo el estudio, pienso y paja *ad libitum,* tuvieron libre acceso al agua y recibieron lactoremplazante a razón de una toma de 2 litros por la mañana. El primer día del estudio (D0), los animales del Grupo Tratado (GT) recibieron una única dosis de 1 mg/kg de diclazuril en suspensión oral (4 ml/10 kg de Vecoxan®, Laboratorios Dr. Esteve, S.A.) mezclada con el lactoremplazante. Los animales del Grupo Control (GC) recibieron únicamente el lactoremplazante. A lo largo de los 23 días que duró el estudio se realizaron observaciones clínicas diarias a todos los animales para detectar la presencia de diarreas y se tomaron muestras de heces los días D0, D2, D7, D15 y D22 para realizar análisis coprológicos (O.P.G.) cuantitativos y cualitativos de E. bovis y E. zuernii y determinar la evolución de la eliminación de ooquistes. Asimismo y como medida de la magnitud y duración de la infestación, se calculó el área bajo la curva concentración/tiempo (AUC) de la cantidad de ooquistes eliminados durante todo el estudio. Además, al inicio y al final del estudio se registró el peso de todos los animales para determinar el incremento de peso de cada uno de los grupos. Los valores de O.P.G. de ambos grupos se compararon, para cada uno de los días de muestreo, mediante un ANOVA de medidas repetidas y las AUC se compararon entre si utilizando el Test de la suma de rangos de Mann-Whitney. El peso inicial y final de cada uno de los grupos así como el incremento de peso se compararon mediante el test de la T de Student.[1]

RESULTADOS Y DISCUSION:
No se observaron síntomas de coccidiosis clínica a lo largo del estudio en ninguno de los animales. Sin embargo, ambos grupos presentaban niveles de O.P.G. próximos a los 2000 al inicio del estudio, confirmándose la presencia de coccidiosis subclínica. Tras el tratamiento, tal y como se observa en la Tabla 1 y Figura 1, la cantidad de ooquistes eliminados en las heces de los animales tratados con diclazuril disminuyó de forma rápida y marcada, observándose diferencias significativas respecto al grupo control a los 2 y 7 días del tratamiento (p=0.018 y p=0.016 respectivamente). El grupo tratado mantuvo niveles mínimos de O.P.G. a lo largo de todo el estudio, mientras que en los animales del grupo control, los niveles de O.P.G. aumentaron ligeramente al principio descendiendo hasta niveles similares a los del grupo tratado transcurridas 2 semanas.

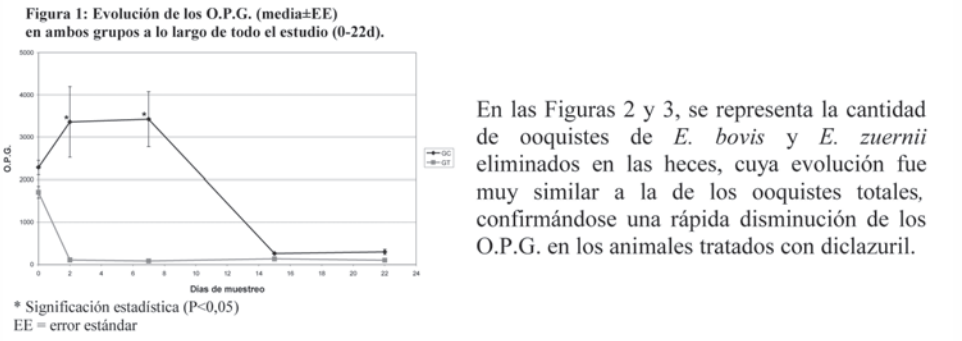
1 Sigma Stat versión 2.03 para windows

Tabla 1: Valores medios ± EE de las concentraciones de ooquistes en ambos grupos

GRUPO	0	2	7	15	22
TRATADO	2285±167	3363±834	3427±649	261±28	296±62
CONTROL	1707±137	105±10	82±8	131±10	100±8
Significación estadística (P)	0,676	**0,018**	**0,016**	0,925	0,887

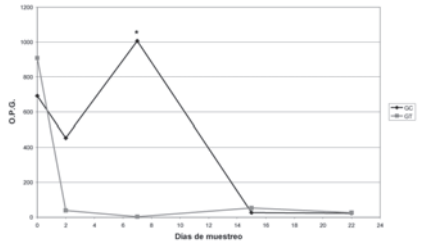
E = error estándar

Figura 1: Evolución de los O.P.G. (media±EE) en ambos grupos a lo largo de todo el estudio (0-22d).



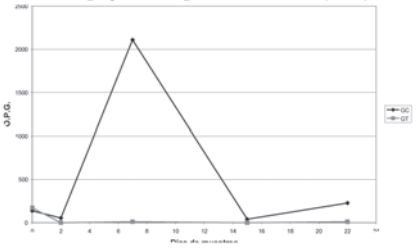
En las Figuras 2 y 3, se representa la cantidad de ooquistes de *E. bovis* y *E. zuernii* eliminados en las heces, cuya evolución fue muy similar a la de los ooquistes totales, confirmándose una rápida disminución de los O.P.G. en los animales tratados con diclazuril.

Figura 2: Evolución de los O.P.G de E. bovis. (media±EE) en ambos grupos a lo largo de todo el estudio (0-22d).



*** Significación estadística (P<0,05)**
EE = error estándar

Figura 3: Evolución de los O.P.G de E. zuernii. (media±EE) en ambos grupos a lo largo de todo el estudio (0-22d).



*** Significación estadística (P<0,05)**
EE = error estándar

El hecho que los animales no tratados lleguen a alcanzar unos niveles de ooquistes en heces similares a los del grupo tratado transcurridas 2 semanas es debido, probablemente, a que el sistema inmunitario de los terneros es capaz de superar infestaciones leves sin llegarse a observar enfermedad clínica. En la tabla 2 se reflejan las AUC de los ooquistes eliminados durante los 23 días del estudio, observándose una cantidad significativamente mayor de ooquistes eliminados por parte de los animales del grupo control (p=0.010).

Tabla 2: Valores medios ± EE de la AUC(0-22d) de los niveles de ooquites eliminados en cada grupo.

GRUPO	AUC(0-22d)
TRATADO	4884±198
CONTROL	27302±2607
Significación estadística (P)	0,010

EE = error estándar

En cuanto a los parámetros productivos, tal y como se observa en la Tabla 3, ambos grupos partían de pesos iniciales similares y al finalizar el estudio los animales del grupo tratado presentaban un incremento de peso ligeramente superior, sin llegar a ser estadísticamente significativo, al de los animales no tratados (25,43 vs 23,77).

Tabla 3: Valores medios ± EE de los pesos inicial, final e incremento de peso para ambos grupos.

GRUPO	PESO INICIAL	PESO FINAL	INCREMENTO DE PESO
CONTROL	63,32±0,42	87,09±0,60	23,77±0,31
TRATADO	63,96±0,45	89,39±0,62	25,43±0,27
Significación estadística (P)	0,739	0,394	0,200

EE = error estándar

Para valorar la influencia de la carga parasitaria sobre el crecimiento de los animales se estudió la posible correlación entre las variables $AUC_{(0\text{-}22d)}$ e incremento de peso, independientemente del grupo al que estuviera asignado cada animal. Tal y como se observa en la Tabla 4, se obtuvo un coeficiente de correlación negativo (CC= -0,278) que indica que el incremento de peso disminuye a medida que aumenta la cantidad de ooquistes eliminados (AUC), con una clara significación estadística (P<0,05). Esta correlación indica que la tendencia a un mayor incremento de peso de los animales del grupo tratado está directamente relacionada con la menor carga parasitaria observada en los animales de este grupo.

Tabla 4: Correlación entre las variables $AUC_{(0\text{-}22d)}$ e incremento de peso

	INCREMENTO DE PESO	
$AUC_{(0\text{-}22d)}$	- 0,278	Coeficiente de correlación (CC)
	0,0137	Significación estadística (P)
	78	Número de animales

CONCLUSION:

Este estudio confirma la eficacia de la administración en el lactoremplazante de 4 ml/10 kg de Vecoxan®, para disminuir de forma rápida la eliminación de ooquistes de Eimeria y favorecer un mayor incremento de peso.

REFERENCIAS:

- *GRADWELL D et al. (2005) Efficacy of Diclazuril (Vecoxan) against naturally acquired Eimeria infections in suckling calves and economic benefits of treatment. Cattle Practice, vol13, part3.*

Caracterización etiológica de las mastitis bovinas en España y diferencias en la distribución de los patógenos mamarios en función de la presentación clínica o subclínica.

Esnal, A.[1]; Marco, J.C.[2]; Escobal, I[1]; Extramiana, A.B.[1]; Elorriaga, M.[1]
1) Analítica Veterinaria SL. Aritz Bidea 18 bajo. 48100 Mungia - Vizcaya, España
2) Laboratorio Normativo de Salud Pública. Gobierno Vasco.

RESUMEN
Un total de 62978 muestras de leche de vacuno lechero procedentes de casos de mastitis subclínica y 3247 muestras procedentes de casos de mastitis clínica, fueron analizadas para la identificación de los patógenos implicados. Una vez descartados los cultivos negativos y contaminados, y desglosados los cultivos mixtos, se incluyeron en el estudio un total de 46204 aislamientos de mastitis subclínicas y 2287 aislamientos de mastitis clínicas. A nivel subclínico, el género *Staphylococcus*, con el 32,91%, fue el más aislado (*S. aureus*: 16,76%; estafilococos coagulasa negativos: 16,15%), seguido de las diferentes especies incluídas en Streptococcaceae (30,41%), y del género *Corynebacterium* spp (18,18%). Las Enterobacterias representaron el 13,75%. Por el contrario, en el ámbito de las mastitis clínica, Streptococcaceae fue el grupo más aislado (34,20%), seguido de las Enterobacterias (24,44%). Los estafilococos se situaron en tercer lugar, con un 20,51 % (SCN: 10,54%; S. aureus: 9,97%). Tanto a nivel clínico como subclínico, el resto de patógenos aislados (*Bacillus* spp, *Arcanobacterium pyogenes,* Levaduras y Mohos, *Prototheca* spp, *Pseudomonas* spp, *Mycoplasma* spp, *Mannhemia* spp, *Pasteurella* spp y otros) tuvieron cada uno de ellos frecuencias de aislamiento inferiores al 3%. Se estimó el potencial patógeno de cada microorganismo para inducir mastitis clínica, calculando lo que se denominó Índice de Patogenicidad Clínica (IPC), cociente entre su frecuencia de aislamiento en mastitis clínica y su frecuencia de aislamiento en mastitis subclínica. Según este índice, fueron precisamente aquellos microorganismos menos prevalentes en términos absolutos los que presentaron un mayor potencial clínico, por este orden: *Prototheca* spp (3,91), *Mannhemia* / *Pasteurella* spp (3,43), *Arcanobacterium pyogenes* (2,51) *y* Levaduras y Mohos (2,47). Dentro de las especies más prevalentes, fueron las Enterobacterias las que mostraron un IPC más elevado (1,78). Los microorganismos que mostraron menor potencial clínico fueron *S. aureus* (0,59), *Corynebacterium* spp (0,62) y los estafilococos



coagulasa negativos. (0,65). Se estudió también la evolución de la distribución etiológica a lo largos de los años, observándose una clara disminución de las prevalencias relativas de *S. aureus* (1999: 19,56%; 2005: 9,35%) y *Str. agalactiae* (1999: 8,46%; 2005: 2,26%) y un moderado aumento de Enterobacterias (1999: 13,19%; 2005: 21,44%), mientras que la prevalencia de Streptococcaceae no varió prácticamente (1999: 28,87%; 2005: 27,93%).
(**Palabras clave**: mastitis bovina, mastitis clínica, etiología, Índice de Patogenicidad Clínica).

