

CONGRESO INTERNACIONAL ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

Oviedo 25, 27 y 27 de junio 2014

LIBRO DE PONENCIAS, COMUNICACIONES ORALES Y POSTER

ANEMBE
ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA

Organiza y edita:
Asociación Nacional de Especialistas en Medicina Bovina de España
(ANEMBE)

Diseño y maquetación: Trisquelmedia
Imprime: Gráficas Rígel

Depósito Legal: AS-XXXX-2014
© ANEMBE 2014

13 CURRÍCULOS

23 PONENCIAS

24 PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS DEL TÓRAX
David E. Anderson

28 ENGLISH VERSION: SURGICAL PROCEDURES OF THE THORAX

33 ENFERMEDADES QUIRÚRGICAS DEL INTESTINO DELGADO
David E. Anderson

41 ENGLISH VERSION: Surgical Diseases of the Small Intestine

49 MANEJO DE LAS FRACTURAS EN LA GRANJA
David E. Anderson

55 ENGLISH VERSION: Management of Fractures in Field Settings

62 ENFERMEDADES DEL CORAZÓN EN EL GANADO: ¿ENFERMEDADES GRAVES POR EL PRONÓSTICO, DE MENOR IMPORTANCIA POR LA INCIDENCIA?
Sébastien Buczinski

65 ENGLISH VERSION: Heart disease in cattle: Major disease by the prognosis, minor for the incidence?

68 LA ECOGRAFÍA EN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
Sébastien Buczinski

70 ENGLISH VERSION: Ultrasonography for the diagnosis of respiratory diseases

72 USO PRÁCTICO DE LA ECOGRAFÍA PARA ENFERMEDADES ABDOMINALES BOVINAS
Sébastien Buczinski

74 ENGLISH VERSION: Practical use of ultrasonography for bovine abdominal diseases

76 TRATAMIENTO DE LESIONES DE PEZUÑAS EN EL GANADO LECHERO: DESAFÍOS Y OPORTUNIDADES
Jon Huxley

78 ENGLISH VERSION: Treating Claw Horn Lesions in Dairy Cattle: Challenges and Opportunities

81 ENFERMEDADES UTERINAS EN LA VACA LECHERA: UN TEMA CONTROVERTIDO
Giovanni Gnemmi

89 ENGLISH VERSION

97 PROGRAMACIÓN DEL DESARROLLO Y SUS CONSECUENCIAS PARA LA PRODUCCIÓN GANADERA
Peter J. Hansen

100 ENGLISH VERSION: Developmental programming and its consequences for cattle production

104 INMUNIDAD DE LA GLÁNDULA MAMARIA Y SUSCEPTIBILIDAD DE MAMITIS
Lorraine M. Sordillo

109 ENGLISH VERSION: Mammary Gland Immunity and Mastitis Susceptibility

114 IMPORTANCIA Y CONSECUENCIAS DE LA OXITOCINA DE LA PITUITARIA O EN JERINGA PARA EL ORDEÑO MECANIZADO
Rupert M. Bruckmaier

117 ENGLISH VERSION: Importance and Consequences of Oxytocin from the Pituitary or from the Syringe for Machine Milking

121 ACTUALIZACIÓN SOBRE LA MAMITIS CONTAGIOSA: *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* Y *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*
John R. Middleton

126 ENGLISH VERSION: Update on contagious Mastitis*: Staph ylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae*

131 DIAGNÓSTICO MOLECULAR Y MAMITIS BOVINA
John R. Middleton

134 ENGLISH VERSION: Molecular Diagnostics and Bovine mastitis

137 ESTRATEGIAS DE NUTRICIÓN PARA MEJORAR LA EFICIENCIA ALIMENTARIA
Michael J. VandeHaar

142 ENGLISH VERSION: Dietary strategies to improve feed efficiency

146 OPORTUNIDADES PARA CREAR UNA VACA MÁS EFICIENTE A TRAVÉS DE LA SELECCIÓN GENÉTICA
Michael J. VandeHaar

148 ENGLISH VERSION: Opportunities to create a more efficient cow through genomic selection

151 ESTRATEGIAS DE AGRUPAMIENTO SEGÚN LA DIETA PARA MEJORAR LA RENTABILIDAD EN EXPLOTACIONES LECHERAS
Víctor E. Cabrera y Afshin Kalantari

156 ENGLISH VERSION: Dietary grouping strategies to improve profitability on dairy farms

160 EL USO DE SIMULADORES PARA MEJORAR LA RENTABILIDAD EN EXPLOTACIONES LECHERAS
Victor E. Cabrera

166 ENGLISH VERSION: Using simulators to improve profitability on dairy farms

171 CEBO DE TERNEROS CON RACIONES UNIFEED. ALGUNAS CONSIDERACIONES
Francisco Moro González

176 ESTRATEGIAS PARA REDUCIR EL IMPACTO DEL ESTRÉS POR CALOR EN LA FERTILIDAD DE LAS VACAS LECHERAS
Peter J. Hansen

180 ENGLISH VERSION: Strategies to reduce the impact of heat stress on fertility of dairy cows

185 REFRESCAR LAS VACAS EN VERANO MEJORA SU FERTILIDAD Y SU BIENESTAR. EL CASO DE ISRAEL
Israel Flamenbaum

190 ENGLISH VERSION: Cooling in the Summer Improves Cow's Fertility and Welfare. The case of Israel

194 REFRESCAR A LAS VACAS DURANTE EL VERANO MEJORA LA EFICIENCIA DE PRODUCCIÓN, LA RENTABILIDAD DE LA GRANJA Y LA SOSTENIBILIDAD DE LA PRODUCCIÓN. EL CASO DE ISRAEL
Israel Flamenbaum

199 ENGLISH VERSION: Cooling Cows in the Summer Improves Production Efficiency, Farm Profitability and Production Sustainability. The case of Israel

203 IMPACTO DEL ESTRÉS METABÓLICO SOBRE LA INFLAMACIÓN Y LA SALUD DE LA VACA EN TRANSICIÓN: EL PAPEL DE LA BIOSÍNTESIS DE EICOSANOIDES
Lorraine M. Sordillo

208 ENGLISH VERSION: Impact of Metabolic Stress on Transition Cow Inflammation and Health: Role of Eicosanoid Biosynthesis

212 ESTRATEGIAS DE DIAGNÓSTICO Y CONTROL DE LA TUBERCULOSIS BOVINA EN ESPAÑA: UNA PERSPECTIVA DESDE LA ASÍNTOTA
Mariano Domingo

216 BIOSEGURIDAD EN EXPLOTACIONES DE VACUNO DE LECHE
Eduardo Yus Respaldiza

219 EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD RESPIRATORIA BOVINA INFECCIOSA (EIBR): ¿UNA CONTRIBUCIÓN IMPORTANTE DE EXAMEN *POST MORTEM*?
F. Schelcher, C. Lacroux

223 ENGLISH VERSION:Diagnosis of Infectious Bovine Respiratory Disease (IBRD): a major contribution of *post mortem* examination?

227 INFLUENCIA NEGATIVA DE ALGUNAS MICOTOXINAS EN EL GANADO VACUNO LECHERO Y SU REPERCUSIÓN EN LA SALUD HUMANA COMO CONTAMINANTES EN LECHE
Agustín Ariño

235 LA REFORMA DE LA PAC LLEGA A SU RECTA FINAL
Dña. Esperanza de Orellana Moraleda

239 COMUNICACIONES ORALES

MEDICINA - MEDICINE

240 APLICACIÓN DE ESCÁNERES LINEALES DE ULTRASONIDOS DE 5MHZ (RECTALES) PARA EL DIAGNÓSTICO PRECISO DE CONDICIONES DEL PULMÓN Y LA PLEURA EN LA CLÍNICA BOVINA
THE APPLICATION OF 5 MHZ LINEAR ULTRASOUND (RECTAL) SCANNERS TO ACCURATELY DIAGNOSE LUNG AND PLEURAL CONDITIONS IN CATTLE PRACTICE
Philip Scott

241 INTERÉS DE LA ULTRASONOGRAFÍA PARA EL DIAGNÓSTICO DE DEFECTOS CARDIACOS CONGÉNITOS EN EL GANADO: 10 AÑOS DE EXPERIENCIA 2003-2013
INTEREST OF ULTRASONOGRAPHY FOR THE DIAGNOSTIC OF CONGENITAL HEART DEFECTS IN CATTLE: 10 YEARS OF EXPERIENCE 2003-2013
Nora Cesbron, Raphaël Guatteo, Sébastien Assié, Christophe Chartier, Alain Douart

242 CASO CLÍNICO. BIOPSIA PULMONAR GUIADA POR TORACOSCOPIA EN UN TERNERO DE CEBO
CASE REPORT: LUNG THORACOSCOPY-GUIDED BIOPSY IN A VEAL CALF
Espinosa Crespo I, Texeira Justo C., Sacristán Álvarez S, Ordis Pla P, Pérez Villalobos N

243 ASOCIACIÓN ENTRE LA LAMINITIS Y EL RENDIMIENTO REPRODUCTIVO EN 10 GRANJAS LECHERAS IRLANDESAS CON ALIMENTACIÓN A PASTO Y MONTA ESTACIONAL
THE ASSOCIATION OF LAMENESS WITH REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN 10 SEASONALLY BREEDING PASTURE-BASED IRISH DAIRY HERDS
Joris Somers

243 FACTORES QUE AFECTAN A LA CURACIÓN Y LA INCIDENCIA DE LESIONES DE DERMATITIS DIGITAL TRAS UN TRATAMIENTO TÓPICO COLECTIVO EN GRANJAS LECHERAS
FACTORS AFFECTING CURE AND INCIDENCE OF DIGITAL DERMATITIS LESIONS AFTER A COLLECTIVE TOPICAL TREATMENT IN DAIRY FARMS
Guatteo, Relun, Lehébel, Bareille

244 BLOQUEO ANESTÉSICO PARAVERTEBRAL ECOGUIADO EN TERNEROS
ULTRASOUND-GUIDED PARAVERTEBRAL ANESTHETIC BLOCK IN CALVES
Cordeiro Dos Santos, J., Blanco Murcia, F.J., Villaescusa Fernández, A.; Calleja Bueno, L., Monsalve Roquero B., De Gaspar Simón, I., Re, M.

246 INCIDENCIA DE ÚLCERAS ABOMASALES EN GANADO SACRIFICADO EN AUSTRIA
INCIDENCE OF ABOMASAL ULCERS IN SLAUGHTERED CATTLE IN AUSTRIA
Alexandra Hund, Theresa Beer, Thomas Wittek.

247 TRATAMIENTO DE TERNEROS CON MIELODISPLASIA CONGÉNITA NACIDOS EN EL VALLE DE LIÉBANA (CANTABRIA)
TREATMENT OF CONGENITAL MYELODYSPLASIA IN CALVES BORN IN THE LIÉBANA VALLEY (CANTABRIA)
L. Polledo, J. Alonso, J Busque, W. Salceda, MJ García-Iglesias, y JF García Marín

248 INVESTIGACIONES SOBRE LAS ASOCIACIONES CLINICOPATOLÓGICAS DE LA HIPERCALEMIA EN TERNEROS CON DIARREA NEONATAL
INVESTIGATIONS ON CLINICOPATHOLOGICAL ASSOCIATIONS OF HYPERKALAEMIA IN CALVES WITH NEONATAL DIARRHOEA
Florian M. Trefz, Peter D. Constable, Carola Sauter-Louis, Annette Lorch, Gabriela Knubben-Schweizer and Ingrid Lorenz

ESTRÉS // GESTIÓN DE EXPLOTACIONES - STRESS // MANAGEMENT

249 COMPARACIÓN DE LAS CONDICIONES CLIMÁTICAS ENTRE MEDICIONES A PIE DE GRANJA Y LOS DATOS METEOROLÓGICOS OFICIALES
COMPARISON OF CLIMATE CONDITIONS BETWEEN ON FARM MEASUREMENT AND OFFICIAL METEOROLOGICAL DATA
L. Schüller, O. Burfeind, W. Heuwieser

250 MEJORA DE LA CALIDAD DE LECHE Y DEL NIVEL DE PRODUCCIÓN TRAS EL MANTENIMIENTO DE LAS VACAS SOBRE CAMA COMPOSTADA DURANTE EL SECADO
IMPROVEMENT OF MILK QUALITY AND PRODUCTION IN DAIRY CATTLE AFTER COMPOST BEDDING AT DRY PERIOD
Susana Astiz, Francisco Sebastián, Octavi Fargas, Miguel Fernández, y Emili Calvet

252 APROXIMACIÓN A LAS CAUSAS DE DESECHO EN EXPLOTACIONES INTENSIVAS DE GANADO VACUNO DE APTITUD LÁCTEA
APPROACH TO THE CAUSES OF CULLING IN INTENSIVE DAIRY CATTLE FARMS
Rodríguez Lago, J.M. y Sierra Toral, Ana

254 MONITORIZACIÓN DEL BIENESTAR EN CLÍNICAS DE GRANJAS LECHERAS HOLANDESAS
MONITORING WELFARE IN PRACTICE ON DUTCH DAIRY FARMS
Frank van Eerdenburga, Jan Hulsenb, Bert Snelcand Arjan Stegemana

256 RAZONES PARA EL DESECHO DE HOLSTEIN EN REBAÑOS LECHEROS EN UN PROGRAMA DE MEJORA DE REBAÑOS LECHEROS EN GALICIA
REASONS FOR CULLING HOLSTEIN IN DAIRY CATTLE HERDS OF DAIRY HERD IMPROVEMENT PROGRAM OF GALICIA
Laura Macías Niemeier, Ramiro Fouz Dopacio, Mª Luisa Sanjuán Hernán Pérez, EduardoYus Respaldiza, Fco. Javier Diéguez Casalta

ALIMENTACIÓN - FEEDING

257 EVALUACIÓN DE LA NECESIDAD DE SUPLEMENTAR CON ANTIOXIDANTES EN VACAS LECHERAS ECOLÓGICAS DURANTE EL PERIODO DE TRANSICIÓN: ESTUDIO COMPARATIVO FRENTE AL SISTEMA DE GRANJAS INTENSIVAS
EVALUATION OF THE NEED OF ANTIOXIDANT SUPPLEMENTATION IN ORGANIC DAIRY CATTLE DURING THE TRANSITION PERIOD: A COMPARATIVE STUDY WITH THE INTENSIVE FARMING SYSTEM
Ángel Abuelo, Joaquín Hernández, José L. Benedito and Cristina Castillo

258 EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON BICARBONATO SÓDICO EN VACAS LECHERAS LACTANTES CON ESTRÉS DE CALOR
EFFECT OF SUPPLEMENTATION WITH SODIUM BICARBONATE IN LACTATING DAIRY COWS DURING HEAT STRESS
Baucells Joaquim; Torrellardona Jose; Moreira Bruno

260 LA INFLUENCIA DEL NIVEL DE ENERGÍA PREPARTO EN EL RENDIMIENTO LECHERO, LA CETOSIS Y LA INGESTA DE MATERIA SECA EN VACAS LECHERAS DE TRANSICIÓN
THE INFLUENCE OF PREPARTUM ENERGY LEVEL ON MILK YIELD, KETOSIS AND DRY MATTER INTAKE IN TRANSITION DAIRY COWS

Mann S., Leal Yepes F., Overton T.R., Wakshlag J.J, Nydam D.V.

261 EVALUACIÓN DEL PROCESO DE ALIMENTACIÓN EN UNA GRANJA LECHERA GRANDE EN CALIFORNIA

EVALUATION OF THE FEEDING PROCESS IN A LARGE DAIRY IN CALIFORNIA

Y. Trillo, A. Lago, N Silva-del-Río

262 REPERCUSIONES DEL NIVEL DE ALIMENTACIÓN DURANTE LA LACTACIÓN Y LA RECRÍA SOBRE LOS RENDIMIENTOS DE NOVILLAS DE RAZA PARDA DE MONTAÑA

IMPACT OF THE FEEDING LEVEL DURING LACTATION AND REARING ON THE PRODUCTION OF BROWN SWISS HEIFERS

Rodríguez-Sánchez, J.A., Casasús I. y Sanz, A

265 PRODUCCIÓN DE BUEY JOVEN DE RAZAS AUTÓCTONAS ASTURIANAS BAJO DOS ESTRATEGIAS DE MANEJO EN EXTENSIVO

PRODUCTION OF YOUNG OXEN OF ASTURIAN-NATIVE BREEDS FOLLOWING TWO EXTENSIVE MANAGEMENT STRATEGIES

Román-Trufero A, García-Prieto V, Martínez A, Castro P, Osoro K, Celaya R

2266 ASOCIACIÓN ENTRE NIVELES DE ÁCIDO B-HIDROXIBUTÍRICO EN SANGRE EN VACAS DURANTE EL POSTPARTO Y LA INCIDENCIA DE ENFERMEDADES CLÍNICAS, PRODUCCIÓN Y COMPONENTES DE LA LECHE, REPRODUCCIÓN Y DESECHO

RELATION BETWEEN B-HYDROXYBUTYRIC ACID LEVELS IN BLOOD IN POSTPARTUM COWS AND THE INCIDENCE OF CLINICAL DISEASES, PRODUCTION AND COMPONENTS OF MILK, REPRODUCTION AND CULLING

Alfonso Lago, José Manuel Valle, José Antonio Pico, Cándido Rodríguez, Manuel Morales, Agustín Martín

SANIDAD - ANIMAL HEALTH (SALA POLIVALENTE)

268 DIAGNÓSTICO DE LA PARATUBERCULOSIS BOVINA: COMPARACIÓN ENTRE CULTIVO FECAL Y qPCR SOBRE MUESTRAS DE CAMPO

BOVINE PARATUBERCULOSIS DIAGNOSTIC: A COMPARISON BETWEEN FECAL CULTURE AND qPCR ON FIELD SAMPLES

Prieto A, Lago N, Díaz JM, Pérez I, Guarddon M, Díaz P, López C, Fernández G

269 FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A RESULTADOS FALSOS NEGATIVOS EN LAS PRUEBAS *IN-VIVO* DE DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA EN EL GANADO INFECTADO

RISK FACTORS ASSOCIATED TO FALSE NEGATIVE RESULTS IN BOVINE TUBERCULOSIS DIAGNOSIS IN-VIVO TESTS IN THE INFECTED CATTLE

Julio Álvarez, Andrés Pérez, Sergio Marqués, Javier Bezos, Anna Grau, Maria Luisa de la Cruz, Beatriz Romero, Jose Luis Saez, Maria del Rosario Esquivel, Maria del Carmen Martínez, Olga Mínguez, Lucía de Juan, Lucas Domínguez

271 RELACIÓN ENTRE SEROPOSITIVIDAD A PARATUBERCULOSIS BOVINA Y ELIMINACIÓN DE ANIMALES EN EXPLOTACIONES LECHERAS

RELATION BETWEEN BOVINE TUBERCULOSIS SEROPOSITIVITY AND CULLING IN DAIRY FARMS

Jorge González Fernández, Luís E. Reyes Ávila, Valentín Pérez Pérez, Silvia Morales, Pablo LIrente, Roberto Álavarez, Juan Francisco García Marín

273 DIAGNÓSTICO DE PARATUBERCULOSIS BOVINA MEDIANTE MÉTODOS INMUNOLÓGICOS EN SANGRE Y LECHE Y SU RELACIÓN CON LA EXCRECIÓN DE MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP PARATUBERCULOSIS

BOVINE TUBERCULOSIS DIAGNOSIS BY BLOOD AND MILK IMMUNOLOGICAL METHODS AND THEIR RELATION WITH MYCOBACTERIUM AVIUM SUBSP PARATUBERCULOSIS EXCRETION

Fernández, M.; Benavides, J.; Royo, M.; Fuertes, M.; Castaño, P.; Ferreras, M.C.; Pérez, V.

275 ESTUDIO DE PREVALENCIA DE *Anaplasma phagocytophilum, Anaplasma marginale* Y *Theileria annulata* MEDIANTE TÉCNICAS MOLECULARES EN GANADO BOVINO EN EXTENSIVO EN LA ZONA CENTRO DE ESPAÑA

PREVALENCE STUDY OF Anaplasma phagocytophilum, Anaplasma marginale and Theileria annulata, USING MOLECULAR TECHNIQUES IN EXTENSIVE CATTLE IN CENTRAL SPAIN

Lydia Calleja Bueno, Alejandra Villaescusa Fernández, Ángel Sainz Rodríguez, Juan Vicente González Martín

276 DETECCIÓN TEMPRANA DE LA ENFERMEDAD RESPIRATORIA BOVINA (ERB) EN GANADO DE ENGORDE UTILIZANDO SISTEMAS DE MONITORIZACIÓN DE MÚLTIPLES PARÁMETROS DE SALUD

EARLY DETECTION OF BOVINE RESPIRATORY DISEASE (BRD) IN FEEDLOT CATTLE USING MULTIPLE HEALTH-MONITORING SYSTEMS

Afra-Verena Mang, Calvin Booker, René Quiniou, Edouard Timsit

278 AUSENCIA DE UN CAMBIO ACTIVO ENTRE LA INMUNIDAD PASIVA Y ACTIVA PARA LA TOXINA ALFA DE CLOSTRIDIUM PERFRINGENS EN TERNEROS DE CARNE BLANCA COMPARADO CON TERNEROS CONVENCIONALES DE CARNE

ABSENCE OF AN ACTIVE SHIFT FROM MATERNAL TO ACTIVE IMMUNITY FOR CLOSTRIDIUM PERFRINGENS ALPHA TOXIN IN VEAL CALVES COMPARED TO CONVENTIONAL BEEF CALVES

Valgaeren B., Pardon B., Verherstraeten S., Goossens E., Timbermont L., Ducatelle R., Van Immerseel F., Deprez P

278 DINÁMICA DE LA BESNOITIOSIS BOVINA EN GRANJAS UBICADAS EN UN ÁREA DONDE LA ENFERMEDAD ES ENDÉMICA

DYNAMIC S OF BOVINE BESNOITIOSIS IN FARMS LOCATED IN AN ENDEMIC AREA

Gutiérrez-Expósito, D., Ortega-Mora, L.M., García-Lunar, P., Rojo-Montejo, S., Zabala, J., Serrano, M., Álvarez-García, G.

279 ESTUDIO SOBRE LA PRESENCIA DE ENTEROPATÓGENOS CAUSANTES DE DIARREA EN TERNEROS EN GALICIA

STUDY ON THE PRESENCE OF DIARRHEA-CAUSING ENTEROPATHOGENS IN CALVES IN GALICIA

García-Meniño, I.; Díaz, P.; Gómez, V.; Prieto, A; Fernández, G; Díez-Baños, P.; Morrondo, P.; Mora, A.

281 PRESENCIA DEL HERPESVIRUS BOVINO-4 EN CASOS DE ABORTO BOVINO

PRESENCE OF BOVINE HERPESVIRUS-4 IN CASES OF ABORTION IN CATTLE

Díaz J.M., Prieto, A., Pérez, I., Díaz, P., Díez-Baños, P., Morrondo, P., Fernández, G.

282 CARACTERIZACIÓN DE *Staphylococcus aureus* AISLADOS EN EXPLOTACIONES DE VACUNO LECHE. PATRONES DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

CHARACTERIZATION OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS ISOLATED FROM DAIRY FARMS. ANTIBIOTIC RESISTANCE PATTERNS

Espada Aguirre, Mónica; Ortega Rodríguez, Carmelo; Orós Espinosa, Jesús

284 ANÁLISIS ECONÓMICO DE UN BROTE DE *SALMONELLA* SPP. EN UNA GRANJA LECHERA GALESA

THE ECONOMIC ANALYSIS OF A SALMONELLA SPP. OUTBREAK IN A WELSH DAIRY FARM

Angela Damaso

REPRODUCCIÓN - REPRODUCTION

285 ESTUDIO POST-MORTEM DE LAS CARACTERISTICAS FISIOPATOLOGICAS DEL TRACTO GENITAL DE VACAS LECHERAS EN EL SUR DE VIETNAM

POST-MORTEM STUDY OF THE PHYSIOPATHOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE GENITAL TRACT OF DAIRY COWS IN SOUTH VIETNAM

N. Kien Cuong, C. Tomàs Mulet, Okouyi-Mfoumou W.M2, Ch. Hanzen2

287 PROGRAMACIÓN DEL DESARROLLO EN HOLSTEIN Y FACTORES ASOCIADOS A UNA MAYOR PRODUCCIÓN EN VACAS DESDE SU NACIMIENTO: LA EDAD DE LA MADRE PODRÍA SER DETERMINANTE

DEVELOPMENT PROGRAMMING IN HOLSTEIN AND FACTORS ASSOCIATED WITH A BIGGER PRODUCTION IN COWS FROM THEIR BIRTH: MOTHER'S AGE SEEMS TO BE DETERMINANT!

Susana Astiz, Antonio Gonzalez-Bulnes, Francisco Sebastian, Octavi Fargas, Iagoba Cano, Pedro Cuesta

289 LA VALORACIÓN DE LA APTITUD REPRODUCTIVA DE TOROS EN CONDICIONES DE CAMPO, UN NUEVO RETO PARA LA PROFESIÓN VETERINARIA EN ESPAÑA

EVALUATION OF BULLS' REPRODUCTIVE COMPETENCY IN FIELD CONDITIONS, A NEW CHALLENGE FOR VETERINARIANS IN SPAIN

José Antonio García-Paloma

291 UN ENFOQUE INTEGRAL PARA EL MANEJO DE DESÓRDENES HEREDITARIOS DE LA RAZA AZUL BELGA EN BÉLGICA

AN INTEGRATED APPROACH FOR THE MANAGEMENT OF INHERITED DISORDERS IN BELGIAN BLUE CATTLE BREED IN BELGIUM

Arnaud Sartelet, Samuel Chapon, Corinne Fasquelle, Nico Tamma, Michel Georges, Carole Charlier

CALIDAD DE LECHE - MILK QUALITY

293 COMPARACIÓN DEL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS ENTRE LOS MICROORGANISMOS AISLADOS DE MAMITIS SUBCLÍNICAS EN BOVINO

COMPARISON OF SOMATIC CELL COUNTS INDUCED BY DIFFERENT MICROORGANISMS ISOLATED FROM SUBCLINICAL MASTITIS IN CATTLE

Barreal ML, Díaz JM, Prieto A, Pombo MB, Fernández G

294 DESARROLLO DE LA APLICACIÓN CRONOMILKING PARA TABLETS: MEDICIÓN Y EVALUACIÓN DE LA RUTINA DE ORDEÑO

TABLET CRONOMILKING APP DEVELOPMENT: MEASUREMENT AND EVALUATION OF MILKING ROUTINE

Alejandro López Castiello; Antonio Callejo Ramos

296 ESTUDIO COMPARATIVO DEL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (RCS) EN GRANJAS CONVENCIONALES Y ECOLÓGICAS DEL NORTE DE ESPAÑA

COMPARATIVE STUDY ON SOMATIC CELLS COUNTS (SCC) IN CONVENTIONAL AND ORGANIC FARMS IN NORTHERN SPAIN

Orjales, I, López-Alonso, M, Rodríguez-Bermúdez R, Rey-Crespo, F, Villar, A, Miranda, M

297 DETERMINACIÓN MEDIANTE PCR DE *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Estafilococos coagulasa* NEGATIVOS (CNS) Y COLIFORMES SOBRE MUESTRAS DE LECHE RECOGIDAS CON EL KIT DE MUESTREO STARTCHECK®. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE CUATRO AÑOS EN ESPAÑA

PCR IDENTIFICATION OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS, ESCHERICHIA COLI, COAGULASE NEGATIVE STAPHYLOCOCCI (CNS) AND COLIFORM BACTERIA ON MILK SAMPLES TAKEN WITH STARTCHECK® SAMPLING KIT. RESULTS ANALYSIS AFTER 4 YEARS IN SPAIN

Souto, A.; Valls, L.; Ordis, P.; Sanz, M.A.

299 EL EFECTO DE LA LAMINITIS EN EL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS EN LA LECHE DE VACAS LECHERAS

THE EFFECT OF LAMENESS ON MILK SOMATIC CELL COUNT IN DAIRY COWS

Fernando Freitas, Gabriela Koch, George Stilwell

299 SOLUCIONES PARA RESOLVER PROBLEMAS DE HIPERQUERATOSIS

SOLUTIONS FOR RESOLVE HYPERKERATOSIS PROBLEMS

Luís Miguel Jiménez, Kenneth Acre, Nuria Roger

301 POSTER

NUTRICIÓN / FEED EFFICIENCY

302 EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LA HIPERCETONEMIA EN VACAS LECHERAS

ECONOMIC EVALUATION OF HYPERKETONEMIA IN DAIRY COWS

D. Raboisson, M. Mounie, E. Maigne, E. Khenifar

302 INFLUENCIA DE LA RADIACIÓN NO IONIZANTE EN LA ACTIVIDAD DE LAS PROTEÍNAS REDOX EN BOVINOS

INFLUENCE OF NON IONIZING RADIATION ON THE SUMMARIZED ACTIVITY OF REDOX PROTEINS IN BOVINES

Hässig M., Wullschleger M., Nägeli H. P., Kupper J., Spiess B., Capstick, M., Murbach M., Kuster N.

304 CEBO EN EXTENSIVO DE TERNEROS AÑOJOS BAJO MANEJO CONVENCIONAL O ECOLÓGICO EN PRADERAS ASTURIANAS

EXTENSIVE FODDER OF YEARLING CALVES UNDER CONVENTIONAL OR ORGANIC MANAGEMENT IN ASTURIAN PRAIRIES

Román-Trufero A, Martínez A, García Espina MJ, Oliván M, Osoro K, Castro P, Celaya R

305 ENSILADO DE HABA Y COLZA FORRAJERAS COMO ALTERNATIVA AL ENSILADO DE RAIGRÁS ITALIANO EN LA ALIMENTACIÓN DE VACAS LECHERAS EN PASTOREO DURANTE PRIMAVERA Y OTOÑO

FODDER BEAN AND RAPE SILAGE AS AN ALTERNATIVE TO ITALIAN RYEGRASS SILAGE IN THE FEEDING OF DAIRY COWS GRAZING DURING SPRING AND FALL

Jiménez-Calderón J.D., Martínez-Fernández A., Soldado A., González A., de la Roza-Delgado B., Vicente F.

308 EL EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON ÁCIDO LINOLEICO CONJUGADO (ALC) EN LA CONDICIÓN OXIDATIVA Y ANTIOXIDANTE DE LAS VACAS LECHERAS EN PERIPARTO

THE EFFECT OF CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA) SUPPLEMENTATION ON THE OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE STATUS OF PERIPARTURIENT DAIRY COWS

Nina Hanschke, Marta Kankhofer, Lena Locher, Ulrich Meyer, Sven Dänicke, Juergen Rehage

308 VALORES SÉRICOS DE CALCIO, FÓSFORO Y MAGNESIO EN GRANJAS LECHERAS ECOLÓGICAS EN ESPAÑA

SERUM VALUES OF CALCIUM, PHOSPHORUS AND MAGNESIUM IN ORGANIC DAIRY FARMS IN SPAIN

Domínguez, R.; Abuelo, A.; Fernández, JA.; Miranda, M.; Benedito, JL.; Castillo, C.; Hernández, J.

309 COMPARACIÓN DEL BALANCE ENERGÉTICO NEGATIVO ENTRE GANADO DE MANEJO CONVENCIONAL Y ECOLÓGICO EN EL NOROESTE DE ESPAÑA: INFORME PRELIMINAR

COMPARISON OF THE NEGATIVE ENERGY BALANCE BETWEEN CATTLE MANAGED UNDER THE CONVENTIONAL AND ORGANIC FARMING SYSTEMSIN THE NW OF SPAIN: A PRELIMINARY REPORT

Ángel Abuelo, Joaquín Hernández, José L. Benedito, José A. Fernández And Cristina Castillo

MANEJO Y BIENESTAR ANIMAL / MANAGEMENT

310 EFICACIA DEL SUPLEMENTO DE ELECTROLITOS EN LA RACIÓN DE VACAS LECHERAS CON ESTRÉS DE CALOR

EFFICACY OF ELECTROLYTE SUPPLEMENTATION IN THE FEED OF HEAT STRESSED DAIRY COWS

García-Lastra, R., Ferro, A. , Muysson, D., Ruiz, T. y Fernandez, J.

312 ESTIMACIÓN DE LA CALIDAD DEL CALOSTRO EN CAMPO POR REFRACTOMETRÍA DE BRIX

ESTIMATION OF COLOSTRUM QUALITY IN THE FIELD BY BRIX REFRACTOMETRY

D. Klein-Jöbstl, T. Arnholdt, K. Rychli, S. Borchardt, M. Iwersen, M. Drillich

313 PERFIL RACIAL DE LAS GRANJAS DE LECHE ECOLÓGICAS DEL NORTE DE ESPAÑA

BREED PROFILE OF ORGANIC DAIRY FARMS IN NORTHERN SPAIN

Rodríguez-Bermúdez R,Orjales, I, Miranda, M, Rey-Crespo, F, Cortés L, López-Alonso, M

MEDICINA Y CIRUGÍA / MEDICINE

315 RESULTADO DEL TRATAMIENTO QUIRÚRGICO DE LA HINCHAZÓN DEL OMBLIGO EN TERNEROS JÓVENES

OUTCOME OF SURGICAL TREATMENT FOR UMBILICAL SWELLINGS IN BOVINE YOUNGSTOCK

Williams H.J., Gillespie A.V., Oultram J.W., Cripps P.J.C., Holman A.N.

315 EFICACIA DEL ÁCIDO SALICÍLICO EN EL TRATAMIENTO TÓPICO DE LA DERMATITIS DIGITAL

EFFICACY OF SALICYLIC ACID FOR TOPICAL TREATMENT OF DIGITAL DERMATITIS

Johann Klofer, Carmen Innerebner

317 DOCUMENTACIÓN Y ANÁLISIS ELECTRÓNICOS DE DATOS DE PEZUÑAS PARA MONITORIZAR LA SALUD DE LAS PEZUÑAS EN REBAÑOS LECHEROS.

ELECTRONIC DOCUMENTATION AND ANALYSIS OF CLAW DATA FOR MONITORING CLAW HEALTH IN DAIRY HERDS

Johann Klofer

319 ENTERITIS HEMORRÁGICA EN TERNEROS RECIÉN NACIDOS ASOCIADA AL CONSUME DE CALOSTRO

HAEMORRHAGIC ENTERITIS IN NEW-BORN CALVES ASSOCIATED WITH COLOSTRUM INTAKE

Valgaeren B., Pardon B., Verherstraeten S., Goossens E., Van Immerseel F., Deprez P.