Abreviaturas clave: IPC = Índice de Patogenicidad Clínica; MC = mastitis clínica; MS = mastitis subclínica; RCS = recuento de células somáticas; SCN = *Staphylococcus* coagulasa negativo.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de los microorganismos causantes de mastitis en el ganado vacuno lechero es importante, ya que debido a las diferencias que presentan entre sí en cuanto a hábitat, formas de transmisión, contagiosidad y repercusión clínica y productiva, las estrategias de control se pueden enfocar de diferentes formas (Hill, 1991). El presente estudio incluye un número elevado de muestras y de explotaciones, ampliamente representativo del conjunto del territorio español. Por otro lado, analizar las diferencias en la distribución de los diferentes microorganismos en función del tipo de mastitis, clínica o subclínica, es interesante ya que aporta información sobre el potencial patógeno de cada uno de ellos, estimado habitualmente a través de otros parámetros como el recuento celular.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo y expresión de resultados

En el estudio se incluyeron 66225 muestras de leche recibidas en el laboratorio de diagnóstico veterinario Analítica Veterinaria S.L., localizado en la Comunidad Autónoma del País Vasco, España. Las muestras correspondieron a vacas afectadas de mastitis clínica o sospechosas de padecer mastitis subclínica, y pertenecientes a explotaciones de ganado vacuno lechero distribuidos por todo el territorio español.

Se catalogaron como mastitis clínicas aquellas muestras que fueron identificadas como tales por parte del veterinario que envió las muestras, así como muestras que aunque no hubieran sido identificadas como clínicas por parte del mismo, presentaban una evidente alteración de la secreción láctea atribuible a un caso clínico de mastitis, tal como aspecto sanguinolento y aspecto purulento. Se catalogaron como de mastitis subclínicas, aquellas muestras que fueron identificadas como tales por parte del veterinario que envió las muestras y procedentes de glándulas mamarias seleccionadas en base a procedimientos de diagnóstico en campo como el California Mastitis Test (CMT) o la exploración clínica de ubres, así como muestras que aunque no hubieran sido identificadas como subclínicas por parte de dicho veterinario, se enviaron al laboratorio para diagnóstico etiológico de mastitis y no presentaban alteración aparente de la secreción láctea.

Así, se incluyeron en el estudio 62978 muestras de leche de casos de mastitis subclínica y 3247 muestras de leche de casos de mastitis clínica. Una vez desglosados los cultivos positivos mixtos, el número total de cepas aisladas fue de 48491, de las cuales 46204 correspondieron a casos de mastitis subclínica y 2287 a episodios de mastitis clínica (Tabla 1). Para cada uno de los dos tipos de mastitis, la frecuencia de cada microorganismo se calculó como el porcentaje de aislamiento respecto al total de aislamientos obtenidos, una vez desglosados los cultivos mixtos en dos aislamientos cada uno de ellos.

La proporción entre la frecuencia de aislamiento en casos de mastitis clínica y la frecuencia de aislamiento en casos de mastitis subclínica, puede ser un buen indicador del potencial patógeno de cada microorganismo. Para cada microorganismo se estimó el que se denominó Índice de Patogenicidad Clínica (IPC), calculado como el cociente entre la frecuencia de aislamiento en mastitis clínicas y la frecuencia de aislamiento en mastitis subclínicas. Un IPC inferior a 1 indica una mayor frecuencia subclínica que clínica, mientras que un IPC superior a 1 indica lo contrario.

Tabla 1. Características del muestreo.

	Total		MS		MC	
	N	(%)	N	(%)	N	(%)
Total muestras	66225	100.0	62978	100.0	3247	100.0
Negativas	16800	25,37	15950	25,33	850	26,18
Contaminadas	6626	10,00	6330	10,05	296	9,12
Positivas	42799	64,63	40698	64,62	2101	64,71
Cultivos puros	37107	56,03	35192	55,88	1915	58,98
Cultivos mixtos	5692	8,59	5506	8,74	186	5,73
Total aislamientos[1]	48491		46204		2287	

Total aislamientos[1]: Número total de cepas aisladas desglosando los cultivos mixtos
MS: Mastitis subclínicas; MC: Mastitis clínicas

Análisis bacteriológicos

Se sembraron 0,02 ml de leche de cada muestra en medio agar Columbia con 5% de sangre de carnero (bioMérieux S.A), incubándose las placas durante 7 días a 37ºC en condiciones de aerobiosis y realizándose lecturas a 24 y 48 h, así como a 5-7 días. La metodología utilizada para la clasificación de los cultivos (negativos, contaminados, positivos puros y positivos mixtos) y para identificación de los microorganismos fue en términos generales la recomendada por el National Mastitis Council (1990).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados microbiológicos del estudio se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2.. Distribución de los diferentes microorganimos en conjunto y según el tipo de mastitis (MS y MC). Índice de Patogenicidad Clínica (IPC) estimado para cada microorganismo como el cociente de la frecuencia de aparición en MC y la frecuencia de aparición en MS.

	Total		MS		MC		
	N	(%)	N	(%)	N	(%)	IPC
Corynebacterium spp	8658	17,85	8399	18,18	259	11,32	0,62
Staphylococcus aureus	7970	16,44	7742	16,76	228	9,97	0,59
Staphylococcus coag. neg.	7705	15,89	7464	16,15	241	10,54	0,65
Enterobacteria	6911	14,25	6352	13,75	559	24,44	1,78
Streptococcus dysgalactiae	4000	8,25	3805	8,24	195	8,53	1,04
Streptococcus uberis	3973	8,19	3737	8,09	236	10,32	1,28
Enterococcus spp	3540	7,30	3407	7,37	133	5,82	0,79
Streptococcus agalactiae	2154	4,44	2019	4,37	135	5,90	1,35
Streptococcus spp	767	1,58	701	1,52	66	2,89	1,90
Bacillus spp	631	1,30	605	1,31	26	1,14	0,87
Arcanobacterium pyogenes	534	1,10	475	1,03	59	2,58	2,51
Levaduras	400	0,82	356	0,77	44	1,92	2,50
Streptococcus canis	397	0,82	380	0,82	17	0,74	0,90
Prototheca spp	302	0,62	253	0,55	49	2,14	3,91
Pseudomonas spp	295	0,61	275	0,60	20	0,87	1,47
Mycoplasma spp	75	0,15	72	0,16	3	0,13	0,84
Pasteurella / Mannhemia spp	62	0,13	53	0,11	9	0,39	3,43
Mohos	22	0,05	20	0,04	2	0,09	2,02
Otros	95	0,20	89	0,19	6	0,26	1,36
TOTAL	48491	100,00	46204	100,00	2287	100,00	1,00



A nivel subclínico, el género *Staphylococcus*, con el 32,91%, fué el más aislado (*S. aureus*: 16,76%; estafilococos coagulasa negativos - SCN: 16,15%), seguido de las diferentes especies incluídas en Streptococcaceae (30,41%), y del género *Corynebacterium* spp (18,18%). Las Enterobacterias representaron el 13,75%. Por el contrario, a nivel de mastitis clínica, Streptococcaceae fue el grupo más aislado (34,20%), seguido de las Enterobacterias (24,44%). Los estafilococos se situaron en tercer lugar, con un 20,51 % (SCN: 10,54%; *S. aureus*: 9,97%). Tanto a nivel clínico como subclínico, el resto de patógenos aislados (*Bacillus* spp, *Arcanobacterium pyogenes,* Levaduras y Mohos, *Prototheca* spp, *Pseudomonas* spp, *Mycoplasma* spp, *Mannhemia* spp, *Pasteurella* spp, y otros) tuvieron cada uno de ellos frecuencias de aislamiento inferiores al 3%, aunque con diferencias notables entre sus frecuencias clínicas y subclínicas.

Respecto a las mastitis subclínicas, la práctica similitud en la frecuencia de estafilococos y estreptococos es coincidente con otros trabajos exhaustivos desarrollados en España (Marco et al., 1998; Soriano, 2007). Respecto a las mamitis clínicas, algunos autores también señalan a coliformes y estreptococos como los patogenos más prevalentes (Bradley et al., 2007) mientras que otros (Marco et al., 1998; Whist et al., 2006) señalan a *S. aureus* como la especie más aislada.

Mediante el Índice de Patogenicidad Clínica (IPC) se estimó el potencial patógeno de cada microorganismo para inducir mastitis clínica (Gráfico 1). Según dicho índice, fueron precisamente aquellos microorganismos menos prevalentes en términos absolutos los que presentaron un mayor potencial clínico, por este orden: *Prototheca* spp (3,91), *Mannhemia* / *Pasteurella* spp (3,43), *Arcanobacterium pyogenes* (2,51) *y* Levaduras y Mohos (2,47). Respecto a las especies más prevalentes, fueron las Enterobacterias las que mostraron un IPC más elevado (1,78%). Dentro de los estreptococos, *Str. agalactiae* y *Str. uberis* fueron los que presentaron el mayor potencial clínico. Los microorganismos que mostraron menor potencial clínico, todos ellos con un IPC similar, fueron *Staphylococcus aureus* (0,59), *Corynebacterium* spp (0,62) y los estafilococos coagulasa negativos (0,65).

Gráfico 1.. Índices de Patogenicidad clínica (IPC) de cada microorganismo ordenados de menor a mayor, utilizando una escala logarítmica. A la izquierda del valor 1, microorganismos con mayor frecuencia relativa de aislamiento en mastitis subclínicas que en mastitis clínicas. A la derecha, microorganismos con mayor frecuencia relativa de aislamiento en mastitis clínicas que en mastitis subclínicas.
GRAFICO!!

Aunque sus frecuencias en términos globales pueden considerarse bajas, hay que destacar el marcado potencial clínico de *A. pyogenes*, *Pasteurella* /*Mannhemia* y en especial de *Prototheca* spp, cuya manifestación clínica es casi cuatro veces superior a su manifestación subclínica. Este resultado, unido a la capacidad de esta alga de provocar brotes clínicos y elevaciones marcadas del recuento celular (Bueno et al., 2006; Jánosi et al., 2001), aconsejan tener muy presente a esta bacteria en los sistemas de vigilancia analítica de los programas de control de mastitis. El conjunto de estos patógenos minoritarios, incluidos *Pseudomonas* spp, *Bacillus* spp y mohos / levaduras, estuvo implicado en el 10% de los casos de mastitis clínica.
Hay que señalar la similar frecuencia clínica obtenida para *S. aureus* y SCN. Este resultado, que contradice otros en los que sí se observan diferencias en la frecuencia clínica de ambos patógenos (Whist et al., 2006), pondría en cuestión las marcadas diferencias de patogenicidad que se han atribuido tradicionalmente a ambos grupos. Otros trabajos también consideran que las especies de SCN pueden tener un nivel de patogenicidad similar al de patógenos mayores, alcanzando elevadas prevalencias y provocando importantes pérdidas productivas (Rajala-Schulz et al., 2004; Timms et al., 1987). Por otro lado, la frecuencia observada de SCN en mastitis clínicas (10,54%) es superior a otros estudios (Whist et al., 2006: 6,3%) pero inferior incluso a la señalada por otros (Schallibaum, 2001: 17%)
Se estudió también la evolución de la distribución etiológica a lo largos de los años (Tabla 3), observándose una disminución de las prevalencias relativas de *S. aureus* (1999: 19,56%; 2005: 9,35%) y *Str. agalactiae* (1999: 8,46%; 2005: 2,26%) y un moderado aumento de las Enterobacterias (1999: 13,19%; 2005: 21,44%), mientras que la prevalencia de Streptococcaceae no varió prácticamente (1999: 28,87%; 2005: 27,93%). Estos resultados están en consonancia con la consideración de que los programas de control de

mastitis consiguen principalmente la reducción de la prevalencia de patógenos contagiosos como S. aureus y Str. agalactiae, pasando a ocupar el hueco dejado por ellos especies ambientales como estreptococos o Enterobacterias.

Tabla 3.. Evolución de la distribución de los diferentes microorganimos expresado en porcentaje sobre el total de aislamientos. Datos conjuntos tanto de mastitis subclínicas como clínicas.