320 VALOR AÑADIDO DE LOS DATOS DE LOCALIZACIÓN DE RAYOS EN LA CONFIRMACIÓN DE MUERTES DE GANADO RELACIONADAS CON LOS RAYOS PARA EL PERITO VETERINARIO

ADDED VALUE OF LIGHTNING LOCATION DATA IN THE CONFIRMATION OF LIGHTNING-RELATED FATALITIES IN LIVESTOCK BY THE VETERINARY EXPERT

B. Pardona, E. Vannesteb, D.R. Poelmanc, K. Chiersd, P. Deprez a, P. Weyensb.

320 PERFORACIÓN ESOFÁGICA CERVICAL POR UN TUBO DE ENCALOSTRADO CON UNA PUNTA METÁLICA EN TERNEROS RECIÉN NACIDOS

CERVICAL OESOPHAGEAL PERFORATION BY A COLOSTRUM TUBE WITH METAL END-PIECE IN NEONATAL CALVES

B. Pardona, B. Valgaerena, E. Van der Vekensb, K. Chiersc, J. Saundersb, P. Depreza

321 NECROSIS TUBULAR AGUDA EN TERNEROS DE RAZA RUBIA GALLEGA: ESTUDIO ECOGRÁFICO

ACUTE TUBULAR NECROSIS IN GALICIAN BLOND CALVES: ECOGRAPHIC STUDY

P. Pallarés, R. López, L. Cortés, S. Miquel, L. Rigueira, D. Barreiro, L.D. Failde.

322 PATOLOGÍAS CARDÍACAS CONGÉNITAS EN TERNEROS: 2 CASOS CLÍNICOS

CONGENITAL CARDIOPATHIES IN CALVES: 2 CLINICAL CASES

L. Rigueira, G. Santamarina, L.E. Fidalgo, M.I. Quiroga, D. Barreiro, M. Miranda

324 FACTORES DE RIESGO DE LAMINITIS EN 10 GRANJAS LECHERAS EN IRLANDA

RISK FACTORS FOR LAMENESS ON 10 DAIRY FARMS IN IRELAND

Niall Doherty, Simon J. More, Joris R. Somers

325 HIDRONEFROSIS CAUSADA POR CISTITIS POLIPOIDE EN UNA VACA LECHERA

HYDRONEPHROSIS CAUSED BY POLYPOID CYSTITIS IN A DAIRY COW

George Stilwell, Rui D'Órey Branco, João Cota, Luís Lopes da Costa, Maria Conceição Peleteiro

325 INTOXICACIÓN DE ALUMINIO Y HIERRO EN VACAS DE LECHE Y SU RELACIÓN CON LA DEFICIENCIA SECUNDARIA DE MÚLTIPLES ELEMENTOS ESENCIALES

ALUMINIUM AND IRON INTOXICATION IN DAIRY COWS AND ITS RELATION WITH THE SECONDARY DEFICIENCY OF MULTIPLE ESSENTIAL ELEMENTS

Castro, D.; Miranda, M.; López-Alonso, M.; Riguera, L.; Carbajales, P.; Pereira, V.

SANIDAD / ANIMAL HEALTH

327 NEMATODOSIS GASTROINTESTINAL BOVINA EN CÁCERES

BOVINE GASTROINTESTINAL NEMATODOSIS IN CACERES

Hurtado Preciado, M.A.; Serrano Fraile, L.A.

329 FASCIOLOSIS BOVINA CRÓNICA EN LA DEHESA DE EXTREMADURA (ESPAÑA)

BOVINE CHRONIC FASCIOLOSIS IN EXTREMADURA (SPAIN) MEADOWS

Hurtado Preciado, M.A.; Serrano Fraile, L.A.; Almaraz García, J.

331 PRINCIPALES AGENTES ETIOLÓGICOS IMPLICADOS EN EL DIAGNOSTICO DE PROCESOS RESPIRATORIOS Y DIGESTIVOS DEL GANADO BOVINO

MAIN ETIOLOGICAL AGENTS INVOLVED IN THE DIAGNOSIS OF RESPIRATORY AND DIGESTIVE PROCESSES IN CATTLE

Arnal J.L., Sanz C., Benito A., DeTomás E., Chacón G., Serrano D., Pradas L.

332 ESTUDIO PILOTO DE LA ECOLOGÍA DE ROTAVIRUS GRUPO A EN DIFERENTES ESPECIES EN GRANJAS COMERCIALES

A PILOT STUDY OF GROUP A ROTAVIRUS ECOLOGY IN DIFFERENT SPECIES ON COMMERCIAL FARMS

A. Gillespie, A. German, K. Morgan

332 ADICIÓN DE ESPORAS DE HONGOS DURANTE LA FABRICACIÓN DE CONCENTRADO ALIMENTARIO PARA REDUCIR EL RIESGO DE INFECCIÓN PARASITARIA EN VACUNO EN PASTOREO

FUNGI SPORES ADDITION DURING THE PRODUCTION OF ALIMENTARY CONCENTRATE TO REDUCE THE RISK OF PARASITE INFECTIONS IN GRAZING CATTLE

J.A. Hernández Malagón, P. Lago Velando, P. Piñeiro Fraga, J. Sanchís Polto, C. Cazapal Monteiro, J.L. Suárez García de Paredes, R. Sánchez-Andrade Fernández, M.S. Arias Vázquez

334 HONGOS TELÚRICOS: HACIA LA PREVENCIÓN DE TREMATODOSIS EN GANADO VACUNO

TELLURIC FUNGI: TOWARDS TREMATODOSIS PREVENTION IN CATTLE

C. Cazapal Monteiro, J.A. Hernández Malagón, S. Miguélez Riádigos, F.L. Arroyo Balán, R. Bonilla Quintero, I. Francisco Vázquez, R. Sánchez-Andrade Fernández, A. Paz Silva, M.S. Arias Vázquez

335 PREVENCIÓN DE NEMATODOSIS GASTROINTESTINALES EN GANADO VACUNO MEDIANTE HONGOS PARASITICIDAS

PREVENTION OF GASTROINTESTINAL NEMATODOSIS IN CATTLE USING PARASITICIDAL FUNGI

S. Miguélez Riádigos, M.S. Arias Vázquez, C. Cazapal Monteiro, J.A. Hernández Malagón, N. Alonso Casas, P. Lago Velando, J.L. Suárez García de Paredes, M.E. López de Arellano, P. Mendoza de Gives, R. Sánchez-Andrade Fernández

337 ENFERMEDAD DE SCHMALLENBERG EN GANADO VACUNO: SEROLOGÍA, LESIONES E IDENTIFICACIÓN DEL VIRUS EN DIFERENTES TEJIDOS

SCHMALLENBERG DISEASE IN CATTLE: SEROLOGY, LESIONS AND VIRUS IDENTIFICATION IN DIFFERENT TISSUES

García Marín, JF; Royo, LJ; Gomez, A; Marín, M, Pérez, C, Polledo, L; Balseiro, A

338 RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE *ESCHERICHIA COLI* Y *PASTEURELLA MULTOCIDA* AISLADAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL Y RESPIRATORIO DE TERNERAS LACTANTES CON DISTINTOS TIPOS DE ALIMENTACIÓN

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF ESCHERICHIA COLI AND PASTEURELLA MULTOCIDA ISOLATED FROM THE GASTROINTESTINAL AND RESPIRATORY TRACTS FROM NURSING HEIFERS UNDER DIFFERENT FEEDING REGIMES

G. Maynou, A. Bach, A. Arís, F. Fàbregas, y M.Terré

340 RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL EN SEMENTALES DE EXPLOTACIONES DE GANADO DE CRÍA EN ESPAÑA DURANTE 2006-2013

RESULTS OF THE DIAGNOSIS OF SEXUALLY TRANSMITTED DISEASES IN STALLIONS OF BREEDING CATTLE FARMS IN SPAIN BETWEEN 2006-2013

Collantes-Fernández E., Rojo-Montejo S., Sánchez-Sánchez R., Navarro-Lozano V., García-Peña F.J., Ortega-Mora, L.M.

340 EFECTO DE LA SEROPOSITIVIDAD A *MYCOBACTERIUM PARATUBERCULOSIS* SOBRE LA PRODUCCIÓN, COMPONENTES DE LA LECHE E ÍNDICES REPRODUCTIVOS EN VACAS LECHERAS

EFFECT OF THE SUBCLINICAL INFECTION BY MYCOBACTERIUM PARATUBERCULOSIS ON PRODUCTION, MILK COMPONENTS AND REPRODUCTIVE INDEXES OF DAIRY COWS

Mª Natividad Pesqueira, Camino Factor, Iván Mato, Mª Luisa Sanjuán, Carmen Eiras, Ignacio Arnaiz, Eduardo Yus, Fº Javier Diéguez

342 DETERMINACIÓN DE IBR, BVD Y BRSV MEDIANTE PCR SOBRE MUESTRA NASAL DE TERNEROS DE CEBO. RESULTADOS DE 5 AÑOS DE MUESTRO EN ESPAÑA

BHV1, BVDV AND BRSV IDENTIFICATION BY PCR ON NASAL SAMPLES FROM FEEDING CATTLE. RESULTS AFTER 5 YEARS OF SAMPLING IN SPAIN

Casademunt, S.; Ordis, P.; Maldonado, J.; Sanz, M.A.; Soler, C.; Souto, A.; Valls, L.

343 RELACIÓN ENTRE LA CONTAMINACIÓN MICROBIANA TOTAL DEL CALOSTRO Y LA ABSORCIÓN DE IGG EN TERNERAS LECHERAS RECIÉN NACIDAS

RELATIONSHIP BETWEEN TOTAL MICROBIAL COLOSTRUM CONTAMINATION AND IGG ABSORPTION IN NEWBORN DAIRY CALVES

M. Terré, and A. Bach

345 **EPIDEMIOLOGY OF *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM*: DIVERSITY OF ISOLATES FROM WILD AND DOMESTIC RUMINANTS REVEALED BY A NEW MULTIPLE-LOCUS VARIABLE- NUMBER TANDEM REPEAT ANALYSIS (MLVA) APPROACH**

Dugat, T., Haddad, N. Petit, E., Boulouis, H. J., Monteil, M., Maillard, R.

345 MONITORIZACIÓN DE IBR EN TANQUE (UN MÉTODO EFICAZ, SENCILLO Y ECONÓMICO)

BULK MILK MONITORING OF BHV1 (AN EFFECTIVE, SIMPLE AND ECONOMIC METHOD)

Xabiel González Menéndez; Juan J. Muñiz Salas

CALIDAD DE LECHE / MILK QUALITY

347 ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EL USO DE MICROORGANISMOS UBICUOS EN TANQUE DE LECHE COMO INDICADORES DE LOS PATRONES DE RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS EN EXPLOTACIONES DE VACUNO

PRELIMINARY STUDY ON THE USAGE OF UBIQUITOUS MICROORGANISMS IN MILK TANK AS INDICATORS OF THE ANTIBIOTIC RESISTANCE PATTERNS IN DAIRY FARMS

Ortega Rodríguez, Carmelo; Espada Aguirre, Mónica, Orós Espinosa, Jesús

349 UTILIDAD DE LA APLICACIÓN CRONOMILKING EN LA EVALUACIÓN DE LA RUTINA DE ORDEÑO

UTILITY OF THE CRONOMILKING APP IN THE EVALUATION OF THE MILKING ROUTINE

A. López-Castiello; M. Pérez-Serrano, y A. Callejo

352 IMPACTO DE UN PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD DE LECHE DIRIGIDO A LAS VACAS CON MENOS DE 120 DÍAS POSPARTO SOBRE LA PRODUCCIÓN Y LA INCIDENCIA DE MASTITIS EN UNA EXPLOTACIÓN DE VACUNO LECHERO

IMPACT OF A QUALITY CONTROL PROGRAMME AIMED AT COWS WITH LESS THAN 120 DAYS POSTPARTUM ON PRODUCTION AND INCIDENCE OF MASTITIS IN A DAIRY FARM

Pérez Villalobos N, Teixeira Justo C, Sacristán Álvarez S, Astiz Blanco S, Cerviño López M, González Martín JV

353 COMPARACIÓN DE TEMPERATURA VAGINAL Y EN LECHE EN VACAS LECHERAS LACTANTES UTILIZANDO DATA LOGGERS Y SISTEMAS DE ORDEÑO AUTOMÁTICOS

COMPARISON OF VAGINAL AND MILK TEMPERATURES IN LACTATING DAIRY COWS USING DATA LOGGERS AND AUTOMATIC MILKING SYSTEMS

A. Pohl, W. Heuwieser, O. Burfeind

355 ASPECTOS DEL DIAGNÓSTICO DE LA MAMITIS DEL BÚFALO MEDITERRÁNEO (*BUBALUS BUBALIS*) MEDIANTE EL RECUENTO DE CÉLULAS POR CITOMETRÍA DIFERENCIAL DE FLUJO

DIAGNOSTIC ASPECTS OF MEDITERRANEAN BUFFALO MASTITIS (BUBALUS BUBALIS) THROUGH THE USE OF FLOW CYTOMETRIC DIFFERENTIAL CELLS COUNTS

Guccione J., V. Rubino , A. Pesce , D. Piantedosi , A.T. Palatucci , P. Coppa, A. Di Loria, A. De Rosa , P. Ciaramella

356 EVALUACIÓN CLÍNICA DE LA VACUNA STARTVAC® EN LA MAMITIS PRODUCIDA POR INFECCIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* EN EL BÚFALO MEDITERRÁNEO (*BUBALUS BUBALIS*)

CLINICAL EVALUATION OF STARTVAC® VACCINE ON MEDITERRANEAN BUFFALOES (BUBALUS BUBALIS) MASTITIS DUE TO STAPHYLOCOCCUS AUREUS INFECTION

Guccione J, A. Pesce , M. Pascale , C. Salzano, G. Tedeschi , L. D'Andrea , A. De Rosa , P. Ciaramella

356 ¿PUEDE SER EL CMT UN PREDICTOR ECONÓMICO DE LA MAMITIS EN NOVILLAS LECHERAS A PRINCIPIO DE LACTACIÓN?

CAN CMT BE A COST EFFECTIVE PREDICTOR OF EARLY LACTATION MASTITIS IN DAIRY HEIFERS?

R Drysdale, P Daly, M Tomlinson, K Baxter, P Elkins, P McIntosh

REPRODUCCIÓN Y GENÉTICA / REPRODUCTION

357 CAMBIOS EN LA IMAGEN ECOGRÁFICA DEL ÚTERO EN LOS DÍAS PREVIOS A LA OVULACIÓN

CHANGES IN ECOGRAPHIC IMAGE OF UTERUS IN THE PREVIOUS DAYS TO OVULATION

Quintela, LA; Murillo, A; Barrio, M; Becerra, JJ y Herradón, PG

359 CONSERVACIÓN DE LA RAZA BOVINA MURCIANO-LEVANTINA: OPU Y SU REPERCUSIÓN EN LA FERTILIDAD TRAS LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO

"MURCIANO-LEVANTINA" BREED CONSERVATION: OPU AND ITS EFFECT ON FERTILITY AFTER ARTIFICIAL INSEMINATION AT FIXED TERM

Ruiz S, Sánchez JM, Rojas E, Romero-Aguirregomezcorta JAlmela L, Peinado B, Poto A

361 INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE UN INMUNOMODULADOR JUNTO A LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SOBRE LA FERTILIDAD EN GANADO VACUNO LECHERO

INFLUENCE OF THE APPLICATION OF AN INMUNOMODULATOR IN ARTIFICIAL INSEMINATION ON DAIRY CATTLE FERTILITY
Ismael Villar Gómez, Sofía Villar Fernández, Julián Suárez de la Fuente,

362 ANÁLISIS ESTEREOLÓGICO DE PLACENTOMAS DERIVADOS DE GESTACIONES PURAS Y CRUZADAS DE VACAS FRISONAS NEGATIVAS EN INFECCIONES EXPERIMENTALES CON *NEOSPORA CANINUM*

STEREOLOGICAL ANALYSIS OF PLACENTOMES FROM PURE AND CROSSED GESTATIONS FROM NEGATIVE FRISIAN COWS AFTER EXPERIMENTAL INFECTIONS WITH NEOSPORA CANINUM
R. Mur, B. Serrano-Pérez, I. García-Ispierto, O. Cabezón, L. Darwich, M. Pérez-Maillo, M. Domingo, F. López-Gatius S. Almería

364 RENDIMIENTO DE UN TEST IDEXX DE PREGNANCIA ADAPTADO PARA LECTURA VISUAL DE LOS RESULTADOS Y DISEÑADO PARA USO EN CLÍNICA

PERFORMANCE OF AN IDEXX BOVINE PREGNANCY TEST ADAPTED FOR VISUAL-READ RESULTS AND DESIGNED FOR IN-CLINIC USE
Anna Rice Ph.D., Molly Fabbricante, Sheri Koller, Lisa Lemieux MS, Peter Welles MBA, Serge Leterme Ph.D.

365 EL HIPOTIROIDISMO Y EL BOCIO CONGÉNITO EN TERNEROS SALERS ESTÁN LIGADOS A UNA MUTACIÓN EN EL GEN DUOX2

HYPOTHYROIDISM AND CONGENITAL GOITER OF SALERS CALVES IS LINKED TO A MUTATION IN THE DUOX2 GENE
Roy C., Roque JL., Lacroux C., Lucas MN., Raboisson D., Delverdier M., Charlier C., Georges M., Schelcher F.

366 APOYO PLANTAR EN DOS TERNEROS AZUL BELGA RECIÉN NACIDOS DEBIDO A UNA MIOPATÍA LOCALIZADA

PLANTIGRADY DUE TO A LOCALIZED MYOPATHY IN TWO NEWBORN BELGIAN BLUE CALVES
Arnaud SARTELET, Marie GENART, Laurence EVRARD, Rita GARCIA Da FONSECA, Kamal TOUATI, Calixte BAYROU

367 BENCHMARKING DE INDICADORES ANIMALES DE BIENESTAR EN EL CENTRO DE LA PROVINCIA DE LUGO EN GRANJAS LECHERAS DE ESTABULACIÓN LIBRE O FIJA

BENCHMARKING ANIMAL-BASED WELFARE INDICATORS ON CENTRAL OF LUGO PROVINCE IN FREESTALL AND TIESTALL DAIRY CATTLE FARMS
Trillo Y, Quintela LA, Barrio M, Becerra JJ, Caínzos J, Vigo M, Herradón PG

369 LOS RESULTADOS DE LOS TEST DE ACTH SE CORRELACIONAN CON LAS RESPUESTAS INDIVIDUALES AL ESTRÉS EN VACAS LECHERAS SOMETIDAS A ESTRÉS

RESULTS OF ACTH TEST CORRELATE WITH INDIVIDUAL STRESS RESPONSES DURING STRESS CHALLENGE IN DAIRY COWS
Lea Figuth, Lena Locher, Anja Schacht, Akos Kenez, Korinna Huber, Ulrich Meyer, Sven Dänicke, Juergen Rehage

369 TRATAMIENTO DEL DOLOR CON FLUNIXIN EN EL DESCORNADO DE TERNEROS

PAIN MANAGEMENT WITH FLUNIXIN AT THE DEHORNING OF CALVES
S. Waiblinger, C.-C. Gelfert, A. Mang, C. Nöbauer, T. Arnholt, M. Drillich

370 **PREGNANCY TESTING USING PAG IN MILK IS NOT AFFECTED BY TIME OF SAMPLING DURING THE MILKING PROCESS**
J. Becker, J. Huber, C. Egli, M. Drillich

XIX

CONGRESO INTERNACIONAL ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

Oviedo 25, 27 y 27 de junio 2014

LIBRO DE PONENCIAS, COMUNICACIONES ORALES Y POSTER

ANEMBE
ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA

CURRÍCULOS



Dr. DAVID E ANDERSON

UNIVERSIDAD DE TENNESSEE

David E. Anderson actualmente es director y profesor del departamento clínico de grandes animales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Tennessee.
Nacido en la pequeña ciudad agrícola Oak Ride, en Carolina del Norte obtuvo su doctorado en medicina veterinaria en 1990 en la Universidad de NC State.
Desde entonces ha realizado una intensa actividad investigadora docente y práctica centrada en la medicina y cirugía de los animales de renta y camélidos pasando por las universidades de Georgia, la universidad Estatal de Kansas donde realizó un master en fisiología y reparación del hueso y actualmente Tenesse, siendo un activo y apasionado practicante y comunicador de la cirugía del vacuno. Es desde 1995 especialista certificado por la junta del Colegio Americano de Cirujanos Veterinarios y miembro de su junta. Es director de la Asociación Americana de veterinarios prácticos en pequeños rumiantes, es fundador y director del instituto internacional de camélidos con sede en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Ohio. Recientemente, el Dr. Anderson fundó la Academia Internacional de Cirujanos de Animales de Granja y es el actual director de esa organización. Los intereses de investigación del Dr. Anderson incluyen cirugía, tratamiento del dolor y los biomateriales.

David E. Anderson is currently Head and Professor of the Large Animal Clinical Department of the Faculty of Veterinary Medicine, of the University of Tennessee.
Born in the small farming town Oak Ride, in North Carolina, received his doctorate in Veterinary Medicine in 1990 at NC State University.
Since then, he has carried out intense research activity as a teacher and as practitioner focused on medicine and surgery of productive livestock and camelids through the University of Georgia; the Kansas State University, where he did a Master's degree on physiology and bone repair; and, currently, the University of Tennessee, being an active and passionate practitioner and communicator of beef surgery. He is, since 1995, certified specialist by the American College of Veterinary Surgeons and member of its board. He is director of the American Association of Small Ruminant Practitioners, founder and director of the International Camelid Institute, based in the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Ohio. Recently, Dr. Anderson founded the International Academy of Farm Animal Surgeons and is the current director of that organization. The research interests of Dr. Anderson include surgery, pain treatment and biomaterials.



Dr. SÉBASTIEN BUCZINSKI

UNIVERSIDAD DE MONTREAL

Sébastien Buczinski se graduó en la Escuela Nacional de Veterinaria de Alfort, Francia, en 2002. Después trabajó como clínico durante un año en Borgoña, zona de ganado charolés.
De 2003 a 2006, realizó una residencia en el hospital veterinario de la Facultad de St Hyacinthe, en Montreal y desde entonces trabaja allí como profesor asociado en la clínica ambulatoria de la Facultad, estando activamente involucrado en las enfermedades cardio-respiratorias, medicina de pequeños rumiantes y biomarcadores de diagnóstico de estas enfermedades.
Es miembro de la Junta del Colegio Americano de Medicina Interna Veterinaria, especialidad de animales de producción, desde 2006 y en 2009 terminó un máster de especialización en el departamento clínico de la Facultad de Medicina Veterinaria de Montreal.

Dr Sébastien Buczinski graduated from the National Veterinary College of Alfort, France, in 2002. He then worked for a year as a clinician in Burgundy, Charolais cattle area.
From 2003 to 2006, held a residency at the Veterinary Hospital of the Faculty of St. Hyacinthe, in Montreal; and, since then, has worked there as an associate Professor in the outpatient clinic of the Faculty, being actively involved in cardio-respiratory diseases, small ruminant medicine and diagnostic biomarkers of these diseases.
He is member of the board of the American College of Veterinary Internal Medicine, specialty in production animals, since 2006; and in 2009, he concluded a Masters specialization in the Clinical Department of the Faculty of Veterinary Medicine of Montreal.



Dña. ESPERANZA DE ORELLANA MORALEDA

MINISTERIO DE AGRICULTURA

Dña. Esperanza de Orellana Moraleda es licenciada en veterinaria y miembro del Cuerpo Nacional Veterinario (promoción 1987). De 1988 a 1994 fue destinada al FEGA trabajando en la gestión de las Ayudas Ganaderas. Posteriormente se incorpora a la Dirección General de Ganadería en donde trabaja en la gestión de los sectores vacuno, ovino y la puesta en marcha de los sistemas de trazabilidad. En la actualidad es Subdirectora de Mercados Exteriores y Producción Porcina, Avícola y Otras.

Ms. Esperanza de Orellana Moraleda holds a degree in Veterinary and is member of the National Veterinary Corps (promotion 1987). From 1988 to 1994, was assigned to work to FEGA in the management of Farming Aids. Later, she joined the General Directorate of Animal Husbandry, where she works in the management of the bovine and ovine sectors and in the launching of traceability systems. Currently, she is Assistant Manager of International Markets and Pig, Poultry and Other Production.



Dr. EDUARDO YUS RESPALDIZA

UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

Eduardo Yus Respaldiza es Profesor Titular del Área de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria de Lugo. Su actividad investigadora se centra en las enfermedades infecciosas endémicas del ganado vacuno lechero (IBR, BVD, PTBC), en los sistemas de análisis de peligros y puntos de control críticos (APPCC) en explotaciones bovinas, y en los programas de mejora de la calidad de la leche. Ha dirigido numerosos proyectos de investigación y ha publicado más de 70 artículos.

Eduardo Yus Respaldiza is Professor of the Animal Health Department of the Faculty of Veterinary Medicine of Lugo. His research activity is focused on endemic infectious diseases of dairy cattle (IBR, BVD, PTBC), Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) in cattle farms, and programs to improve milk quality. He has conducted numerous research projects and has published more than 70 articles. His presentation is entitled “Biosafety in dairy cattle farms”.



Dr. AGUSTÍN ARIÑO

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Agustín Ariño es Catedrático de Nutrición y Bromatología de la Universidad de Zaragoza (España) y trabaja en la Facultad de Veterinaria, impartiendo docencia de Grado, Máster y Doctorado en asignaturas relacionadas con la seguridad alimentaria y la ciencia de los alimentos. Obtuvo el grado de Doctor en Veterinaria en 1991 y fue becario postdoctoral en la University of Nebraska-Lincoln (EE.UU.) especializándose en la investigación de mohos y micotoxinas en materias primas, piensos y alimentos. Es investigador principal de varios proyectos competitivos (Plan nacional de I+D+i, DGA) en el campo de mohos y micotoxinas en alimentos, así como de varios contratos de transferencia tecnológica con empresas agroalimentarias, habiendo dirigido 8 tesis doctorales. Agustín Ariño es autor o co-autor de más de 80 publicaciones y 100 contribuciones a Congresos nacionales e internacionales en materias relacionadas con la Seguridad Alimentaria y la Ciencia de los Alimentos, destacando sus trabajos sobre las micotoxinas aflatoxinas, ocratoxina A y toxinas de Fusarium.

Ponencia:

-Influencia negativa de algunas micotoxinas en el ganado vacuno lechero y su repercusión en la salud humana, como en leche



Dr. GIOVANNI GNEMMI

BOVINEVET, ITALIA

Giovanni es un clínico que trabaja para la empresa privada BOVINEVET. Desde 1993 desarrolla su trabajo con la ecografía incorporándola al manejo del rebaño. Las especialidades del Dr. Gnemmi son el manejo reproductivo, la medicina preventiva y la formación continuada de los ganaderos y veterinarios, con experiencia nacional e internacional, tanto como asesor de grandes explotaciones, así como de docente en más de 160 cursos en el mundo. Tiene numerosas publicaciones, libros y artículos científicos y más de 130 conferencias en foros internacionales.

Giovanni is a clinician who works for the private company BOVINEVET. Since 1993, develops his works with the ultrasonography, incorporating it to the herd management. Dr. Gnemmi specialties are reproductive management, preventive medicine and continuous education of farmers and veterinarians, with national and international experience, both as large farms assessor and teacher in more than 160 courses worldwide. He has numerous publications, books and scientific articles, and more than 130 lectures at international forums.



Dr. JOSÉ EDUARDO P. SANTOS

UNIVERSIDAD DE FLORIDA

José E. P. Santos se licenció en Sao Paulo, Brasil en 1992. Tras trabajar como clínico durante un año fue a la Universidad de Arizona donde hizo el máster (1995) y el doctorado en nutrición (1997). Tras trabajar en Davis, California, se incorporó a la Universidad de Florida en 2008, donde ejerce como responsable de investigación y actividades ganaderas en nutrición y reproducción. El Dr. Santos ha tutelado numerosos estudiantes, doctorandos, estudiantes en prácticas y profesores visitantes, además de haber publicado 135 artículos científicos, capítulos de libro y 235 artículos técnicos y conferencias en el área de nutrición y reproducción. Sus trabajos de investigación se centran en la relación nutrición – reproducción y los métodos para mejorar la salud y la fertilidad de las vacas en el postparto.

José E. P. Santos graduated in Sao Paulo, Brasil, in 1992. After working as a clinician for a year, he went to the University of Arizona, where he made the Masters (1995) and the doctorate in nutrition (1997). After working in Davis, California, he joined the University of Florida in 2008, where he is responsible for research and farming activities in nutrition and reproduction. Dr. Santos has tutored numerous students, PhD students, interns and visiting professors; and has published 135 scientific articles, book chapters and 235 technical articles and conferences in the area of nutrition and reproduction. His research works focus on the relationship between nutrition and reproduction and the methods to improve health and fertility of postpartum cows.



Dr. PETER J. HANSEN

UNIVERSIDAD DE FLORIDA

Peter J. Hansen tiene actualmente, el título de “Distinguished and LE Red Professor” en la Universidad de Florida. Se licenció y doctoró en Illinois, haciendo el post-doctorado en Florida y en la Universidad de Guelph. Se incorporó a la Universidad en 1984 como profesor asistente. Su trabajo de investigación se centra en los mecanismos para el establecimiento y mantenimiento de la gestación y del desarrollo de métodos para mejorar la fertilidad. Especialmente se ha centrado en determinar los efectos de la temperatura en el desarrollo embrionario temprano y las interacciones entre el sistema inmune, el tracto reproductivo y el embrión. Tiene más de 240 artículos científicos publicados, es miembro de varias asociaciones científicas y posee numerosos reconocimientos y awards internacionales. Actualmente es el presidente de la Sociedad Internacional de Embryo Transfer y del Congreso Internacional de Reproducción Animal.

Peter J. Hansen currently holds the title of “Distinguished and LE Red Professor” at the University of Florida. He graduated and received his doctorate in Illinois, carrying out the post-doctorate in Florida and in the University of Guelph. He joined to the University in 1984 as an Assistant Professor. His research work is focused on the mechanisms for the pregnancy establishment and maintenance and the development of methods to improve fertility. He has specially focused on determining the effects of temperature in early embryonic development and the interactions between the immune system, the reproductive tract and the embryo. He has more than 240 scientific articles published, is member of several scientific associations and has numerous recognitions and international awards. He is currently the president of the International Embryo Transfer Society and of the International Congress of Animal Reproduction.



Dr. ISRAEL FLAMENBAUM

ISRAEL

Dr. Flamenbaum, de Tel Aviv, Israel (licenciado, máster y doctorado en la Universidad de Jerusalén) tiene más de 40 años de expereriencia en la vaca lechera, especialmente en proyectos de vacas lecheras en climas cálidos, centrado especialmente en el estrés por calor. Tras haber cumplido una carrera académica por todo el mundo y de publicar numerosos artículos científicos se ha jubilado del Ministerio de Agricultura Israelita donde ocupaba el cargo de Director de la División de Cría Animal.
Desde 2008 trabaja como asesor privado, principalmente para instituciones públicas de diversos países, cooperativas lecheras y granjas en todo el mundo.

Dr. Flamenbaum, from Tel Aviv, Israel (bachelor, Master's degree and doctorate in the University of Jerusalem) has over 40 years of experience in dairy cows, especially in projects of dairy cows in warm climates and focused on heat stress. After completing an academic career worldwide and publishing numerous scientific articles, he has retired from the Israelite Ministry of Agriculture, where he held as Director of the Division of Animal Breeding. Since 2008, he works as private consultant, mainly for public institutions from different countries, dairy cooperatives and farms all over the world.



Dr. JOHN MIDDLETON

UNIVERSIDAD DE MISSOURI

Dr. Middleton es licenciado en veterinaria (DVM) y doctor (PhD) por la Washington State University en medicina interna de grandes animales. Actualmente trabaja en la Universidad de Missouri como profesor y es jefe del Departamento de Medicina y Cirugía de Animales de Producción. Además, es director asistente de la Estación Experimental de Agricultura de esta Universidad.
Es clínico, investigador y gestor entre otras responsabilidades en el Departamento de Medicina y Cirugía Veterinaria.
Sus investigaciones están centradas en Mastitis y Calidad de Leche, particularmente en mastitis por estafilococos. Actualmente es Presidente del National Mastitis Council.

Dr. Middleton has a Degree in Veterinary Medicine (DVM) and is Doctor (PhD) by the Washington State University in large animal internal medicine. He currently works at the University of Missouri as Professor and he is the Head of the Department of Production Animals Medicine and Surgery. He is also Assistant Director of the Agricultural Experiment Station of that University.
He is clinician, researcher and manager, amongst other responsibilities in the Veterinary Medicine and Surgery Department.
His research is focused on Mastitis and Milk Quality, particularly on staphylococcal mastitis. He is currently President of the National Mastitis Council.



Dra. LORRAINE M. SORDILLO

UNIVERSIDAD DE MICHIGAN

Lorraine Sordillo es Doctora en Inmunología por Louisiana State University, (Baton Rouge) desde 1987. Formó parte del equipo de investigación en inmunología en la Organización de Enfermedades Infecciosas y Vacunas en Saskatoon (Canada) de 1987 a 1992, posteriormente pasó a Pennsylvania State University donde estuvo desde 1992 a 2004.
Actualmente es miembro facultativo del Departamento de Salud de Grandes Animales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Michigan. Sus investigaciones están centradas en la búsqueda de soluciones en el Control de Mastitis basadas en la interacción de la nutrición e inmunología en momentos en los que la vaca es más susceptible a las enfermedades. Algunas de sus investigaciones han resultado en patentes para el tratamiento de la mastitis en EE.UU.; ha escrito más de 100 artículos en revistas científicas y es conferenciante habitual en congresos nacionales e internacionales sobre vacas lecheras.

Lorraine Sordillo is Doctor in Immunology by Louisiana State University (Baton Rouge) since 1987. She was part of the research team in immunology at the Vaccine and Infectious Disease Organization in Saskatoon (Canada) from 1987 to 1992; and then went on to the Pennsylvania State University, where she stayed between 1992 and 2004. She is currently a faculty member of the Large Animal Health Department of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Michigan. Her research focuses on finding solutions in the Mastitis Control based on the interaction of nutrition and immunology at times when the cow is more susceptible to disease. Some of her research has resulted in patents for the treatment of mastitis in the U.S.A.; she has written more than 100 articles in scientific magazines and she is a frequent speaker in national and international congresses on dairy cows.



Dr. MARIANO DOMINGO ALVAREZ

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BARCELONA

Mariano Domingo Álvarez es Catedrático de Sanidad Animal de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB) e investigador del CReSA (Centre de Recerca en Sanitat Animal). Con más de 140 artículos científicos publicados, ha participado en 20 proyectos competitivos de investigación, en 12 de ellos como investigador principal. Las principales líneas desarrolladas han sido estudios de patogenia de la listeriosis murina, diagnóstico de la tuberculosis bovina y caprina, patología de cetáceos, y patogenia de enfermedades víricas porcinas. Desde 2006 hasta 2015, es miembro del Panel de Sanidad y Bienestar Animal de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA).