Microorganismo	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
S. aureus	19,56	18,01	16,35	18,56	12,51	11,99	9,35
Corynebacterium spp	18,47	17,36	17,24	16,69	20,75	21,24	15,8
SCN	15,08	16,6	15,77	13,61	15,22	15,68	20,59
Enterobacteria	13,19	12,75	13,82	14,98	15,06	14,05	21,44
Str. agalactiae	8,46	5,09	4,66	3,43	3,47	3,50	2,26
Str. uberis	6,96	8,18	7,29	8,00	10,50	9,29	8,42
Str. dysgalactiae	5,36	7,59	9,21	9,32	9,14	7,16	7,99
Enterococcus spp	4,89	6,94	9,48	7,99	6,02	8,45	5,27
Streptococcus spp	2,34	2,08	0,91	1,46	1,60	1,07	1,97
A. pyogenes	0,84	0,70	1,21	1,65	1,25	1,26	0,66
Levaduras	1,25	0,72	0,59	0,81	0,98	0,69	1,22
Bacillus spp	1,21	2,15	1,27	0,67	0,88	1,41	1,46
Str. canis	0,86	0,85	0,50	0,82	0,68	1,29	2,02
Pseudomonas spp	0,60	0,60	0,40	0,77	0,63	0,53	0,56
Prototheca spp	0,55	0,21	0,58	0,76	0,81	1,48	0,75
Mohos	0,08	0,05	0,03	0,02	0,03	0,15	
Pasteurella / Mannheimia	0,06	0,04	0,12	0,08	0,28	0,15	0,19

CONCLUSIONES

Aunque en términos globales de infección mamaria, los estafilococos y estreptococos son los grupos de patógenos más frecuentes, a nivel de mastitis clínicas cobran especial importancia las Enterobacterias y *Str. uberis*. Por el contrario, la frecuencia clínica observada para los estafilococos es muy inferior a su frecuencia subclínica, y similar además entre *S. aureus* y los coagulasa negativos, lo que cuestionaría algunas de las diferencias de patogenicidad atribuidas a ambos grupos.

Las especies con mayor potencial de manifestarse clínicamente son precisamente especies minoritarias como *Prototheca* spp, *Pasteurella* / *Mannheimia*, *Arcanobacterium pyogenes*, Mohos y Levaduras, etc. El conjunto de todas ellas está implicado en el 10% del total de casos clínicos. Es especialmente destacable el caso de *Prototheca* spp, cuya frecuencia clínica es 4 veces superior a su frecuencia subclínica. Estos resultados resaltan la necesidad de analizar casos clínicos con el fin de tener un diagnóstico completo de la problemática de mastitis en una explotación.

A lo largo de 7 años de estudio, las frecuencias de *S. aureus* y sobre todo de *Str. agalactiae* disminuyeron considerablemente, dando lugar al incremento de otros patógenos, en especial de Enterobacterias.

REFERENCIAS

- Bradley AJ, Leach KA, Breen JE, Green LE, Green MJ. 2007. Survey of the incidence and aetiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. Vet Rec. 160(8):253-7.
- Bueno V.F., De Mesquita A.J., Neves R.B, De Souza MA, Ribeiro AR, Nicolau ES, de Oliveira AN. 2006. Epidemiological and clinical aspects of the first outbreak of bovine mastitis caused by Prototheca zopfii in Goiás State, Brazil. Mycopathologia. 161(3):141-5.
- Marco J.C., Rodriguez M., González M., Ziluaga I., Salazar L.M., Palomino A., Mendez A., Díaz A., Fernández G. 1998. Etiología de las mamitis bovinas en España. Revista Bovis, 85: 13-31.



- Rajala-Schultz P.J., Smith K.L., Hogan J.S., Love B.C. 2004. Antimicrobial susceptibility of mastitis pathogens from first lactation and older cows. Vet Microbiol. 102(1-2):33-42.
- Schallibaum M. 2001. Impact of SCC on the quality of fluid milk and cheese. Pp 38-46 in Proc. Natl. Mastitis Coun. 40thAnnual Meeting., Reno, NV.
- Soriano F.C. 2007. Evaluación de la eficacia de un tratamiento antibiótico intramamario (Ceparavin V.S) sobre la sanidad de la glándula mamaria y efectos en los niveles de producción láctea. Tesis Doctoral. Universidad politécnica de Valencia.
- Timms LL, Schultz LH. 1987. Dynamics and significance of coagulase-negative staphylococcal intramammary infections. J Dairy Sci. 70(12):2648-57.

UTILIZACIÓN DE LA REACCIÓN EN CADENA DE LA POLIMERASA (PCR) EN EL DIAGNÓSTICO DE LEPTOSPIROSIS EN BOVINOS DE LA SABANA DE BOGOTÁ COLOMBIA

Hernández-Rodríguez Patricia M.Sc[1]; Quintero Gladys M.Sc[1]; Díaz César M.Sc[2]; Dalmau Ernesto M.Sc[2].
1. Grupo de Investigación Biología Molecular e Inmunogenética.
2. Grupo de Investigación Medicina y Sanidad Animal.
Facultad de Medicina Veterinaria. Departamento de Ciencias Básicas.
Universidad de La Salle. Bogotá. Colombia Sur América
phernandez@lasalle.edu.co

RESUMEN

Introducción: La Leptospirosis presenta manifestaciones clínicas muy variadas que hacen difícil el diagnóstico. En Colombia éste se basa en pruebas serológicas indirectas y no se tienen criterios unificados respecto a los títulos considerados como positivos. **Objetivo:** Realizar estudio microbiológico y molecular en muestras de orina bovina mediante Campo Oscuro, Cultivo y PCR. **Metodología:** Se tomaron 60 muestras de orina bovina (hembras) para realizar las pruebas de laboratorio. Se utilizaron como controles positivos Cepas ATCC (patógena, saprofita) y Cepas donadas por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA) y Cepas *E coli* y *S aureus* como controles negativos. A nivel molecular se realizaron tres pruebas de PCR para analizar secuencias genéticas de *Leptospira sp*: *rrl*(genero), *hap1*(patógena), *rrs (*saprofita). **Resultados:** Se identificaron leptospiras en el 40% (24/60) de las muestras analizadas. En las 24 muestras positivas (100%) se observó la banda de 482pb (genero), en el 92% (22/24) la banda de 262pb (patógena) y en el 8% (2/24) la banda de 240pb (saprofita). A nivel microbiológico, por campo oscuro, se observaron en el sedimento Leptospiras en 16 muestras (27%) y se obtuvieron 23 cultivos positivos (38%). **Conclusiones:** Este trabajo se presenta como una contribución importante en el diagnóstico de la leptospirosis frente métodos poco precisos. En un país esencialmente agropecuario la información sobre esta zoonosis es escasa y no es consistente en el continente; por lo tanto, los resultados obtenidos en este estudio permitirán proponer investigaciones clínicas, epidemiológicas y moleculares que conlleven a conocer una enfermedad que afecta la Sanidad Animal, la Salud Pública y la Industria Pecuaria en la región.



Palabras Claves: *Leptospirosis Bovina, PCR, Campo Oscuro, Aislamiento, Métodos Diagnósticos.*

INTRODUCCIÓN

La leptospirosis es considerada como una de las enfermedades bacterianas que en forma endémica afecta la ganadería bovina en el mundo entero, además por tratarse de una enfermedad de difusión rápida presente en zonas rurales y urbanas el hombre esta altamente expuesto (1-3). La leptospirosis, como otras enfermedades zoonóticas, continúa registrando altas tasas de incidencia en diversos países y causando significativa morbi-mortalidad en la población animal y humana, así como pérdidas considerables en la industria pecuaria (4-8).

La leptospirosis presenta manifestaciones clínicas muy variadas, esto hace muy confuso el diagnóstico clínico. Los estudios epidemiológicos permanecen inciertos en muchas regiones y países, lo cual hace que el impacto económico originado por la *Leptospira* sea relativo. Aún así las pocas cifras reportadas con exactitud infieren una alta incidencia en la población productiva y en los humanos contagiados alrededor del mundo (4, 5, 8-10).

La información sobre esta zoonosis es escasa en el país y no es consistente en el continente; en Colombia por ejemplo, no se han establecido en forma real las zonas de mayor incidencia y la prevalencia debido a la falta de un diagnóstico preciso. Los procedimientos diagnósticos basados en pruebas serológicas son de tipo indirecto y en este caso poco específicos; además no se tienen criterios unificados respecto a los títulos considerados como positivos lo cual hace que la interpretación de las pruebas conlleve a obtener un número importante de falsos positivos y negativos. En los últimos años se han desarrollado pruebas serológicas para el diagnóstico de la leptospirosis, pero su aplicación, evaluación y validación para Colombia no se ha establecido (10-14).

Debido a que diferentes estudios reportan que la prueba convencional (MAT) utilizada para el diagnóstico de leptospirosis es inespecífica (5, 8-10, 15), se hace necesario evaluar herramientas metodológicas caracterizadas por una alta sensibilidad y especificidad para lograr un diagnóstico preciso y confiable que permita establecer en forma real la prevalencia y el impacto económico de la enfermedad.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio observacional de corte transversal, donde fueron evaluadas 60 muestras de orina obtenidas de hembras bovinas. De cada paciente se colectaron 15 mL de orina, por vertimiento natural, los cuales fueron filtrados con Minisart 0.22 uM de 25 mm (Sartorius) y divididos en tres tubos cada uno con 5 mL a los que previamente se les había adicionado 5 mL de buffer fosfato (PBS pH 7.2-7.4). Las muestras así tratadas se llevaron al laboratorio en el menor tiempo posible. En este estudio de utilizaron como controles positivos Cepas ATCC *L interrogans* (23581), *L biflexa* (23582) y Cepas donadas por el Instituto Colombiano Agropecuario (ICA): *L interrogans serovar canicola, icterohaemorrhagiae, pomona, Bratislava, hardjo, gripptiphosa*. Como controles negativos las cepas *E coli* y *S aureus*. **Observación en campo oscuro:** Se montaron preparaciones del sobrenadante y del sedimento para la búsqueda de Leptospiras por campo oscuro. **Aislamiento de Leptospiras:** De cada muestra se sembró sedimento por triplicado en medio semisólido suplementado EMJH® (Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris), Laboratorios Difco™; se incubó a 28^0 C. Los cultivos se revisaron semanalmente y se buscó la aparición de turbidez y/ó formación de anillo de crecimiento. En todos los casos se realizaron pases ciegos a partir de la segunda semana de incubación. Cuando se observó turbidez se tomó asépticamente con pipeta Pasteur muestra del cultivo para ser observada en campo oscuro y tinción simple y confirmar la presencia de Leptospiras. **Pruebas Moleculares:** *Extracción de DNA:* A partir de cada muestra de orina se extrajo el DNA, utilizando el mini Kit DNA QIAamp® (Quigen Inc., USA). **Amplificación por PCR:** se realizaron tres pruebas de PCR para analizar secuencias genéticas de leptospira: *rrl*(genero)*, hap1*(patógena)*, rrs (*saprofita) según procedimiento reportado por León A, et al, 2006 (16). Para *rrl* se utilizó un volumen final de 48 µL, que incluían 10 ng de DNA con 46 µL de componentes de PCR. La mezcla obtenida se incubo por 5 minutos a 95ºC, seguido de 40 ciclos: 30 segundos 94ºC, un minuto a 57ºC, 2 minutos a 72ºC y una extensión final de 10 minutos a 72ºC. Para amplificar la secuencia *hap1* se utilizaron 2µL de DNA y 46µL de mezcla que contenía buffer 10X, dNTPs, 10µM de primers, una unidad de Taq polimerasa. Se programó una denaturación inicial de 95ºC por 5 minutos, seguido de 45 ciclos de denaturación a 94ºC por 15 segundos, un annealing de 56ºC por 35 segundos, una extensión a 72ºC por

40 segundos, con extensión final a 72 ºC por 10 minutos. Para amplificar la secuencia *rrs* fueron mezclados 10ng de DNA en 46 µL de Mix PCR bajo las siguientes condiciones 2 minutos a 98ºC seguidos de 40 ciclos de amplificación 15 segundos a 98ºC, 30 segundos a 63ºC, 30 segundos a 72ºC y una extensión final de 10 minutos a 72ºC. Después de la amplificación se prepararon geles de agarosa al 2% y 2,5% teñidos con Bromuro de Etidio, se sembraron los productos amplificados, controles positivos y negativos y un marcador de peso molecular que permitió identificar las bandas respectivas. Los resultados se observaron en un transiluminador y fueron fotografiados. Adicionalmente, a partir de los cultivos microbiológicos se realizó extracción y amplificación bajo las mismas condiciones utilizadas para las muestras de orina.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se confirmo la presencia de leptospiras en el 40% (24/60) de las muestras de orina analizadas. En las 24 muestras positivas (100%) se observó la banda de 482pb correspondiente a la secuencia que identifica el genero *Leptospira* (23S rRNA) (Figura 1), en el 92% (22/24) de las muestras se observó la banda de 262pb correspondiente al fragmento del gen *hap1*, el cual esta presente solo en las leptospiras patógenas (Figura 2) y en el 8% (2/24) la banda de 240pb correspondiente a un fragmento de Leptospira sp saprofitica (Figura 3). A nivel microbiológico, por campo oscuro, se observaron en el sedimento Leptospiras en 16 muestras (27%) y se obtuvieron 23 cultivos positivos (38%). De acuerdo con los resultados de este trabajo, las prevalencias obtenidas por cultivo (38%) fueron similares a las obtenidas por PCR (40%) y concuerdan con las reportadas por otros autores en nuestro medio (17-22). Por el contrario, la visualización directa de la orina por campo oscuro mostró una prevalencia del 27%. En diversos estudios se han obtenido prevalencias inferiores por campo oscuro frente a las reportadas por cultivo o por MAT (Test de Micro-aglutinación), lo cual se puede explicar por la dificultad de las bacterias en mantenerse viables en la orina una vez es expulsada por el animal (23-26).

Al comparar los resultados moleculares con los microbiológicos se observó que con la PCR se identificaron como positivos los 23 cultivos (100%) obtenidos a partir de las muestras de orina. Un cultivo negativo se determinó como positivo por PCR; esto debido posiblemente a que la muestra de orina presentaba una mínima cantidad de bacterias que no permitieron su crecimiento eficiente en el cultivo. Diversos estudios han reportado que el método más efectivo en el diagnóstico de leptospirosis es el cultivo microbiológico siendo el método más sensible para demostrar su presencia (23, 25, 27); sin embargo, es poco útil por el tiempo prolongado en la obtención de resultados (22, 23, 28). Por consiguiente, con los resultados obtenidos en este estudio se muestra la capacidad de la PCR en detectar verdaderos positivos dado que el 100% de las muestras positivas a PCR presentaron crecimiento en cultivo. Esto ofrece una utilidad precisa e importante como estrategia diagnóstica para detectar una enfermedad que afecta notablemente a la población animal y humana en nuestro medio. Estos resultados concuerdan con lo establecido por otros autores que corroboran la especificidad de la PCR en el diagnóstico de leptospirosis (22, 26, 29, 30, 31).

La dificultad en el diagnóstico y la subestimación de la problemática no ha permitido la cuantificación de las perdidas económicas ocasionadas por la leptospirosis. De manera que con la implementación de esta herramienta molecular en el diagnóstico de la enfermedad se genera un impacto económico y social debido a que un diagnóstico preciso permite: 1. Reducir costos por perdidas directas como consecuencia de los efectos de la patología sobre la reproducción: abortos, nacimiento de becerros débiles e infertilidad; 2. Evitar perdidas indirectas producidas por el síndrome de la caída de la leche y 3. Realizar estudios para el conocimiento epidemiológico de la enfermedad.

CONCLUSIONES

El presente trabajo ofrece una contribución importante, como método directo, en la identificación de *Leptospira sp* en muestras de orina bovina. Con la identificación de los fragmentos genéticos se logra no solo determinar si la muestra presenta ó no la bacteria sino además se puede diferenciar aquellas patógenas de no patógenas.

El estudio molecular realizado a las muestras de orina mostró una correspondencia del 100% al compararlo con el estudio microbiológico. Igualmente, al comparar los resultados obtenidos por PCR tanto de los cultivos como de la orina se encontró una relación total.

Con la implementación de la PCR como método diagnóstico de la enfermedad se genera un impacto



económico y social al reducir costos por perdidas directas e indirectas en el sector pecuario, además, su utilidad como herramienta diagnóstica permitirá el establecimiento de estrategias de control sobre una patología que causa una significativa morbi-mortalidad en la población animal y humana.
Los resultados obtenidos en este estudio permitirán proponer investigaciones clínicas, epidemiológicas y moleculares que conlleven a conocer una enfermedad que afecta la Sanidad Animal, la Salud Pública y la Industria Pecuaria en el mundo.

BIBLIOGRAFÍA

- Alfaro, C., Aranguren Y, Clavijo A. Epidemiología y diagnóstico de la leptospirosis como fundamentos para el diseño de estrategias de control. Revista Digital CENIAP HOY. 2004. (6). www.ceniap.gov.ve/ceniaphoy/artículos/n6/arti/alfaro_c/arti/alfaro_c.hmt.
- Truccolo J; Charavay, F; Merien, F; Perolat, P. Quantitative PCR assay to evaluate ampicillin, ofloxacin, and doxycycline for treatment of experimental leptospirosis. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2002; 46(3): 848-853.
- Hathaway S.C y Little T.W. Epidemiological study of *Leptospira hardjo* infection in second calf dairy cows. Veterinary Record. 1998; 112:215-218.
- Levett, P; Morey, R ; Galloway, R ; Turner, D; Steigerwalt, A; Mayer, L. Detection of pathogenic leptospires by real-time quantitative PCR. Journal of Medical microbiology. 2005; 54: 45-49.
- Kantilaras, C; Khanthong, B; Olson, J; Hoang, K; Narain, P; Insisiengmay, S; Watt, D; Beecham J; Corwin, A.The importance of leptospirosis in southeast Asia. Am. J. Trop. Med. Hyg. 2002; 67(3):278-286.
- Anon. Informe Anual, Centro internacional de Agricultura tropical (CIAT) Palmira, Valle Colombia. 1997
- OMS. World Health Organization Enfermedades y daños a la Salud. Salud en América. 1998; 1: 143-7.
- Natarajaseenivasan K, Vijarachari, S; Sugunan, A; sehgal, C. Phenotipic and genotipic conservation of ompL1 and ompL41 among leptospiral isolates of Andaman Island. Indian J Med Res. 2005; 122: 343-347.
- Instituto Nacional de Salud. Lima. Perú. Año 3; 2006. Número 0613: 2.
- Agudelo P, Retrepo M, Lotero M. Evaluación de la prueba de inmunofluorescencia indirecta para el diagnóstico de leptospirosis humana. Biomédica. 2006; 26: 216:223
- De Silva MV, Nakamura PM, Camargo ED, Batista L, Vaz AJ, Romero EC. Immunodiagnosis of human leptospirosis by Dot-Elisa for the detection of IgM, IgG and IgA antibodies. Am J Trop Med Hyg 1997;56: 650-5.
- Russell KL, Montiel Gonzalez MA, Watts DM, Lagos-Figueroa RC, Chauca G, Ore M,*et al*. An outbreak of leptospirosis among Peruvian military recruits. Am J Trop Med Hyg 2003;69:53-7.
- Effler PV, Bogard AK, Domen HY, Katz AR, Higa HY, Sasaki DM. Evaluation of eight rapid screening tests for acute leptospirosis in Hawaii. J Clin Microbiol 2002;40:1464-9.
- Pradutkanchana S, Pradutkanchana J, Khuntikij P. Detection of IgM specific antibody using indirect immunofluorescent assay for diagnosis of acute leptospirosis. J Med Assoc Thai 2003;86:641-6.
- Barrochi, M; Ko, A; Ramos, S; Tucunduva, M; Galvao, M; Riley, L. Identification of new repetitive element in *Leptospira interrogans* serovar copenhageni and application to PCR-based differentiation of *Leptospira* serogroups. Journal of Clinical Microbiology. 2001; 39(1): 191-195.
- León A, Pronost S, Tapprest J, Foucher N, Blanchard B. Identification of pathogenic *Leptospira* strain in tissues of premature foal by use of polymerase chain reaction analysis. J. Vet Diagn Invest. 2006; 18: 218-221.
- Almenteros Carlos, Arrieta Germén. Seroprevalencia de Leptospirosis porcina en el Departamento de Córdoba. Revista Colombiana de Ciencia Pecuaria 2004;17(2): 141-147
- Otte E., Otte, J., Navarrete, M., Orjuela, J. Leptospirosis Bovina en el Departamento de Córdoba, Colombia. Reporte Técnico ICA/GTZ. 1991. 59p
- Gallego M., Gallego, J.F. Leptospirosis Bovina Diagnóstico Serológico y Control. Revista del CEISA CORPOICA.1994; 1(1 y 2): 49-68.
- Arias N, Stanchi O, Martino M, Renner E. Diagnóstico y tratamiento de la leptospirosis.Biomedica 1999; 10(3):167-171.
- Bohórquez, A., Orrego, A; Giraldo, Z; Mondragón, M ; Ramírez, J ; Rivera, J. Leptospirosis en bovinos del trópico alto de la zona central cafetera. Prevalencia por examen directo y cultivo de orina. ACOVEZ (Colombia): 2002b; 27: 10-16.

- Roca B. Leptospirosis. Rev Med Univ Navarra. 2006; 50(2): 3-6
- Vinestz
- Rao P, Shashibhushan S, Shivananda PG. Comparison of darground microscopy with serological test in the diagnosis of leptospirosis with hepatorenal involvement. Indian J Pathol Microbiol. 1998; 41: 427-429
- Orrego, A., Giraldo De León, G., Ríos, B. *et al*. Leptospirosis en personas de riesgo de quince explotaciones porcinas y de la central de sacrificio de Manizales, Colombia. *Arch. med. vet*., ISSN 0301-732X. 2003; 35 (2): 205-213.
- OMS. World Health Organization. Leptospirosis : guidance for diagnosis, surveillance and control. 2003
- Woo, T., L. D. Smythe, M. L. Symonds, M. A. Norris, M. F. Dohnt, B.K.C. Patel. Rapid distinction between *Leptospira interrogans* and *Leptospira biflexa* by PCR amplification of 23S ribosomal DNA. FEMS Microbiology letters. 1997. 150: 9-18.
- Rahim H, Gorbanpour M, Haidari M. Comparison of leptospiral infection in the horse and donkey. Bull Vet Ins Pulaway. 2005; 49: 175-178.
- Victoria B, Fernández C, Rodríguez J, Obregón A, Rodríguez I. Identificación de aislamientos de Leptospira por métodos sexológicos y genéticos. Revista Cubana de Medina Tropical. 2002: 54:1
- Sugathan S, Varghenese TP. Multiplex PCR on leptospiral Isolates from Kolenchery, Kerala, I. Indian J Med Microbiol. 2005; 23: 114-116.
- Céspedes M, Tapia R, Balda L, González D. Peralta C, Condori P. Estandarización y validación de una prueba de PCR para el diagnóstico precoz de leptospirosis. Rev Peru Med Exp Salud Publica 2007; 24(1):20

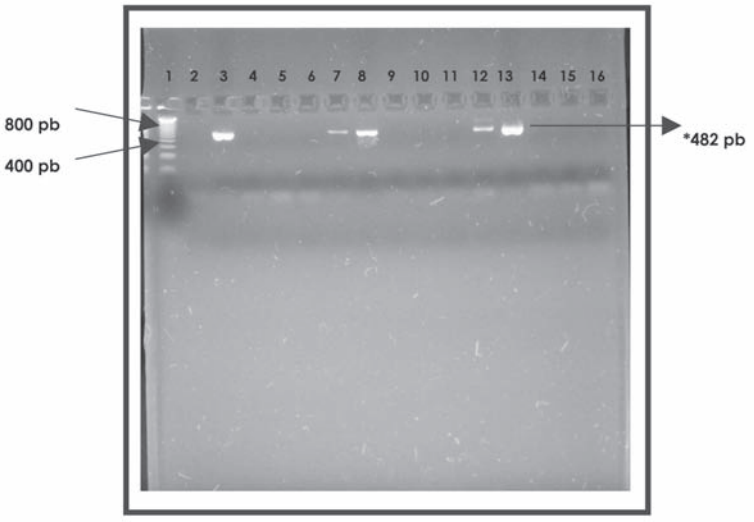


Figura 1. Amplificación de la secuencia *rrl* en muestras y controles. Línea 1: Marcador de Peso Molecular 4521 Promega. Línea 2: Blanco. Línea 3: Control Positivo Cepa ATCC *Leptospira interrogans*. Línea 4: E coli. Línea 5: S aureus. Línea 6: Blanco. Líneas 7-8, 12 y 13: Muestras de orina positivas. Líneas 14-16. Muestras de orina negativas.