Mariano Domingo Álvarez is Animal Health Professor at the Universidad Autónoma of Barcelona (UAB) and researcher in CReSA (Centre for Research in Animal Health). With more than 140 scientific articles published, he has participated in 20 competitive research projects, in 12 of them as principal researcher. The main lines developed have been studies on murine listeriosis pathogeny, bovine and caprine tuberculosis diagnosis, cetacean pathology, and porcine viral disease pathogeny. From 2006 and up to 2015, is member of the Panel on Animal Health and Welfare of the European Food Safety Authority (EFSA).



Dr. MIKE VANDEHAAR

UNIVERSIDAD DE MICHIGAN

Dr. VandeHaar creció en una granja lechera en el centro de Iowa. En esta misma región estudió sulicenciatura y alcanzó el grado de máster y de doctor en la Universidad de Iowa.
Ha recibido numerosos reconocimientos oficiales de instituciones nacionales e internacionales. Es autor de numerosos artículos científicos y de capítulos de libro y ha desarrollado una nueva versión del programa de racionamiento Spartan para vacas lecheras. Además, ha tutorizado numerosos estudiantes para alcanzar el grado, y el doctorado. Su trabajo investigador se centra en la nutrición bovina y la fisiología mejorando el crecimiento de las novillas y el desarrollo mamario, así como elevando la eficiencia de producción de proteína en la industria lechera.

Dr. VandeHaar grew up in a dairy farm in central Iowa. In this same region, he studied his degree and achieved a Master's degree and doctorate at the University of Iowa.
He has received numerous official recognitions from national and international institutions. He is author of numerous scientific articles and book chapters, and has developed a new version of the Spartan rationing program for dairy cows. He has also tutored numerous students to achieve the degree and the doctorate.
His research work focuses on bovine nutrition and physiology, improving heifer growth and the mammary development, as well as enhancing the protein production efficiency in the dairy industry.



D. FRANCISCO MORO GONZÁLEZ

MADRID

D. Francisco Moro González es Licenciado en Veterinaria por la Facultad de Veterinaria de León en 1975; ha trabajado siempre muy ligado a la ganadería española desde diferentes ámbitos y empresas: Director Técnico y Jefe de Producción de la sección de piensos compuestos de la Cooperativa Forrajera de Negreira "FEIRACO" (Negreira, La Coruña), Director Técnico y Jefe de Producción de Agasa – SANDERS (Villadangos, León), Director de Producción de Mataderos Frigoríficos Españoles (Arteixo, La Coruña). Jefe de Producto (Área de Rumiantes) del Departamento de Nutrición de la División TG (Animales de Producción) de Química Farmacéutica Bayer, S.A. Director del Departamento de Rumiantes de Nutral S.A. Es socio Fundador de ANEMBE y responsable del grupo de Nutrición en los dos primeros congresos de la Asociación. En la actualidad se dedica a labores de Asesoría, por cuenta propia, en el área de Nutrición de Rumiantes.

Mr. Francisco Moro González graduates in Veterinary Medicine by the University of León in 1975; and has always worked closely linked to the Spanish animal husbandry from different areas and companies: Technical Director and Head of Production of the Feed Dept. of the Forage Cooperative of Negreira "FEIRACO" (Negreira, La Coruña), Technical Director and Head of Production of Agasa – SANDERS (Villadangos, León), Production Director of Spanish Refrigerator Slaughterhouses (Arteixo, La Coruña). Product Manager (Ruminants Area) of the Department of Nutrition of the TG Division (Production Animals) of the Pharmaceutical Chemistry Bayer, S.A. Director of the Department of Ruminants of Nutral S.A. He is Founder partner of ANEMBE and was in charge of the Nutrition group during the first two congresses of the Association. Currently he works as a self-employed consultant on Ruminant Nutrition.



Dr. RUPERT M. BRUCKMAIER

UNIVERSIDAD DE BERNA

Realizó estudios de ciencia animal en la Universidad de Munich en Alemania donde se diplomó en 1985 en ciencias agrarias y ciencia animal. En 1988 se doctoró en el Instituto de Fisiología, Reproducción y Lactación en la misma Universidad. Durante 10 años trabajó como asistente postdoctoral en la Universidad de Berna (Suiza) y desde 2005 es profesor de la Facultad de Veterinaria en esa Universidad. Es miembro de diferentes asociaciones relacionadas con la ciencia animal como la American Dairy Science, International Dairy Federation o la European Cooperation in Science and Research. Es Vicepresidente de la Comisión de Fisiología de la European Association of Animal Science. Ha publicado más de 200 artículos y también es revisor de numerosas publicaciones científicas.

He studied animal science in the University of Munich in Germany, where he graduated in 1985 in Agricultural Sciences and Animal Science. In 1988 he received his doctorate in the Institute of Physiology, Reproduction and Lactation in the same University. For 10 years, he worked as a postdoctoral assistant in the University of Bern (Switzerland) and from 2005, is Professor in the Faculty of Veterinary Medicine in that University. He is member of various associations related to animal science, such as the American Dairy Science, the International Dairy Federation or the European Cooperation in Science and Research. He is Vice-Chairman of the Physiology Commission of the European Association of Animal Science. He has published more than 200 articles and is also reviewer of numerous scientific publications.



Dr. JON HUXLEY

UNIVERSIDAD DE NOTTINGAN

Jon Huxley se crió en una granja familiar de leche en el norte de Gales y se graduó en el Royal Veterinary College de Londres en 1995. Después de cuatro años trabajando como clínico con animales de granja, pasó a la Universidad de Bristol como profesor hasta 2006, cuando completó su doctorado en mastitis bovina. De allí pasó a la nueva Facultad de Veterinaria de Nottingham como miembro de su dirección. Fué galardonado en el 2005 con la Diplomatura y el Certificado de Salud y Producción en vacuno por el RCVS (Royal College of Veterinary Surgeons). En 2006 se convirtió en representante de la Escuela Europea de Gestión Sanitaria de bovino y del RCVS Especialistas en salud y producción del Bovino. Sus intereses se centran en las enfermedades endémicas de las vacas lecheras, en particular la cojera y mastitis, y sus impactos en la producción y el medio ambiente. En la actualidad es profesor de sanidad ganadera y producción y es el Jefe de la División de Cirugía Veterinaria en Nottingham.

Jon Huxley grew up in a family dairy farm in North Wales and graduated in the Royal Veterinary College of London in 1995. After four years working as a clinician with farm animals, he went to the University of Bristol as a professor until 2006, when he completed his doctorate in bovine mastitis. From there he went to the new Faculty of Veterinary Medicine of Nottingham as a member of its management. He was awarded in 2005 with the Diploma and Certificate in Cattle Health and Production by the RCVS (Royal College of Veterinary Surgeons). In 2006, he became a representative of the European College of Bovine Health Management and of the RCVS Specialists in Cattle Health and Production. His interests focus on endemic diseases of dairy cows, in particular lameness and mastitis, and their impact on production and environment. He is currently Professor of Cattle Health and Production and is the Head of the Veterinary Surgery Division of Nottingham.



Dr. VICTOR CABRERA

UNIVERSIDAD MADISON DE WISCONSIN

El Doctor Victor Cabrera tiene una extensa formación académica en agronomía y ganadería; Ingeniero en Producción Agrícola por la Universidad de La Molina, Lima, Perú en 1993 continuó su formación en los Estados Unidos obteniendo el doctorado en la Universidad de Florida en el año 2004 y realizando el post-doctorado en la Universidad de Miami entre 2004 y 2006. Desde 2006 a 2013 ha trabajado como profesor asistente y asesor especialista en ganado lechero, primero en la Universidad de Nuevo Mexico (2006 / 2008) y a continuación en la Universidad de Madison-Wisconsin (2008-2013), dedicando el 70 % del tiempo al servicio de asesoramiento a los ganaderos lecheros y el 30 % restante a la investigación. Desde el año 2013 hasta ahora es profesor asociado y consultor especialista en ganado lechero en el departamento de Dairy Science de la Universidad de Madison-Wisconsin. Ha publicado más de numerosos capítulos de libro y más de 30 artículos científicos en prestigiosas revistas.

Doctor Victor Cabrera has an extensive academic formation in agronomy and animal husbandry; Engineer in Agricultural Production by the University of La Molina, Lima, Peru, in 1993, he continued his studies in the United States, receiving his doctorate in the University of Florida in 2004 and conducting a post-doctorate in the University of Miami between 2004 and 2006. From 2006 to 2013, he has worked as an assistant professor and dairy specialist consultant, first at the University of New Mexico (2006/2008) and afterwards at the University of Wisconsin-Madison (2008-2013), dedicating 70% of time to advisory service to dairy farmers and the remaining 30% to research. From 2013 until now, he is Associated Professor and Dairy Specialist Consultant in the Department of Dairy Science at the University of Wisconsin-Madison. He has published numerous book chapters and more than 30 scientific articles in prestigious magazines.



DR. FRANÇOIS SCHELCHER

ESCUELA NACIONAL VETERINARIA DE TOULOUSE

Profesor de Patología de los Rumiantes de la Escuela Nacional Veterinaria de Toulouse.
Director de Investigación “Interacciones Huésped-Patógenos” del INRA-ENVT.
Doctor en Veterinaria, Máster en Economía Agraria, Máster en Virología, Miembro del Colegio Europeo de Gestión de la Sanidad Bovina.
El Dr. Schelcher dirige un numeroso equipo de investigadores y tiene gran experiencia en patógenos respiratorios: BRSV, *M. haemolytica, Mycoplasma bovis*, así como en Pestivirus (BVDV, BDV), Priones y protozoos parásitos.
En su ponencia, el Dr. Schelcher versará sobre el diagnóstico diferencial y la patogenia de los principales patógenos respiratorios (BRSV, *M haemolytica*, *M. bovis*) desde un punto de vista eminentemente práctico y aplicable a pie de explotación, con un enfoque capaz de orientar en el diagnóstico y las medidas de control que puedan resultar más adecuadas según los patógenos identificados.

Professor of Pathology of Ruminants in the National Veterinary College of Touluse.
Director of the Research Group “Host-Pathogen Interactions” of INRA-ENVT.
Doctor in Veterinary Medicine, Master’s degree in Agricultural Economy, Master’s degree in Virology, Member of the European College of Bovine Health Management.
Dr. Schelcher leads a large team of researchers and has extensive experience in respiratory pathogens: BRSV, M. haemolytica, Mycoplasma bovis, as well as in Pestivirus (BVDV, BDV), Prions and protozoan parasites.
In his lecture, Dr. Schelcher will deal with the differential diagnosis and the pathogeny of the main respiratory pathogens (BRSV, M haemolytica, M. bovis) from an eminently practical and applicable “foot on farm” point of view, with an approach capable of guiding the diagnosis and the control measures that may be more appropriate according to the identified pathogens.

XIX

CONGRESO INTERNACIONAL ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

Oviedo 25, 27 y 27 de junio 2014

LIBRO DE PONENCIAS, COMUNICACIONES ORALES Y POSTER

PONENCIAS

ANEMBE
ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA

MEDICINA Y CIRUGÍA

PROCEDIMIENTOS QUIRÚRGICOS DEL TÓRAX

David E. Anderson, DVM, MS, DACVS
Professor and Head, Large Animal Clinical Sciences
College of Veterinary Medicine
University of Tennessee
Knoxville, Tennessee, USA

Las enfermedades torácicas son comunes en el ganado y son una causa importante de pérdidas económicas en las industrias de recriador de terneros y de engorde. En la mayoría de los casos, las restricciones económicas limitan la investigación del diagnóstico y las opciones de tratamiento efectivo. Aunque el tratamiento médico es, de lejos, la intervención terapéutica más apropiada en estos casos, el tratamiento quirúrgico de algunas enfermedades respiratorias puede permitir una vuelta rentable a la productividad. Los procedimientos quirúrgicos del tórax normalmente implican la toracotomía o la pericardiotomía. La reconstrucción de la tráquea y la invasión del mediastino se indican raramente en el ganado.

Anatomía

Las descripciones anatómicas extensas de la cabeza, el cuello y el tórax están más allá del alcance de este artículo; no obstante, los rumiantes tienen características anatómicas que los veterinarios de animales grandes deberían considerar a la hora de evaluar a un animal con lesiones que afecten al sistema respiratorio. La tráquea tiene un bronquio traqueal derecho que lleva al lóbulo pulmonar craneal derecho. Este bronquio puede ser el lugar a elegir para la recogida de muestras de cultivos o de citología en el ganado afectado por bronconeumonía craneoventral. Además, esta característica anatómica provoca que las enfermedades pulmonares se den con mayor frecuencia en el hemitórax derecho.

Examen Físico

El examen físico del sistema respiratorio del ganado puede ser difícil, dependiendo de la naturaleza del animal.[1-4] El ganado adiestrado con ronzal es, sin duda, más fácil de examinar que el ganado acostumbrado al campo abierto. Un examen físico completo es fundamental para el tratamiento exhaustivo del ganado afectado por la enfermedad respiratoria. La determinación de la localización y la gravedad de la enfermedad es de suma importancia para el cirujano, y ayudará a reducir la lista de diagnósticos diferenciales. El carácter, la frecuencia y la profundidad de las respiraciones deberían anotarse. También deben auscultarse por separado el tórax, la tráquea, la laringe y los senos paranasales para identificar el punto con la máxima intensidad de sonidos anormales. Las fosas nasales deben palparse para determinar la simetría del movimiento del aire y la profundidad de la respiración en proporción con el tamaño del animal. Un espéculo especial para la boca ha sido diseñado para el examen de la orofaringe caudal y la laringe del ganado.[5] Este espéculo abre la boca y presiona la lengua simultáneamente. La auscultación torácica debe realizarse para todos los campos pulmonares en ambos lados del tórax. Además, la percusión acústica torácica puede contribuir significativamente a la base de datos de información, especialmente cuando la ecografía y las radiografías torácicas no están disponibles.[6] Los análisis hematológicos y de la bioquímica en suero pueden indicarse para caracterizar la naturaleza o la gravedad de una enfermedad dada. Estas pruebas se eligen después de determinar las restricciones económicas y cuando se cree que la interpretación puede ser beneficiosa para guiar el tratamiento o el pronóstico.

Examen Radiográfico

El examen radiográfico está indicado cuando el examen físico ha aislado la enfermedad en un área específica pero no puede determinar suficientemente la naturaleza o la gravedad de la enfermedad. Las radiografías son útiles para la evaluación de la tráquea y el tórax porque la densidad del aire de alrededor permite la detección de patologías del tejido blando. Además, las lesiones pueden ser localizadas en un segmento específico del sistema respiratorio, como un absceso pulmonar o pericarditis.

Examen Endoscópico

Siempre que sea posible, la inmovilización química no debe utilizarse para facilitar el examen endoscópico porque puede producir alteraciones significativas de la anatomía endoscópica.[7,8] Un endoscopio de 1 m de largo es suficiente para ver los pasajes nasales, la faringe, la laringe la tráquea proximal y el esófago de la mayoría del ganado adulto. El bronquio traqueal puede verse en la mayoría de animales de menos de 700 kg, pero un endoscopio de 3 m puede ser necesario para examinar los bronquios principales y toda la longitud del esófago. La anatomía de la vía aérea superior del ganado difiere de la de los caballos. Por tanto, el examinador debe estar familiarizado con la anatomía bovina. La pigmentación de la faringe y la laringe no es rara en el ganado y las áreas pigmentadas no deben malinterpretarse como tejidos patológicos.[7]

Examen Ecográfico

El examen ecográfico del cuello ventral y el mediastino se ha descrito para el ganado.[9,10] Estos exámenes pueden ser útiles para determinar la asociación de los abscesos con las estructuras vitales, buscar cuerpos extraños y determinar la extensión de las lesiones antes de la cirugía. La interpretación de las imágenes ecográficas es directamente proporcional al conocimiento sobre la anatomía bovina y el nivel de experiencia del examinador. En un estudio, la ecografía torácica fue más sensible que las radiografías para la detección de pequeños derrames pleurales y consolidación pulmonar.[11]

Colapso Traqueal

El colapso traqueal se ve normalmente en los terneros jóvenes

que muestran distrés inspiratorio. Los terneros generalmente respiran con la boca abierta y la cabeza y el cuello extendidos.[12,13] El oxígeno nasal a menudo mejora la presión de oxígenos arterial y debe usarse siempre que sea posible para estabilizar al animal. La fase inspiratoria es prolongada y a menudo está presente una tos "a bocinazos", especialmente cuando hay colapso intratorácico. En algunos animales puede haber otras evidencias de traumatismos, como costillas fracturadas.[12,14] No hay respuesta a los antibióticos, los esteroides o la traqueotomía.[13] Un historial de disnea inspiratoria con empeoramiento progresivo en un ternero nacido después de una extracción forzada es un buen indicio para sospechar de un colapso traqueal.[15] Para confirmar el diagnóstico, se debe obtener una radiografía lateral de la tráquea cervical posterior y torácica. Las radiografías también definirán qué segmento está afectado. Se ha propuesto un número de tratamientos en el ganado, así como en otras especies, como la resección y la anastomosis, la resección de los anillos traqueales, la prótesis externa y el fruncido de la membrana dorsal.[12,14] Los casos leves de colapso traqueal pueden responder suficientemente al confinamiento en el establo hasta el matadero. Los autores actualmente recomiendan prótesis externas, pero un pronóstico favorable para esta cirugía probablemente se dé en no más del 30% de los casos.[15] En la preparación de la cirugía, debe construirse un anillo traqueal protésico. Una jeringa de 35 o 60 ml funcionará bien en terneros jóvenes.[12] Se cortan segmentos de jeringa iguales a la longitud de entre dos y cuatro anillos traqueales y se retira un segmento pequeño del anillo para permitir que el cirujano pueda pasar el anillo alrededor de la tráquea. Se perforan agujeros a través de los anillos protésicos alrededor de la circunferencia que sirven como puntos de sutura de la prótesis y los segmentos colapsados. Con el animal bajo anestesia por inhalación, se posiciona en decúbito dorsal, con las extremidades delanteras estiradas hacia atrás. Se realiza una incisión en la piel en la línea media desde el área cervical media hasta el manubrio. Los músculos cervicales de dividen por disección roma y la tráquea es expuesta. Hay que señalar que antes de diseccionar el tejido conectivo que rodea la tráquea, el tronco vagosimpático debe ser identificado y suavemente retractado. Pueden ser necesarios uno o más anillos protésicos para corregir el colapso. Se selecciona un anillo, se coloca alrededor de la tráquea y se preatan las suturas alrededor del anillo. Cuando se hayan hecho 3 o 4 suturas a través del anillo, el anillo se opone a la tráquea y se asegura con la sutura. Cuando todos los nudos se hayan estirado con seguridad alrededor de la prótesis, la tráquea debe expandirse hasta el diámetro de la prótesis. Entonces, los tejidos se oponen sobre la tráquea.

Las complicaciones postoperatorias a corto y largo plazo son comunes. Se puede observar disnea después de la cirugía si colapsan segmentos traqueales adicionales. Debido a que la prótesis se realiza en terneros jóvenes, a medida que el ternero crece, el diámetro luminal de la tráquea del segmento afectado se ve limitado por el tamaño de la prótesis.[15] Por tanto, la estenosis traqueal progresiva y la disnea inspiratoria pueden volver. Por otra parte, cuando la reparación quirúrgica fue exitosa a largo plazo, el ganado afectado fue más pequeño en comparación con sus compañeros de rebaño de la misma edad. Por tanto, la corrección quirúrgica del colapso traqueal se realiza raramente debido al pronóstico entre moderado y malo para estos terneros.

Estenosis Traqueal

La laceración o traumatismo traqueal puede causar estenosis focal por fibroplasia y contractura de la herida. Normalmente, la estenosis traqueal no causa signos clínicos de problemas respiratorios y los bovinos afectados son miembros productivos del rebaño. La estenosis traqueal grave puede causar un aumento del ritmo respiratorio, una prolongación del tiempo de inspiración (aumento de la ratio del tiempo inspiratorio:espiratorio [ratio I:E]) y respiración con la boca abierta. El ganado afectado tiene un apatito reducido, pérdida de peso y no es productivo. Las opciones de corrección quirúrgica incluyen escisión del tejido de granulación, la aplicación de una prótesis traqueal y la resección y anastomosis de la tráquea. La escisión del tejido de granulación se puede realizar transendoscópicamente o por traqueotomía cuando la parte cervical de la tráquea está implicada. La resección traqueal parcial y la anastomosis extremo-a-extremo se pueden realizar para la parte cervical de la tráquea. La longitud de la tráquea retirada debe minimizarse estrictamente. Como regla general, se puede escindir un máximo de 3-5 anillos traqueales para la reconstrucción satisfactoria de la tráquea. Se deben utilizar patrones de sutura discontinua y sutura de monofilamento (# 1 PDS, # 1 Nylon, etc.). El material de sutura no debe entrar en el lumen de la tráquea. Una novilla de año y medio de edad sufrió una estenosis traqueal grave tras el ataque de un leopardo.[16] La novilla desarrolló la respiración con la boca abierta, que había estado presente durante 30 días antes de la cirugía. Se escindieron los anillos traqueales 4º, 5º y 6º y se realizó una anastomosis extremo-a-extremo. Se utilizó nylon monofilamento en un patrón de colchón discontinuo. Las radiografías del día 30 después de la cirugía mostraron estenosis traqueal parcial en el lugar de la anastomosis, pero la novilla estaba clínicamente normal. La novilla fue capaz de hacer ejercicio sin hacerse disneica.

Pulmones

Absceso Pulmonar

Los abscesos pulmonares normalmente están causados por neumonía crónica, septicemia, o son secundarios a un traumatismo o una infestación parasitaria. A menudo, estos abscesos son múltiples y se extienden por todo el parénquima pulmonar. Por tanto, el tratamiento quirúrgico no es práctico; no obstante, el absceso pulmonar secundario a una penetración de cuerpos extraños en el pulmón (incluyendo reticulopleuritis/neumonitis traumática) puede ser susceptible de cirugía. El tratamiento quirúrgico de los abscesos pulmonares puede incluir lobectomía pulmonar parcial o marsupialización de un absceso grande. He marsupializado un gran absceso dentro del lóbulo pulmonar caudal derecho de una novilla Simmental de 2 años de edad. El absceso fue causado por un alambre que penetró a través del retículo en la parte caudal del pulmón. El absceso se identificó por ecografía y se evaluó por toracoscopia. Se resecaron seis centímetros de la séptima costilla suprayacente y la cápsula del absceso se masupializó a la pared torácica y la piel. Estos abscesos pueden contener *A. pyogenes, F. necrophorum, Clostridium* spp, y poblaciones mixtas de bacterias gram-positivas y gram-negativas.

Biopsia Pulmonar

La biopsia pulmonar percutánea se ha utilizado en el ganado para obtener muestras para citología, histopatología, cultivos bacterianos y fúngicos, o para el aislamiento de virus.[17] Desde la experiencia de los autores, esta técnica tiene una utilidad limitada en comparación con el lavado transtraqueal o el lavado broncoalveolar debido al riesgo de neumotórax o pleuritis. La enfermedad pulmonar debe estar difundida regionalmente para asegurar que se obtiene una muestra útil para el diagnóstico. Además, la biopsia pulmonar tiene el riesgo de inducir un neumotórax a tensión, un hemotórax o un piotórax. La biopsia pulmonar se puede hacer a través del 5º, 6º, 7º u 8º espacio intercostal en un punto aproximadamente entre 10 y 15 cm dorsal a la unión costocondral. Los autores recomiendan la guía por ecografía o toracoscopia para

aumentar las oportunidades de conseguir una muestra de diagnóstico. Una vez se ha seleccionado el sitio, se recorta el pelo, se prepara asépticamente y se induce anestesia local con lidocaína HCl al 2%. Hay que tener cuidado para no lacerar el pulmón con la punta de la aguja en caso de un movimiento brusco por parte del animal. El ganado debe permanecer en observación por distrés respiratorio (neumotórax, hemotórax) entre 6 y 12 horas después de la biopsia.

Tratamiento Quirúrgico del Pulmón y el Mediastino

La cirugía de las estructuras pulmonares o mediastinales se indica raramente en el ganado. Los abscesos pulmonares o las anomalías congénitas en terneros se pueden retirar mediante la lobectomía pulmonar. El colapso de la tráquea en terneros, los cuerpos extraños en la tráquea o la obstrucción esofágica intratorácica pueden requerir el abordaje quirúrgico del mediastino. La caja torácica craneal del ganado es bastante rígida; por tanto, la exposición del tórax craneoventral requiere la resección de costillas. La resección de la quinta o sexta costilla y la toracotomía se describen en la cirugía del tórax. La exposición de la parte craneal de la tráquea torácica se realiza mediante la resección de las dos primeras costillas desde un enfoque cervical caudal. Esta cirugía se describe en la cirugía de la tráquea. La exposición de los lóbulos pulmonares caudales y del mediastino se consigue haciendo una incisión vertical de 15 cm de longitud en el espacio pleural a través del 7º, 8º o 9º espacio intercostal. La incisión se empieza aproximadamente 10 cm dorsal a la unión costocondral y se alarga dorsalmente. Los lóbulos pulmonares caudales son accesibles inmediatamente. El mediastino se aborda mediante el desplazamiento craneal de los pulmones y una disección cuidadosa. No es deseable la alteración de los nervios vagos y frénicos, la vena cava caudal, la aorta descendente o el esófago. Es necesaria la ventilación con presión positiva cuando se realiza una toracotomía con el animal en decúbito lateral. La resección de la costilla se puede hacer con el ganado de pie y en el ganado contenido en una mesa inclinada sin ventilación mecánica debido al mediastino intacto; no obstante, los autores recomiendan que el acceso inmediato a la intubación traqueal y la ventilación estén disponibles antes de intentar la toracotomía en pie. Los músculos intercostales y la pleura se cierran juntos con material de sutura absorbible (#1 polidioxinona o caprolactama polimerizada) y el cierre de los tejidos subcutáneos y la piel es rutinario.

Tórax y Diafragma

Heridas Torácicas, Fractura de Costillas

Las heridas torácicas que comprometen la cavidad torácica se encuentran con poca frecuencia en el ganado. Las heridas de perforaciones, como las del ganado alojado, balas, postes de vallas, u otros cuerpos extraños pueden provocar neumotórax a tensión y piotórax. El neumotórax a tensión se produce cuando una herida en la pared torácica o el pulmón permite el movimiento de aire dentro del espacio pleural pero no permite la salida del aire. Por tanto, la presión intratorácica aumenta, causando el colapso del pulmón y disminuyendo el movimiento del diafragma y la pared torácica. El neumotórax a tensión es inmediatamente peligroso para la vida. La colocación de un tubo torácico o tubo de succión en el lado afectado del tórax es seguida por una mejora inmediata en el esfuerzo respiratorio. Las heridas torácicas abiertas (que permiten el movimiento del aire en dos direcciones) no son normalmente inmediatamente peligrosas para la vida debido al mediastino completo del ganado. El ganado puede oxigenar adecuadamente su sangre con sólo un pulmón sano; sin embargo, la productividad se ve notablemente comprometida. Las heridas abiertas se pueden tratar por un cierre quirúrgico (que puede requerir el uso de un colgajo miocutáneo) y el restablecimiento de la presión torácica normal por el uso de un tubo de succión o una válvula unidireccional (Heimlich) unida a un tubo torácico.

La fractura de costillas se da con más frecuencia en los terneros que nacen con distocia. La tracción excesiva durante la extracción manual del ternero puede causar la fractura de las costillas 1, 2, 3, 4 ó 5, ó cualquier combinación de estas. Las fracturas de múltiples costillas pueden causar un patrón respiratorio de tórax batiente o inestable. La caja torácica caudal a la costilla 5 es menos rígida y es menos probable que el trauma cause fracturas durante la distocia. Los accidentes en el remolque pueden dar lugar a la fractura de las costillas, pero las fracturas en el esqueleto apendicular son más frecuentes. Aunque los terneros normalmente evolucionan bien en el periodo postparto inmediato después de la fractura de costillas, estos terneros pueden sucumbir a la neumonía o la septicemia, o pueden desarrollar colapso traqueal progresivo.

Pleuritis y Pericarditis

En el ganado, la causa más común de la pericarditis es la penetración de cuerpos extraños desde el retículo. La pleuritis puede estar causada por neumonía, absceso pulmonar, extensión de un absceso hepático a través del diafragma y penetración de cuerpos extraños reticulares.[18,19] El derrame pleural no séptico está causado la mayoría de las veces por un fallo cardíaco o una neoplasia torácica. La pericarditis séptica tiene un pronóstico de vida entre malo y grave, y la pleuritis séptica tiene un pronóstico de vida entre moderado y malo. En un estudio retrospectivo, se realizó una toracotomía en el ganado con pericarditis (n=7) o pleuritis unilateral (n=7).[18] De siete bovinos con pericarditis, uno sobrevivió hasta el alta del hospital. De siete bovinos con pleuritis unilateral, cinco sobrevivieron hasta el alta del hospital. Un año después del alta, cinco vacas eran productivas y una se había descartado por infertilidad. Aunque la muerte tras la penetración de cuerpos extraños en el pericardio es causada normalmente por la progresiva pericarditis y epicarditis fibrosante constrictiva, también se ha encontrado el taponamiento cardíaco por la perforación de la arteria coronaria.[20] El pronóstico puede ser mejor para el ganado con una buena condición corporal, con un apetito relativamente normal, capaz de deambular y con menos de 5 años de edad.[21]

Hernia Diafragmática

Las hernias diafragmáticas se diagnostican con poca frecuencia en el ganado. Los signos clínicos más comunes son timpanismo recurrente en el rumen (hinchazón), dolor abdominal, diarrea, disnea, anorexia y pérdida de peso.[22-25] Los defectos diafragmáticos se han diagnosticado en terneros jóvenes y en adultos.[26] Aunque se piensa que la reticuloperitonitis traumática y los defectos congénitos son las causas más comunes de la hernia diafragmática en el ganado, deben considerarse los traumatismos (en terneros de distocia y en toros de lidia) y el aumento de la presión abdominal antes del parto y en el parto.[27-30] La severidad de los signos clínicos está relacionada con la gravedad del desplazamiento visceral en el tórax. Recientemente, he tratado a un ternero de 4 meses de edad con hernia peritoneopericardial. El ternero sufrió una disnea progresiva y fue eutanasiado durante la cirugía debido al pronóstico grave. La corrección quirúrgica se ha descrito en el ganado. Un defecto de 10 cm x 8 cm en una novilla de 5 meses de edad fue cerrado utilizando un implante de malla de nylon mediante una incisión paramediana derecha.[25] Un defecto de 12 cm en una novilla de 18 meses de edad fue reparado por resección de la 7ª costilla y toracotomía.[22] Después de cerrar el defecto diafragmático, el neumotórax fue resuelto mediante la succión del aire restante en el tórax.

Pleuroscopia (Toracoscopia)

Las toracoscopias se realizan con poca frecuencia en el ganado; sin embargo, la separación completa del tórax por el mediastino permite el examen con la creación de hemineumotórax. Se realiza el examen del tórax y la recogida de muestras de diagnóstico (aspiración con aguja fina, biopsia), y el gas de dióxido de carbono se retira por succión. He llevado a cabo toracoscopias para la evaluación de abscesos pulmonares y pleuritis en varios bovinos adultos. El uso generalizado de esta tecnología es limitado debido a que es necesario un equipamiento especializado y el tratamiento de lesiones específicas es raro.

Abordaje Quirúrgico del Tórax

La cirugía del tórax en el ganado se realiza con más frecuencia para el tratamiento de la reticulopericarditis traumática o la reticulopleuritis[18]; sin embargo, se han reportado toracotomías para intentos de tratamiento de estenosis de la arteria pulmonar en una novilla Holstein de 10 meses de edad.[31] La toracotomía también se ha utilizado para el tratamiento de piotórax.[18,32] El abordaje quirúrgico elegido es la resección parcial de la quinta o sexta costilla para crear una ventana en el tórax craneoventral. Esta operación se puede hacer en pie con anestesia local, inmovilizada en una mesa inclinada con anestesia local o con la vaca bajo anestesia general. Los autores prefieren llevar a cabo esta cirugía con el animal sobre una mesa inclinada. La reticulopericarditis causa una pericarditis restrictiva progresiva que da lugar a un llenado ventricular limitado y un gasto cardíaco reducido. Por tanto, los efectos secundarios cardiovasculares de la anestesia general pueden producir la muerte. En un informe sobre ganado con toracotomía, sobrevivieron al procedimiento menos bovinos en los que la cirugía se había hecho bajo anestesia general (sobrevivió bovino 1 de 5; 3 muertes fueron atribuidas a complicaciones por la anestesia) en comparación con el ganado al que se le había hecho la operación sobre una mesa inclinada (sobrevivieron 9 bovinos de 9).[18] El animal se coloca sobre su lado derecho en una mesa inclinada a no más de un ángulo de 45 grados.[33] Como alternativa, se puede realizar una toracotomía derecha.[18] Se tira de la extremidad delantera izquierda (o derecha) hacia delante todo lo posible y se reseca la quinta costilla. Se recorta un área desde el esternón hasta la región media del tórax y se prepara para la cirugía aséptica. La quinta o sexta costilla se identifica contando hacia delante desde la última costilla, y se infunde lidocaína al 2% en un a todo lo largo de la costilla. Se infunde lidocaína adicional en los espacios intercostales craneales y caudales, proximales y distales al lugar propuesto para la cirugía. Se hace una incisión lineal a lo largo de la quinta costilla extendiéndose desde la unión costocondral (a la altura del codo) dorsalmente durante aproximadamente 15 cm. Se realiza una incisión en el periostio de la costilla y se separa el periostio en toda la circunferencia de la costilla. Se pasa alambre obstétrico alrededor de la costilla en las partes proximal y distal de la incisión. Esta parte de costilla se secciona y se retira. Entonces, se hace una incisión en el periostio medial y la pleura parietal para explorar el tórax craneoventral. A menudo, cuando hay pericarditis, el pericardio se adhiere a la pleura. Si el pericardio no está adherido a la pleura, el saco pericárdico debe aislarse de la cavidad pleural antes de ser abierto. Un autor recomienda la descompresión del saco pericárdico antes de la pericardiotomía para evitar la descompresión repentina del pericardio y el arresto cardíaco.[21] El saco pericárdico se introduce y se drena. Si el alambre o el cuerpo extraño se puede encontrar, se retira. A menudo, el cuerpo extraño ha vuelto al retículo después de penetrar en el tórax. Desde la experiencia de los autores, la laparotomía y la rumenotomía causan un estrés excesivo en el ganado afectado y pueden contribuir al fallecimiento del animal. Los autores prefieren colocar un imán en el retículo hasta que se haya determinado la supervivencia del paciente. Como alternativa, se ha desarrollado un instrumento para retirar los cuerpos extraños metálicos y es útil para retirar aquellos cuerpos extraños que no pueden ser atraídos por un imán.[34] El pericardio se marsupializa a la pared torácica y la piel utilizando suturas discontinuas (#3 braunamida, #2 PDS, etc.) y el saco pericárdico se lava con salina isotónica. Las suturas de asa de cinturón se colocan en la piel a lo largo de los márgenes craneal y caudal de la incisión, se coloca un vendaje stent sobre la herida y se enhebra cinta umbilical a través de las suturas de asa de cinturón en un patrón de lazo de bota para asegurar el vendaje en su lugar. El cuidado diario de las heridas implica el lavado del saco pericárdico hasta que se cierra la herida. Alternativamente, el pericardio y la pleura se pueden cerrar en una capa, entonces los músculos intercostales y la piel se cierran individualmente. Se puede colocar un drenaje permanente en el saco pericárdico antes de cerrar.