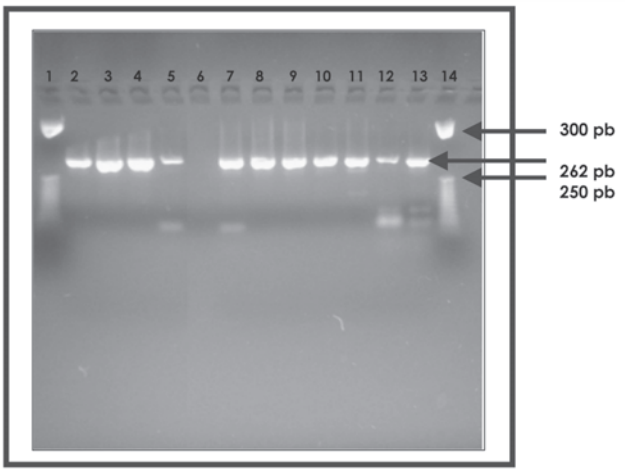


Figura 2. Amplificación de la secuencia *hap1* en muestras y controles. Línea 1: Marcador de Peso Molecular 4511 Promega. Línea 2: Control Positivo Cepa ATCC *Leptospira interrogans*. Líneas 3-5 y 7-13: Muestras de orina positivas. Línea 6: Blanco. Línea 15: *E col.i*

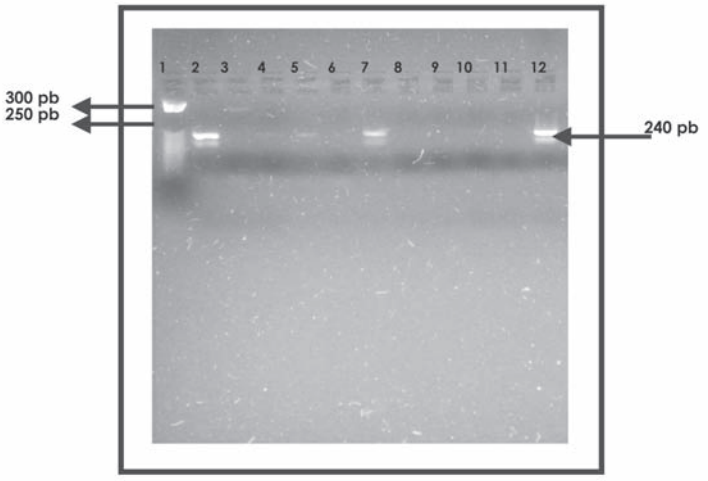


Figura 3. Amplificación de la secuencia *rrs* en muestras y controles. Línea 1: Marcador de Peso Molecular 4511 Promega. Línea 2: Control Positivo Cepa ATCC *Leptospira biflexa* (Saprofita). Líneas 3: Control Negativo Cepa ATCC *Leptospira interrogans*. Línea 4: E coli. Línea 6: Blanco. Línea 7 y 12: Muestras de orina positivas. Línea 11: Muestra de orina negativa.

EVALUACIÓN DE LA FRAGMENTACIÓN DEL ADN EN SEMEN BOVINO CONGELADO

[1]Posado, R.; [2]Hernández, M.; [1]García, J.; [1]Bartolomé, D.; [2]Olmedo, S.; [2]Rodríguez, L., [3]López-Fernández, C.; [3]Gosálvez, J.
1. Centro de Investigación del Toro de Lidia. Paseo Canalejas, 77, 2ºA. 37001 Salamanca. www.centrotorolidia.es.
E-mail: ita-posferra@itacyl.es
2. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, Finca Zamadueñas. Ctra. Burgos, Km. 119. 47071 Valladolid.
3. Facultad de Ciencias, Departamento de Biología. UAM. Ctra. Colmenar Viejo, Km. 15,500. 28049 Madrid.

RESUMEN

Evaluar la calidad seminal es fundamental para conseguir altas tasas de fecundidad. El esperma tiene que traspasar y sobrevivir en el tracto reproductivo de la hembra y conseguir alcanzar, penetrar y fertilizar el óvulo dando lugar a un satisfactorio desarrollo embrionario (Ardón, 2005). Tradicionalmente las alteraciones espermáticas evaluadas, incluyen, entre otros, el análisis de la motilidad y las anormalidades morfológicas. Los espermatozoides de dosis seminales que son normales en su motilidad y morfología, no serán rechazados por el tracto reproductivo, pueden iniciar la fertilización, pero tener deficiencias que afecten al cumplimiento de la misma o al desarrollo normal del embrión.

Recientemente varios autores han centrado sus trabajos en investigar la inestabilidad de la estructura de la cromatina (Bungum et al., 2004). La estructura de la cromatina del esperma es muy compacta y estable, protege la integridad genética durante el transporte del espermatozoide a través del macho y del tracto reproductivo femenino (Evenson et al., 2002). Una condensación defectuosa de la cromatina del espermatozoide, debido a múltiples factores, hace que el ADN sea inestable y sensible a la desnaturalización (Ahmadi et al., 1999). En el presente estudio, se han analizado los niveles de fragmentación del ADN en los espermatozoides se ha utilizado el kit *Sperm Halomax,* que es un producto pionero para el análisis de fragmentación del ADN en animales, concretamente se trata de una variante del protocolo *Sperm Chromatin Dispersion* usado en humanos, que distingue entre espermatozoides con o sin fragmentación del ADN mediante de acuerdo con la capacidad del espermatozoide de producir un halo de dispersión de



la cromatina o no.
Para llevar acabo el presente estudio, se han recopilado pajuelas de sementales de distintas ganaderías de lidia. Se ha procedido a la descongelación de las muestras y tras realizar el análisis en el laboratorio se ha estimado la tasa basal de los niveles de fragmentación del ADN de los espermatozoides y la variabilidad individual que presenta este parámetro entre individuos de la misma raza. Así mismo, se ha realizado este procedimiento en individuos de otras razas bovinas y la tasa de fragmentación basal es superior en los individuos analizados de la raza de lidia.

INTRODUCCIÓN

Los parámetros espermáticos clásicos que se consideran en un análisis de calidad seminal incluyen, en general, motilidad, concentración, vitalidad y anomalías morfológicas. Recientemente, evaluar el estado de la cromatina es uno de los principales objetivos porque se ha demostrado una alta correlación con la fertilidad (Evenson & Wixon, 2006). La inestabilidad de la estructura de la cromatina en el espermatozoide es un tema de análisis recurrente debido a que nos ofrece información directa de la "calidad" de la molécula de ADN que transmitirá la información a la siguiente generación. Cualquier defecto en esta molécula, bien sea en forma de rotura que afecta a una o a ambas cadenas de la molécula de ADN, puede tener como consecuencia una reparación que no respete la secuencia original para esa región del genoma y desencadenar efectos no deseables en el embrión. Sin embargo, el análisis de los niveles de fragmentación del ADN espermático no se realiza de forma rutinaria en la evaluación de una muestra seminal por dificultades técnicas.
En el presente trabajo se evaluó la calidad del ADN en muestras de semen procedentes de sementales de la raza de Lidia, Charolais y Holstein. El estudio se realizó sobre muestras de esperma congelado y se evaluaron los niveles de fragmentación a 37ºC. Para ello, se utilizó Halomax, técnica que produce una descondensación diferencial de la cromatina en aquellos espermatozoides que tienen su ADN fragmentado respecto de aquellos que no lo tienen. En este caso los resultados se contrastaron con los obtenidos a través de un control externo basado en la técnica de cometas neutros para evaluar la naturaleza del daño en la molécula del ADN.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado un estudio prospectivo sobre la calidad de los espermatozoides de muestras seminales criopreservadas, elegidas al azar, de 10 sementales de raza de Lidia, 4 de la raza Holstein y 4 de raza Charolais, en edad reproductiva al azar para visualizar la fragmentación del ADN.
El procedimiento comienza con el descongelado de cada pajuela en agua a 37ºC, durante 45", se obtiene una alícuota de esperma, que posteriormente, fue procesada utilizando Halomax. El esperma fue añadido y mezclado en un eppendorf con agarosa atemperada. Una pequeña parte de la alícuota de la mezcla de agarosa-esperma fue extendida en un portaobjetos pretratado y colocado en un refrigerador sobre una placa fría. Tras la solidificación, el portaobjetos con el esperma fue colocado horizontalmente en solución de lisis para, finalmente, realizar un lavado de la preparación en agua destilada, antes de su deshidratación en una serie secuencial del 70 %, el 90 %, y el etanol del 100 %.
Tras el proceso observamos el daño del ADN con microscopía de fluorescencia y se realizó el conteo de los espermatozoides clasificándolos en dos categorías según la morfología obtenida. Algunos núcleos mostraron pequeños halos de dispersión de la cromatina, que debería corresponder a los espermatozoides que contienen ADN no fragmentado, mientras que otros núcleos del esperma expusieron grandes halos de difusión de la cromatina con un aspecto estelar, correspondientes a núcleos fragmentados.

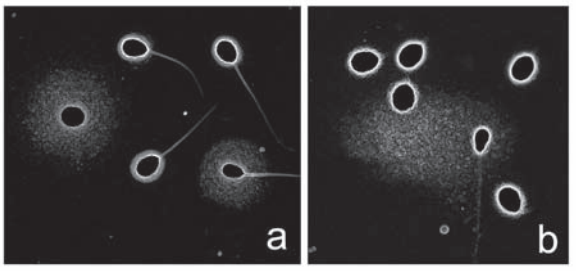


Figura 1. Visualización del daño en el espermatozoide del toro de lidia tras SCD (a) y tras ensayo cometa (b).

Figura 1. Visualización del daño en el espermatozoide del toro de lidia tras SCD (a) y tras ensayo cometa (b).

RESULTADOS

Tras el análisis de las 30 muestras, se ha obtenido la tasa basal de la fragmentación del ADN de los espermatozoides de sementales de la especie bovina.

Los individuos de la raza de Lidia numerados con el 3, 5, 7, 9 presentan un índice de fragmentación (IF) basal superior al 10%, destacando sobremanera el toro número 5 que presenta un índice del 35% de espermatozoides con daño en su ADN. Por el contrario, con un índice de fragmentación basal por debajo del 5% han resultado los toros 1, 2, 4, 6, 10. El promedio basal del IF en los individuos analizados fue del 10%.

Con respecto a la raza cárnica Charolais (T11, 12, 13,14), las muestras han dado un índice de fragmentación entre el 6 y el 12 % de los espermatozoides, con un promedio del 8%, algo inferior al resultado de los sementales evaluados de la raza de Lidia.

Las muestras evaluadas pertenecientes a los sementales de la raza Holstein (T15, 16, 17,18) han dado como resultado un promedio en la fragmentación del esperma analizado, del 3,5%, valor muy inferior al obtenido en las otras razas, probablemente esto esté ligado al alto grado de selección al que ha sido sometida esta raza.

Azul: % IF Lidia. **Naranja**:% IF Charolais. **Verde**: % IF Holstein.

Azul: % IF Lidia. Naranja:% IF Charolais. Verde: % IF Holstein.

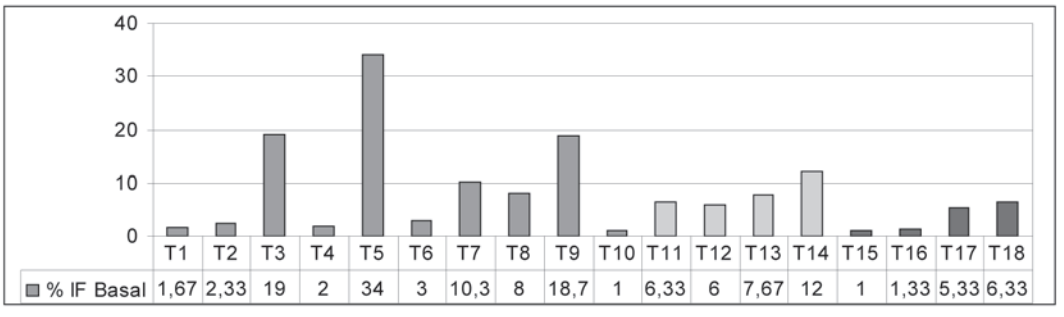


Gráfico 1. Índice de fragmentación de las muestras analizadas.

Gráfico 1. Índice de fragmentación de las muestras analizadas.

CONCLUSIÓN

Los resultados muestran que existe una gran heterogeneidad, en la fragmentación basal en las razas bovinas e incluso entre individuos.

La raza de Lidia presenta un porcentaje del índice de fragmentación del ADN superior a la raza Charolais y Holstein. Por otro lado hay que destacar que el conjunto de los individuos analizados de la raza Holstein, presentan el nivel más bajo de daño en el ADN de los espermatozoides.

Desde un punto de vista teórico y de acuerdo con los resultados mostrados en el presente trabajo, se debería tender a la utilización de muestras seminales con un bajo índice de fragmentación de su ADN, si el resto de parámetros seminales no se vieran afectados.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Ardón, F. (2005) Studies on the interaction of chromatin-unstable boar sperm with the female reproductive trac. Edita:University of Veterinary Medicine Hannover.
- Bungum, M. (2005).The predictive value of sperm chromatin structure assay (SCSA) parameters for the outcome of intrauterine insemination, IVF and ICSI. Human Reproduction, 20(3):839-840.
- Evenson, D.; Wixon, R. (2006). Clinical aspects of sperm DNA fragmentation detection and male infertility. Theriogenology, 65 (5): 979–991.

EFECTO DEL EMPLEO DE REMOLQUE MEZCLADOR EN LA FINALIZACIÓN DEL TORO DE LIDIA SOBRE DIVERSOS PARAMETROS INDICADORES DE SALUD RUMINAL

[1]Bartolomé, D.J.; [1]García, J.J.; [1]Posado, R.; [2]Alonso, M.E.; [3]Gómez, L.; [4]Olmedo, S.; [4]Rodríguez, L.; [2]Gaudioso, V.
1Centro de Investigación del Toro de Lidia, Paseo de Canalejas, nº 77, 2º A, 37001 Salamanca. www.centrotorolidia.es E-mail: ita-barrodda@itacyl.es
2Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24071, León.
3Departamento de Medicina Animal, Universidad de Extremadura. 10071, Cáceres.
4Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León, Finca Zamadueñas. Ctra. Burgos, Km. 119. 47071, Valladolid.

RESUMEN

La necesidad de lograr un perfecto acabado del toro de lidia en un periodo relativamente corto de tiempo hace que los ganaderos deban utilizar cantidades muy elevadas de concentrados en la dieta, en detrimento de los forrajes. Este hecho puede llevar a los animales a manifestar determinadas patologías nutricionales (Jimeno et al., 2003) e incluso sufrir algunos efectos secundarios en forma de caídas durante la lidia en la plaza (Alonso-Vaz, 2002).

En la actualidad, muchas ganaderías de lidia han incorporado a sus explotaciones remolques mezcladores para intentar paliar los efectos negativos que, sobre los animales, suele tener la ingesta de cantidades excesivas de concentrados suministrados en comederos tradicionales o de tipo tolva. Sin embargo, apenas existen estudios en ganado de lidia, y vacuno extensivo en general, sobre el efecto que dicho método de alimentación tiene en el padecimiento de diversas patologías de origen alimentario.

Por ello, en el presente trabajo se ha evaluado el efecto que sobre diversos parámetros de salud ruminal tiene la utilización del carro mezclador como sistema de alimentación para la finalización del toro de lidia comparándolo con los sistemas tradicionales. Con este objetivo, previa inspección macroscópica de su coloración, se tomaron muestras de mucosa ruminal para análisis histológico, y se realizó una inspección visual de la canal y vísceras de dos lotes de toros alimentados con diferente sistema en su fase de cebo.

Encontramos un color de la mucosa ruminal menos ennegrecido, un menor grosor de las papilas ruminales y un menor porcentaje de abscesos hepáticos en los toros alimentados, durante su última fase de cría, con carro mezclador.



INTRODUCCION

Para Compan (2007), hoy no se concibe un toro de lidia de 4 años de edad que no haya sido alimentado con pienso, entre 6-8 Kg/día, durante su último año de vida. De lo contrario, el ganadero se arriesgaría a presentar un animal con fuerte desarrollo esquelético, pero delgado, fuera de tipo y con una manifiesta falta de fuerzas que, posiblemente, le impedirá completar su lidia en la plaza.

A diferencia de otras épocas, ahora, la mayoría de los problemas en la alimentación del toro de lidia no son causados por deficiencias, sino por excesos. Dentro de las patologías de origen nutricional ocasionadas por excesos alimenticios, diversos autores (Arriola, 1998; Compan, 1998; Gómez Peinado, 2001; Carbonell y Gómez, 2001; Alonso-Vaz, 2002; Jimeno et al., 2003) consideran la acidosis ruminal como el problema más importante, debido a la variedad de procesos a los que predispone o directamente causa y que pueden repercutir en su rendimiento en la plaza.

En la actualidad, muchas ganaderías de lidia han incorporado, en el manejo de la alimentación en sus explotaciones, remolques mezcladores para intentar paliar los artificios negativos que, sobre los animales, suele tener la ingesta de cantidades excesivas de concentrados. Sin embargo, apenas existen estudios en vacuno extensivo, en general, y en ganado de lidia, en particular, sobre el efecto que dicho método de alimentación tiene sobre el potencial padecimiento de una acidosis ruminal, vacío que nos planteamos cubrir con la realización del presente estudio.

MATERIAL Y METODOS.

Se utilizaron cuatro lotes de 6 animales pertenecientes, cada uno de ellos, a otras tantas ganaderías situadas en la provincia de Salamanca. Dos de ellas emplearon remolque mezclador y otras dos, tolva de pienso con paja de cereal *ad libitum*, para suministrar la ración diaria a los toros durante su último año de vida en la explotación.

En el campo se tomaron muestras de la mezcla y del pienso que recibieron los animales para su análisis físico-químico. Tras su lidia en la plaza, se acudió al matadero donde se analizó la coloración de la mucosa ruminal, estableciéndose cinco categorías: sana (1), marrón (2), negra (3), muy negra (4) y mucosa lesionada (5). Posteriormente, se tomaron muestras de la porción dorsal del rumen para su estudio histológico que, tras ser fijadas por inmersión en formaldehído tamponado (4%) y teñidas con hematoxilina-eosina y tricrómico de Masson, fueron microfotografíadas a 20 aumentos para valorar el grosor de las papilas con el programa de captura de imagen ACT-1 Nikon®.

También se realizó una inspección visual del hígado anotándose cualquier anomalía observada sobre su superficie y estableciendo cuatro categorías: sano (1), friable (2), con adherencias (3) y presencia de abscesos (4).

Para el estudio estadístico de los resultados se ha empleado el programa informático SPSS® versión 13.0 para Windows. Se consideraron diferencias significativas aquellas cuyo valor de $P \leq 0,05$, y se aplico el test de Newman-Keuls para estudiar los efectos de cada una de las variables con significación estadística.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

Únicamente se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre ganaderías ($P \leq 0,01$) en el parámetro referente a la coloración de la mucosa. Los animales de la ganadería ADE, cebados con tolva de pienso y paja *ad libitum*, fueron los que recibieron el alimento más energético y los que presentaron mayor grosor de papilas, peor estado hepático y un color de la mucosa más ennegrecido (Tabla 1).

Tabla 1. Valores medios obtenidos (± desviación estándar) para los diferentes parámetros analizados en función de la ganadería de origen.

		GANADERIAS			
		Tolva		Carro mezclador	
		ADE (N=6)	SAN (N=6)	MON (N=6)	GAR (N=6)
ESTADO SANITARIO	Grosor papilas	324,31±51,87	305,01±50,59	279,10±45,48	299,01±34,77
	Hígado	2,50±0,83	1,83±1,17	2,00±1,09	1,83±1,17
	Color mucosa	3,50±1,22[a]	2,83±0,41[ab]	2,83±0,41[ab]	2,00[b]
ALIMENTO RECIBIDO	% almidón	56,26	58,13	52,46	40,01
	% fibra bruta	6,73	5,12	33,42	35,01
	% proteína bruta	16,62	10,50	12,90	9,18
	% grasa bruta	3,03	1,14	1,22	1,40
	Energía(Kcal/kg)	2808,3	2498,9	2391,3	1840,6

[a,b] : letras distintas representan diferencias significativas dentro de cada columna

Los animales cebados con el sistema tipo tolva fueron los que, de media, presentaron un mayor grosor papilar, peor estado sanitario del hígado y mucosa más ennegrecida, aunque dichas diferencias sólo alcanzaron significación estadística (P≤0,01) para la coloración de la mucosa (Tabla 2).

Tabla 2. Valores medios obtenidos (± desviación estándar) para los diferentes parámetros analizados en función del sistema de cebo empleado.

		SISTEMA DE CEBO	
		TOLVA (N=12)	CARRO (N=12)
ESTADO SANITARIO	Grosor papilas	314,65±49,88	289,05±39,98
	Hígado	2,17±1,03	1,92±1,08
	Color mucosa	3,17±0,94[a]	2,42±0,51[b]
ALIMENTO RECIBIDO	% almidón	57,19±0,97	46,23±6,50
	% fibra bruta	5,92±0,84	34,21±0,83
	% proteína bruta	13,56±3,19	11,04±1,94
	% grasa bruta	2,08±0,98	1,31±0,09
	Energía (Kcal./kg)	2653,6±161,58	2115,95±287,59

[a,b] : letras distintas representan diferencias significativas dentro de cada columna

Por lo que respecta al alimento recibido, los animales cebados con tolva, recibieron un pienso con mayor concentración energética y menores valores de fibra bruta que la mezcla suministrada a los ejemplares finalizados con carro mezclador (Tabla 2).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos indican que el sistema de cebo con remolque mezclador es más respetuoso con la pared del rumen y el estado sanitario del animal, aunque el escaso tamaño de la muestra aconseja realizar nuevos estudios con mayor número de animales para verificar con mayor contundencia dicha aseveración.

REFERENCIAS

- Alonso-Vaz, F. (2002). La alimentación y su influencia en las caídas de los toros. IV Congreso Mundial Taurino de Veterinaria. Salamanca. Pp. 53-61.



- Arriola, J. (1998). Acidosis ruminal en el toro de lidia (I). Toro Bravo, 13:30-33.
- Carbonell, A.; Gómez, A. (2001). La alimentación del toro de lidia. Aplicación en la ganadería de Jaralta. Colección: Ganadería – Serie Alimentación Animal. Edita Consejería de Agricultura y Pesca de la Junta de Andalucía.
- Compan, H. (1998). Acidosis ruminal en el toro de lidia (II). Toro Bravo, 15:30-33.
- Compan, H. (2007). Nuevas tendencias en la alimentación de toros y novillos. Libro de ponencias del "I Curso Internacional del Toro de Lidia". Edita: Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León.
- Gómez Peinado, A. (2001). Acidosis ruminal y su incidencia en la lidia. Libro de ponencias de las "II Jornadas sobre Ganado de Lidia", 137-147. Edita: Universidad Pública de Navarra.