Un abordaje similar se hace para la pleuritis séptica o los abscesos pulmonares sin entrada en el saco pericárdico, pero se reseca la sexta o séptima costilla. Después de que se haya realizado el desbridamiento y el lavado a fondo del hemitórax, un tubo de drenaje se puede colocar en el hemitórax a través de una incisión adyacente y la herida de la toracotomía se cierra primordialmente. La pleura, el periostio y los músculos intercostales se cierran en una capa (patrón continuo o discontinuo, #1 PDS), los músculos superpuestos a la pared torácica (*latissimus dorsi, serratus ventralis thoracis*, pectoral superficial, oblicuo abdominal externo) se cierran en una capa (patrón continuo o discontinuo, #1 PDS), y la piel se cierra de manera rutinaria. El aire que queda en el tórax se extrae por el tubo de drenaje y una válvula Heimlich colocada sobre el extremo abierto del tubo. El uso de la válvula Heimlich (válvula unidireccional) permite el drenaje continuado sin comprometer la presión torácica. Una manera conveniente de construir una válvula unidireccional es unir un drenaje Penrose de 15cm de longitud y 1,25 cm de diámetro al extremo del tubo torácico. Cuando la superficie interior del drenaje esté mojada, los lados del drenaje Penrose se colapsarán en sí mismos y proporcionarán un sellado suficiente para el tubo.

La cirugía del tórax es un reto bajo condiciones de campo. Se debe hacer un análisis exhaustivo de riesgos-beneficios para determinar si el resultado justifica el coste del tratamiento y estos deben tomarse en contexto con el pronóstico.

Referencias

1. Callan RI, McGuirk SM, Step DL: Assessment of the cardiovascular and lymphatic systems. Vet Clin North Am Food Anim Pract 8:257-270,1992 18. Carbonell PL: Bovine nasal granuloma: A review. Aust Vet J 52:158, 1976

2. Pringle JK: Assessment of the ruminant respiratory system. Vet Clin North Am Food Anim Pract 8:233-242, 1992

3. Pringle JK: Ancillary testing for the ruminant respiratory system. Vet Clin North Am Food Anim Pract 8:243-256, 1992

4. Step DL, McGuirk SM, Callan RJ: Ancillary tests of the cardiovascular and lymphatic systems. Vet Clin North Am Food Anim Pract 8:271-284,1992

5. Stober VM, Baackman W: Testing of a new instrument for the inspection of the
oropharyngeal cavity and the entrance of the larynx in cattle. Deutsche Tierarztliche Wochenschrift 85:189-272, 1978

6. Tyler JW, Angel KL, Moll HD, et al: Something old, something new: Thoracic acoustic percussion in cattle. J Am Vet Med Assoc 197:52-57, 1990.

7. Anderson DE, DeBowes RM, Gaughan EM, et al: Endoscopic evaluation of the nasopharynx, pharynx, and larynx of Jersey cows.

Am J Vet Res 55:901-904, 1994.

8. Anderson DE, Gaughan EM, DeBowes RM, et al: Effects of chemical restraint on the endoscopic appearance of laryngeal and pharyngeal anatomy and sensation in adult cattle. Am J Vet Res 55:1196-1200, 1994.

9. Braun U, Fohn I, Pusterla N: Ultrasonographic examination of the ventral neck region in cows. Am J Vet Res 55:14-21, 1994

10. Braun U, Sicher D, Pusterla N: Ultrasonography of the lungs, pleura, and mediastinum in healthy cows. Am J Vet Res 57:432, 1996

11. Reef VB, Boy MG, Reid CF, et al: Comparison between diagnostic ultrasonography and radiography in the evaluation of horses and cattle with thoracic disease: 56 cases (1984-1985). J Am Vet Med Assoc 198:2112-2118, 1991

12. Fingland RB, Rings DM, Vestweber JC: The etiology and surgical treatment of tracheal collapse in calves. Vet Surg 19:371-379, 1990

13. Vestweber JG, Leipold HW: Tracheal collapse in three calves. J Am Vet Assoc 184:735-736, 1984.

14. Korney FD: Tracheal prosthesis in a calf. J Am Vet Med Assoc 167:463-464, 1975

15. Rings DM: Tracheal collapse. Vet Clin North Am Food Anim Pract 11:171-176, 1995

16. Ramakrishna 0, Rao NY, Bose AS: Tracheal anastomosis in a heifer. J Am Vet Med Assoc 177:547-548, 1980

17. Braun U, Estermann U, Feige K, Sydler T, Pospischil A. Percutaneous lung biopsy in cattle. J Am Vet Med Assoc 1999;215:679-681.

18. Ducharme NG, Fubini SL, Renhun We, et al: Thoracotomy in adult dairy cattle: 14 cases (1979-1991). J Am Vet Med Assoc 200:86, 1992

19. McLennan MW, McGowan MR: Pyothorax in a Friesian Bull. Aust Vet J 72:115-116, 1995

20. Awadhiya RP, Kolte GN, Vegad JL: Cardiac tampanade: A fatal complication of traumatic reticulitis in cattle. Vet Rec 95:260-262, 1974

21. Noordsy JL: Pericardiotomy: Surgically correcting traumatic pericarditis in cattle. *In* Noordsy JL (ed): Food Animal Surgery. Lenexa, Veterinary Medicine Publishing Company, 1989, p 77

22. DeMoor A, Verschooten F, Desmet P: Thoracic repair of a diaphragmatic hernia in a heifer. Vet Rec 85:87, 1969

23. Done SH, Drew RA: Aperture in the diaphragm with protrusion of abnormal liver tissue: A report of three cases in the ox. Br Vet J 128:553, 1972

24. Hesselink JW: Rupture in the diaphragm of a cow. Tijdschr Diergeneeskd 114:1109, 1989

25. Troutt HF, Fessler JF, Page EH, et al: Diaphragmatic defects in cattle. J Am Vet Med Assoc 151:1421, 1967

26. Noordsy JL: Surgically correcting ventral, umbilical, and inguinal hernias in food animals. *In* Noordsy JL (ed): Food Animal Surgery. Lenexa, Veterinary Medicine Publishing Company, 1989, p 83

27. Deore PA, Jahagirdar SS: Incidence of diaphragmatic hernia in cattle and buffaloes:Case record of 16 cases. Indian Vet J 48:1172-1176, 1971

28. Dhablania De, Tyagia RPS, Nigam JM: A study on diaphragmatic hernia in bovines.Indian Vet J 48:91-98, 1971

29. Homey FD, Cote J: Congenital diaphragmatic hernia in a calf. Can Vet J 2:422-424, 1961

30. Hutchins DR, Blood DC, Hyne R: Residual defects in stomach motility after traumatic
reticuloperitonitis of cattle: Pyloric obstruction, diaphragmatic hernia, and indigestion due to reticular adhesions. Aust Vet J 33:77-82, 1957

31. Shiroya K, Saitoh Y, Muto M, et al: Crossed fat embolism in a cow with tetrology of fallot. J Vet Med Sci 56:969-971, 1994

32. St-Jean G, Smeak DD, Hubbell JAE, et al: Resolution of pyothorax in a white tailed deer by thoracotomy, tube drainage and lavage. Can Vet J 31:110-112, 1990

33. Rings DM: Surgical treatment of pleuritis and pericarditis. Vet Clin North Am Food Anim Pract 11:177, 1995

34. Hekmati P, Bakshodeh GA, Poulsen JSD: Traumatic reticulitis, the Comet naso
reticular instrument for withdrawal of foreign bodies from the reticulum of cattle. Nord Vet-Med 37:338-348, 1985

ENGLISH VERSION ▼

SURGICAL PROCEDURES OF THE THORAX

David E. Anderson, DVM, MS, DACVS
Professor and Head, Large Animal Clinical Sciences
College of Veterinary Medicine
University of Tennessee
Knoxville, Tennessee, USA

Thoracic disease is common in cattle and is a significant cause for economic losses in the stocker and feedlot industries. In most cases, economic constraints limit diagnostic investigation and effect treatment options. Although medical management is, by far, the most appropriate therapeutic intervention in such cases, surgical management of some respiratory disease can allow for profitable return to productivity. Surgical procedures of the thorax most often involve thoracotomy or pericardiotomy. Tracheal reconstruction and invasion of the mediastinum are rarely indicated in cattle.

Anatomy

Extensive anatomic descriptions of the head, neck, and thorax are beyond the scope of this article; however, ruminants have anatomic features that large animal veterinarians should consider when evaluating an animal with lesions affecting the respiratory system. The trachea has a right tracheal bronchus leading to the right cranial lung lobe. This bronchus may be the site of choice for collection of culture and cytology samples in cattle affected by cranioventral bronchopneumonia. Also, this anatomic feature causes pulmonary diseases to occur more frequently on the right hemi-thorax.

Physical Examination

Physical examination of the respiratory system of cattle may be difficult, depending on the nature of the animal.[1-4] Halter-trained cattle are certainly easier to examine than cattle accustomed to the open range. A complete physical examination is critical to thorough work-up of cattle affected with respiratory disease. Determination of the location and severity of the disease is of

utmost importance to the surgeon, and will help to narrow the list of differential diagnoses. The character, frequency, and depth of respirations should be noted. Also, the thorax, trachea, larynx, and paranasal sinuses should be ausculted separately to identify the point of maximal intensity of abnormal sounds. The nares should be felt to determine symmetry of air movement and depth of respiration in proportion to the size of the animal. A specialized mouth speculum has been designed for examination of the caudal oropharynx and larynx of cattle.[5] This speculum simultaneously opens the mouth and depresses the tongue. Thoracic auscultation should be performed for all lung fields on both sides of the thorax. Also, thoracic acoustic percussion can contribute significantly to the information database, particularly when thoracic radiographs and ultrasonography are not available.[6] Hematology and serum biochemistry analysis may be indicated to characterize the nature or severity of a given disease. These tests are chosen after determining economic constraints and when interpretation is believed to be beneficial for guiding therapy or prognosis.

Radiographic Examination

Radiographic examination is indicated when physical examination has isolated the disease to a specific area but cannot sufficiently determine the nature or severity of the disease. Radiographs are useful for evaluation of the trachea and thorax because the surrounding air density allows detection of soft-tissue pathology. Also, lesions may be localized to a specific segment of the respiratory system such as a pulmonary abscess or pericarditis.

Endoscopic Examination

When possible, chemical restraint should not be used to facilitate endoscopic examination because significant alteration of the endoscopic anatomy may occur.[7,8] A 1-m long endoscope is sufficient to view the nasal passages, pharynx, larynx, proximal trachea, and esophagus of most adult cattle. The tracheal bronchus can be viewed in most animals less than 700 kg, but a 3-m endoscope may be necessary for examination of the mainstem bronchi and the full length of the esophagus. The upper airway anatomy of cattle differs from that of horses. Therefore, the examiner should be familiar with bovine anatomy. Pigmentation of the pharynx and larynx is not uncommon in cattle, and pigmented areas should not be misinterpreted as pathologic tissues.[7]

Ultrasonographic Examination

Ultrasonographic examination of the ventral neck and mediastinum has been described for cattle.[9,10] These examinations may be useful to determine the association of abscesses with vital structures, search for foreign bodies, and determine the extent of lesions prior to surgery. Interpretation of ultrasonographic images is directly proportional to the examiner's knowledge of bovine anatomy and experience level. In one study, thoracic ultrasonography was more sensitive than radiographs for detection of small pleural effusion and pulmonary consolidation.[11]

Tracheal Collapse

Tracheal collapse is usually seen in young calves exhibiting inspiratory distress. The calves often breathe with the mouth open and head and neck extended.[12,13] Nasal oxygen often improves arterial oxygen pressure and should be used if possible to stabilize the animal. The inspiratory phase is prolonged and a "honking" cough is often present, especially with intrathoracic collapse. In some animals there may be other evidence of trauma, such as fractured ribs.[12,14] There is no response to antibiotics, steroids, or tracheostomy.[13] A history of a progressively worsening inspiratory dyspnea in a calf delivered by forced extraction is good presumptive evidence for tracheal collapse.[15] To confirm the diagnosis a lateral radiograph of the posterior cervical and thoracic trachea should be obtained. Radiographs will also define which segment is affected. A number of treatments have been proposed in cattle as well as other species, including resection and anastomosis, resection of tracheal rings, external prosthesis, and plication of the dorsal membrane.[12-14] Mild cases of tracheal collapse may respond to stall confinement sufficiently until slaughter. The authors currently recommend external prosthesis, but a favorable prognosis for this surgery probably exists in no more than 30% of cases.[15] In preparation for surgery, prosthetic tracheal ring should be constructed. A 35- or 60-mL syringe will work well for young calves.[12] Segments of syringe equal to the length of two to four tracheal rings are cut and a small segment of the ring is removed to enable the surgeon to pass the ring around the trachea. Holes are drilled through the prosthetic rings around the circumference to serve as suture points to the prosthesis and the collapsed segments. With the animal under inhalation anesthesia it is positioned in dorsal recumbency, with the front limbs pulled posterior. A midline skin incision is made from the midcervical area to the manubrium. The cervical muscles are divided by blunt dissection and the trachea exposed. One should note that before the connective tissue surrounding the trachea is dissected, the vagosympathetic trunk should be identified and gently retracted. One or more prosthetic rings may be needed to correct the collapse. A ring is selected, fitted around the trachea, and sutures are prep laced around the ring. When the 3 or 4 sutures have been threaded through the ring, the ring is opposed to the trachea and secured via the suture. When all the knots have been pulled secure around the prosthesis, the trachea should be expanded to the diameter of the prosthesis. The tissues are then opposed over the trachea.

Short- and long-term postoperative complications are common. Dyspnea may be observed after surgery if additional tracheal segments collapse. Because the prosthesis is done on young calves, as the calf grows the tracheal luminal diameter of the affected segment is limited by the size of the prosthesis.[15] Therefore, progressive tracheal stenosis and inspiratory dyspnea may return. Also, when surgical repair was successful long term, affected cattle were smaller compared with agematched herd mates. Thus, surgical correction of tracheal collapse is rarely performed because of the guarded to poor long-term outcome for these calves.

Tracheal Stenosis

Tracheal laceration or trauma may cause focal stenosis by fibroplasia and wound contracture. Usually, tracheal stenosis does not cause clinical signs of respiratory problems, and affected cattle are productive members of the herd. Severe tracheal stenosis may cause increased respiratory rate, prolong inspiratory time (increased inoperatory:expiratory time ratio [I:E] ratio), and open-mouth breathing. Affected cattle have decreased appetite, lose weight, and are not productive. Options for surgical correction include excision of granulation tissue, application of a tracheal prosthesis, and tracheal resection and anastomosis. Excision of granulation tissue may be performed transendoscopically or by tracheotomy when the cervical portion of the trachea is involved. Partial tracheal resection and end-to-end anastomosis can be performed for the cervical portion of the trachea. The length of the trachea removed should be strictly minimized. As a rule of thumb, a maximum of three to five tracheal rings may be excised for successful reconstruction of the trachea. Interrupted suture patterns and monofilament suture (# 1 PDS, # 1 Nylon, etc.) should be

used. Suture material should not enter the lumen of the trachea. A 1.5-year-old heifer suffered severe tracheal stenosis following an attack by a leopard.[16] The heifer developed open-mouth breathing, which had been present for 30 days prior to surgery. The 4th, 5th, and 6th tracheal rings were excised and end-to-end anastomosis performed. Monofilament nylon was used in an interrupted mattress pattern. Radiographs on day 30 after surgery revealed partial tracheal stenosis at the site of the anastomosis, but the heifer was clinically normal. The heifer was able to exercise without becoming dyspneic.

Lungs

Pulmonary Abscess

Lung abscesses are usually caused by chronic pneumonia, septicemia, or secondary to trauma or parasite infestation. Often, these abscesses are multiple and spread throughout the lung parenchyma. Therefore, surgical treatment is not practical; however, lung abscess secondary to foreign body penetration of the lung (including traumatic reticulopleuritis/pneumonitis) may be amenable to surgery. Surgical treatment of pulmonary abscesses may include partial lung lobectomy or marsupialization of a large abscess. I have marsupialized a large abscess within the right caudal lung lobe of a 2year-old Simmental heifer. The abscess was caused by a wire penetrating through the reticulum and into the caudal aspect of the lung. The abscess was identified using ultrasonography and evaluated by thoroscopy. Six centimeters of the overlying 7th rib were resected, and the capsule of the abscess marsupialized to the thoracic wall and skin. These abscesses may contain *A. pyogenes,* F. *necrophorum, Clostridium* spp, and mixed populations of gram-positive and gram-negative bacteria.

Lung Biopsy

Percutaneous lung biopsy has been used in cattle to obtain specimens for cytology, histopathology, bacterial and fungal culture, or for virus isolation.[17] In the authors' experience, this technique has limited usefulness compared with transtracheal wash or bronchoalveolar lavage because of the risk of pneumothorax or pleuritis. Pulmonary disease must be regionally diffuse to ensure that a diagnostic specimen is obtained. Also, lung biopsy has the risk of inducing tension pneumothorax, hemothorax, or pyothorax. Lung biopsy can be done through the 5th, 6th, 7th, or 8th intercostal space at a point approximately 10 to 15 cm dorsal to the costochondral junction. The authors recommend ultrasound guidance or thoroscopy to increase the chances of obtaining a diagnostic specimen. Once the site has been selected, the hair is clipped, aseptically prepared, and local anesthesia induced with 2% lidocaine HCl. Care should be taken not to lacerate the lung with the tip of the needle in case of sudden movement by the animal. Cattle should be observed for respiratory distress (pneumothorax, hemothorax) for 6 to 12 hours after biopsy.

Surgical Approach to the Lung and Mediastinum

Surgery of the lung or mediastinal structures is rarely indicated in cattle. Lung abscesses or congenital anomalies in calves may be removed by lung lobectomy. Collapsing trachea in calves, tracheal foreign body, or intrathoracic esophageal obstruction may require surgical approach to the mediastinum. The cranial rib cage of cattle has limited compliance; therefore, exposure to the cranioventral thorax requires rib resection. Fifth or sixth rib resection and thoracotomy is described under surgery of the thorax. Exposure of the cranial portion of the thoracic trachea is done by resection of the first two ribs from a caudal cervical approach. This surgery is described under surgery of the trachea. Exposure to the caudal lung lobes and mediastinum is done by making a 15-cm-long vertical incision into the pleural space through the 7th, 8th, or 9th intercostal space. The incision is begun approximately 10 cm dorsal to the costochondral junction and extended dorsally. The caudal lung lobes are immediately accessible. The mediastinum is approached by cranial displacement of the lungs and careful dissection. Disruption of the vagus and phrenic nerves, the caudal vena cava, descending aorta, or esophagus is undesirable. Positive-pressure ventilation is required when performing thoracotomy with the animal in lateral recumbency. Rib resection can be performed in standing cattle and cattle restrained on an inclined table without mechanical ventilation because of the intact mediastinum; however, the authors recommend that immediate access to tracheal intubation and ventilation be available before standing thoracotomy is attempted. The intercostal muscles and pleura are closed together with absorbable suture material (#1 polydioxinone or polymerized caprolactam) and subcutaneous tissues and skin closure is routine.

Thorax and Diaphragm

Thoracic Wounds, Rib Fracture

Thoracic wounds causing compromise of the thoracic cavity are infrequently found in cattle. Puncture wounds, such as from homed cattle, gunshot, fence posts, or other foreign bodies can cause tension pneumothorax and pyothorax. Tension pneumothorax is created when a wound in the thoracic wall or lung allows movement of air into the pleural space but does not allow exiting of the air. Thus, intrathoracic pressure increases cause collapse of the lung and diminished movement of the diaphragm and thoracic wall. Tension pneumothorax is immediately life-threatening. Placement of a chest tube or suction tube into the affected side of the thorax is followed by immediate improvement in respiratory effort. Open thoracic wounds (allowing two-way movement of air) are usually not immediately life-threatening because of the complete mediastinum of cattle. Cattle can adequately oxygenate their blood with one healthy lung; however, productivity is markedly compromised. Open wounds may be treated by surgical closure (which may require use of a myocutaneous flap) and reestablishment of normal thoracic pressure by use of a suction tube or one-way valve (Heimlich) attached to a chest tube.

Rib fracture occurs most commonly in calves born with dystocia. Excessive traction during manual extraction of the calf can cause fracture of ribs I, 2, 3, 4, or 5, or any combination of these. Multiple rib fractures may cause a flail chest breathing pattern. The rib cage caudal to rib 5 is more compliant, and trauma is less likely to cause fracture during dystocia. Trailer accidents may result in rib fracture, but fracture in the appendicular skeleton is more common. Although calves usually do well in the immediate postparturient period after rib fracture, these calves may succumb to pneumonia or septicemia, or may develop progressive tracheal collapse.

Pleuritis and Pericarditis

In cattle, pericarditis is most commonly caused by penetrating foreign bodies originating in the reticulum. Pleuritis may be caused by pneumonia, pulmonary abscess, extension of a liver abscess through the diaphragm, and penetrating reticular foreign bodies.[18,19] Nonseptic pleural effusion is most commonly caused by heart failure or thoracic neoplasia. Septic pericarditis has a poor to grave prognosis for life, and septic pleuritis has a guarded to poor prognosis for life. In one retrospective study, cattle with pericarditis (n = 7) or unilateral pleuritis (n = 7) had thoracotomy performed.[18] Of seven cattle with pericarditis, one survived to discharge from the hospital. Of seven cattle with unilateral pleu-

ritis, five survived to discharge from the hospital. One year after discharge, five cows were productive and one had been culled because of infertility. Although death after foreign body penetration of the pericardium is usually caused by progressive fibrosing constrictive pericarditis and epicarditis, cardiac tamponade from perforation of the coronary artery also has been found.[20] Prognosis may be better for cattle in good body condition, with relatively normal appetite, able to ambulate, and less than 5 years old.[21]

Diaphragmatic Hernia

Diaphragmatic hernias are infrequently diagnosed in cattle. The most common clinical signs are recurrent rumen tympany (bloat), abdominal pain, diarrhea, dyspnea, anorexia, and weight loss.[22-25] Diaphragmatic defects have been diagnosed in young calves and adults.[26] Although traumatic reticuloperitonitis and congenital defects are thought to be the most common causes of diaphragmatic hernia in cattle, trauma (in calves from dystocia and in bulls from bull fights) and increased preparturient and parturient abdominal pressure should be considered.[27-30] The severity of clinical signs is related to the severity of visceral displacement into the thorax. Recently, I treated a 4 month old calf with peritoneopericardial hernia. The calf suffered progressive dyspnea and was euthanatized during surgery because of the grave prognosis. Surgical correction has been described in cattle. A 10 cm X 8 cm defect in a 5-month-old heifer was closed using a nylon mesh implant via a right paramedian incision.[25] A 12-cm defect in an 18-month-old heifer was repaired via 7th rib resection and thoracotomy.[22] After closure of the diaphragmatic defect, pneumothorax was resolved by suctioning the remaining air from the thorax.

Pleuroscopy (Thoroscopy)

Thoroscopy is infrequently performed in cattle; however, the complete separation of the thorax by the mediastinum allows examination with creation of hemipneumothorax. Examination of the thorax and collection of diagnostic specimens (fine-needle aspirates, biopsy) is performed, and the carbon dioxide gas removed by suction. I have performed thoroscopy for evaluation of pulmonary abscesses and pleuritis in several adult cattle. Widespread use of this technology is limited because specialized equipment is required and treatment of specific lesions is rare.

Surgical Approach to the Thorax

Surgery of the thorax of cattle is most commonly done for treatment of traumatic reticulopericarditis or reticulopleuritis[18]; however, thoracotomy has been reported for attempted treatment of stenosis of the pulmonary artery in a IO-month-old Holstein heifer.[31] Thoracotomy also has been used for treatment of pyothorax.[18,32] The surgical approach of choice is partial resection of the fifth or sixth rib to create a window into the cranioventral thorax. This surgery may be performed standing with local anesthesia, restrained on an inclined table with local anesthesia, or with the cow under general anesthesia. The authors prefer to perform this surgery with the animal on an inclined table. Reticulopericarditis causes a progressive restrictive pericarditis resulting in limited ventricular filling and reduced cardiac output. Therefore, the cardiovascular side effects of general anesthesia may result in death. In one report of cattle having thoracotomy, fewer cattle on which surgery was performed under general anesthesia (1 out of 5 cattle survived; 3 deaths were attributed to anesthetic complications) survived the procedure compared with cattle having surgery performed on an inclined table (9 out of 9 cattle survived).[18] The animal is placed on its right side on a tilt table at no more than a 45 degree angle.[33] Alternatively, a right thoracotomy may be performed.[18] The left (or right) front limb is pulled forward as far as possible and the 5th rib resected. An area extending from the sternum to the middle region of the thorax is clipped and prepared for aseptic surgery. The 5th or 6th rib is identified by counting forward from the last rib, and 2% lidocaine infused in a line block along the rib. Additional lidocaine is infused into the cranial and caudal intercostal spaces proximal and distal to the proposed surgery site. A linear incision is made along the 5th rib extending from the costochondral junction (at the level of the elbow) dorsally for approximately 15 cm. The lateral periosteum of the rib is incised and the periosteum elevated for the circumference of the rib. Obstetrical wire is passed around the rib at the proximal and distal aspects of the incision. This portion of the rib is transected and removed. Then, the medial periosteum and parietal pleura are incised to expose the cranioventral thorax. Often with pericarditis the pericardium is adhered to the pleura. If the pericardium is not adhered to the pleura, the pericardial sac should be isolated from the pleural cavity prior to being opened. One author recommends decompression of the pericardial sac prior to pericardiotomy to avoid sudden decompression of the pericardium and cardiac arrest.[21] The pericardial sac is entered and drained. If the wire or foreign body can be found, it is removed. Often the foreign body has returned to the reticulum after penetrating the thorax. In the authors' experience, laparotomy and rumenotomy causes excessive stress on affected cattle and may contribute to the demise of the animal. The authors prefer to place a magnet into the reticulum until the survival of the patient has been determined. Alternatively, an instrument for removal of metallic foreign bodies has been developed and is useful for removal of those foreign bodies that can be attracted to a magnet.[34] The pericardium is marsupialized to the thoracic wall and skin using interrupted sutures (#3 braunamide, #2 PDS, etc.) and the pericardial sac is lavaged with isotonic saline. Belt loop sutures are placed in the skin along the cranial and caudal margins of the incision, a stent bandage is placed over the wound, and umbilical tape is threaded through the belt loop sutures in a boot lace pattern to secure the bandage in place. Daily wound care involves lavage of the pericardial sac until the wound is closed. Alternatively, the pericardium and pleura may be closed in one layer, then the intercostal muscles and skin are closed individually. An indwelling drain may be placed into the pericardial sac prior to closure.

A similar approach is made for septic pleuritis or pulmonary abscess without entry into the pericardial sac, but the 6th or 7th rib is resected. After debridement and thorough lavage of the hemithorax has been performed, a drainage tube may be placed into the hemithorax through an adjacent stab incision and the thoracotomy wound closed primarily. The pleura, periosteum, and intercostal muscles are closed in one layer (interrupted or continuous pattern, #1 PDS), the muscles overlying the thoracic wall (latissimus dorsi, seratus ventralis thoracis, superficial pectora!, external abdominal oblique) are closed in one layer (interrupted or continuous pattern, #1 PDS), and the skin is closed routinely. The air remaining in the thorax is removed via the drainage tube and a Heimlich valve placed on the open end of the tube. Use of a Heimlich valve (oneway valve) allows continued drainage without compromise of thoracic pressure. A convenient way to construct a one-way valve is to attach a 15-cm-long, 1.25-cm diameter Penrose drain onto the end of the chest tube. When the inner surface of the drain is wet, the sides of the Penrose drain will collapse on itself and provide a sufficient seal for the tube.

Surgery of the thorax is challenging under field conditions. A thorough risk-benefit analysis must be done to determine if the outcome justifies the cost of treatment and these must be taken in context with the prognosis.

References

1. Callan RI, McGuirk SM, Step DL: Assessment of the cardiovascular and lymphatic systems. Vet Clin North Am Food Anim Pract 8:257-270,1992 18. Carbonell PL: Bovine nasal granuloma: A review. Aust Vet J 52:158, 1976
2. Pringle JK: Assessment of the ruminant respiratory system. Vet Clin North Am Food Anim Pract 8:233-242, 1992
3. Pringle JK: Ancillary testing for the ruminant respiratory system. Vet Clin North Am Food Anim Pract 8:243-256, 1992
4. Step DL, McGuirk SM, Callan RJ: Ancillary tests of the cardiovascular and lymphatic systems. Vet Clin North Am Food Anim Pract 8:271-284,1992
5. Stober VM, Baackman W: Testing of a new instrument for the inspection of the oropharyngeal cavity and the entrance of the larynx in cattle. Deutsche Tierarztliche Wochenschrift 85:189-272, 1978
6. Tyler JW, Angel KL, Moll HD, et al: Something old, something new: Thoracic acoustic percussion in cattle. J Am Vet Med Assoc 197:52-57, 1990.
7. Anderson DE, DeBowes RM, Gaughan EM, et al: Endoscopic evaluation of the nasopharynx, pharynx, and larynx of Jersey cows. Am J Vet Res 55:901-904, 1994.
8. Anderson DE, Gaughan EM, DeBowes RM, et al: Effects of chemical restraint on the endoscopic appearance of laryngeal and pharyngeal anatomy and sensation in adult cattle. Am J Vet Res 55:1196-1200, 1994.
9. Braun U, Fohn I, Pusterla N: Ultrasonographic examination of the ventral neck region in cows. Am J Vet Res 55:14-21, 1994
10. Braun U, Sicher D, Pusterla N: Ultrasonography of the lungs, pleura, and mediastinum in healthy cows. Am J Vet Res 57:432, 1996
11. Reef VB, Boy MG, Reid CF, et al: Comparison between diagnostic ultrasonography and radiography in the evaluation of horses and cattle with thoracic disease: 56 cases (1984-1985). J Am Vet Med Assoc 198:2112-2118, 1991
12. Fingland RB, Rings DM, Vestweber JC: The etiology and surgical treatment of tracheal collapse in calves. Vet Surg 19:371-379, 1990
13. Vestweber JG, Leipold HW: Tracheal collapse in three calves. J Am Vet Assoc 184:735-736, 1984.
14. Korney FD: Tracheal prosthesis in a calf. J Am Vet Med Assoc 167:463-464, 1975
15. Rings DM: Tracheal collapse. Vet Clin North Am Food Anim Pract 11:171-176, 1995
16. Ramakrishna 0, Rao NY, Bose AS: Tracheal anastomosis in a heifer. J Am Vet Med Assoc 177:547-548, 1980
17. Braun U, Estermann U, Feige K, Sydler T, Pospischil A. Percutaneous lung biopsy in cattle. J Am Vet Med Assoc 1999;215:679-681.
18. Ducharme NG, Fubini SL, Renhun We, et al: Thoracotomy in adult dairy cattle: 14 cases (1979-1991). J Am Vet Med Assoc 200:86, 1992
19. McLennan MW, McGowan MR: Pyothorax in a Friesian Bull. Aust Vet J 72:115-116, 1995
20. Awadhiya RP, Kolte GN, Vegad JL: Cardiac tampanade: A fatal complication of traumatic reticulitis in cattle. Vet Rec 95:260-262, 1974
21. Noordsy JL: Pericardiotomy: Surgically correcting traumatic pericarditis in cattle. *In* Noordsy JL (ed): Food Animal Surgery. Lenexa, Veterinary Medicine Publishing Company, 1989, p 77
22. DeMoor A, Verschooten F, Desmet P: Thoracic repair of a diaphragmatic hernia in a heifer. Vet Rec 85:87, 1969
23. Done SH, Drew RA: Aperture in the diaphragm with protrusion of abnormal liver tissue: A report of three cases in the ox. Br Vet J 128:553, 1972
24. Hesselink JW: Rupture in the diaphragm of a cow. Tijdschr Diergeneeskd 114:1109, 1989
25. Troutt HF, Fessler JF, Page EH, et al: Diaphragmatic defects in cattle. J Am Vet Med Assoc 151:1421, 1967
26. Noordsy JL: Surgically correcting ventral, umbilical, and inguinal hernias in food animals. *In* Noordsy JL (ed): Food Animal Surgery. Lenexa, Veterinary Medicine Publishing Company, 1989, p 83
27. Deore PA, Jahagirdar SS: Incidence of diaphragmatic hernia in cattle and buffaloes:Case record of 16 cases. Indian Vet J 48:1172-1176, 1971
28. Dhablania De, Tyagia RPS, Nigam JM: A study on diaphragmatic hernia in bovines.Indian Vet J 48:91-98, 1971
29. Homey FD, Cote J: Congenital diaphragmatic hernia in a calf. Can Vet J 2:422-424, 1961
30. Hutchins DR, Blood DC, Hyne R: Residual defects in stomach motility after traumatic reticuloperitonitis of cattle: Pyloric obstruction, diaphragmatic hernia, and indigestion due to reticular adhesions. Aust Vet J 33:77-82, 1957
31. Shiroya K, Saitoh Y, Muto M, et al: Crossed fat embolism in a cow with tetrology of fallot. J Vet Med Sci 56:969-971, 1994
32. St-Jean G, Smeak DD, Hubbell JAE, et al: Resolution of pyothorax in a white tailed deer by thoracotomy, tube drainage and lavage. Can Vet J 31:110-112, 1990
33. Rings DM: Surgical treatment of pleuritis and pericarditis. Vet Clin North Am Food Anim Pract 11:177, 1995
34. Hekmati P, Bakshodeh GA, Poulsen JSD: Traumatic reticulitis, the Comet naso reticular instrument for withdrawal of foreign bodies from the reticulum of cattle. Nord Vet-Med 37:338-348, 1985

ENFERMEDADES QUIRÚRGICAS DEL INTESTINO DELGADO

David E. Anderson, DVM, MS, DACVS
Professor and Head, Large Animal Clinical Sciences
College of Veterinary Medicine
University of Tennessee
Knoxville, Tennessee, USA

Ocasionalmente, se dan trastornos quirúrgicos en el tracto gastrointestinal del ganado y los veterinarios tienen el reto de determinar un diagnóstico adecuado y un tratamiento para estos problemas. Aunque las enfermedades quirúrgicas se dan con más frecuencia en los preestómagos (dislocación del abomaso, reticuloperitonitis) y en el colon (dilatación cecal), este trabajo se centrará en las lesiones en el intestino delgado (duodeno, yeyuno, íleon).

Enfermedades que se dan solo en terneros neonatales

Atresia intestinal

Se han descrito atresias de varios segmentos del tracto intestinal en terneros. En un estudio de 58 terneros con atresia intestinal, 18 terneros tenían segmentos atrésicos simples, mientras que 40 terneros sufrían segmentos atrésicos múltiples (Martens 1995) (Tabla 1) Estos trastornos congénitos pueden ser obvios y diagnosticados rápidamente después del nacimiento, como la *atresia ani*, o no ser aparentes durante varios días hasta que la distensión abdominal, la falta de salida de heces o el deterioro clínico del ternero llama la atención sobre la anomalía. Aunque la *atresia ani* es probablemente la atresia intestinal encontrada más común, la *atresia coli* es la que más se ha tratado en la literatura científica. La *atresia coli* ha sido reportada más frecuentemente en terneras lecheras, sobre todo Holstein. El autor ha diagnosticado *atresia coli* en varias razas bovinas, incluyendo terneros de Charolesa, Angus, Shorthorn y Hereford Mocho. Se desconoce la causa de la atresia coli, pero se han propuesto causas genéticas e iatrogénicas. Aunque se ha identificado un gen autosómico recesivo en el ganado Jersey con atresia yeyunal, la predisposición genética para la *atresia coli* se estimó con un factor de heredabilidad de sólo 0,08 (Barker 1985; Willer 1984). No obstante, los estudios en grandes poblaciones han sugerido una asociación con la manipulación transrectal de la vesícula embrionaria para el diagnóstico de gestación (Hess 1982). Las vacas que tuvieron diagnósticos de gestación a través de la palpación transrectal antes de 42 días de gestación parecían más propensas a tener terneros con *atresia coli*, pero la incidencia de la anomalía era baja. Además, un informe de dos terneros Holstein gemelos, uno con y otro sin *atresia coli*, parece argumentar en contra de un rasgo heredable (Hoffsis 1977).

SIGNOS CLÍNICOS

Los terneros afectados con *atresia coli* que han sido monitorizados y evaluados desde el nacimiento se pueden reconocer por ausencia de material fecal durante las primeras 12-24 horas de vida. La administración de catárticos o enemas no tiene ningún efecto, pero se puede observar mucosa con materia fecal en el ano conforme aumenta la edad. A menudo, los terneros con *atresia coli* no se presentan para una evaluación hasta que tienen entre 3 y 5 días de edad. Las observaciones más frecuentes del cliente son diminución del apetito, ausencia de heces, depresión y distensión abdominal progresiva.

DIAGNÓSTICO

Inicialmente, un examen ecográfico del abdomen revelará la presencia de una distensión entre normal y leve del intestino con actividad desde normal hasta hipermotilidad. Después de varios días, la palpación transabdominal denota distensión intestinal entre leve y moderada y se provoca dolor fácilmente. La palpación cuidadosa de la fosa paralumbar derecha revela la presencia de entre 2 y 3 asas intestinales distendidas de la espiral del colon y el ciego. El examen ecográfico del abdomen revela la presencia de una distensión entre moderada y severa y una actividad que varía entre hipermotilidad y sin movilidad. La auscultación del abdomen revela sonidos positivos de “fluídos y gases” si hay movilidad del intestino. La auscultación y percusión simultáneas del abdomen producen “pings” de tono y ubicación variables. La auscultación y sucusión simultáneas del abdomen producen olas de fluidos y sonidos de “chapoteo” como si se agitara una bolsa llena de agua hasta la mitad.

Las variables hematológicas se mantienen normales durante las primeras 48 horas de enfermedad, pero se da deshidratación con la retención de líquidos y el crecimiento de bacterias en los intestinos. Los HCT y la TP aumentan y se produce progresivamente una desviación a la izquierda degenerativa según se elaboran toxinas bacterianas y se produce necrosis de la pared intestinal. (Tabla 3) Los valores bioquímicos en suero se mantienen normales en las primeras 48 horas de enfermedad, pero la azotemia, la hipocloremia y la hipocalemia se agravan progresivamente con el tiempo. El fallo en la trasferencia pasiva de anticuerpos maternos no es poco común en los terneros afectados. No obstante, si se da una ingesta adecuada de calostro al nacer, la trasferencia de inmunoglobulinas suele ser normal.

El diagnóstico definitivo se realiza a través de una laparotomía exploratoria. Algunos autores han descrito el paso de un tubo a través del ano para determinar la longitud del recto presente, la realización de radiografías rectales de contraste positivo o la endoscopia rectal para el diagnóstico de la *atresia coli* o para descartar la *atresia recti*. El autor prefiere no realizar estos procedimientos, sino realizar un diagnóstico por laparotomía exploratoria por el alto riesgo asociado a la perforación del recto en la cavidad abdominal. Una celiotomía de la fosa paralumbar derecha proporciona un acceso óptimo al recto y a los segmentos atrésicos. Aunque se puede hacer la celiotomía en la línea media ventral, los mesenterios del intestino, sobre todo el colon terminal, son bastante cortos e impedirán la exteriorización del intestino o dificultarán la exteriorización del intestino afectado. La celiotomía paralumbar derecha debe hacerse en la vista dorsal y caudal de la PLF para optimizar el examen de la espiral del colon, el colon descendente y el recto. El diagnóstico de *atresia coli* se hace mediante el examen de la espiral del colon y el ciego y la identificación del *asa proximal ciega*. Ocasionalmente, toda la espiral del colon está ausente.

TRATAMIENTO

La corrección quirúrgica se puede realizar mediante la anastomosis extremo-a-extremo o lado-a-lado del asa proximal al recto. El autor prefiere la anastomosis lado-a-lado para maximizar la dimensión del estoma creado. Se coloca un catéter de goma suave y gran calibre (entre 18 y 24 F; entre 6 y 8 mm de diámetro) en el recto vía ano para mejorar la identificación, el manejo y la anastomosis del recto. La pared rectal generalmente está poco desarrollada por la ausencia de estimulación durante la gestación (por ejemplo, ausencia de meconio). Por tanto, el recto debe manejarse con cuidado. La espiral del colon se succiona libre de gases o se puede practicar una pequeña enterotomía (entre 1 y 2 cm de longitud) para retirar el gas y los fluidos del colon y el ciego. La enterotomía se cierra antes de llevar a cabo la anastomosis. El segmento más accesible del colon se encuentra al lado del recto y se colocan suturas de fijación seromuscular para mantener la posición sin tensión del lugar anastomótico. Entonces, se realiza una enterotomía del recto de entre 5 y 8 cm de longitud, después se practica una anastomosis lado-a-lado del colon. La cavidad abdominal se lava y se cierra la pared abdominal en forma de tres capas. El autor a menudo utiliza un gran catéter Foley para mantener el lumen anastomótico durante las 48-72 horas posteriores a la cirugía porque la consistencia fecal es gruesa y propensa a impactar en el lugar de la anastomosis.

Después de la operación, se devuelve a los terneros a una dieta de leche y se pueden utilizar laxantes (por ejemplo, hidróxido de magnesio) para suavizar las heces durante 3-5 días después de la cirugía. Las complicaciones más frecuentes son: peritonitis, obstrucción de la anastomosis, diarrea, deshidratación y muerte. Los terneros que sobreviven a corto plazo son propensos a tener una diarrea prolongada y alteraciones de los electrolitos por la limitada longitud y área de superficie del colon.

PRONÓSTICO

La supervivencia de los terneros con atresia coli está influida por la edad en el momento de la cirugía y la integridad del colon. Los terneros sometidos a la cirugía antes de las 72 horas de vida tienen más probabilidades de sobrevivir que los terneros que se someten a la cirugía con más de 5 días de edad. Smith et al descubrieron que los terneros que tuvieron una anastomosis extremo-a-lado tras la resección del asa ciega tenían una mejor tasa de supervivencia que los terneros en los que se realizó una anastomosis lado-a-lado sin retirar el asa ciega. En general, los terneros tienen una moderada oportunidad (aproximadamente del 60%) de supervivencia tras la cirugía, pero una peor prognosis (aproximadamente del 40%) de supervivencia productiva a largo plazo.

Enfermedades que se dan con mayor frecuencia en terneros

Tricobezoares

La obstrucción intraluminal del tracto intestinal de bovinos, ovejas y cabras la mayoría de las veces está causada por un tricobezoar, un fitobezoar o un enterolito. [1,2] Estos cuerpos extraños se forman en el rumen o el abomaso y pueden pasar al tracto intestinal, quedándose depositados en el intestino delgado o en la espiral del colon. Las bolas de pelo (tricobezoar) son causadas por la ingesta frecuente de pelo (Figura 1, 2). Esto se ve con mayor frecuencia en el ganado con piojos o sarna, o durante la primavera, cuando se da el desprendimiento de la capa de pelo de invierno. Los fitobezoares y los enterolitos se forman alrededor de materiales no digeridos (por ejemplo, fibras de nylon, tejido de algodón). En el informe de una necropsia de 166 terneros muertos de menos de 90 días de edad en el oeste de Canadá, 56 terneros murieron por la perforación de una úlcera abomasal.[3] Los terneros que tenían una úlcera abomasal eran 2,74 veces más propensos a tener una bola de pelo abomasal. Los terneros de menos de 31 días de edad que tenían una úlcera abomasal eran 3,81 veces más propensos a tener una bola de pelo abomasal. No obstante, los autores fueron incapaces de establecer una relación causal entre la presencia de bolas de pelo en el abomaso y la perforación de una úlcera. Durante un estudio sobre ganado confinado, alimentado con una dieta limitada en fibra, las vacas empezaron a morder el pelo de las demás y desarrollaron múltiples bolas de pelo ruminales (un rango entre 2 y 8 bolas de pelo, con un peso de entre 0,2 y 3,8 Kg cada una).[4] Los investigadores especularon que las vacas comenzaban a "pastar" pelo debido a la falta de fibra en la dieta, el aburrimiento y la alta densidad de población. Un informe describe los hallazgos clínicos en 2 ovejas con 107 bolas de pelo cada una.[5] Los autores sospecharon que el prurito o una deficiencia alimentaria desconocida era la causa de la ingesta excesiva de lana.

SIGNOS CLÍNICOS

En los animales afectados por bezoares ruminales o abomasales, se puede observar disminución del apetito, pérdida de peso, menor producción de heces, letargo y depresión aparente. Muchos bezoares presentes en el rumen o el abomaso de terneros, ovejas y cabras se pueden encontrar en palpaciones transabdominales o en radiografías abdominales. Cuando hay una obstrucción en el intestino delgado o la espiral del colon, los animales afectados muestran inicialmente signos clínicos de dolor abdominal (inquietud, patadas al abdomen, acostarse y levantarse con frecuencia, arquear la espalda, estirar las piernas mientras están de pie) y progresan hacia la postración y una depresión aparente. Se percibe una hinchazón o distensión abdominal progresiva y la falta de producción fecal.

PATOLOGÍA CLÍNICA

El análisis de bioquímica en suero revela alcalosis metabólica hipocalémica, hipoclorémica, cuya severidad depende de la duración y localización de la lesión. Estos cambios son más severos con obstrucción intestinal proximal y se agravan con el aumento de la duración. Si se ha producido la necrosis isquémica de la pared intestinal, se puede ver un leucograma inflamatorio con un mayor número de neutrófilos inmaduros. A medida que la peritonitis se desarrolla y los ácidos orgánicos son liberados en el torrente sanguíneo, la bioquímica en suero cambia a una acidosis metabólica con una hipercalemia relativa. Estos cambios son consistentes con un mal pronóstico. La perforación de una úlcera abomasal o la ruptura del intestino y la contaminación del abdomen con la ingesta conlleva un pronóstico entre malo y grave.

DIAGNÓSTICO

En el ganado afectado, los cambios en la bioquímica en suero son consistentes con la obstrucción intestinal. La concentración de cloro en el rumen puede ser elevada (Cl en rumen > 30 mEq/l). La causa de la obstrucción intraluminal rara vez es palpable por el recto, pero una pequeña distensión intestinal puede palparse. El examen ecográfico del abdomen puede ser útil en terneros y pequeños rumiantes. Se debe sospechar una obstrucción intestinal intraluminal en el ganado con timpanismo en el rumen recurrente, que es temporalmente sensible a la descompresión y está asociado con una producción fecal mínima. El diagnóstico diferencial incluye intususcepción, síndrome de indigestión vagal, linfosarcoma intestinal, necrosis grasa, atrapamiento intestinal al-

rededor de bandas fibrovasculares anómalas y vólvulo de la conexión yeyunoileal.

TRATAMIENTO

Los tricobezoares, los fitobezoares o los enterolitos ubicados dentro del rumen raramente causan signos clínicos a no ser que el número y magnitud de los cuerpos extraños sea elevado (por ejemplo, dos ovejas en las que las bolas de pelo representaban > 10% del peso corporal del animal[5]). Una vaca sufrió una obstrucción del esófago después de la sospecha de un intento de regurgitación de un tricobezoar del rumen.[6] Los cuerpos extraños del rumen se retiran mediante la celiotomía de la fosa paralumbar izquierda y rumenotomía (ver reticuloperitonitis traumática). Preferimos cerrar el rumen con material de sutura de monofilamento absorbible (por ejemplo, polidioxanona No 1) utilizando dos capas de un patrón de sutura invertido (por ejemplo, patrones Cushing y Lembert). Las bolas de pelo abomasales pueden causar obstrucción pilórica que lleva a un inicio rápido de la distensión abdominal. Los autores prefieren hacer una laparotomía paramediana derecha o paracostal ventral para exteriorizar el abomaso. Una abomasotomía se realiza a lo largo de la curvatura mayor del abomaso, se retiran los cuerpos extraños y se cierra el abomaso con material de sutura de monofilamento absorbible (por ejemplo, polidioxanona No 0) utilizando dos capas de un patrón de sutura invertido. Cuando se sospecha de obstrucción del duodeno, el yeyuno o la espiral del colon, se debe llevar a cabo una celiotomía en la fosa paralumbar derecha y la exploración del abdomen. El cuerpo extraño se encuentra exteriorizando un segmento del intestino, normal o distendido, y siguiendo este segmento oral o aboral respectivamente, hasta que se halla la obstrucción. Este segmento de intestino se exterioriza por el abdomen, se aisla, utilizando toallas quirúrgicas humedecidas, y se realiza una enterotomía. Tras la retirada del cuerpo extraño, se cierra la enterotomía con material de sutura absorbible (por ejemplo, polidioxanona No 2-0, poliglactina 910) utilizando dos líneas de un patrón de sutura invertido. La enterotomía se puede cerrar transversalmente para maximizar el lumen del segmento del intestino afectado y minimizar la tensión soportada por la línea de sutura durante la contracción de la pared intestinal. Cuando el valor económico percibido del ganado afectado es alto, la cirugía se puede realizar con el paciente bajo anestesia general. Esto minimizaría el riesgo de contaminar con la ingesta el abdomen durante la cirugía.

El tratamiento con fluidos intravenosos se basa en la estimación clínica de la deshidratación, la gravedad de las lesiones intestinales identificadas durante la cirugía y la severidad de los cambios en la bioquímica en suero. En general, el ganado debe recibir entre 20 y 60 litros de solución salina isotónica, por vía intravenosa, durante 12 horas. Nosotros, habitualmente, añadimos calcio (1 ml de gluconato de calcio al 23% / kg de peso corporal) y dextrosa (para preparar una solución al 1,25%) a los fluidos IV. También se administran fármacos antiinflamatorios no esteroideos (banamina, 1mg/kg de peso corporal, IV, cada 12 horas durante 3 días) y antibióticos (durante 3-5 días).

PRONÓSTICO

El pronóstico para el retorno al uso productivo se basa en la condición corporal del animal, la severidad de los cambios en las variables bioquímicas en suero[7], la presencia de perforación visceral o peritonitis, y la capacidad de realizar la extirpación quirúrgica del cuerpo extraño sin contaminar el abdomen. El ganado con una deshidratación menor al 10%, con alcalosis metabólica (por ejemplo, bicarbonato > 32 mEq/l) hipoclorémica (por ejemplo, Cl > 80 mEq/l) entre leve y moderada, tiene un pronóstico bastante bueno de recuperación. El ganado con una deshidratación superior al 10%, con hipocloremia severa (por ejemplo, Cl < 80 mEq/l) y acidosis metabólica (por ejemplo, bicarbonato < 20 mEq/l), o con perforación visceral tiene un mal pronóstico de supervivencia. Por tanto, es necesaria una intervención quirúrgica inmediata para aliviar los signos clínicos causados por los cuerpos extraños intraluminales.

PREVENCIÓN

La obstrucción intraluminar del intestino se produce con poca frecuencia en el ganado. La naturaleza esporádica del problema limita las recomendaciones para su prevención. El ganado debe tener siempre a su disposición una fibra alimentaria adecuada. Las estrategias de control de piojos, especialmente durante los meses de invierno, evitarán el prurito asociado a la ingesta de pelo.

Referencias

1. Pearson H, Pinsent PJN. Intestinal obstruction in cattle. Vet Rec 101:162-166, 1977.

2. Pearson H. The treatment of surgical disorders of the bovine abdomen. Vet Rec 92:245-254, 1973.

3. Jelinski MD, Ribble CS, Campbell JR, et al. Investigating the relationship between abomasal hairballs and perforating abomasal ulcers in unweaned beef calves. Can Vet J 37:23-26, 1996.

4. Cockrill JM, Beasley JN, Selph RA. Trichobezoars in four Angus cows. Vet Med Sm An Clin 73:1441-1442, 1978.

5. Ramadan RO. Massive formation of trichobezoars in sheep. Agri-Practice 16:26-28, 1995.

6. Patel JH, Brace DM. Esophageal obstruction due to a trichobezoar in a cow. Can Vet J 36:774-775, 1995.

7. Anderson DE, Constable PD, St-Jean G, et al. Small-intestinal volvulus in cattle: 35 cases (1967-1992). J Am Vet Med Assoc 203:1178-1183, 1993.

Intususcepción

La intususcepción hace referencia a la invaginación de un segmento del intestino en un el segmento adyacente del intestino. La parte invaginada del intestino se denomina intussusceptum, y el segmento exterior del intestino, o el que recibe, se conoce como intussuscipiens. La intususcepción se da esporádicamente en el ganado de todas las edades, razas y sexo y se puede ver durante cualquier época del año.[1,2] No obstante, en un estudio epidemiológico de casos y controles sobre 336 bovinos, la intususcepción se vio con más frecuencia en terneros de menos de 2 meses de edad, el ganado Pardo Alpino parecía tener una mayor representación, y el ganado Hereford parecía tener una menor representación en comparación con el ganado Holstein.[1] Aunque la causa incitante raramente es identificada, la intususcepción puede ser secundaria a la enteritis, al parasitismo intestinal, a cambios repentinos en la dieta, a un granuloma mural o absceso, a la neoplasia intestinal, (esp. adenocarcinoma), a un hematoma mural, y a la administración de fármacos que afectan la motilidad intestinal. Cualquier perturbación focal en la motilidad intestinal facilita la invaginación de un segmento orad en un segmento aborad del intestino. La intususcepción se da más frecuentemente en la parte distal del yeyuno, pero también se han encontrado intususcepciones que afectaban al yeyuno proximal, el íleon, el ciego y la espiral del colon.[1-7] En una revisión de 336 intususcepciones en el ganado, 281 afectaban al intestino delgado, 7 eran ileocólicas; 12, cecocólicas y 36, colocólicas.[1]

SIGNOS CLÍNICOS

El ganado afectado con intususcepción muestra signos clínicos de dolor abdominal (inquietud, patadas al abdomen, acostarse y levantarse frecuentemente, asumir posturas anormales) hasta 24 horas después de la aparición de la enfermedad. El ganado es frecuentemente anoréxico, letárgico y reacio a caminar. Cuando los signos iniciales de dolor abdominal bajan, el ganado afectado se vuelve progresivamente letárgico y postrado y muestra una depresión aparente. La distensión abdominal se hace evidente a las 24-48 horas. Esta está causada por la distensión de los gases y fluidos del preestómago y los intestinos, y el secuestro de la ingesta en el tracto gastrointestinal da lugar a una deshidratación progresiva y la disminución de electrolitos. La frecuencia cardíaca aumentará proporcionalmente al dolor abdominal, la necrosis intestinal y la deshidratación. La producción de heces puede ser normal hasta 12 horas después de que se dé la intususcepción, pero se observa una producción fecal mínima después de 24 horas. En este momento, es frecuente el paso de sangre y mucosa del recto.

PATOLOGÍA CLÍNICA

Normalmente, hay hemoconcentración (aumento de PCV y T.P.) y se puede ver un leucograma inflamatorio si se ha producido la necrosis isquémica del intussusceptum. A menudo, los cambios en el recuento de glóbulos blancos y diferencial son mínimos y los cambios en los componentes del líquido peritoneal no se ven porque el intussusceptum está aislado por el intussuscipiens. Se encuentra alcalosis metabólica hipoclorémica en los análisis bioquímicos en suero. También se puede encontrar hiponatremia, hipocalemia, hipocalcemia, azotemia e hiperglucemia. La magnitud de estos cambios depende de la ubicación y la duración de la lesión. La intususcepción del yeyuno proximal causa una deshidratación rápida y severa, secuestro de electrolitos y alcalosis metabólica. La mayoría de las lesiones se dan en el yeyuno distal y pueden requerir más de 48 horas para desarrollar estos cambios. Se puede encontrar una elevación de la concentración de cloruro en el rumen (> 30 mEq/l) si se produce una distensión de los líquidos del rumen.

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico de la intususcepción se realiza normalmente durante la laparotomía exploratoria. Ocasionalmente, la intususcepción se puede notar por palpación rectal, pero se identifica con más frecuencia la distensión de múltiples asas del intestino delgado. Desde nuestra experiencia, una intususcepción puede estar presente durante 48 horas o más en el ganado adulto sin que sea posible encontrar distensión intestinal a través de una palpación rectal. En terneros y pequeños rumiantes, se pueden utilizar la palpación percutánea y el examen ecográfico del abdomen para identificar la distensión intestinal y, probablemente, la intususcepción. Debería sospecharse en el ganado con un historial de dolor abdominal y distensión abdominal, heces escasas y consistentes en sangre y mucosa, y distensión palpable del intestino. El diagnóstico diferencial incluye principalmente indigestión, íleo funcional, tricobezoar, cuerpos extraños, encarcelamiento o estrangulación intestinal, síndrome vagal, neoplasia intestinal, necrosis grasa y vólvulo de la unión yeyunoileal.

TRATAMIENTO

El ganado afectado debe estabilizarse antes de que se practique la intervención quirúrgica. El tratamiento con líquidos debe estar dirigido a reponer los déficits de líquido y electrolitos. La corrección quirúrgica puede hacerse cuando el paciente haya sido evaluado como un candidato adecuado. La laparotomía exploratoria de la fosa paralumbar derecha es el método quirúrgico de elección para el tratamiento de intususcepción. La mayor parte del intestino delgado del ganado tiene un mesenterio corto, impidiendo una exteriorización adecuada de la intususcepción a través de una incisión en la línea media ventral. Además, las ligazones del epiplón mayor limitan la exposición con este enfoque. La presencia del rumen en el hemiabdomen izquierdo impide la exteriorización adecuada de la intususcepción a través de una incisión paralumbar izquierda. La mayoría de las veces, la laparotomía exploratoria de diagnóstico se realiza con la vaca estando de pie y con anestesia local. La tensión sobre el mesenterio del intestino delgado da lugar a dolor y el ganado puede intentar tumbarse durante el procedimiento. De 35 bovinos a los que se les practicó una laparotomía de la fosa paralumbar derecha para la resección de la intususcepción estando de pie, el 14% se tumbó y el 26% intentó tumbarse durante la cirugía.[1] La planificación preoperatoria debe incluir la anticipación de esta posibilidad. Cuando se sospecha de intususcepción y el animal tiene un valor económico percibido alto, la celiotomía de la fosa paralumbar derecha se puede realizar con el paciente bajo anestesia general y en decúbito lateral izquierdo. La intususcepción puede ser más difícil de elevar a través de la incisión en el ganado en decúbito porque el intestino lleno de líquido gravita lejos de la zona quirúrgica, pero el aislamiento y la resección de la intususcepción se puede hacer sin riesgo de que el animal se tumbe durante el procedimiento y con un riesgo mínimo de contaminación del abdomen.

La extirpación quirúrgica por resección y anastomosis es el tratamiento elegido para la intususcepción. La intususcepción se exterioriza desde el abdomen y se aísla utilizando una gasa estéril de barrera y toallas humedecidas. No se recomienda la reducción manual de la intususcepción por el riego de ruptura del intestino durante la manipulación, la posible necrosis isquémica del intestino después de la cirugía, la posible reaparición de la intususcepción y el íleo prolongado causado por la alteración de la motilidad y la inflamación del segmento afectado del intestino. FIGURA Los márgenes para la escisión se seleccionan en el intestino aparentemente sano. En general, el margen distal puede ser 10 cm aborad a la lesión, pero el margen proximal debe ser de un mínimo de 30 cm orad a la lesión. Se elige el segmento proximal más grande porque la distensión crónica, la inflamación, la trombosis microvascular, la isquemia relativa y la ingesta nociva acumulada en este segmento pueden causar íleo postoperatorio severo y prolongado. El ganado tiene un mesenterio corto, por lo que la tracción en él es dolorosa y el animal puede irse abajo en este momento. El mesenterio corto impide la exteriorización adecuada de algún segmento del intestino delgado. Solo debe ser exteriorizada la parte a resecar para evitar la tracción excesiva y la contaminación durante la resección-anastomosis. La infiltración de lidocaína al 2% en el mesenterio de la resección puede reducir el dolor de la tracción. Los vasos mesentéricos (arterias y venas) se ligan utilizando una ligadura en masa con material de sutura absorbible (catgut crómico No3, poliglactina 910 No 1), asegurándose de no comprometer el suministro de sangre al intestino a preservar. Se precisa una ligadura en masa porque el ganado no tiene una anatomía vascular curvada, como la de los caballos, y el mesenterio graso hace la identificación de los vasos imposible. Las suturas se ponen siguiendo un patrón de superposición de manera que se consigue una doble ligadura de los vasos. Esta técnica puede llevarse a cabo de forma rápida y eficiente. Desde nuestra experiencia, los instrumentos de grapado son muy poco fiables para la oclusión de los vasos mesentéricos por la gran cantidad de grasa que se encuentra normalmente en el mesenterio intestinal del ganado. Cuando hemos utilizado instrumentos de grapado, se ha necesitado una ligadura manual

extensiva para controlar la hemorragia. Una vez completada la ligadura del mesenterio y la transección, se utiliza un fórceps intestinal Doyen para ocluir el lumen del intestino normal y anormal. Entonces, la intususcepción y el intestino asociado se reseca y se descarta. El segmento proximal del intestino se exterioriza con cuidado hasta su longitud máxima y se retira el fórceps Doyen. La ingesta dentro del intestino orad a la lesión se "ordeña" por el lugar de la enterectomia, con cuidado de no contaminar la incisión o el abdomen con la ingesta. Este procedimiento disminuirá la severidad del íleo postoperatorio y acortará la convalecencia. Los dos segmentos del intestino se vuelven a unir por anastomosis extremo-a-extremo o lado-a-lado con un material de sutura absorbible (polidioxanona No 2-0 o poliglactina 910) utilizando un patrón se sutura continuo simple. La anastomosis se realiza en tres líneas de sutura superpuestas, cada una colocada en 1/3 de la circunferencia, o en cuatro líneas de sutura superpuestas, cada una colocada en 1/4 de la circunferencia, de manera que no se cree un efecto de "bolsa de tabaco". La línea de sutura inicial debe ponerse en la unión mesentérica porque es el lugar en el que es más probable que se den fugas. Una segunda fila de suturas se coloca para evitar las fugas, utilizando segmentos interrumpidos de patrones de sutura invertidos (por ejemplo, Cushing o Lembert). El intestino afectado se lava a conciencia con líquidos isotónicos estériles, se comprueba para ver si hay fugas y se vuelve a introducir en el abdomen. Preferimos colocar de manera rutinaria una solución de antibióticos (5 millones de unidades de penicilina G potásica o 1 gramo de ceftiofur sódico), heparina (20 unidades/kg de peso corporal) y salina (1000ml) en el abdomen antes de cerrar la pared abdominal.

El manejo postoperatorio debe dirigirse a prevenir la deshidratación, a mantener una concentración óptima de electrolitos en sangre, a controlar la aparición de infecciones e inflamaciones y a estimular el apetito. Los líquidos por vía intravenosa son beneficiosos durante las primeras 24 horas después de la cirugía. Nosotros realizamos, rutinariamente, la ruminotomía entre 12 y 24 horas después de la cirugía para estimular la movilidad del preestómago y el apetito. No se debe retener la comida después de la cirugía. La administración de tartrato de butorfanol (entre 0,02 y 0,04 mg/kg, IV) puede ayudar con el íleo inducido por dolor, proporcionando una analgesia visceral leve sin efectos adversos directos sobre la motilidad intestinal.

PRONÓSTICO

El pronóstico para la vuelta a la productividad después de la corrección quirúrgica de la intususcepción es variable y en cierto modo dependiente de la duración de la lesión. Desde nuestra experiencia, el ganado responde favorablemente a la cirugía si es operado en un plazo de 48 horas desde la aparición de la enfermedad. El ganado que presenta una deshidratación severa (>12 %), taquicardia (FC > 120 bpm), un descenso severo en la concentración de cloruro en suero (Cl < 80 mEq/l) y una distensión abdominal grave se considera que tiene un mal pronóstico de supervivencia. Desde nuestra experiencia, los terneros responden más favorablemente a la cirugía que el ganado adulto. Si hay rotura de víscera en el momento de la operación, el pronóstico es grave. Del ganado en el que se intentó una corrección quirúrgica, 85 de 143 bovinos con una pequeña intususcepción intestinal, 0 de 4 con ileocólica, 10 de 11 con cecocólica y 10 de 20 con colocólica fueron dados de alta desde el hospital.[1]

PREVENCIÓN

Las recomendaciones para la prevención de la intususcepción son difíciles porque la causa rara vez es identificada y no se ha demostrado una predilección estacional. Los cambios en el manejo de las dietas deben hacerse gradualmente, y se deben practicar estrategias de control y una buena higiene para minimizar la transmisión de enfermedades entéricas o parásitos internos.

REFERENCIAS

1. Constable PD, St-Jean G, Hull BL, et al. Intussusception in cattle: 336 cases (1964-1993). J Am Vet Med Assoc , 1997.

2. Pearson H. Intussusception in cattle. Vet Rec 89:426-437, 1971.

3. Smart ME, Fretz PB, Gudmundson J, et al. Intussusception in a Charolais bull. Can Vet J 18:244-246, 1977.

4. Archer RM, Cooley AJ, Hinchcliff KW, et al. Jejunojejunal intussusception associated with a transmural adenocarcinoma in an aged cow. J Am Vet Med Assoc 192:209-211, 1988.

5. Horne MM. Colonic intussusception in a Holstein calf. Can Vet J 32:493-495, 1991.

6. Hamilton GF, Tulleners EP. Intussusception involving the spiral colon in a calf. Can Vet J 21:32, 1980.

7. Strand E, Welker B, Modransky P. Spiral colon intussusception in a three-year-old bull. J Am Vet Med Assoc 202:971-972, 1993.

Enfermedades que se producen sin predilección de edad

VÓLVULOS INTESTINALES

El vólvulo se refiere a la rotación de la víscera sobre su unión mesentérica. La torsión se refiere a la rotación de la víscera sobre su propio eje (o largo). Aunque sí se encuentran torsiones del abomaso y del útero en el ganado, la torsión del intestino delgado no es frecuente. Los vólvulos del intestino delgado pueden presentarse en diferentes formas.[1-3] La forma más grave de vólvulo intestinal se origina en la raíz del mesenterio y abarca todo el intestino delgado y los mesenterios. El vólvulo de la raíz del mesenterio causa la obstrucción del flujo venoso y el suministro de sangre arterial de los intestinos. La necrosis isquémica del intestino se produce rápidamente, lo que causa acidosis metabólica, shock y muerte. El vólvulo de la unión yeyunoileal hace referencia al vólvulo del yeyuno entre medio y distal y el íleon proximal, donde el mesenterio es largo. Este mesenterio largo y el intestino asociado se ha denominado la "brida" y puede rotar sobre su mesenterio sin implicar el resto del intestino delgado. A menudo, no se encuentra oclusión arterial con el vólvulo de la brida yeyunoileal, posiblemente porque los depósitos extensos de grasa del mesenterio pueden evitar la compresión de la pared muscular de las arterias hasta que el vólvulo se hace severo. Sin embargo, la obstrucción del flujo de sangre venosa puede ser igualmente dañina debido al edema mural, la desviación de la sangre lejos de la mucosa y la isquemia progresiva.

El ganado de cualquier raza, edad o sexo puede verse afectado por un vólvulo intestinal en cualquier momento a lo largo del año. En una revisión de 190 bovinos con vólvulo intestinal, las razas lecheras tenían un mayor riesgo de desarrollar un vólvulo en comparación con las razas de carne.[1] Se consideró que esta diferencia estaba asociada a las diferencias en el manejo. Ni la lactancia ni la gestación se identificaron como factores de riesgo, y no se ha visto que los terneros tengan un mayor riesgo comparados con el ganado adulto. En un estudio independiente de 100 bovinos con vólvulo intestinal, 86 eran terneros entre 1 semana y 6 meses de edad.[4]

SIGNOS CLÍNICOS

El ganado con un vólvulo de la raíz del mesenterio puede encontrarse muerto con una distensión abdominal severa. Al principio del curso de la enfermedad, el ganado afectado demuestra dolor abdominal agudo y severo (patadas al abdomen, rodar, tumbarse

y levantarse frecuentemente, gruñidos) y tiene un marcado ascenso de la frecuencia cardiaca (> 120 ppm) y el ritmo respiratorio (> 80 rpm). La rápida progresión de la enfermedad impide el desarrollo de una deshidratación importante, pero el shock cardiovascular está normalmente presente.

El ganado con vólvulo en la brida yeyunoileal puede presentarse de manera parecida al ganado con vólvulo en la raíz del mesenterio. No obstante, este ganado a menudo demuestra signos clínicos más consistentes con la obstrucción intestinal aguda que con el shock cardiovascular. El ganado muestra signos de dolor abdominal, taquicardia (entre 80 y 120 ppm) y paso mínimo de heces. El ganado puede estar deshidratado en el momento del examen.