Riesgo sanitario asociado a los purines de vacuno de leche. Influencia de la mezcla con deyecciones de novillas y terneras.

Patricia Santorum[1*], Raquel García[1], Benito Fernández[2]
1 Centro de Investigación y Formación Agrarias. Cª Desarrollo Rural, Ganadería, Pesca y Biodiversidad de Cantabria. C/ Héroes 2 Mayo, 27. 39600 Muriedas, Cantabria.
2 Servicio de Agricultura y Diversificación Rural, Cª Desarrollo Rural, Ganadería, Pesca y Biodiversidad de Cantabria. Edif. Europa, C/ Gutiérrez Solana, s/n. 39011 Santander.
* Autor de contacto: patriciasantorum@cifacantabria.org

Resumen
La incidencia de los agentes zoonóticos en los purines de vacuno de leche fue estudiada en relación a la edad de los animales que aportaban sus deyecciones al estercolero muestreado. La composición físico-química de estas deyecciones fue asimismo analizada. El riesgo sanitario asociado al manejo de estos purines estuvo identificado con la presencia de *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp, rotavirus o coronavirus, *C. parvum* y micobacterias, en orden decreciente de incidencia. La menor presencia de novillas supone un aumento del porcentaje de muestras sin patógenos, a excepción de los purines de vaca. En la mezcla de purines de novilla y vaca se obtuvo menor pH y menores porcentajes de: materia seca, materia orgánica, nitrógeno total, fósforo y potasio, así como mayor conductividad, en comparación con los purines de novilla. No se observó ningún efecto sobre los valores de nitrógeno amoniacal. La adecuación de los tratamientos de los purines a la proporción de novillas presentes en la estabulación permitiría disminuir el riesgo sanitario asociado a su empleo como enmienda orgánica en la propia explotación ganadera.

Introducción
Recientemente se han condicionado las ayudas directas en el marco de la Política Agraria Común al respeto a las buenas condiciones agrarias y medioambientales. En Cantabria se han establecido como condiciones exigibles, entre otras, la limitación de las cargas ganaderas o la presentación de un plan alternativo de gestión o retirada de residuos ganaderos (Orden GAN/68/2006 y Orden GAN 5/2007). En este contexto, y teniendo en cuenta los riesgos que supone un manejo inadecuado de los estiércoles de vacuno, es necesario acometer el estudio de la incidencia de los agentes zoonóticos en las explotaciones ganaderas y

así diseñar un manejo o tratamiento adecuado de los residuos ganaderos.
En el marco de este trabajo se acometió el siguiente objetivo: analizar el riesgo sanitario presente en los efluentes ganaderos en función de la edad de los animales cuyas deyecciones recibe el estercolero.

Material y métodos

Las explotaciones incluidas en este estudio son de pequeña o mediana dimensión, es decir con una cuota láctea anual menor de 500.000 kg y en las que es necesario un sistema de manejo *in situ* que permita reutilizar los efluentes ganaderos. Se visitaron 37 explotaciones de vacuno de leche que permitieron el muestreo de los estiércoles y purines, y que fueron recogidos en el momento en que se aplicaron a los cultivos forrajeros como enmienda orgánica. En cada explotación se tomaron tres muestras: en primavera, verano y otoño.
Las explotaciones estudiadas se clasificaron en función de la edad de los animales cuyas deyecciones se recogían en el estercolero muestreado. Se agruparon en los siguientes tipos, en orden decreciente de proporción de novillas: sólo novillas (n=11), novillas y vacas (n=20); novillas, terneras y vacas (n=33); terneras y vacas (n=14); sólo vacas (n=33).
En cuanto al análisis físico-químico de los purines utilizados como enmienda orgánica, incluyó los siguientes parámetros: pH, conductividad eléctrica y porcentajes de: materia seca, materia orgánica, nitrógeno total Kjeldahl, nitrógeno amoniacal, fósforo y potasio. Los dos primeros parámetros fueron cuantificados mediante un pHmetro equipado con un electrodo para medir la salinidad (mS/cm a 25ºC). La materia seca fue calculada como la pérdida de peso a 75ºC, durante al menos 48 horas y hasta que el peso fue constante. El porcentaje sobre materia fresca (g por 100 g de purín) del resto de los parámetros se obtuvo siguiendo los métodos estándar indicados por Clescerl y col. (1999).
En las muestras tomadas se identificaron los agentes zoonóticos presentes. En el caso de *Salmonella* spp., los medios de enriquecimiento y selección fueron los citados en la norma UNE-EN ISO 6579:2002. La detección de *Listeria monocytogenes* se realizó siguiendo la norma UNE-EN ISO 11290-1:1996/Amd. 1:2004. Para la recuperación de *Campylobacter* se usó caldo nutritivo suplementado con sangre de cordero y suplemento Preston. Estos cultivos líquidos se resembraron en agar nutritivo, y las colonias típicas se confirmaron mediante API Campy, el test de la oxidasa y la tinción Gram. Dos de las bacterias fueron aisladas directamente sobre agar selectivo: *Brucella* spp. en medio Farrell y *Mycobacterium* spp. sobre dos con micobactina J: Löwenstein Jensen y Herrold Egg Yolk con piruvato, y agar Coletsos.
La detección de los protozoos se realizó siguiendo una modificación del método de Ziehl-Neelsen. La separación incluyó la centrifugación seguida de la flotación en solución salina (d=1,22) y la identificación de los quistes se confirmó tras la tinción los ooquistes de *Cryptosporidium parvum* con Kingyou (MAIM) y los quistes de *Giardia* con lugol. Los rotavirus y coronavirus fueron detectados empleando el kit ELISA (Institut Pourquier). Cuando las incidencias de cada patógeno se agruparon, el número de purines que presentó uno, dos o tres patógenos fue estimado para cada tipo de explotación.

Los análisis estadísticos se realizaron con SPSS 15.0. El análisis de la varianza se aplicó para datos con distribución normal (test de Shapiro-Wilk, significación > 0,200) y homogeneidad de varianzas (test de Levene, significación < 0,050). Cuando se encontraron diferencias significativas, se usó el test de Bonferroni para comparar los 6 tipos de explotaciones (significación < 0,050). Se realizó un contraste sobre diferencias de proporciones para los porcentajes de muestras sin patógenos (significación < 0,050). El número de patógenos fue comparado mediante pruebas no paramétricas (H de Kruskal Wallis, significación < 0,050).

Resultados y discusión

El mayor riesgo sanitario presente en los efluentes ganaderos estuvo asociado a la presencia de *L. monocytogenes*, *Campylobacter* spp. y *Salmonella* spp, en orden decreciente de incidencia. Un 16%, 13,5% y 9% de las muestras de purines resultaron positivas para estos agentes zoonóticos, respectivamente. Los resultados obtenidos para el resto de los patógenos osciló entre el 4% para los rotavirus o los coronavirus, el 2% correspondiente a *C. parvum* y el 1% para las micobacterias, no detectándose en ninguna muestra ni *Brucella* ni *Giardia*.
La menor presencia de novillas supone un aumento del porcentaje de muestras sin patógenos (Figura 1), siendo la diferencia estadísticamente significativa entre los purines de ternera y vaca (86,0%) y los de novilla (45,5%). Sin embargo, el porcentaje de muestras sin patógenos vuelve a igualarse en los purines de vaca (48,5%), en comparación con los de novilla. También se detectó un menor número de patógenos

en los purines de ternera y vaca cuando se compararon con los de vaca o con los de novilla (significación < 0,050).

La proporción de novillas presentes en la estabulación de la cual se recoge el estiércol, influye en la composición físico-química de los purines muestreados (Figura 2). Así, la mezcla del estiércol de novillas con el de animales de otras edades supuso un menor porcentaje de materia seca. El único parámetro que permaneció constante independientemente de la edad del ganado fue el amoníaco. La presencia de vacas junto a las novillas implicó una composición de los purines estadísticamente diferente del estiércol de novilla, con la única excepción del amoníaco. Una composición intermedia fue característica de los purines de novilla, ternera y vaca, que sólo difieren del estiércol de novilla en la materia seca, la materia orgánica y el nitrógeno total. Asimismo, la mezcla de deyecciones de ternera y vaca presentó una composición similar a las de novilla, excepto en la materia seca. Por otro lado, los purines de vaca fueron diferentes a los de novilla, a excepción del amoníaco y el potasio.

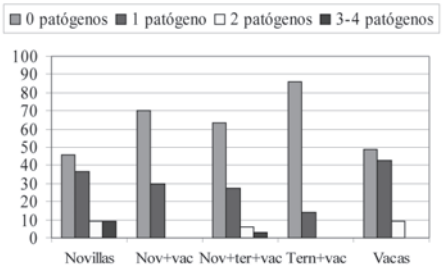
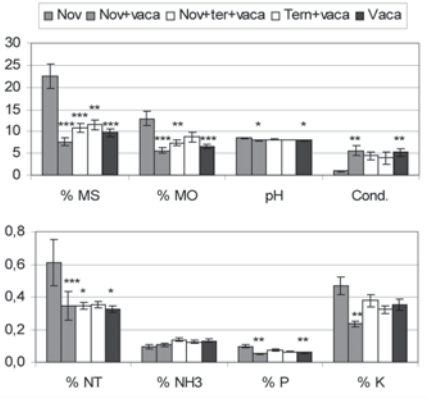


Figura 2 (a dcha.). Análisis físico-químico de los purines: en orden decreciente la proporción de novillas (desde izquierda a derecha). Diferencias con novillas: *: P<0,05,**:P<0,01,***:P<0,001.

Figura 1 (a izda.). Porcentaje de muestras de purines que presentaron el número de patógenos indicado, en función de la aportación de las novillas a los purines recogidos: en orden decreciente la proporción de novillas (desde izquierda a derecha).



Si bien se han descrito varios factores que condicionan el riesgo sanitario de las explotaciones, pocos estudios han estado enfocados en los riesgos asociados al manejo de purines de vacuno de leche. Hutchinson y col. (2004) relacionan los patógenos presentes en los purines, si bien no diferencian el riesgo en función de la edad de los animales.

Conclusiones

La mezcla de deyecciones de ternera y vaca presentó una composición similar a la de novilla, si bien presentaron menos patógenos. Por otro lado, los purines de vaca, diferentes en composición a los de novilla, presentaron porcentajes similares de muestras sin patógenos. La adecuación de los tratamientos de los purines a la proporción de novillas permitiría disminuir el riesgo sanitario asociado a su empleo como enmienda orgánica. También sería recomendable un mayor tiempo de almacenamiento de los purines de novilla, en los casos en los que no exista un estercolero específico para las deyecciones de estos animales.

Referencias

- Clescerl, L.S., Greenberg, A.E. and Eaton, A.D. 1999. Standard Methods for Examination of Water and Wastewater. 20th edition. *APHA,* American Public Health Association.