PATOLOGÍA CLÍNICA

Debido a la rápida aparición y progreso, el ganado con vólvulo intestinal puede no mostrar cambios en la bioquímica en suero o en los datos hematológicos. Los cambios esperados con el vólvulo intestinal son consistentes con la obstrucción intestinal, el estrés y la deshidratación: azotemia, hipocalcemia, hiperglucemia y una leucocitosis con desviación a la izquierda leve.[1] En las etapas tempranas de la enfermedad, el ganado desarrolla alcalemia con una concentración de potasio en suero normal. A medida que avanzan el compromiso cardiovascular y la isquemia intestinal, el ganado desarrolla acidosis metabólica e hipercalemia. El ganado con transición a la acidosis y la hipercalemia tiene un mal pronóstico de supervivencia.[1]

DIAGNÓSTICO

El diagnóstico del vólvulo intestinal se hace por laparotomía exploratoria. La palpación rectal revela múltiples asas de intestino distendido llenando el abdomen caudal y una tensión excesiva en el mesenterio intestinal. La auscultación y percusión simultáneas del abdomen producen pings multifocales de tono y ubicación variables. Los hallazgos de escasas heces, dolor abdominal, aparición repentina de distensión abdominal y múltiples asas de intestino distendido en la palpación rectal en el ganado son altamente sugerentes de vólvulo intestinal. El diagnóstico diferencial incluye intususcepción, vólvulo cecal, vólvulo abomasal, obstrucción intraluminal e indigestión severa.

TRATAMIENTO

La corrección quirúrgica inmediata es el tratamiento a elegir. Se deben administrar líquidos por vía intravenosa para tratar el shock cardiovascular, pero la preparación para la cirugía no se debe retrasar. Se debe corregir el vólvulo antes de que se produzca una lesión isquémica irreversible o trombosis de las arterias mesentéricas. El enfoque elegido es una laparotomía de la fosa paralumbar derecha con la vaca estando de pie. La restauración de la posición anatómica normal del intestino se hace más fácilmente con el paciente de pie. El ganado que se percibe con alto riesgo de que se tumbe durante la cirugía debe estar bajo anestesia general, en decúbito lateral izquierdo y la laparotomía debe hacerse a través de la fosa paralumbar derecha. La presencia del vólvulo y la dirección del giro se evalúan palpando la raíz del mesenterio y, en el caso del vólvulo de la brida yeyunoileal, siguiéndolo ventralmente hasta la localización de la torsión. La masa intestinal se des-torsiona suavemente, con cuidado de no causar la ruptura de la víscera. Este procedimiento puede requerir la exteriorización de varias partes de la masa intestinal. Después de la corrección del vólvulo, el tracto intestinal debe ser examinado en busca de evidencias de intestino inviable. Si el intestino está comprometido (trombosis arterial, serosa ennegrecida, pared desmenuzable del segmento afectado, edema mural), entonces se indica resección intestinal y anastomosis (ver Intususcepción). Por otra parte, la exploración del abdomen debe hacerse para descartar la presencia de una lesión secundaria (desplazamiento del abomaso, fecalito, intususcepción, bandas fibrovasculares anómalas, peritonitis, etc.).

El manejo postoperatorio está dirigido a mantener una hidratación, electrolitos y un estado ácido-base óptimos. Se indican medicamentos antibióticos y antiinflamatorios. Se puede ver íleo durante las primeras 48 horas después de la cirugía, pero el uso de fármacos procinéticos debe valorarse frente al riego de fugas en el lugar de la anastomosis si se realiza una resección intestinal. El paso de grandes volúmenes de diarrea en las 24 horas siguientes a la cirugía se considera como un indicador de pronóstico favorable.

PRONÓSTICO

El pronóstico varía con la gravedad y duración de la lesión. El pronóstico de supervivencia para el ganado con vólvulo en la raíz del mesenterio (44%) es menor que para el vólvulo de la brida yeyunoileal (86%).[1] En general, el ganado lechero tiene un mejor pronóstico de supervivencia (63%) que el ganado de carne (22%). Se presume que esta diferencia se debe a que el ganado lechero se observa con más frecuencia y, por tanto, el tratamiento se busca antes en la progresión de la enfermedad. De 92 bovinos en los que se intentó una corrección quirúrgica del vólvulo intestinal, 13 fueron eutanasiados durante la cirugía, 25 murieron en las 24 horas siguientes a la cirugía, 13 murieron entre 2 y 7 días y 41 (45%) sobrevivieron.[4]

PREVENCIÓN

No es posible hacer recomendaciones específicas para elaborar estrategias para prevenir el vólvulo intestinal porque no se ha identificado ningún factor de riesgo. Algunos autores han sugerido que ir a pastar en pastos exuberantes es un factor de riesgo para el vólvulo intestinal.[5] Esta no ha sido nuestra experiencia. La alimentación con concentrados, los cambios frecuentes en la dieta, el alojamiento en confinamiento y la selección para conseguir una alta productividad pueden colocar al ganado lechero en un mayor riesgo en comparación con el de carne. Estas técnicas de manejo también se utilizan en operaciones de engorde, pero este ganado puede no ser presentado a tratamiento en hospitales de enseñanza debido a su menor valor económico percibido. Por tanto, las recomendaciones deberían tener el objetivo de optimizar la salud del ganado mediante cambios graduales en la dieta y el ambiente.

REFERENCIAS

1. Anderson DE, Constable PD, St-Jean G, Hull BL. Small-intestinal volvulus in cattle: 35 cases (1967-1992). J Am Vet Med Assoc 203:1178-1183, 1993.

2. Fubini SL, Smith DF, Tithof PK, et al. Volvulus of the distal part of the jejunoileum in four cows. Vet Surg 15:150-152, 1986.

3. Tulleners EP. Surgical correction of volvulus of the root of the mesentery in calves. J Am Vet Med Assoc 179:998-999, 1981.

4. Rademacher G. Diagnosis, therapy, and prognosis of the intestinal mesenteric torsion in cattle. Proceedings, XVII World Buiatrics Congress and XXV American Association of Bovine Practitioners Conference, St-Paul, Vol 1:137-142, 1992.

5. Willet MDJ. Intestinal torsion in cattle. N Z Vet J 18:42-43, 1970.

Enfermedades que se dan con más frecuencia en adultos

Síndrome Hemorrágico Intestinal (también conocido como, hematoma intraluminal-intramural)

Recientemente, se ha reconocido un síndrome en la vaca lechera adulta que implica una hemorragia intestinal intraluminal e intramural y una necrosis con la posterior formación de coágulos y obstrucción intestinal. Este síndrome ha sido denominado síndrome hemorrágico yeyunal (SHY), síndrome hemorrágico intestinal, hematoma intraluminal-intramural, panza sangrienta y enteritis hemorrágica. Los signos clínicos de esta enfermedad hiperaguda incluyen: postración, deshidratación, shock, distensión abdominal, anorexia, dolor abdominal, y ausencia de heces o producción de heces alquitranadas con coágulos de sangre (1-9). En muchos casos, la vaca es hallada muerta. Las vacas afectadas están, normalmente, en lactación temprana, produciendo grandes cantidades de leche, y son alimentadas con ensilado o una ración mixta total (RMT) (5-8). La tasa de mortalidad de los casos de este síndrome es notable (77%) (10, 11).

En la búsqueda de la causa de esta enfermedad, gran parte de la especulación ha caído sobre la *Clostridium perfringens* Tipo A (2, 6). Se sospecha de la *C. perfringens* Tipo A como causa o factor que contribuye en esta enfermedad porque se han hecho cultivos de este organismo a partir de los contenidos del intestino o de las heces de un gran número de vacas afectadas con el SHY (6, 10, 11). Sin embargo, no se han dado evidencias con respecto a la patogenicidad de estas cepas para relacionar la *C. perfringens* Tipo A con el desarrollo del síndrome hemorrágico yeyunal. Síndromes de enteritis hemorrágicas similares se han reportado en otras especies, algunos de los cuales se han relacionado con la *C. perfringens* (12-24). La *C. perfringens* Tipo A se ha vinculado a las úlceras abomasales y la abomasitis en terneros (23-31). No obstante, la *C. perfringens* Tipo A tambien se encuentra en el tracto gastrointestinal del ganado sin causar enfermedades clínicamente aparentes (23, 24, 32).

En la actualidad, se piensa que el SHY es una enfermedad multifactorial (2, 6-8, 10, 11). Los factores de riesgo propuestos incluyen la alimentación con ensilado o ración mixta total, alimentar con maíz finamente molido en la ración, etapa temprana de lactación, alto nivel de producción, y la alimentación de libre elección. Estos factores pueden crear un ambiente en el que el estrés, el excesivo almidón gastrointestinal y la acidosis subclínica del rumen permitan el desarrollo excesivo de las bacterias *C. perfringens* Tipo A en el tracto gastrointestinal. Estudios en terneros, corderos y pollos han inducido la enfermedad clínica por inoculación directa de cultivos puros de *C. perfringens* Tipo A o C en el rumen (23, 24, 26, 30), el duodeno (17, 33, 34) y las asas intestinales ligadas (34). Las enfermedades producidas de esta manera consistieron en enteritis hemorrágica, enterotoxemia, úlceras abomasales y/o abomasitis. Casos espontáneos de enteritis hemorrágica causada por especies de *Clostridium* también se han reportado en perros (16, 19), potros (12, 13, 15, 18, 22, 23), corderos (21, 23), cabras (20) y terneros (17-19, 31). Sin embargo, la inoculación de terneros vivos o asas intestinales ligadas con *C. perfringens* Tipo A no produjo signos clínicos de enterotoxemia o enteritis (34). Jelinski et al. no encontraron diferencias en la prevalencia de la *C. perfringens* Tipo A en los terneros con y sin úlcera abomasal/síndrome de abomasitis (28).

La prevalencia de la *C. perfringens* Tipo A en el intestino del ganado normal ha sido reportada entre 36,8% y 78,6% (25, 28, 35). La mayoría de los estudios han utilizado muestras obtenidas en las necropsias. Por tanto, la alta prevalencia de la *Clostridium* puede ser una sobreestimación asociada con la rápida proliferación postmortem. La *C. perfringens* Tipo A crece rápidamente en el intestino después de la muerte, por lo que la prevalencia en los animales vivos puede ser más baja que la reportada (23). De hecho, Amtsberg et al. reportaron *C. perfringen* en solamente el 33,9% de las heces de los terneros vivos (25). La *C. perfringens* Tipo A produce toxina-α, y algunas pueden producir una toxina beta2 (3, 7, 8, 23, 24, 36). El exceso de grano o almidón en el intestino delgado tiene una mayor probabilidad de llevar a una proliferación bacteriana repentina (2, 6, 23, 24, 27). Este pasaje de partículas de grano al intestino delgado puede ser un factor en la patogénesis del SHY en las vacas lecheras alimentadas con una RMT alta en grano. Se sospechó que la excesiva mezcla de RMT que causaba un maíz en polvo fino podía estar relacionada con un brote de casos clínicos de SHY en una granja (6). IMÁGENES

REFERENCIAS

1. Anderson BC. 'Point Source' haemorrhages in cows. Vet Rec 1991; 128:619-620.
2. Godden S, Frank R, Ames T. Survey of Minnesota dairy veterinarians on the occurrence and potential risk factors for jejunal hemorrhage syndrome in adult dairy cows. Bov Pract. 2001; 35:97-103.
3. Hattel A, Maddox C, Drake T, et al. Type A *Clostridium perfringens* associated with hemorrhagic and necrotizing enteropathy in adult dairy cattle. 50th Annual American Congress of Veterinary Pathologists Meeting, Chicago, November 1999.
4. Hermann JA. Thoughts on bowel treatment in cattle. J Am Vet Med Assoc 221; 1250.
5. Kirkpatrick MA, Timms L, Kersting KW, Kinyon J. Jejunal hemorrhage syndrome of dairy cattle. (Abstr) Bov Pract 2001; 35:135-136.
6. Kirkpatrick MA, Timms LL, Kersting KW, Kinyon JM. Case Report – Jejunal hemorrhage syndrome of dairy cattle. Bov Pract 2001; 35:104-116.
7. Maddox CW, Hattel AL, Drake TR, Weinstock D. Beta2 toxin positive *Clostridium perfringens* type A and fatal hemorrhagic enteritis of adult dairy cows. Winter-Spring Conference, Pennsylvania Vet Lab, Pennsylvania Anim Diag Lab System. March 1999.
8. Maddox C, Hattel A, Drake T, Weinstock D. *Clostridium perfringens* type A strains recovered from acute hemorrhagic enteritis of adult dairy cattle. Am Assoc Vet Lab Diagnosticians, 42nd Annual Meeting, AAVLD Abstracts, October 1999.
9. StJean G, Anderson DE. Intraluminal-intramural hemorrhage of the small intestine in cattle. In: Howard JE, Smith RA, eds. *Current veterinary therapy; food animal practice.* 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1999;539.
10. Dennison AC, VanMetre DC, Callan RJ, Dinsmore P, Mason GL, Ellis RP. Hemorrhagic bowel syndrome in dairy cattle: 22 cases (1997-2000). J Am Vet Med Assoc 2002; 221; 686-689.
11. Dennison AC, VanMetre DC, Callan R, Ellis RP. Hemorrhagic bowel syndrome in dairy cattle. *Proceedings* 19th Am Coll Vet Intern Med, Denver CO. 2001. p 354-355.
12. Bueschel D, Walker R, Woods L, Kokai-Kun J, McClane B, Songer JG. Enterotoxigenic *Clostridium perfringens* type A necrotic enteritis in a foal. J Am Vet Med Assoc 1998; 1305-1307.
13. East LM, Savage CJ, Traub-Dargatz JL, Dickinson CE, Ellis RP. Enterocolitis associated with *Clostridium perfringens* infection in neonatal foals: 54 cases (1988-1997). J Am Vet Med Assoc 212; 1751-1756.
14. Estrada Correa AE, Taylor DJ. Porcine *Clostridium perfringens* type A spores, enterotoxin and antibody to enterotoxin. Vet Rec 1989; 124:606-610.
15. Jones RL, Adney WS, Alexander AF, Shideler RK, Traub-Dargatz JL. Hemorrhagic necrotizing enterocolitis associated with *Clostridium difficile* infection in four foals. J Am Vet Med Assoc 1988; 193:76-79.

16. Kruth SA, Prescott JF, Welch MK, Brodsky MH. Nosocomial diarrhea associated with enterotoxigenic *Clostridium perfringens* infection in dogs. J Am Vet Med Assoc 1989; 195:331-334.
17. Niilo L. Experimental production of hemorrhagic enterotoxemia by *Clostridium perfringens* Type C in maturing lambs. Can J Vet Res 1986; 50:32-35.
18. Pearson EG, Hedstrom OR, Sonn R, Wedam J. Hemorrhagic enteritis caused by *Clostridium perfringens* type C in a foal. J Am Vet Med Assoc 1986; 188:1309-1310.
19. Prescott JF, Johnson JA, Patterson JM, Bulmer WS. Haemorrhagic gastroenteritis in the dog associated with *Clostridium welchii*. Vet Rec 1978; 103:116-117.
20. Russell WC. Type A enterotoxemia in captive wild goats. J Am Vet Med Assoc 1970; 157:643-646.
21. Shaw WB. Intestinal haemorrhage syndrome in artificially reared lambs. (Letter). Vet Rec 1971; 88:700.
22. Sims LD, Tzipori S, Hazard GH, Carroll CL. Haemorrhagic necrotising enteritis in foals associated with *Clostridium perfringens*. Aust Vet J 1985; 62:194-196.
23. Songer JG. Clostridial enteric diseases of domestic animals. Clin Microbiol Rev 1996; 9:216-234.
24. Songer JG. *Clostridium perfringens* Type A infection in cattle. Bov Pract 1999; 32:40-44.
25. Amtsberg G, Bisping W, Matthiesen I, Krabisch P. Zum Vorkommen und zur pathogenen Bedeutung von *Clostridium perfringens* beim Kalb 2. Mitteilung: Infektionsversuche, Ligaturtest und Prüfung auf Enterotoxinbildung zur Klärung der pathogenen Bedeutung von *Clostridium perfringens* Typ A. Zbl Vet Med B 1977; 24:183-197.
26. Amtsberg G, Bisping W, Krabisch P, Matthiesen I. Zum Vorkommen und zur pathogenen Bedeutung von *Clostridium perfringens* beim Kalb 1. Mitteilung: Quantitative bakteriologische Untersuchungen zum *Clostridium perfringens*-Keimgehalt im Kot und Darminhalt von gesunden und erkrankten Kälbern. Zbl Vet Med B 1977; 24:104-113.
27. Hogle RM. Clinical and laboratory diagnosis of enterotoxemia of cattle. Vet Med/SAC 1975; 70:983-986.
28. Jelinski MD, Ribble CS, Chirino-Trejo M, Clark EG, Janzen ED. The relationship between the presence of *Helicobacter pylori*, *Clostridium perfringens* type A, *Campylobacter* spp., or fungi and fatal abomasal ulcers in unweaned beef calves. Can Vet J 1995; 36:379-382.
29. Mills KW, Johnson JL, Jensen RL, Woodard LF, Doster AR. Laboratory findings associated with abomasal ulcers/tympany in range calves. J Vet Diagn Invest 1990; 2:208-212.
30. Roeder BL, Chengappa MM, Nagaraja TG, Avery TB, Kennedy GA. Experimental induction of abomasal tympany, abomasitis, and abomasal ulceration by intraruminal inoculation of *Clostridium perfringens* type A in neonatal calves. Am J Vet Res 1988; 49:201-207.
31. Roeder BL, Chengappa MM, Nagaraja TG, Avery TB, Kennedy GA. Isolation of *Clostridium perfringens* from neonatal calves with ruminal and abomasal tympany, abomasitis, and abomasal ulceration. J Am Vet Med Assoc 1987; 190:1550-1555.
32. Mylrea PJ. The bacterial content of the small intestine of young calves. Res Vet Sci 1969; 10:394-395.
33. Al-Sheikhly F, Truscott RB. The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of broth cultures of *Clostridium perfringens* into the duodenum. Avian Dis 1977; 21:230-240.
34. Niilo L, Dorward WJ. The effect of enterotoxigenic *Clostridium welchii (perfringens)* Type A on the bovine intestine. Res Vet Sci 1971; 12:376-378.
35. Vance HN. A survey of the alimentary tract of cattle for *Clostridium perfringens*. Can J Comp Med Vet Sci 1967; 31:260-264.
36. Yoo HS, Lee SU, Park KY, Park YH. Molecular typing and epidemiological survey of prevalence of *Clostridium perfringens* types by multiplex PCR. J Clin Microbiol 35; 228-232.

Tabla 1. Morbilidad y Mortalidad de los terneros con atresia intestinal

Variable	Terneros afectados	Número de supervivientes (% categoría)	Número de no supervivientes (% categoría)
Terneros con atresia intestinal			
Ano-perineal	4	4 (100)	0 (0)
Laparotomía y ano-perineal	7	3 (43)	4 (57)
Laparotomía y estoma en el flanco	7	0 (0)	7 (100)
Atresia coli			
Anastomosis extremo-a-lado	12	7 (58)	5 (42)
Anastomosis lado-a-lado	36	18 (50)	18 (50)
Atresia coli			
Anastomosis extremo-a-lado	11	8 (73)	3 (27)
Anastomosis lado-a-lado	23	10 (43)	13 (57)
TOTAL	100		

Tabla 2. Hallazgos en el examen físico, hematológicos y bioquímicos en suero de los terneros supervivientes y no-supervivientes con *atresia coli*.

Variable	Supervivientes (media)	No-supervivientes (media)
Examen físico		
Frecuencia cardíaca	140	156
Ritmo respiratorio	46	60
Temperatura	38,8	38,8
Edad	2,5	3
Hematología		
PCV %	38	42
T.P. g/dl	7,4	7,5
Bioquímica en suero		
Na meq/l	140	142
K meq/l	4,6	5,1
Cl meq/l	93	91
HCO3 meq/l	31	29
pH	7,4	7,36
Brecha aniónica meq/l	20	28

ENGLISH VERSION ▼

Surgical Diseases of the Small Intestine

David E. Anderson, DVM, MS, DACVS
Professor and Head, Large Animal Clinical Sciences
College of Veterinary Medicine
University of Tennessee
Knoxville, Tennessee, USA

Surgical disorders of the gastrointestinal tract of cattle occur occasionally, and veterinarians are challenged to determine an accurate diagnosis and treatment for these conditions. Although surgical diseases most commonly occur in the forestomachs (dislocated abomasum, reticuloperitonitis) and the colons (cecal dilatation), this paper will focus on lesions in the small intestine (duodenum, jejunum, ileum).

Diseases Only occurring in neonatal calves

Intestinal Atresia

Atresia of various segments of the intestinal tract of calves have been described. In one study of 58 calves with intestinal atresia, 18 calves had single atretic segments, while 40 calves suffered multiple atretic segments (Martens 1995) (Table 1)These congenital disorders may be obvious and diagnosed rapidly after birth, such as atresia ani, or be inapparent for several days until abdominal distension, lack of fecal output, or clinical deterioration of the calf draws attention to the abnormality. Although atresia ani is likely the most common intestinal atresia encountered, atresia coli is most represented in the scientific literature. Atresia coli has been most commonly reported in dairy calves, especially Holsteins. The author has diagnosed atresia coli in a variety of beef breeds including Charolais, Angus, Short Horn, and Polled Hereford calves. The cause of atresia coli is unknown but genetic and iatrogenic causes have been proposed. Although an autosomal recessive trait was identified for Jersey cattle with atresia jejuni, genetic predisposition to atresia coli was estimated with a heritability factor of only 0.08 (Barker 1985; Willer 1984). However, large population studies have suggested an association with transrectal manipulation of the embryo vesicle for pregnancy diagnosis (Hess 1982). Cows having pregnancy diagnosis via transrectal palpation before 42 days gestation seemed more likely to have calves with atresia coli, but the incidence of the anomaly was low. Also, a report of twin Holstein calves, one with and one without atresia coli, would seem to argue against a heritable trait (Hoffsis 1977).

Clinical Signs

Calves affected by atresia coli that have been closely monitored and evaluated from birth may be recognized by absence of fecal matter during the first 12 to 24 hours of life. Administration of cathartics or enemas has no effect, but mucous without fecal matter may be observed at the anus with increasing age. Often, atresia coli calves are not presented for evaluation until they are 3 to 5 days old. The most common client observations are decreased apetite, absence of feces, depression, and progressive abdominal distention.

Diagnosis

Initially, ultrasonographic examination of the abdomen will reveal the presence of normal to mildly distended intestine with normal to hypermotile activity. After several days, transabdominal palpation yields mild to moderate intestinal distension and pain is easily elicited. Careful palpation of the right paralumbar fossa reveals the presence of 2 to 3 distended intestinal loops of the spiral colon and cecum. Ultrasonographic examination of the abdomen reveals the presence of moderate to severe intestinal distention and hypermotile to non-motile activity. Auscultation of the abdomen reveals positive “fluid and gas” sounds if intestinal motility is present. Simultaneous auscultation and percussion of the abdomen yields “pings” of variable pitch and location. Simultaneous auscultation and succession of the abdomen yields fluid waves and “sloshing” sounds as if shaking a half-filled bag of water.

Hematology variables remain normal during the first 48 hours of the disease, but dehydration ensues with fluid retention and bacterial overgrowth within the intestines. HCT and TP increase and a degenerative left shift develops progressively as bacterial toxins are elaborated and as necrosis of the intestinal wall ensues. (Table 3) Serum biochemistry values remain normal within the first 48 hours of disease, but azotemia, hypochloremia, hypokalemia become progressively severe with time. Failure of passive transfer of maternal antibodies is not uncommon in affected calves. However, if adequate ingestion of colostrum occurs at birth, immunoglobulin transfer is usually normal.

Definitive diagnosis is made by exploratory laparotomy. Some authors have described passage of a tube through the anus to determine the length of rectum present, performance of positive contrast rectal radiography, or rectal endoscopy for diagnosis of atresia coli or to rule out atresia recti. The author prefers not to perform these procedures, but rather to make a diagnosis by exploratory laparotomy because of the high risk associated with perforation of the rectum into the abdominal cavity. Right paralumbar fossae celiotomy provides optimal access to the rectum and atretic segments. Although ventral midline celiotomy may be done, the mesenteries of the intestine, especially the terminal colons, are quite short and will prevent exteriorization or isolation of the effected intestine difficult. Right paralumbar celiotomy should be done in the dorsal and caudal aspect of the PLF to optimize examination of the spiral colon, descending colon, and rectum. A diagnosis of atresia coli is made by examination of the spiral colon and cecum and identification of the blind ended proximal loop. Occassionally the entirety of the spiral colon is abscent.

Treatment

Surgical correction may be performed by end-to-end or side-to-side anastomosis of the proximal loop to the recum. The author prefers side-to-side anastomosis to maximize the dimension of the stoma created. A large bore (18 to 24 F; 6 to 8 mm diameter), soft rubber catheter is placed into the rectum via the anus to improve identification, handeling, and anastomosis of the rectum. The rectal wall typically is underdeveloped because of absence of stimulation during gestation (e.g. absence of meconium). Thus the rectum must be handeled carefully. The spiral colon is suctioned free of all gas or a small (1 to 2 cm length) enterotomy can be performed to remove gas and fluid from the colon and cecum. The enterotomy is closed prior to conducting the anastomosis. The most accessible segment of colon is placed alongside the rectum and seromuscular stay sutures are placed to maintain positioning without tension of the anastomotic site. Then, a 5 to 8 cm long enterotomy is performed of the rectum, then colon and a side-to-side anastomosis performed. The abdominal cavity is lavaged and the abdominal wall closed in a three-layer fashion. The author often uses a large Foley cather to maintain the anastomotic lumen for 48 to 72 hours after surgery because the fecal consistency is thick and prone to impaction of the anastomosis site.

Postoperatively, calves are returned to a milk diet and laxitives may be used (e.g. magnesium hydroxide) to soften the feces for

3 to 5 days after surgery. The most common complications are peritonitis, obstruction of the anastomosis, diarrhea, dehydration and death. Calves that survive short-term are prone to prolonged diarrhea and electrolyte disturbances because of limited colon length and surface area.

Prognosis

Survival of calves with atresia coli is influenced by the age at the time of surgery and the integrity of the colons. Calves having surgery before 72 hours old are more likely to survive than calves undergoing surgical correction after 5 days old. Smith et al found that calves having end-to-side anastomosis after resection of the blind loop/cecum had a better survival rate than calves in which side-to-side anastomosis was performed without removal of the blind loop. Overall, calves have a guarded (approximately 60%) chance of survival from surgery, but a poor prognosis (approximately 40%) chance of long-term survival for productivity.

Diseases occurring most commonly in calves

Trichobezoars

Intraluminal obstruction of the intestinal tract of cattle, sheep, and goats is most commonly caused by a trichobezoar, phytobezoar, or enterolith.[1,2] These foreign bodies form in the rumen or abomasum and may pass into the intestinal tract where they become lodged within the small intestine or spiral colon. Hair balls (trichobezoar) are caused by frequent ingestion of hair (Figure 1, 2). This is seen most commonly in cattle infested with lice or mange, or during the spring when shedding of the winter hair coat occurs. Phytobezoars and enteroliths form around undigested materials (e.g., nylon fibers, cotton fabric). In a necropsy survey of 166 dead calves less than 90 days old in Western Canada, 56 calves died because of perforation of an abomasal ulcer.[3] Calves having an abomasal ulcer were 2.74 times more likely to have an abomasal hairball. Calves less than 31 days old and having an abomasal ulcer were 3.81 times more likely to have an abomasal hair ball. However, the authors were unable to establish a causative relationship between the presence of abomasal hairballs and a perforating ulcer. During a study of confined cattle being fed a roughage limited diet, cows began biting hair from each others hair coat and developed multiple ruminal hair balls (range of 2 to 10 hair balls weighing 0.2 to 3.8 kg each).[4] The investigators speculated that the cows began "grazing" hair because of the lack of roughage in the diet, boredom, and high stocking density. One report describes clinical findings in 2 sheep having 107 individual hair balls.[5] The authors speculated that pruritus or some unknown dietary deficiency was the cause of excessive ingestion of the wool.

CLINICAL SIGNS

Animals affected with ruminal or abomasal bezoars may be observed to have decreased appetite, weight loss, decreased fecal production, lethargy, and apparent depression. Multiple bezoars present in the rumen or abomasum of calves, sheep, and goats may be found during transabdominal palpation or on abdominal radiographs. When an obstruction of the small intestine or spiral colon occurs, affected animals initially show clinical signs of abdominal pain (restlessness, kicking at the abdomen, lying down and getting up frequently, arching the back, stretching out of the legs while standing) and progress to recumbency and apparent depression. Progressive bloat or abdominal distention and lack of fecal production are noted.

CLINICAL PATHOLOGY

Serum biochemistry analysis reveals hypokalemic, hypochloremic, metabolic alkalosis, the severity of which depends on the duration and location of the lesion. These changes are most severe with proximal intestinal obstruction and become more severe with increasing duration. If ischemic necrosis of the intestinal wall has occurred, an inflammatory leukogram with increased numbers of immature neutrophils may be seen. As peritonitis develops and organic acids are released into the blood stream, the serum biochemistry changes to a metabolic acidosis with relative hyperkalemia. These changes are consistent with a poor prognosis. Perforation of an abomasal ulcer or rupture of the intestine and contamination of the abdomen with ingesta carries a poor to grave prognosis.

DIAGNOSIS

In affected cattle, serum biochemistry changes are consistent with intestinal obstruction. Rumen chloride concentration may be elevated (rumen Cl > 30 mEq/l). The cause of intraluminal obstruction is rarely palpable per rectum, but small intestinal distention may be palpable. Ultrasonographic examination of the abdomen may be useful in calves and small ruminants. Intraluminal intestinal obstruction should be suspected in cattle with recurrent rumen tympanites which is transiently responsive to decompression and is associated with minimal fecal production. Differential diagnoses include intussusception, vagus indigestion syndrome, intestinal lymphosarcoma, fat necrosis, intestinal entrapment around anomalous fibrovascular bands, and volvulus of the jejunoileal flange.

TREATMENT

Trichobezoars, phytobezoars, or enteroliths located within the rumen are unlikely to cause clinical signs unless the number and magnitude of the foreign bodies is severe (e.g., two sheep in which hair balls accounted for > 10% of the animals' body weight[5]). A cow suffered esophageal obstruction after suspected attempted regurgitation of a rumen trichobezoar.[6] Ruminal foreign bodies are removed via a left paralumbar fossa celiotomy and rumenotomy (see traumatic reticuloperitonitis). We prefer to close the rumen with absorbable monofilament suture material (e.g., No 1 polydioxanone) using two layers of an inverting suture pattern (e.g., Cushing, Lembert patterns). Abomasal hair balls may cause pyloric obstruction which leads to rapid onset of abdominal distention. The authors' prefer to perform a right paramedian or ventral paracostal laparotomy to exteriorize the abomasum. An abomasotomy is performed along the greater curvature of the abomasum, the foreign bodies removed, and the abomasum is closed with absorbable monofilament suture material (e.g., No 0 polydioxanone) using two layers of an inverting suture pattern. When obstruction of the duodenum, jejunum, or spiral colon is suspected, a right paralumbar fossa celiotomy and exploration of the abdomen should be performed. The foreign body is found by exteriorizing a segment of normal, or distended intestine and tracing this segment oral, or aboral respectively, until the obstruction is found. This segment of intestine is exteriorized from the abdomen, isolated using moistened surgical towels, and an enterotomy performed. After removal of the foreign body, the enterotomy is closed with absorbable suture material (e.g., No 2-0 polydioxanone, polyglactin 910) using two lines of an inverting suture pattern. The enterotomy may be closed transversely to maximize the lumen of the affected segment of intestine and minimize the tension endured by the suture line during contraction of the intestinal wall. When the perceived economic value of the affected cattle is high, surgery may be performed with the patient under general anesthesia. This will minimize the risk of ingesta contamination of the abdomen during surgery.

Intravenous fluid therapy is based on the clinical estimate of dehydration, severity of intestinal lesions identified at surgery, and severity of serum biochemistry changes. In general, cattle should receive 20 to 60 liters of isotonic saline, intravenously, over 12 hours. We routinely add calcium (1 ml of 23% calcium gluconate / kg body weight) and dextrose (to create a 1.25% solution) to the IV fluids. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (banamine, 1 mg/kg body weight, IV, q12hrs X 3 days) and antibiotics (for 3 to 5 days) also are administered.

PROGNOSIS

The prognosis for return to productive use is based on the animal's body condition, severity of changes in serum biochemistry variables[7], presence of visceral perforation or peritonitis, and ability to perform surgical removal of the foreign body without contaminating the abdomen. Cattle that are less than 10 % dehydrated, have mild to moderate hypochloremic (e.g., Cl > 80 mEq/l) metabolic alkalosis (e.g., bicarbonate > 32 mEq/l) have a fair to good prognosis for recovery. Cattle that are more than 10% dehydrated, have severe hypochloremia (e.g., Cl < 80 mEq/l) and metabolic acidosis (e.g., bicarbonate < 20 mEq/l), or have visceral perforation have a poor prognosis for survival. Therefore, immediate surgical intervention is required for alleviation of clinical signs caused by intraluminal foreign bodies.

PREVENTION

Intraluminal obstruction of the intestinal occurs infrequently in cattle. The sporadic nature of the problem limits recommendations for prevention. Adequate dietary roughage should be made available to cattle at all times. Lice control strategies, particularly during the winter months, will prevent pruritus associated ingestion of hair.

References

1. Pearson H, Pinsent PJN. Intestinal obstruction in cattle. Vet Rec 101:162-166, 1977.

2. Pearson H. The treatment of surgical disorders of the bovine abdomen. Vet Rec 92:245-254, 1973.

3. Jelinski MD, Ribble CS, Campbell JR, et al. Investigating the relationship between abomasal hairballs and perforating abomasal ulcers in unweaned beef calves. Can Vet J 37:23-26, 1996.

4. Cockrill JM, Beasley JN, Selph RA. Trichobezoars in four Angus cows. Vet Med Sm An Clin 73:1441-1442, 1978.

5. Ramadan RO. Massive formation of trichobezoars in sheep. Agri-Practice 16:26-28, 1995.

6. Patel JH, Brace DM. Esophageal obstruction due to a trichobezoar in a cow. Can Vet J 36:774-775, 1995.

7. Anderson DE, Constable PD, St-Jean G, et al. Small-intestinal volvulus in cattle: 35 cases (1967-1992). J Am Vet Med Assoc 203:1178-1183, 1993.