DETERMINACIÓN DE LA NATREMIA EN VACAS DE APTITUD LÁCTEA EN EL MOMENTO DE SU INSEMINACIÓN ARTIFICIAL: RESPUESTA REPRODUCTIVA OBSERVADA

Sierra Toral, Ana (*) y Rodríguez Lago, José Manuel (**)
(*) Doctora en veterinaria. Veterinario Técnico Laboratorio Regional de Sanidad Animal. León (España). (**) Veterinario Técnico Agroseguro, S.A., León (España).
e-mail:sierratoral@telefonica.net

RESUMEN:120 vacas Frisonas de media-alta producción láctea, que presentan las mejores condiciones para resultar preñadas (parto anterior a la toma de muestras: eutócico, perfecta involución uterina, condición corporal dentro de un margen aceptable según el momento de lactación, estructuras ováricas: normales-folículo maduro, limos limpios etc.), fueron utilizadas en el presente estudio para determinar los niveles plasmáticos de sodio en el momento de su inseminación artificial, y establecer una posible relación de este parámetro, con el resultado de sus inseminaciones. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que los valores plasmáticos de sodio para el grupo de vacas que quedan preñadas tras su inseminación artificial, son mayores a los encontrados para las hembras que no resultaron preñadas, estas diferencias se hacen muy significativas cuando comparamos los niveles de natremia del total de vacas que no resultan preñadas después de su inseminación artificial (Grupo B): 140,00 ± 1,36 mEq/l , con el valor encontrado en el grupo de hembras que resultan preñadas tras su 1ª inseminación (Grupo A_1): 147,60 ± 2,36 mEq/l; así como si comparamos la natremia mostrada por las vacas que resultan preñadas en su 1ª IA, con la de las vacas repetidoras o hembras que no resultan preñadas en su tercera inseminación artificial, (146,61 ± 3,36 vs. 136,47 ± 3,24), ($p<0,01$).

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS: Si bien son muchos los trabajos que relacionan el sodio con la reproducción en vacas de aptitud láctea, son escasos los que relacionan el valor plasmático de sodio con inseminaciones fértiles o no fértiles, así, este trabajo experimental, tiene por objeto estudiar los niveles de Na plasmático de estos animales en el momento de su IA y de este modo, analizar la relación entre la natremia y la respuesta reproductiva de las vacas.

MATERIAL Y MÉTODOS: El presente estudio se realiza sobre 120 vacas Frisonas con edades comprendidas entre los tres y nueve años, de media-alta producción láctea, pertenecientes a doce granjas ubicadas en



la zona sur-oeste de la provincia de León que por proximidad y costumbres, mantienen pautas de manejo muy similares.

Atendiendo al diseño experimental, los animales se han dividido en dos grandes grupos: **Grupo A**,(N=60) preñadas y **Grupo B** (N=60)**:** vacías (como resultado de la inseminación en que se toma la muestra de sangre) y, a su vez, cada uno de ellos en tres subgrupos conforme al número de IA: Subgrupo $\mathbf{A_1}$ (vacas preñadas en 1ª IA), Subgrupo $\mathbf{A_2}$ (en 2ª IA), Subgrupo $\mathbf{A_3}$ (en 3ª IA); Subgrupo $\mathbf{B_1}$ (vacas no preñadas en 1ª IA), Subgrupo $\mathbf{B_2}$ (en 2ª IA) y por último Subgrupo $\mathbf{B_3}$ (en 3ª IA o grupo de vacas repetidoras).Este planteamiento se idea con objeto de determinar, en el momento de la IA, los valores plasmáticos de Na, medidos mediante el empleo de la técnica de fotometría de llama, (en Fotómetro de llama CORNING mod. 480®).

El análisis estadístico de los resultados obtenidos ha sido realizado mediante Técnicas Mínimo Cuadráticas, siguiendo los procedimientos del GLM del SAS (SAS®, 1990). El modelo utilizado para el análisis de varianza, ha tenido en cuenta los siguientes factores: número de inseminación artificial, preñada/no preñada, edad, establo y mes de la inseminación artificial.

Se plantean cuatro estudios que enfrentan: **Estudio A**: preñadas (Grupo **A**) vs no preñadas (Grupo **B**); **Estudio B**: preñadas en 1ª IA (Subgrupo $\mathbf{A_1}$) vs no preñadas (Grupo **B**); y **Estudio C:** preñadas (Grupo **A**) vs repetidoras (Subgrupo $\mathbf{B_3}$); **Estudio D** Preñadas en 1ª IA (Subgrupo $\mathbf{A_1}$**)** vs. repetidoras (Subgrupo $\mathbf{B_3}$)

RESULTADOS:

Tabla nº 1 : Niveles plasmáticos de Sodio (mEq/l) en el momento de su inseminación artificial.

		Estudio A	Estudio B	Estudio C	Estudio D
Grupo A	**Global**	141,095 ± 2,34		142,25 ± 1,71	
Preñadas	**1ª I.A.(A_1)**		147,60 ± 2,36a**		146,61 ± 3,36 a**
	2ª I.A.(A_2)				
	3ª I.A (A_3).				
Grupo B	**Global**	137,808 ± 2,39	140,00 ± 1,36b		
No preñadas	**1ª I.A.(B_1)**				
	2ª I.A.(B_2)				
	3ª I.A.(B_3)			136,82 ± 2,92	136,47 ± 3,24 b

a,b, Índices distintos en la misma columna, señalan diferencias significativas ** ($p<0,01$).

En nuestro estudio, el valor plasmático de **Sodio** muestra un patrón común. (Tabla nº1): La natremia es siempre más alta en las vacas que conciben frente a las que permanecen vacías. El valor medio más alto lo muestran el grupo de vacas que han resultado preñadas en su 1ª IA, (Subgrupo A_1), mientras que el más bajo se observa en el grupo de vacas que no han resultado preñadas en su 3ª IA (Subgrupo B_3) alcanzando diferencias muy significativas ($p<0,01$), igualmente encontramos estas diferencias, si comparamos los valores de sodio plasmático mostrados por las vacas que resultan preñadas en 1ª IA (Subgrupo A_1), frente al obtenido en el Grupo B (total de vacas no preñadas), ($p<0,01$).

DISCUSIÓN: Los valores diagnosticados en nuestro estudio para el grupo de vacas que resultan preñadas en su 1ª IA (Subgrupo A_1), superan los valores medios considerados como normales en el posparto de las vacas por autores como Copock et al (1982); Escobosa et al (1984); Belibasakis et al (1991); Reynolds et al (1991); Bigner et al (1997); Small et al. (1997); Meglia et al. (2001) y Mordak et al (2006), sin embargo coinciden con los señalados como fisiológicos en The Merck Veterinary Manual 5ª edition (2000).

La natremia encontrada en las hembras estudiadas, supera, en el resto de grupos, el límite máximo fisiológico señalado para la especie bovina por Belibasakis et al (1991); Reynolds et al (1991); Small et al. (1997) y Meglia et al. (2001); sin embargo, se encuentran por debajo de los señalados por Tucker et al. (1988), y coinciden con los señalados como fisiológicos por Copock et al. (1982); Lotthammer, K.H. (1988); The Merck Veterinary Manual 5ª edition (2000) y Reference Intervals in Clinical Pathology Laboratory of Collage

of Veterinary Medicine (Cornell University 2007).
En cuanto a la relación entre el valor del sodio plasmático en el momento de la inseminación artificial en las vacas y su respuesta reproductiva, nuestros resultados muestran, que el nivel medio para los grupos de vacas preñadas es mayor que el encontrado para los grupos que no conciben, alcanzándose diferencias muy significativas ($p<0,01$).
Son escasos los trabajos que relacionan la natremia con las inseminaciones fértiles o no fértiles: Lotthammer, K.H. (1988) se ocupa en profundidad de este tema, en base al nivel de sodio observado en el momento de la primera inseminación artificial de las vacas de producción láctea y los porcentajes de gestación alcanzados en la misma. Al comparar nuestros resultados con los obtenidos por dicho autor, observamos que los valores detectados en los distintos grupos experimentales están comprendidos en el intervalo que Lotthammer relaciona con los porcentajes máximos de gestación en la primera inseminación artificial, e incluso el valor de sodio plasmático para el grupo de vacas que en nuestro estudio queda gestante en dicha inseminación artificial supera, ligeramente el límite máximo en el que el porcentaje de gestación cae drásticamente desde un 71,0 % hasta un 47,5 %, hecho que nosotros, no comprobamos.
Tampoco coincidimos con los resultados aportados por Small et al. (1997) , que describen en su estudio niveles séricos de sodio en vacas y novillas de aptitud cárnica en el momento de su 1ª IA y 21 días postinseminación: los valores de natremia señalados son mucho más bajos que los obtenidos en nuestro estudio, y el nivel de sodio es menor en los animales que conciben frente a los que no conciben.
CONCLUSIÓN:. La significación estadística encontrada ($p< 0,01$) entre las hembras que resultan preñadas en su 1ª IA, con respecto a las no preñadas en 1ª, 2ª ó 3ª IA-con una natremia significativamente menor-, y, la mostrada entre el grupo de vacas que resultan preñadas en 1ª IA (con la natremia más alta de las obtenidas) frente al grupo de vacas que no conciben en 3ª IA (con el valor plasmático de sodio más bajo de los obtenidos, ($p<0,01$) y por otra parte, la alimentación ingerida por las vacas de aptitud láctea, (con frecuencia alimentadas con materias primas fertilizadas con heces y orina, en las que predomina altamente el potasio sobre el sodio, o con alimentos a base de gramíneas (maíz), donde hay relaciones K:Na mayores de 300:1), nos lleva a pensar en la importancia de la inclusión de este parámetro en posteriores estudios que serían necesarios para ratificar esta relación.

BIBLIOGRAFÍA

- BELIBASAKIS, N.G. & TRIANTOS, A. (1991). Effects of Sodium Carbonate on Milk Yield, Milk Composition, and Blood Components of Dairy Cows in Early Lactation. J. Dairy Sci, 74:467-472
- BIGNER, D.R.; GOFF, J.P.; FAUST, M.A.; TYLER, H.D. & HORST, R.L. (1997). Comparison of Oral Sodium Compounds for the Correction of Acidosis. J. Dairy Sci, 80: 2162-2166
- COPPOCK, C.E.; GRANT, P.A.; PORTZER, S.J. & ESCOBOSA, A. (1982). Effect of Varying Dietary Ratio of Sodium and Chloride on the responses of lactating Dairy Cows in Hot Weather. J. Dairy Sci, 65:552-565
- CORNELL UNIVERSITY- COLLAGE OF VETERINARY MEDICINE (2007). Reference Intervals in Clinical Pathology Laboratory.
- ESCOBOSA, A. & COPPOCK, C.E. (1984). Effects of Dietary Sodium Bicarbonate and Calcium Chloride on Physiological Responses of Lactating Dairy Cows in Hot Weather. J. Dairy Sci, 67:574-584
- LOTTHAMMER, K.H. (1988). Trastornos de la fertilidad de origen ambiental. En: Infertilidad en la vaca. pp. 351-391. Ed.: Hemisferio Sur.
- McDOWELL, L.R. (2002) Recent Advances in Minerals and Vitamins on Nutritionn of Lactating Cows. Pakistan Journal of Nutrition 1(1): 8-19
- MEGLIA, G.E.; JOHANNISSON, A.; PETERSSON, L. & PERSSON, K. (2001). Changes in some Blood Micronutrients, Leukocytes and Neutrophil Expression of Adhesion Molecules in Periparturient Cows. Acta Vet. Scand. 2001: 42(1):139-150
- MERCK VETERINARY MANUAL 5ª edition (2000)
- MORDAK, R. & NICPON´, J. (2006). Values of Some blood Parameters in Dairy cows Before and After Delivery as a Diagnostic model of Health in Herd. Electronic Journal of Polish Agricultural Universities 9(2): 20.
- REYNOLDS, C.K.; HUNTINGTON, G.B.; TYRRELL, H.F. & REYNOLDS, P.J. (1991). Net Absorption of Macrominerals by Portal-Drained Viscera of Lactating Holstein Cows and Beef Steers. J. Dairy Sci, 74:450-459



- SANCHEZ, W. K.; McGUIRE, M. A. & BEEDE, D. K. (1994). Micromineral nutrition by heat stress interactions in dairy cattle: Review and original research. J. Dairy Sci., 77: 2051-2079.
- SAS Institute Inc. SAS® Language: Reference, Version 6, First Edition Cary, NC, SAS Institute Inc. 1990. 1042 pp
- SMALL, J.A.; CHARMLEY, E.; RODD, A.V. & FREDEEN, A.H. (1997). Serum mineral concentrations in relation to estrus and conception in beef heifers and cows fed conserved forage. Can. J. Anim. Sci. 77: 55-62



¿Qué pasa cuando un río se cruza en tu vida?