Intussusception

Intussusception refers to the invagination of one segment of intestine into an adjacent segment of intestine. The invaginated portion of intestine is termed the intussusceptum, and the outer, or receiving, segment of intestine is termed the intussuscipiens. Intussusception occurs sporadically in cattle of all ages, breeds, and gender and may be seen at anytime during the year.[1,2] However, in a case-control epidemiologic study of 336 cattle, intussusception occurred most commonly in calves less than 2 months old, Brown Swiss cattle appeared to be over-represented, and Hereford cattle appeared to be under-represented compared with Holstein cattle.[1] Although the inciting cause is rarely identified, intussusception may occur secondary to enteritis, intestinal parasitism, sudden changes in diet, mural granuloma or abscess, intestinal neoplasia (esp. adenocarcinoma), mural hematoma, and administration of drugs which affect intestinal motility. Any focal disturbance of intestinal motility may facilitate the invagination of an orad segment into an aborad segment of intestine. Intussusception occurs most commonly in the distal portion of the jejunum, but intussusception has been found affecting the proximal jejunum, ileum, cecum, and spiral colon.[1-7] In a review of 336 intussusceptions in cattle, 281 affected the small intestine, 7 were ileocolic, 12 cecocolic, and 36 colocolic.[1]

CLINICAL SIGNS

Cattle affected with intussusception demonstrate clinical signs of abdominal pain (restlessness, kicking at the abdomen, lying down and getting up frequently, assuming abnormal posture) for up to 24 hours after the onset of disease. Cattle are frequently anorectic, lethargic, and reluctant to walk. After the initial signs of abdominal pain subside, affected cattle become progressively lethargic, recumbent, and show apparent depression. Abdominal distention becomes apparent after 24 to 48 hours duration. This is caused by gas and fluid distention of the forestomach and intestines, and sequestration of ingesta within the gastrointestinal tract results in progressive dehydration and electrolyte depletion. Heart rate will increase proportionally to abdominal pain, intestinal necrosis, and dehydration. Fecal production may be normal for up to 12 hours after the occurrence of the intussusception, but minimal fecal production is noted after 24 hours duration. Passage of blood and mucous from the rectum is common at this time.

CLINICAL PATHOLOGY

Hemoconcentration is usually present (increased PCV and T.P.), and an inflammatory leukogram may be seen if ischemic necrosis of the intussusceptum has occurred. Often, changes in the white blood cell count and differential are minimal and changes in peritoneal fluid constituents are not seen because the intussusceptum is isolated by the intussuscipiens. Hypochloremic, metabolic alkalosis is found with serum biochemistry analysis. Hyponatremia, hypokalemia, hypocalcemia, azotemia, and hyperglycemia also may be found. The magnitude of these changes is dependent on the location and duration of the lesion. Proximal jejunal intussusception causes rapid and severe dehydration, electrolyte sequestration, and metabolic alkalosis. Most lesions occur in the distal jejunum and may require more than 48 hours to develop these changes. Elevation of rumen chloride concentration (> 30 mEq/l) may be found if fluid distention of the rumen is present.

DIAGNOSIS

Diagnosis of intussusception is usually made during exploratory laparotomy. Occasionally the intussusception can be felt during rectal palpation, but distention of multiple loops of small intestine is most commonly identified. In our experience, an intussusception may be present for 48 hours or more in adult cattle without being able to find intestinal distention during rectal palpation. In calves and small ruminants, percutaneous palpation and ultrasonographic examination of the abdomen may be used to identify intestinal distention and, possibly, the intussusception. It should be suspected in cattle with a history of abdominal pain andabdominal distention, scant feces consisting of blood and mucous, and palpable distention of the intestine. Differential diagnoses in-

clude primary indigestion, functional ileus, trichobezoar, foreign bodies, intestinal incarceration or strangulation, vagal syndrome, intestinal neoplasia, fat necrosis, and jejunoileal flange volvulus.

TREATMENT

Affected cattle must be stabilized before surgical intervention is performed. Fluid therapy should be aimed to replace fluid and electrolyte deficits. Surgical correction may proceed after the patient has been assessed as a suitable candidate. Right paralumbar fossa exploratory laparotomy is the surgical approach of choice for treatment of intussusception. The majority of the small intestine of cattle has a short mesentery, preventing adequate exteriorization of the intussusception through a ventral midline incision. Also, the attachments of the greater omentum limit exposure with this approach. The presence of the rumen in the left hemi-abdomen prevents adequate exteriorization of the intussusception through a left paralumbar incision. Most often, diagnostic exploratory laparotomy is performed with the cow standing after regional anesthesia. Tension on the mesentery of the small intestine results in pain and cattle may attempt to lie down during the procedure. Of 35 cattle having standing right paralumbar fossa laparotomy for resection of intussusception, 14 % became recumbent and 26 % attempted to become recumbent during the surgery.[1] Pre-operative planning should include anticipation of this possibility. When intussusception is suspected and the animal is of high perceived economic value, right paralumbar fossa celiotomy may be performed with the patient under general anesthesia and in left lateral recumbency. The intussusception may be more difficult to elevate through the incision in recumbent cattle because the fluid filled bowel gravitates away from the surgical site, but isolation and resection of the intussusception can be done without risk of the animal lying down during the procedure and with minimal risk of contamination of the abdomen.

Surgical removal by resection and anastomosis is the treatment of choice for intussusception. The intussusception is exteriorized from the abdomen and isolated using a barrier drape and moistened towels. Manual reduction of the intussusception is not recommended because of the risk for rupture of the intestine during manipulation, probable ischemic necrosis of the intestine after surgery, possible reoccurrence of the intussusception, and prolonged ileus caused by motility disturbance and swelling in the affected segment of bowel. FIGURE The margins for excision are selected in healthy appearing intestine. In general, the distal margin may be 10 cm aborad to the lesion, but the proximal margin should be a minimum of 30 cm orad to the lesion. The larger proximal segment is chosen because chronic distention, inflammation, microvascular thrombosis, relative ischemia, and noxious ingesta accumulated in this segment may cause severe and prolonged post-operative ileus. Cattle has a short mesentery, therefore traction on it is painful and the animal may go down a this moment. This short mesentery preclude adequate exteriorization of some segment of the small bowel. Only the portion to be resected should be exteriorized to avoid excessive traction and contamination during the resection-anastomosis. Infiltration of lidocaine 2% into the mesentery where it is planned to be resected, may decrease the pain of traction. The mesenteric vessels (arteries and veins) are ligated using “mass ligation” with absorbable suture material (No 3 chromic gut, No 1 polyglactin 910) being sure not to compromise the blood supply to the intestine to be preserved. Mass ligation is required because cattle do not have an arcuate vascular anatomy as do horses and the fatty mesentery render vessels identification impossible. The sutures are placed in an overlapping pattern such that double ligation of the vessels is accomplished. This technique may be performed rapidly and efficiently. In our experience, stapling instrumentation is highly unreliable for occlusion of mesenteric vessels because of the large amount of fat normally found in the intestinal mesentery of cattle. When we have used stapling instruments, extensive manual ligation was required to control hemorrhage. After completion of mesentery ligation and transection, Doyen intestinal forceps are used to occlude the lumen of the normal and abnormal bowel. Then, the intussusception and associated bowel is resected and discarded. The proximal segment of bowel is carefully exteriorized to its maximum length and the Doyen forceps is removed. Ingesta within the intestine orad to the lesion is “milked” out through the enterectomy site being careful not to contaminate the incision or abdomen with ingesta. This procedure will lessen the severity of post-operative ileus and shorten convalescence. The two segments of intestine are reunited by end-to-end or side-to-side anastomosis with an absorbable suture material (No 2-0 polydioxanone or polyglactin 910) using a simple continuous suture pattern. The anastomosis is performed in three overlapping suture lines, each placed in 1/3 of the circumference, or in four overlapping suture lines, each placed in 1/4 of the circumference so that a “purse-string” effect is not created. The initial suture line should be placed at the mesenteric attachment because this is the most likely site for leakage to occur. A second row of sutures is placed to prevent leakage using interrupted segments of inverting suture patterns (e.g., Cushing or Lembert). The affected intestine is thoroughly washed with sterile isotonic fluids, checked for the presence of leakage, and replaced into the abdomen. We prefer to place a solution of antibiotic (5 million units potassium penicillin G, or 1 gram of sodium ceftiofur), heparin (20 units/kg body weight), and saline (1000 ml) into the abdomen before closing the abdominal wall in routine fashion.

Post-operative management should be directed to prevent dehydration, maintain optimal blood electrolyte concentration, control for infection and inflammation, and stimulate appetite. Intravenous fluids are beneficial during the first 24 hours after surgery. We routinely perform rumen transfaunation 12 to 24 hours after surgery to stimulate forestomach motility and appetite. Withholding food after surgery should not be done. Administration of butorphenol tartrate (0.02 to 0.04 mg/kg, IV) may help with pain induced ileus by providing mild visceral analgesia without direct adverse effects on intestinal motility.

PROGNOSIS

The prognosis for return to productivity after surgical correction of intussusception is variable and somewhat dependent on the duration of the lesion. In our experience, cattle respond favorably to surgery if operated within 48 hours of the onset of the disease. Cattle presenting with severe dehydration (>12 %), tachycardia (HR > 120 bpm), severe decrease in serum chloride concentration (Cl < 80 mEq/l), and severe abdominal distention are considered to have a poor prognosis for survival. In our experience, calves respond more favorably to surgery than adult cattle. If viscera rupture is present at the time of surgery, the prognosis is grave. Of cattle in which surgical correction was attempted, 85 of 143 cattle with small intestinal intussusception, 0 of 4 with ileocolic, 10 of 11 with cecocolic, and 10 of 20 with colocolic were discharged from the hospital.[1]

PREVENTION

Recommendations for prevention of intussusception are difficult because the cause is seldom identified and a seasonal predilection has not been demonstrated. Changes in dietary management should be made gradually, and good hygiene and control strategies should be practiced to minimize transmission of enteric diseases or internal parasites.

REFERENCES

1. Constable PD, St-Jean G, Hull BL, et al. Intussusception in cattle: 336 cases (1964-1993). J Am Vet Med Assoc , 1997.

2. Pearson H. Intussusception in cattle. Vet Rec 89:426-437, 1971.

3. Smart ME, Fretz PB, Gudmundson J, et al. Intussusception in a Charolais bull. Can Vet J 18:244-246, 1977.

4. Archer RM, Cooley AJ, Hinchcliff KW, et al. Jejunojejunal intussusception associated with a transmural adenocarcinoma in an aged cow. J Am Vet Med Assoc 192:209-211, 1988.

5. Horne MM. Colonic intussusception in a Holstein calf. Can Vet J 32:493-495, 1991.

6. Hamilton GF, Tulleners EP. Intussusception involving the spiral colon in a calf. Can Vet J 21:32, 1980.

7. Strand E, Welker B, Modransky P. Spiral colon intussusception in a three-year-old bull. J Am Vet Med Assoc 202:971-972, 1993.

Diseases occurring without age predilection

INTESTINAL VOLVULUS

Volvulus refers to the rotation of viscera about its mesenteric attachment. Torsion refers to the rotation of viscera about its own (or long) axis. Although torsion of the abomasum and uterus are found in cattle, torsion of the small intestine is rare. Small intestinal volvulus may occur in different forms.[1-3] The most severe form of intestinal volvulus originate from the the root of the mesentery and involves the entirety of the small intestine and mesenteries. Volvulus of the root of the mesentery causes obstruction of venous outflow and arterial blood supply to the intestines. Ischemic necrosis of the intestine occurs rapidly which causes metabolic acidosis, shock, and death. Volvulus of the jejunoileal flange refers to volvulus of the mid- to distal jejunum and proximal ileum where the mesentery is long. This long mesentery and associated bowel has been termed the "flange" and may rotate about its mesentery without involving the remaining small intestine. Often, arterial occlusion is not found with volvulus of the jejunoileal flange, possibly because extensive fat deposits within the mesentery may prevent compression of the muscular wall of the arteries until the volvulus becomes severe. However, obstruction of outflow of venous blood may be equally detrimental because of mural edema, shunting of blood away from the mucosa, and progressive ischemia.

Cattle of any breed, age, or sex may be affected by intestinal volvulus at any time during the year. In a review of 190 cattle having intestinal volvulus, dairy breeds were at a higher risk of developing volvulus compared with beef breeds.[1] This difference was felt to be associated with differences in management. Neither lactation nor gestation were identified as risk factors, and calves were not found to be at an increased risk compared with adult cattle. In a separate study of 100 cattle having intestinal volvulus, 86 were calves between 1 week and 6 months old.[4]

CLINICAL SIGNS

Cattle having volvulus of the root of the mesentery may be found dead with severe abdominal distention. Early in the course of the disease, affected cattle demonstrate acute, severe abdominal pain (kicking at the abdomen, rolling, lying down and getting up frequently, grunting) and have marked elevation in heart rate (> 120 bpm) and respiratory rate (> 80 bpm). The rapid progression of the disease precludes development of significant dehydration, but cardiovascular shock is usually present.

Cattle having volvulus of the jejunoileal flange may present similarly to cattle having volvulus at the root of the mesentery. However, these cattle often demonstrate clinical signs consistent with acute intestinal obstruction rather than in cardiovascular shock. Cattle show signs of abdominal pain, are tachycardia (80 to 120 bpm), and pass minimal feces. Cattle may be dehydrated at the time of examination.

CLINICAL PATHOLOGY

Because of the rapid onset and progress, cattle having Intestinal volvulus may not demonstrate changes in serum biochemistry or hematology data. The changes expected with intestinal volvulus are consistent with intestinal obstruction, stress, and dehydration: azotemia, hypocalcemia, hyperglycemia, and a leukocytosis with a mild left shift.[1] In the early stages of the disease, cattle develop alkalemia with normal serum potassium concentration. As cardiovascular compromise and intestinal ischemia proceed, cattle develop metabolic acidosis and hyperkalemia. Cattle having the shift to acidosis and hyperkalemia have a poor prognosis for survival.[1]

DIAGNOSIS

Diagnosis of intestinal volvulus is by exploratory laparotomy. Rectal palpation reveals multiple loops of distended intestine filling the caudal abdomen and excessive tension on the intestinal mesentery. Simultaneous auscultation and percussion of the abdomen yields multifocal pings of variable pitch and location. Findings of scant feces, abdominal pain, sudden onset of abdominal distention, and multiple loops of distended intestine on rectal palpation in cattle are highly suggestive of intestinal volvulus. Differential diagnoses include intussusception, cecal volvulus, abomasal volvulus, intraluminal obstruction, and severe indigestion.

TREATMENT

Immediate surgical correction is the treatment of choice. Intravenous fluids should be administered to treat cardiovascular shock, but preparation for surgery should not be delayed. The volvulus must be corrected before irreversible ischemic injury or thrombosis of the mesenteric arteries has occurred. A right paralumbar fossa laparotomy with the cow standing is the approach of choice. Restoration of normal anatomic position of the intestines is more easily donewith the patient standing. Cattle that are felt to be at great risk of becoming recumbent during surgery should be placed under general anesthesia, in left lateral recumbency, and the laparotomy performed through the right paralumbar fossa. The presence of the volvulus and the direction of the twist are assessed by palpating the root of the mesentery and, in the case of jejunoileal flange volvulus, following this ventrally to the location of the twist. The intestinal mass is gently de-rotated being careful not to cause rupture of the viscera. This procedure may require exteriorization of various portions of the intestinal mass. After correction of the volvulus, the intestinal tract should be examined for evidence of non-viable bowel. If the intestine is compromised (arterial thrombosis, blackened serosa, friable wall of the affected segment, mural edema), then intestinal resection and anastomosis is indicated (see Intussusception). Also, exploration of the abdomen should be done to rule-out the presence of a second lesion (abomasal displacement, fecalith, intussusception, anomalous fibrovascular bands, peritonitis, etc.).

Post-operative management is directed toward maintaining optimal hydration, electrolyte, and acid-base status. Antibiotics and anti-inflammatory drugs are indicated. Ileus may be seen during the first 48 hours after surgery, but the use of prokinetic drugs should be weighed against the risk of leakage at the site of the anastomosis if intestinal resection was performed. Passage of large volumes of diarrhea within 24 hours after surgery is considered to be a favorable prognostic indicator.

PROGNOSIS

Prognosis varies with the severity and duration of the lesion. Prognosis for survival for cattle having volvulus of the root of the mesentery (44 %) is less than for volvulus of the jejunoileal flange (86 %).[1] Overall, dairy cattle had a better prognosis for survival (63 %) than beef cattle (22 %). This difference was presumed to be because dairy cattle are observed more frequently and, therefore, treatment sought earlier in the progression of the disease. Of 92 cattle in which surgical correction of intestinal volvulus was attempted, 13 were euthanatized during surgery, 25 died within 24 hours after surgery, 13 died between 2 and 7 days, and 41 (45 %) survived.[4]

PREVENTION

Specific recommendations for strategies to prevent intestinal volvulus are not possible because no risk factor has been identified. Some authors have suggested that turning out to graze lush pastures is a risk factor for intestinal volvulus.[5] This has not been our experience. Feeding of concentrates, frequent dietary changes, confinement housing, and selection for high productivity may place dairy cattle at higher risk compared with beef cattle. These management techniques are also used in feedlot operations, but these cattle may not be presented for treatment to teaching hospitals because of their lower perceived economic value. Therefore, recommendations should be aimed to optimize cattle heath by gradual changes in diet and environment.

REFERENCES

1. Anderson DE, Constable PD, St-Jean G, Hull BL. Small-intestinal volvulus in cattle: 35 cases (1967-1992). J Am Vet Med Assoc 203:1178-1183, 1993.

2. Fubini SL, Smith DF, Tithof PK, et al. Volvulus of the distal part of the jejunoileum in four cows. Vet Surg 15:150-152, 1986.

3. Tulleners EP. Surgical correction of volvulus of the root of the mesentery in calves. J Am Vet Med Assoc 179:998-999, 1981.

4. Rademacher G. Diagnosis, therapy, and prognosis of the intestinal mesenteric torsion in cattle. Proceedings, XVII World Buiatrics Congress and XXV American Association of Bovine Practitioners Conference, St-Paul, Vol 1:137-142, 1992.

5. Willet MDJ. Intestinal torsion in cattle. N Z Vet J 18:42-43, 1970.

Diseases most common in adults

Hemmorhagic Bowel Syndrome (a.k.a. intraluminal-intramural hematoma)

Recently, a syndrome has been recognized in adult dairy cows involving intraluminal and intramural intestinal hemorrhage and necrosis with subsequent clot formation and intestinal obstruction. This syndrome has been referred to as jejunal hemorrhage syndrome (JHS), hemorrhagic bowel syndrome, intraluminal-intramural hematoma, bloody gut, and hemorrhagic enteritis. Clinical signs of this peracute disease include recumbency, dehydration, shock, abdominal distension, anorexia, abdominal pain, and lack of feces or the production of tarry feces with blood clots(1-9). In many cases, the cow is found dead. Affected cows are usually in early lactation, producing large quantities of milk, and are fed silage or total mixed ration (TMR) (5-8). The case mortality rate for this syndrome is marked (77%) (10,11).

In the search for the cause of this disease, much speculation has fallen upon *Clostridium perfringens* Type A(2,6). *C. perfringens* Type A was suspected as a cause or contributing factor in this disease because this organism has been cultured from the intestinal contents or feces of a large number of cows affected with JHS(6,10,11). However, evidence regarding pathogenicity of these isolates has not been produced to link *C. perfringens* Type A to development of jejunal hemorrhage syndrome. Similar hemorrhagic enteritis syndromes have been reported in other species, some of which have been related to *C. perfringens*(12-24). *C. perfringens* Type A has been linked to abomasal ulcers and abomasitis in calves(23-31). However, *C. perfringens* Type A is also found in the gastrointestinal tract of cattle without causing clinically apparent disease(23,24,32).

At present, it is thought that JHS is a multifactorial disease(2,6-8,10,11). Proposed risk factors include feeding of silage or total mixed ration, feeding finely ground corn in the ration, early stage of lactation, high level of production, and free-choice feeding. These factors may create an environment in which stress, excess gastrointestinal starch, and subclinical rumen acidosis allow overgrowth of *C. perfringens* Type A bacteria in the gastrointestinal tract. Studies in calves, lambs, and chickens had induced clinical disease by direct inoculation of the rumen (23,24,26,30), duodenum (17,33,34), and ligated intestinal loops(34) with pure cultures of *C. perfringens* Type A or C. The diseases thus produced consisted of hemorrhagic enteritis, enterotoxemia, abomasal ulceration, and/or abomasitis. Spontaneous cases of hemorrhagic enteritis caused by *Clostridium* species have also been reported in dogs (16,19), foals (12,13,15,18,22,23), lambs (21,23), goats (20), and calves (27-29,31). However, inoculation of live calves or ligated intestinal loops with *C. perfringens* Type A produced no clinical signs of enterotoxemia or enteritis (34). Jelinski et al. found no difference in the prevalence of *C. perfringens* Type A in calves with and without abomasal ulcer/abomasitis syndrome (28).

Prevalence of *C. perfringens* Type A in the intestine of normal cattle has been reported to be 36.8% to 78.6% (25,28,35). Most studies have utilized samples obtained at necropsy. Thus the high prevalence of *Clostridium* may be an overestimation associated with rapid postmortem overgrowth. *C. perfringens* Type A grows rapidly in the intestine following death, so the prevalence in live animals may be lower than reported (23). In fact, Amtsberg et al. reported *C. perfringens* in only 33.9% of live calf feces (25). *C. perfringens* Type A produce α-toxin, and some may produce a beta2 toxin (3,7,8,23,24,36). Excess grain or starch in the small intestine is more likely to lead to sudden bacterial overgrowth (2,6,23,24,27). This passage of grain particles into the small intestine may be a factor in the pathogenesis of JHS in dairy cows fed high grain TMR. Excess mixing of TMR causing finely powdered corn was suspected to be related to an outbreak of clinical cases of JHS on one farm (6).PICTURES

REFERENCES

1. Anderson BC. 'Point Source' haemorrhages in cows. Vet Rec 1991; 128:619-620.

2. Godden S, Frank R, Ames T. Survey of Minnesota dairy veterinarians on the occurrence and potential risk factors for jejunal hemorrhage syndrome in adult dairy cows. Bov Pract. 2001; 35:97-103.

3. Hattel A, Maddox C, Drake T, et al. Type A *Clostridium perfringens* associated with hemorrhagic and necrotizing enteropathy in adult dairy cattle. 50th Annual American Congress of Veterinary Pathologists Meeting, Chicago, November 1999.

4. Hermann JA. Thoughts on bowel treatment in cattle. J Am Vet Med Assoc 221; 1250.

5. Kirkpatrick MA, Timms L, Kersting KW, Kinyon J. Jejunal hemorrhage syndrome of dairy cattle. (Abstr) Bov Pract 2001; 35:135-136.
6. Kirkpatrick MA, Timms LL, Kersting KW, Kinyon JM. Case Report – Jejunal hemorrhage syndrome of dairy cattle. Bov Pract 2001; 35:104-116.
7. Maddox CW, Hattel AL, Drake TR, Weinstock D. Beta2 toxin positive *Clostridium perfringens* type A and fatal hemorrhagic enteritis of adult dairy cows. Winter-Spring Conference, Pennsylvania Vet Lab, Pennsylvania Anim Diag Lab System. March 1999.
8. Maddox C, Hattel A, Drake T, Weinstock D. *Clostridium perfringens* type A strains recovered from acute hemorrhagic enteritis of adult dairy cattle. Am Assoc Vet Lab Diagnosticians, 42nd Annual Meeting, AAVLD Abstracts, October 1999.
9. StJean G, Anderson DE. Intraluminal-intramural hemorrhage of the small intestine in cattle. In: Howard JE, Smith RA, eds. *Current veterinary therapy; food animal practice.* 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1999;539.
10. Dennison AC, VanMetre DC, Callan RJ, Dinsmore P, Mason GL, Ellis RP. Hemorrhagic bowel syndrome in dairy cattle: 22 cases (1997-2000). J Am Vet Med Assoc 2002; 221; 686-689.
11. Dennison AC, VanMetre DC, Callan R, Ellis RP. Hemorrhagic bowel syndrome in dairy cattle. *Proceedings* 19th Am Coll Vet Intern Med, Denver CO. 2001. p 354-355.
12. Bueschel D, Walker R, Woods L, Kokai-Kun J, McClane B, Songer JG. Enterotoxigenic *Clostridium perfringens* type A necrotic enteritis in a foal. J Am Vet Med Assoc 1998; 1305-1307.
13. East LM, Savage CJ, Traub-Dargatz JL, Dickinson CE, Ellis RP. Enterocolitis associated with *Clostridium perfringens* infection in neonatal foals: 54 cases (1988-1997). J Am Vet Med Assoc 212; 1751-1756.
14. Estrada Correa AE, Taylor DJ. Porcine *Clostridium perfringens* type A spores, enterotoxin and antibody to enterotoxin. Vet Rec 1989; 124:606-610.
15. Jones RL, Adney WS, Alexander AF, Shideler RK, Traub-Dargatz JL. Hemorrhagic necrotizing enterocolitis associated with *Clostridium difficile* infection in four foals. J Am Vet Med Assoc 1988; 193:76-79.
16. Kruth SA, Prescott JF, Welch MK, Brodsky MH. Nosocomial diarrhea associated with enterotoxigenic *Clostridium perfringens* infection in dogs. J Am Vet Med Assoc 1989; 195:331-334.
17. Niilo L. Experimental production of hemorrhagic enterotoxemia by *Clostridium perfringens* Type C in maturing lambs. Can J Vet Res 1986; 50:32-35.
18. Pearson EG, Hedstrom OR, Sonn R, Wedam J. Hemorrhagic enteritis caused by *Clostridium perfringens* type C in a foal. J Am Vet Med Assoc 1986; 188:1309-1310.
19. Prescott JF, Johnson JA, Patterson JM, Bulmer WS. Haemorrhagic gastroenteritis in the dog associated with *Clostridium welchii*. Vet Rec 1978; 103:116-117.
20. Russell WC. Type A enterotoxemia in captive wild goats. J Am Vet Med Assoc 1970; 157:643-646.
21. Shaw WB. Intestinal haemorrhage syndrome in artificially reared lambs. (Letter). Vet Rec 1971; 88:700.
22. Sims LD, Tzipori S, Hazard GH, Carroll CL. Haemorrhagic necrotising enteritis in foals associated with *Clostridium perfringens*. Aust Vet J 1985; 62:194-196.
23. Songer JG. Clostridial enteric diseases of domestic animals. Clin Microbiol Rev 1996; 9:216-234.
24. Songer JG. *Clostridium perfringens* Type A infection in cattle. Bov Pract 1999; 32:40-44.
25. Amtsberg G, Bisping W, Matthiesen I, Krabisch P. Zum Vorkommen und zur pathogenen Bedeutung von *Clostridium perfringens* beim Kalb 2. Mitteilung: Infektionsversuche, Ligaturtest und Prüfung auf Enterotoxinbildung zur Klärung der pathogenen Bedeutung von *Clostridium perfringens* Typ A. Zbl Vet Med B 1977; 24:183-197.
26. Amtsberg G, Bisping W, Krabisch P, Matthiesen I. Zum Vorkommen und zur pathogenen Bedeutung von *Clostridium perfringens* beim Kalb 1. Mitteilung: Quantitative bakteriologische Untersuchungen zum *Clostridium perfringens*-Keimgehalt im Kot und Darminhalt von gesunden und erkrankten Kälbern. Zbl Vet Med B 1977; 24:104-113.
27. Hogle RM. Clinical and laboratory diagnosis of enterotoxemia of cattle. Vet Med/SAC 1975; 70:983-986.
28. Jelinski MD, Ribble CS, Chirino-Trejo M, Clark EG, Janzen ED. The relationship between the presence of *Helicobacter pylori*, *Clostridium perfringens* type A, *Campylobacter* spp., or fungi and fatal abomasal ulcers in unweaned beef calves. Can Vet J 1995; 36:379-382.
29. Mills KW, Johnson JL, Jensen RL, Woodard LF, Doster AR. Laboratory findings associated with abomasal ulcers/tympany in range calves. J Vet Diagn Invest 1990; 2:208-212.
30. Roeder BL, Chengappa MM, Nagaraja TG, Avery TB, Kennedy GA. Experimental induction of abomasal tympany, abomasitis, and abomasal ulceration by intraruminal inoculation of *Clostridium perfringens* type A in neonatal calves. Am J Vet Res 1988; 49:201-207.
31. Roeder BL, Chengappa MM, Nagaraja TG, Avery TB, Kennedy GA. Isolation of *Clostridium perfringens* from neonatal calves with ruminal and abomasal tympany, abomasitis, and abomasal ulceration. J Am Vet Med Assoc 1987; 190:1550-1555.
32. Mylrea PJ. The bacterial content of the small intestine of young calves. Res Vet Sci 1969; 10:394-395.
33. Al-Sheikhly F, Truscott RB. The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of broth cultures of *Clostridium perfringens* into the duodenum. Avian Dis 1977; 21:230-240.
34. Niilo L, Dorward WJ. The effect of enterotoxigenic *Clostridium welchii (perfringens)* Type A on the bovine intestine. Res Vet Sci 1971; 12:376-378.
35. Vance HN. A survey of the alimentary tract of cattle for *Clostridium perfringens*. Can J Comp Med Vet Sci 1967; 31:260-264.
36. Yoo HS, Lee SU, Park KY, Park YH. Molecular typing and epidemiological survey of prevalence of *Clostridium perfringens* types by multiplex PCR. J Clin Microbiol 35; 228-232.

Table 1. Morbidity and Mortality of calves with intestinal atresia

Variable	Calves Effected	Survivors Number (% category)	Non-survivors Number (% category)
Intestinal atresia calves			
Perineal anus	4	4 (100)	0 (0)
Laparotomy and perineal anus	7	3 (43)	4 (57)
Laparotomy and flank stoma	7	0 (0)	7 (100)
Atresia coli			
End-to-side anastomosis	12	7 (58)	5 (42)
Side-to-side anastomosis	36	18 (50)	18 (50)
Atresia coli			
End-to-side anastomosis	11	8 (73)	3 (27)
Side-to-side anastomosis	23	10 (43)	13 (57)
TOTAL	100		

Table 2. Physical examination, hematology and serum biochemistry findings for surviving and non-surviving calves with atresia coli.

Variable	Survivors (mean)	Non-survivors (mean)
Physical Exam		
Heart Rate	140	156
Respiratory rate	46	60
Temperature	38.8	38.8
Age	2.5	3
Hematology		
PCV %	38	42
T.P. g/dl	7.4	7.5
Serum Biochemistry		
Na meq/l	140	142
K meq/l	4.6	5.1
Cl meq/l	93	91
HCO3 meq/l	31	29
pH	7.4	7.36
Anion gap meq/l	20	28

MANEJO DE LAS FRACTURAS EN LA GRANJA

David E. Anderson, DVM, MS, DACVS
Professor and Head, Large Animal Clinical Sciences
College of Veterinary Medicine
University of Tennessee
Knoxville, Tennessee, USA

Fracturas en Animales Destinados al Consumo

Las fracturas en las extremidades son comunes en los animales de granja, se encuentran con mayor frecuencia en los animales jóvenes y, a menudo, se dan tras un traumatismo durante la distocia o el manejo. Las fracturas más comunes diagnosticadas en los animales de granja son las del metacarpo y el metatarso (~50 %), la tibia (~12 %), el radio y el cúbito (~7 %), el fémur (poco común), el húmero (< 5 %), la pelvis (poco común) y las falanges (raramente).[1] Las fracturas del esqueleto axial (mandíbula, vértebras, costillas y pelvis) se encuentran con menos frecuencia. Los animales de consumo son excelentes pacientes para el tratamiento de lesiones ortopédicas porque pasan la mayoría del tiempo tumbados, tienen un enorme potencial de consolidación ósea, son más resistentes a la lesión del miembro contralateral y a la cojera de estrés y, normalmente, no se resisten a tener dispositivos ortopédicos en sus extremidades. La decisión de tratar una fractura en un animal destinado al consumo se toma considerando el coste del tratamiento, la tasa de éxito del tratamiento, el valor económico o genético potencial o percibido del animal, y la ubicación y el tipo de fractura. La mayoría de los propietarios elegirían comprar tratamientos baratos para las fracturas con una alta tasa de éxito, pero los dueños también eligen a menudo comprar tratamientos costosos para las fracturas, incluso cuando se estima que la tasa de éxito es baja, cuando se percibe que el ganado tiene un alto potencial económico o genético.

Tratamiento de Emergencia

La estabilización temporal de las fracturas de las extremidades puede darse antes de mover al animal o intentar poner el animal en pie. Por norma general, las fracturas por debajo de la mitad del radio o la mitad de la tibia pueden estabilizarse temporalmente con férulas y escayolas. Desde mi experiencia, la estabilización en granja de las fracturas proximales a este nivel no debería intentarse. Estos esfuerzos a menudo resultan en la creación de un «efecto fulcro» en el lugar de la fractura y provocan un mayor traumatismo de los tejidos blandos, el daño de estructuras neurovasculares, o el agravamiento de la fractura. El ganado con este tipo de fracturas debería cargarse con cuidado en el remolque, dándole tiempo para tumbarse antes de empezar el transporte. Para estas lesiones proximales, se protegerá la extremidad adecuadamente para el transporte y cualquier traumatismo adicional que se dé será menos grave que el que se pueda dar como resultado del «efecto fulcro».

La coaptación externa para la estabilización temporal de la fractura se puede hacer utilizando dos férulas o una escayola. Dos tablas o piezas de un tubo largo de PVC cortado a la mitad, colocados a 90 grados entre sí (por ejemplo, el aspecto caudal y lateral de la extremidad), crean una coaptación externa estable. Un vendaje acolchado se coloca sobre la extremidad, se posicionan las tablillas y se aplica cinta elástica firmemente. También se pueden utilizar abrazaderas circulares (por ejemplo, abrazaderas de caballos) para conseguir la colocación firme de las férulas en la extremidad. La lesión debe estar centrada dentro de la coaptación con la máxima sujeción proximal y distal a la lesión que sea posible. Todos los dispositivos de coaptación externa deben extenderse al suelo (a un nivel inmediatamente distal a la suela de las pezuñas). Para las lesiones distales al carpo o al corvejón y distales a la mitad del radio o mitad de la tibia, la férula lateral debe extenderse hasta el nivel de la escápula o pelvis proximal, respectivamente.

Principios del Manejo de la Fractura

La localización de la fractura, la presencia de traumatismos de los tejidos blandos y neurovasculares, el carácter abierto o cerrado de la fractura, la naturaleza del comportamiento del animal y la experiencia del veterinario son factores importantes a tener en cuenta a la hora de considerar qué tipo de tratamiento es el elegido. Las fracturas del esqueleto axial a menudo se tratan con reposo en el establo, en soledad, porque no se necesita fijación externa o interna. Para las fracturas del esqueleto apendicular, se deben contestar las siguientes preguntas: 1) se necesita el tratamiento, 2) Se puede reducir la fractura cerrada de un modo aceptable o es necesaria una reducción interna, 3) la fractura puede inmovilizarse adecuadamente utilizando solamente coaptación externa o se necesita fijación interna, con o sin coaptación externa, 4) y cuál es el análisis coste-beneficio.

Suelas ortopédicas

El ganado tiene dos dígitos de carga en cada extremidad y, por tanto, puede permanecer de pie sobre un dedo durante la convalecencia del dedo parejo (por ejemplo, fractura de falange). Se puede aplicar una suela de madera, goma o plástico (de 2,5 a 3,5 cm de altura y hecho según la forma y el tamaño de la pezuña sana) a la planta del dedo sano. Se confina al animal al establo o a un corral pequeño durante 6-10 semanas mientras evoluciona la curación de la fractura y se retira la suela. A menudo, las suelas de madera se desgastan y no es necesario retirarlas.

Escayola

Se pueden utilizar escayolas de media caña (escayolas cortas) para la inmovilización de fracturas de las falanges y para fracturas de la fisis metacarpiana o metatarsiana distal. La escayola se coloca desde un punto inmediatamente distal al carpo o corvejón, extendiendo hacia el suelo y encerrando el pie. Se acolchan los dedos vestigiales y la parte de arriba de la escayola, pero en el resto de la extremidad solo se pone un vendaje o espuma de resina (compañía 3M). Un acolchado grueso, colocado a lo largo de toda la extremidad, se comprimirá rápidamente, dejando espacio para que extremidad se mueva dentro de la escayola y se produzca el desplazamiento de la fractura. Las escayolas completas se utilizan para fracturas en o proximales a la mitad del metacarpo o metatarso, pero distales a la mitad del radio o mitad de la tibia. Las escayolas completas se colocan de forma similar a

las de media caña, pero deben acolcharse las prominencias óseas del hueso accesorio del carpo, la apófisis estiloides del cúbito, el calcáneo y el maléolo medial y lateral de la tibia.

La colocación de la escayola se ve facilitada por el uso de la sujeción con cuerdas, la sedación, o la anestesia, según se necesite. Un asistente debería ayudar a mantener la alineación de la extremidad durante la aplicación, asegurándose de comprobar la posición de la extremidad en los planos cráneo-caudal y lateromedial. La tensión de la extremidad durante el escayolamiento se puede conseguir colocando cables a través de orificios perforados en la pared de la pezuña y aplicando tensión. Los agujeros deben hacerse de forma que la pezuña quede en una posición entre normal y ligeramente flexionada. El grosor de la escayola se basa normalmente en el criterio clínico. Las escayolas de entre 6 y 8 capas de grosor pueden ser adecuadas para terneros de menos de 150 kg de peso corporal, pero el ganado adulto puede requerir escayolas de entre 12 y 16 capas de grosor. Las escayolas utilizadas para las extremidades traseras deben ser más gruesas debido a la acumulación de tensiones provocada por el ángulo del corvejón. La incorporación de barras de metal dentro de la escayola (dos barras situadas a 90 grados entre sí) puede aumentar la fortaleza de la escayola, pero solo se necesita en los pacientes más grandes. Los nuevos materiales para escayolar de fibra de vidrio son más resistentes a las roturas y no se debilitan cuando se mojan si se utiliza suficiente material de escayola. El uso de una barra de andar (barra en forma de U colocada debajo de la pezuña e incorporada a la escayola) aumentará la distribución de las fuerzas de carga hacia la escayola y lejos de la extremidad distal, pero el pie debe estar siempre incluido en la escayola.

Las escayolas pueden mantenerse en los terneros hasta 6 semanas sin que sean cambiadas. Pueden requerirse cambios de escayola programados a intervalos de 3 semanas para terneros de crecimiento rápido o para los terneros que cojeen durante la convalecencia. Las fisuras normalmente se curan en 4 semanas, pero las fracturas no fisarias, a menudo, requieren 6 semanas para conseguir la consolidación clínica en terneros. Las fracturas en el ganado adulto pueden curarse en 8-10 semanas, pero frecuentemente requieren entre 12 y 16 semanas para que la consolidación clínica se produzca. La consolidación radiográfica de la fractura (definida como la consolidación ósea con resolución de la línea de la fractura) no se ve hasta semanas o meses después de haberse alcanzado la consolidación clínica (definida como la callosidad suficiente para permitir la carga de peso sin apoyos adicionales en la extremidad).

Férula de Thomas y Combinación de Escayolas

El uso de una férula Thomas y la combinación de escayolas es apropiado para las fracturas distales al codo o la rodilla. La longitud de la férula debe medirse mientras el animal está en pie y utilizando la extremidad normal para tomar las medidas. Se elige o se hace una férula apropiada y se coloca al paciente en decúbito lateral (sujeto con cuerdas, sedado y/o anestesiado). La fractura se reduce y se aplica una escayola desde el metacarpo o metatarso distal hasta el nivel del radio o tibia proximal. La férula se coloca sobre la extremidad, se une el pie a la base de la férula, haciendo agujeros en las paredes de la pezuña uniendo con cables el pie a la base de la férula, y se utiliza cinta de escayola para unir la escayola al marco de la férula. La extremidad escayolada debe estar firmemente unida al marco de la férula para evitar la rotación de la extremidad a lo largo de la férula durante la ambulación. El aro de la férula debe colocarse firmemente en la axila o ingle para permitir la mayor trasferencia de peso y, por tanto, el aro debe estar muy acolchado. El ganado con una férula-escayola de Thomas debe ser asistido para levantarse durante 3-5 días, hasta que aprendan a incorporarse por sus propios medios. Además, estos pacientes deben ser revisados varias veces al día para asegurarse de que no se han tumbado encima de la férula. A menudo, estos pacientes no son capaces de levantarse después de haberse tumbado sobre la férula y se pueden dar timpanismos del rumen mortales si se quedan atrapados durante un periodo prolongado.

Transfijación con Clavos y Escayola y Fijación Externa del Esqueleto

La fijación externa del esqueleto (FEE) hace referencia a la estabilización de una lesión musculoesquelética debilitante (normalmente fracturas pero también luxaciones de articulaciones o rotura de tendones) utilizando clavos de transfijación (o clavos transcorticales) y cualquier marco externo conectando los clavos y abarcando toda la zona de inestabilidad. El objetivo de la FEE es proporcionar un medio cómodo y sostenible para capacitar al paciente para soportar su peso (o retornar a su función) lo antes posible después de la cirugía, mantener una movilidad normal de las articulaciones, si es posible, y proporcionar un ambiente óptimo para la osteosíntesis y la curación de las heridas.

Las limitaciones mecánicas de las fijaciones externas del esqueleto incluyen el fallo de los implantes (flexión o rotura de los clavos), las barras laterales, o abrazaderas por fallo agudo o fatiga cíclica. Estos problemas potenciales han contribuido a la adaptación lenta y cautelosa de la FEE en los animales grandes. El uso de FEE en rumiantes también se ha visto obstaculizado por restricciones económicas. La fijación externa del esqueleto se está utilizando cada vez más en ganado, ovejas, cabras, llamas y ratites. Este artículo se centra en la adaptación de los principios de la FEE al ganado y analiza la aplicación de la FEE a huesos individuales, incluyendo las complicaciones en el uso de la FEE.

TOMA DE DECISIONES PARA LA FEE

Se elige la inmovilización con escayola para las fracturas en los rumiantes, siempre que sea apropiada, por consideraciones económicas. Las complicaciones de la escayola pueden incluir una o más de las siguientes: contractura muscular, pérdida de la amplitud del movimiento de las articulaciones por la contractura de los ligamentos y la cápsula articular, reducción de la calidad del cartílago articular y la salud por la inmovilización prolongada, úlceras por la escayola, pinzamiento de tejidos blandos y de la vasculatura, creación de heridas abiertas que se pueden comunicar con la fractura, mal alineamiento de la fractura, mala consolidación de la fractura, retraso en la consolidación de la fractura y prolongación de la convalecencia. Dependiendo del tipo de FEE utilizada, estas complicaciones se pueden evitar o minimizar. Cuando la inmovilización por escayola no es apropiada o no proporciona un manejo óptimo de la fractura, se deben considerar otras modalidades. Las escayolas no pueden inmovilizar de manera óptima las fracturas proximales a la fisis radial distal o la fisis tibial distal. Además, las lesiones en los tejidos blandos y las fracturas abiertas pueden no ser manejadas óptimamente a través del uso de escayolas, férulas o la combinación férula-escayola. La FEE supone una mejor opción para la estabilidad y curación de las fracturas en muchos casos, según la configuración de la fractura, las lesiones del tejido blando o las fracturas abiertas. Normalmente, la FEE se utiliza en animales de pura raza, animales de exhibición u otro tipo de ganado de alto valor económico percibido.

Ventajas

La FEE tiene muchas ventajas para el tratamiento de las fracturas. La FEE proporciona pronto el retorno al funcionamiento de la extremidad afectada, el tratamiento de las heridas del tejido blando de la extremidad, la preservación del flujo de sangre local al lugar de la fractura, la conservación de las proteínas estimuladoras del

hueso que se exudan en el lugar de la fractura en el momento de la lesión, diversidad de diseños para fracturas conminutas, la facilidad de la retirada del implante tras la consolidación clínica de la fractura y las relativamente pocas complicaciones derivadas de los implantes. La FEE se ha aplicado en la mayor parte de los huesos largos de las especies domésticas. La aplicación transarticular de las fijaciones externas se ha utilizado cuando hay un traumatismo severo del tejido blando o una fragmentación del extremo proximal o distal del hueso afectado, y para la artrodesis o anquilosis de articulaciones. El uso transarticular de las fijaciones externas debe hacerse con consideración por el potencial de inducir daño a la articulación implicada por la inmovilización.

Desventajas

Las desventajas de la FEE son la reducción subóptima de la fractura y una mala alineación anatómica, la ausencia de compresión interfragmentaria, una estabilización menos rígida del hueso afectado en comparación con las placas óseas, un aumento del manejo postoperatorio en comparación con la fijación interna o la escayola, el dolor asociado con los micromovimientos en la interfaz clavo-hueso, y el fallo potencial de los implantes antes de la unión clínica de la fractura.

Siempre que sea posible, los clavos transcorticales deben insertarse entre músculos y a través de planos faciales. Los clavos colocados a través de los principales grupos musculares pueden producir dolor y reducir el uso de la extremidad afectada. En un estudio de una fractura femoral, los perros recuperaban su funcionalidad normal completa en 3,5 semanas después de la aplicación de una placa ósea en comparación con las 7,5 semanas que necesitaban tras la aplicación de un clavo intramuscular y una férula de media caña de Kirchner. Además, es deseable que la cantidad de tejido blando entre la barra lateral y el hueso sea mínima para que la distancia entre el hueso y la barra pueda ser optimizada.

DIRECTRICES PARA LA FEE EN ANIMALES DESTINADOS AL CONSUMO

Las fracturas del metacarpo/metatarso III/IV, el radio, el cúbito y la tibia se pueden reparar más fácilmente utilizando FEE en decúbito dorsal y la extremidad suspendida desde y por encima del marco de actuación. El decúbito lateral se realiza prestando especial atención a la alineación de los planos sagitales. Las fracturas del húmero y el fémur se abordan con el animal en decúbito lateral. Una excesiva hinchazón e inflamación del tejido blando es típica de las fracturas en animales grandes. Si el cirujano tiene poca experiencia con la FEE en rumiantes, recomendamos la colocación de agujas marcadoras en el lugar propuesto para la colocación de los clavos transcorticales. Entonces, se obtienen las radiografías y los lugares de los clavos se eligen basándose en la relación de las agujas marcadoras con la fractura, las líneas de fisura, las articulaciones adyacentes y el hueso cortical intacto. Con experiencia en la elección del lugar de colocación de los clavos y con conocimiento de la anatomía de la extremidad del ganado, este paso se puede omitir.

Se hace una incisión de 1cm a través de la piel en el lugar elegido para el clavo. Después se taladra un agujero a través del hueso y se hace otra incisión para el lugar de salida del clavo (para clavos transcorticales bilaterales). Utilizamos un taladro ortopédico neumático con velocidades variables hasta 700 rpm (Small Air Drill, Synthes, Paoli, PA). Los clavos se implantan con el taladro a baja velocidad. No obstante, se pueden utilizar taladros estándares eléctricos o de batería tras una esterilización adecuada. Durante la perforación, la broca del taladro debe lavarse continuamente con una solución isotónica estéril para ayudar a reducir la lesión térmica del hueso. Por último, se implanta el clavo. La selección del tamaño de la broca y del clavo debe hacerse de tal forma que el clavo sea lo suficientemente grande como para soportar todo el peso ambulatorio cargado por el paciente. Un protector de tejidos, o una guía del clavo, es beneficioso para evitar un traumatismo excesivo del tejido blando durante la perforación y la implantación.

Tipos de Fijación Externa del Esqueleto

Barras Laterales y Abrazaderas Tradicionales

La FEE fue diseñada para el uso de clavos de transfijación, barras laterales y abrazaderas para estabilizar las fracturas inadecuadas para la coaptación externa por sí misma o la fijación interna. Normalmente, las barras laterales son de acero inoxidable, pero también hay disponibles marcos de aluminio y carbono. La FEE tradicional proporciona la inmovilización rígida de una fractura con el mínimo trauma de los tejidos blandos y sin interrumpir el suministro de sangre a través de las uniones del tejido blando a los fragmentos de la fractura. Además, este tipo de FEE proporciona un acceso óptimo a las lesiones del tejido blando para el tratamiento diario de las fracturas abiertas.

Las abrazaderas que conectan los clavos a las barras laterales son un potencial eslabón débil en las fijaciones externas tradicionales. Se ha propuesto soldar los clavos a la barra lateral como medio de reducir el manejo postoperatorio y reforzar la unión del clavo a la barra lateral para uso en el ganado. La soldadura puede dar lugar a lesiones térmicas en el hueso por la conducción del calor en los clavos de transfijación, y también puede provocar una descarga eléctrica en el paciente. Además, las barras laterales no son reutilizables y unas soldaduras mal aplicadas podrían romperse, llevando al fallo del conjunto.

La limitación principal de las fijaciones externas tradicionales es la capacidad del ensamblaje de resistir los fallos durante la carga. Hemos utilizado marcos de fijación disponibles en el mercado en animales con menos de 150 kg de peso. No recomendamos el uso de ensamblajes abrazadera-tabla lateral tradicionales para el ganado de más de 150 kg de peso por el mayor riesgo de fallo de la unidad clavo-abrazadera-barra lateral. La Tabla 2 incluye los diámetros recomendados para las barras laterales para su uso en el ganado en función del peso corporal. Independientemente del tamaño del animal, las abrazaderas deben examinarse diariamente para comprobar su tensión, posición y la evidencia de fatiga.

Barras Laterales de Polímeros Acrílicos

El uso del metilmetacrilato como una barra lateral cómoda y barata tiene ventajas biomecánicas en comparación con las barras y abrazaderas de acero tradicionales. En un estudio biomecánico in vitro utilizando una configuración de FEE de tipo I (marco unilateral), una barra lateral acrílica de 20mm era igual o más fuerte que una barra lateral de acero de 4,8mm en compresión, corte y torsión. Estudios adicionales han mostrado resultados similares para barras laterales acrílicas de 1,91cm y 2,54 cm utilizadas en configuraciones de tipo II y III. Hemos extrapolado con éxito estos datos a casos clínicos.

El uso de barras laterales acrílicas tiene ventajas similares a las de la FEE tradicional. Sin embargo, las barras acrílicas no se pueden ajustar después de que la resina se haya endurecido y deben remplazarse si se da algún error en la configuración del marco. Los acrílicos (Technovit, Jorgensen Laboratories, Loveland, CO) se endurecen con una reacción exotérmica (a más de 55ºC). Por tanto, se debe considerar la lesión térmica potencial de la piel y el hueso. Los clavos de trasfijación deben rociarse con líquidos

isotónicos estériles durante el periodo exotérmico para ayudar a disipar el calor. La investigación sobre la disipación del calor de estos acrílicos ha recomendado una distancia mínima de seguridad entre la piel y la barra lateral de 10mm. Un suministro adecuado de acrílico debe estar preparado y disponible en el momento de la cirugía, y el acrílico debe verterse en el molde del tubo mientras está relativamente líquido. Verter el acrílico en múltiples capas o mientras se está endureciendo causa bolsas de aire, capas o el agrietamiento de la barra lateral y puede dar lugar a un fallo catastrófico. Aunque los acrílicos tienen una buena rigidez mecánica, son frágiles. Por tanto, las barras laterales acrílicas deben inspeccionarse diariamente para asegurarse de que no hay fallos en la fijación. Las barras acrílicas se pueden reemplazar por secciones utilizando alambre obstétrico para cortar el acrílico que rodea los clavos.

Transfijación con Clavos y Escayola (TCE)

La TCE se ha utilizado con éxito en el ganado para las fracturas de varios huesos. Esta adaptación de las técnicas de FEE tiene la ventaja de la fijación multiplanar con la colocación de clavos de transfijación, limitada solo por las estructuras anatómicas y la configuración de la fractura. Además, la TCE permite un mínimo tratamiento postoperatorio del caso con un alto grado de éxito. Esta ventaja es especialmente adecuada para los animales de consumo.

Solo utilizamos la cinta de fibra de vidrio para escayolar en la TCE. Hemos descubierto que la inclusión de soportes de metal o barras de andar no es necesaria cuando se utilizan escayolas de fibra de vidrio. Estudios biomecánicos recientes han mostrado diferencias con las técnicas de aplicación de las escayolas de fibra de vidrio y los beneficios potenciales de colocar una barra de metal en la compresión y los lados de tensión de la extremidad. La valoración clínica es la mejor guía para decidir el grosor de la escayola (ver Tabla 2). Hemos visto cómo dos escayolas completas de las extremidades traseras fallaban después de la cirugía; ambas fallaron en el lado dorsal del corvejón. La primera escayola falló cuando un toro adulto con una fractura tibial intentó levantarse antes de que la escayola estuviera seca por completo. La otra escayola se rompió por no tener suficiente material de escayola como para soportar las fuerzas ejercidas por un toro adulto. Ambas escayolas fueron reparadas y los dos toros se recuperaron completamente.

La posición de los clavos y la configuración de la fijación no se pueden ajustar después de la aplicación de la escayola cuando se utiliza la TCE. Además, las heridas abiertas o las fracturas abiertas son difíciles de manejar con la TCE. Las complicaciones que se pueden dar durante la TCE, como la creación de una fractura abierta o el desarrollo de úlceras por la escayola, son difíciles de evaluar y puede producirse algún retraso antes de que estos problemas se aborden. Recomendamos el uso de una espuma impregnada de resina (3M Custom Support Foam, 3M Animal Care Products, St. Paul, MN) en la extremidad antes de escayolar. Este relleno de espuma se ajusta a la extremidad, proporciona una excelente protección a la extremidad y permite a la extremidad permanecer seca debajo de la escayola por su estructura porosa. Hemos observado una reducción en la gravedad de las complicaciones en las vías de los clavos cuando se utilizaba el relleno de espuma.

Fracturas Cerradas frente a Fracturas Abiertas

En general, las fracturas cerradas sin daños en el suministro de sangre de la extremidad tienen un pronóstico de curación entre bueno y excelente en el ganado. El pronóstico de éxito es menor para el ganado de más edad o el ganado de alto peso corporal. Las fracturas abiertas tienen un pronóstico reservado de curación en el ganado. La tasa de éxito depende de la severidad de la lesión del tejido blando, el hueso afectado, la edad del paciente, la duración y el grado de contaminación de la herida y las limitaciones económicas impuestas en el manejo de la fractura. Se indica un tratamiento de antibióticos prolongado y el tratamiento de la herida abierta es preferible a cubrir la herida con la escayola. El ganado maduro es más capaz de recuperarse de una infección ósea asociada a una fractura abierta que los terneros jóvenes. A menudo, el ganado maduro con una fractura metacarpiana abierta ha sido capaz de recuperarse y volver a la productividad tras una limpieza minuciosa de la herida, la administración de antibióticos y la aplicación de una escayola completa. Sin embargo, los terneros con lesiones similares son propensos a uniones no asépticas o consolidaciones retardadas.

TRATAMIENTO DE FRACTURAS ABIERTAS

Se ha cuestionado el uso de antibióticos profilácticos en la cirugía ortopédica veterinaria. Sin embargo, rutinariamente utilizamos antibióticos durante 7-10 días después de las cirugías para fracturas abiertas por el ambiente al que están expuestos los animales de consumo. La selección de antibióticos para el uso en el ganado debe hacerse considerando su que puede ser una aplicación fuera de registro y los posibles residuos antibióticos.

El manejo de las fracturas abiertas presenta retos especiales para el cirujano. El tratamiento de las fracturas abiertas en humanos con desbridamiento extensivo, lavado abundante, tratamiento antibiótico durante 72 horas y manejo apropiado de la fractura resulta en una tasa de infección de la herida del 2,5%, a pesar del hecho de que el 70,3% de las heridas tenían cultivos de bacterias en el momento de presentación. Consideramos todas las fracturas con heridas que penetran la piel asociadas a una infección de la fractura por la gran cantidad de contaminación con suciedad y estiércol típica de los animales de consumo. Después de la inducción de la anestesia, limpiamos y desbridamos superficialmente la herida, preparamos la extremidad para la cirugía aséptica y lavamos abundantemente la herida. Obtenemos entonces cultivos aeróbicos y anaeróbicos del hueso y la cavidad medular. Este procedimiento reduce la contaminación con bacterias superficiales adventicias y permite una indicación más fiable del o los patógeno(s) verdadero(s). El tratamiento antibiótico empírico se inicia en el momento de la cirugía y se continúa hasta que se obtienen los resultados del cultivo bacteriano y de sensibilidad.

El tratamiento antibiótico empírico debería basarse en los patógenos óseos conocidos que afectan al ganado. Las bacterias más comunes cultivadas de infecciones óseas en el ganado son *Arcanobacter pyogenes, Streptoccoccus* spp., *Staphylococcus* spp., *Fusobacterium necrophorum, Bacteroides* spp., y coliformes. También se ha cultivado *Salmonella* spp. de lesiones óseas en el ganado. Los antibióticos probados para conseguir concentraciones terapéuticas en el hueso incluyen penicilina, cefalosporinas, fluoroquinolonas y combinaciones de trimetoprim-sulfametoxazol (dependiendo de la edad). Basándonos en nuestra experiencia clínica y los resultados de susceptibilidad bacteriana, iniciamos por rutina el tratamiento antibiótico con penicilina G procaína (22.000 U/kg de peso corporal, cada 24 horas, por vía subcutánea o intramuscular) o ceftiofur sódico (2,2 mg/kg de peso corporal, cada 24 horas, por vía subcutánea o intramuscular).

Cuando hay heridas abiertas y se establece un drenaje adecuado de la herida, llevamos a cabo un lavado abundante entre una o dos veces al día, dependiendo del grado de contaminación y la gravedad de la infección. La herida, la extremidad y la FEE se envuelven con materiales de vendaje limpios para evitar la contaminación por el ambiente. Se aplica un acolchado de gasas estériles

en la herida. Con frecuencia, utilizamos ungüentos antisépticos tópicos para cubrir la herida externa. Creemos que el beneficio potencial de los antisépticos tópicos para evitar que ascienda la infección supera los efectos inhibitorios leves de la cicatrización de la herida. El cuidado diario de la herida se mantiene hasta que el tejido granular cubre la herida.

La infección crónica (osteomielitis) de la fractura puede ser más difícil de resolver. La infusión intravenosa de antibióticos distal a un torniquete logra altos niveles de antibióticos en el líquido sinovial y hemos adaptado esta técnica al tratamiento de infecciones óseas crónicas. Las fracturas causadas por las lesiones en la extracción del ternero y las que tienen daños extensos en los tejidos blandos a menudo se asocian con un secuestro óseo. La curación de la fractura se ve ralentizada por la presencia del secuestro y la secuestrectomía normalmente permite que la curación de la fractura continúe. En terneros con fracturas del metacarpo o el metatarso causadas por el uso imprudente del extractor de partos, pueden verse secuestros corticales completos que, frecuentemente, llevan a la no unión o a una unión extremadamente retardada. En estos terneros, retiramos el secuestro lo antes posible, basándonos en radiografías o hallazgos clínicos, limpiamos la herida hasta que se forma un tejido de granulación sano y, entonces, hacemos un injerto de hueso esponjoso del esternón. El esternón proporciona el mayor volumen de hueso esponjoso para los injertos. Como alternativa, se puede utilizar para los injertos de hueso esponjoso la tibia proximal, el húmero proximal o el ilion.

Las fracturas infectadas que derivan en cierres en falso sépticos deben tratarse de forma similar a los casos de secuestro cortical. Los cultivos aérobicos y anaeróbicos y las pruebas de susceptibilidad microbiana se repiten y el lugar de la fractura se desbrida extensivamente de tejido fibroso. El desbridamiento se continúa hasta que el hueso sano esté expuesto. Entonces, se recoge un injerto de hueso esponjoso autólogo fresco y se implanta en el lugar de la fractura. Utilizamos una broca de entre 4,5 y 6,0 mm para tener acceso a la cavidad medular del hueso normal. En el ganado con fracturas sin cerrar crónicas, la incapacidad de caminar bien y la alteración en la carga de peso causadas por la cojera provoca atrofia medular. Esto limita la cantidad de hueso esponjoso que se puede recoger de los huesos largos. Por tanto, utilizamos el esternón como el lugar elegido para la recogida de hueso esponjoso si el procedimiento se va a realizar con anestesia general o utilizando métodos para prevenir traumatismos accidentales en el esternón o el tórax. Se utiliza una cureta para hueso para recoger la cantidad máxima de hueso esponjoso accesible. Este hueso se pone en la fractura y se cierra la piel del lugar, si es posible. Este tratamiento se basa en una técnica similar que se ha utilizado con éxito para tratar los cierres en falso sépticos en humanos.

Cuando la infección es demasiado extensa para el desbridamiento y el injerto de hueso esponjoso rutinarios o cuando la herida no tiene un tejido de granulación sano que proporcione el suministro de sangre al injerto, realizamos un desbridamiento extensivo e implantamos unas perlas impregnadas de antibiótico hechas a mano. Preparamos un cemento óseo de polimetilmetacrilato de grado ortopédico y lo mezclamos con penicilina, ceftiofur sódico, cefazolina o ampicilina en polvo antes de aplicar el cemento. Se pueden conseguir concentraciones terapéuticas localmente durante más de 21 días después de la aplicación.

Los cierres en falso sépticos se pueden tratar con éxito con una inmovilización rígida y las técnicas quirúrgicas descritas anteriormente. No obstante, pueden darse limitaciones económicas para un animal individual antes de que se produzca la consolidación clínica de la fractura.

Perspectivas Clínicas sobre las Fracturas Adecuadas para el Tratamiento en Granja

Radio y Cúbito

Las fracturas cerradas de la fisis distal del radio se pueden tratar con una escayola complete y tienen un buen pronóstico de éxito. Las fracturas de la mitad del radio o del cúbito requieren el uso de una férula-escayola Thomas, una transfijación con clavos y escayola o placas óseas. El pronóstico de curación es bueno, pero se pueden producir lesiones en la extremidad contralateral en los animales tratados con una férula-escayola Thomas. La transfijación con clavos y escayola y las placas óseas tienen un pronóstico entre bueno y excelente con un mínimo riesgo de lesión permanente en la extremidad contralateral. En los casos en los que es aplicable y económico, prefiero tratar las fracturas del radio y el cúbito utilizando la transfijación con clavos y escayola.

El radio se adapta bien a la FEE utilizando TCE cuando la fractura es cerrada. Cuando la configuración de la fractura permite la colocación de múltiples clavos proximales y distales a la fractura y el paciente pesa menos de 150 kg, colocamos la escayola abarcando solo el antebrazo. Esto permite el libre movimiento de todas las articulaciones de la extremidad delantera. En los pacientes de más de 150 kg, utilizamos una escayola completa para dar soporte adicional al conjunto. Cuando la fractura está abierta, usamos FEE con barras laterales metálicas o acrílicas para proporcionar acceso a la herida para el tratamiento diario de la fractura. La osteomielitis séptica puede llevar a la destrucción del paciente si no se realiza un desbridamiento extensivo y el cuidado de la herida.

En la experiencia de los autores, la mayoría de las fracturas abiertas del radio implican la diáfisis o fisis distal. Se necesita una FEE transarticular de tipo II para estabilizar la fractura por el pequeño tamaño y la geometría irregular de la epífisis radial distal. Se colocan dos o tres clavos en la diáfisis del radio proximal, un clavo puede colocarse en la epífisis radial distal, y se ponen dos o tres clavos en la diáfisis del metacarpo III/IV. La FEE debe mantenerse hasta que se resuelve la infección y se logra la consolidación clínica del hueso. Se espera que la unión clínica se dé en 4-6 semanas en terneros y a las 8-10 semanas en adultos después de la estabilización (Figura 7). Las fracturas abiertas pueden requerir 12 semanas o más para la consolidación clínica del hueso. La unión clínica del hueso se refiere a una suficiente estabilidad de la fractura para permitir que el animal camine sin apoyos externos, pero con una remodelación ósea incompleta.

La colocación de clavos transcorticales a través del radio debe hacerse en el plano facial entre el músculo extensor digital lateral y el músculo ulnaris lateralis (colocación en dirección de lateral a medial). Las estructuras neurovasculares principales del antebrazo están ubicadas en la cara caudomedial del radio. Por tanto, la colocación de los clavos a través del centro del radio en una dirección de lateral a medial tiene un mínimo riesgo de dañar estos vasos y nervios. Se pueden colocar clavos unilaterales multiplanares en el radio con ayuda de palpación, clavos marcadores y radiografías intraoperativas para calcular la posición óptima de los clavos. Cuando no se utiliza escayola, las barras laterales se colocan de forma que haya un espacio de 1 cm entre la piel y la barra lateral en el lugar más cercano (normalmente la metáfisis radial distal).

Los autores también han utilizado barras laterales acrílicas para estabilizar una fractura de Salter-Harris tipo II abierta del radio distal en una novilla Angus de 10 meses de edad y 275 kg (ver Figura 5). Se utilizó una configuración de tipo II en la FEE con tres clavos en la diáfisis del radio y tres clavos en la diáfisis del metacarpo II/IV. Las lesiones del tejido blando y la sepsis se resolvieron en un periodo de 4 semanas. La evidencia radiográfica de un

callo puente apareció a las 10 semanas después de la cirugía y la FEE fue retirada. Los informes publicados sobre el tratamiento de las fracturas del radio y el cúbito han descrito tranfijaciones con clavos y escayolas en terneros con menos de 60 días de edad y en una novilla añoja. Se han reportado métodos similares en una oveja y una llama.

Tibia

Aunque la fractura de tibia se ha visto como resultado de la extracción forzada durante la distocia, las fracturas de tibia normalmente son causadas por traumatismos. Las fracturas de la fisis distal de la tibia pueden ser tratadas con una escayola completa, pero estas fracturas son poco comunes. Las fracturas en la parte media de la tibia se pueden tratar con una férula-escayola Thomas, transfijación con clavos y escayola o con el uso de placas óseas. Las férula-escayolas Thomas tienen un buen pronóstico de curación de huesos, pero tienen una alta tasa de lesión en la extremidad contralateral. La transfijación con clavos y escayola y las placas óseas tienen un pronóstico entre bueno y excelente de curación y problemas mínimos de lesión en la extremidad contralateral.

La fractura de tibia es la fractura más común, tratada con FEE/TCE en el ganado. El uso de una combinación de férula-escayola Thomas modificada está asociado con múltiples complicaciones a corto y largo plazo. La TCE de las fracturas de tibia puede tener éxito en el ganado y la hemos utilizado en bovinos de hasta 1000kg (2200 libras) ~ (Figs. 20-23).

La TCE tradicional implica el uso de escayolas gruesas de fibra de vidrio como marco externo al que incorporar los clavos. Se ha hecho una modificación de esta técnica utilizando un tubo de mayor diámetro (> 3,5 cm) relleno de polimetilmetacrilato o una barra ancha de aluminio incorporada a la escayola a los que se conectan los clavos. Desde nuestra experiencia, la cinta de escayola de fibra de vidrio proporciona soporte suficiente, cuando se hace con el espesor apropiado para el peso corporal, y estas modificaciones son innecesarias.

Los clavos de transfijación son más difíciles de colocar correctamente en la tibia en comparación con el metacarpo o metatarso por la amplia cobertura de tejido blando en los aspectos craneal, lateral y caudal del hueso. Las principales estructuras neurovasculares de la extremidad pélvica se encuentran en el plano caudomedial de la tibia. Por tanto, se pueden poner los clavos de transfijación de lateral a medial con un mínimo riesgo de traumas neurovasculares. Lo ideal sería que los clavos de transfijación se implantaran de lateral a madial, entre los músculos y a través de los planos faciales para minimizar el dolor postoperatorio asociado con la interferencia con los músculos. Sin embargo, los planos faciales entre los músculos que rodean la tibia son difíciles de palpar y la extensa hinchazón asociada a la inflamación y al hematoma de la fractura hace que la palpación de estas estructuras sea difícil. Por tanto, colocamos los clavos de transfijación basándonos principalmente en la configuración de la fractura, acomodándonos a los tejidos blandos cuando es posible. Aunque se han observado complicaciones significativas en potros cuando los clavos interferían con el movimiento muscular, no hemos observado un detrimento clínico en el ganado después de la TCE.

En los terneros de menos de 150 kg, la TCE solo se puede poner en el hueso lesionado para optimizar la movilidad de las articulaciones. Se colocan dos o tres clavos proximales y distales a la fractura y se aplica material de escayola de fibra de vidrio para abarcar la longitud de la tibia. Normalmente, cortamos un segmento de la parte caudal de la escayola para permitir el libre movimiento de los tendones calcáneos. Se puede conseguir un caminar normal mediante esta técnica. El ganado de >150 kg de peso necesita una escayola completa como apoyo a los clavos de transfijación para optimizar la estabilidad de la fractura.

Metacarpo y Metatarso III/IV

Las fracturas que implican el metacarpo (MC) o el metatarso (MT) III/IV son las fracturas más frecuentes en los animales de consumo. Estas lesiones normalmente se dan como consecuencia de la extracción forzada durante la distocia. Las fracturas cerradas de la fisis distal del MC o del MT se pueden tratar utilizando una escayola de media caña. Las fracturas cerradas de la mitad del MC o del MT pueden ser tratadas con una escayola completa. Las fracturas abiertas en el ganado adulto se pueden tratar a través del desbridamiento, la limpieza y el lavado de la herida, la aplicación de una escayola completa y la administración de antibióticos durante 10-14 días. En el ganado de alto valor y en los terneros jóvenes, las fracturas abiertas se tratan mejor utilizando una fijación externa del esqueleto y cuidando diariamente la herida hasta que se cura. Los secuestros óseos se asocian a menudo con las fracturas abiertas del MC y el MT. La consolidación del hueso puede no darse hasta que se retire el secuestro. Si ha habido una sepsis prolongada, pueden ser necesarios injertos de hueso esponjoso para facilitar la unión del hueso. Los mejores lugares para recoger injertos de hueso esponjoso son el ala del ilion y la tibia proximal. La aplicación de perlas de cemento óseo impregnadas de antibióticos en la herida séptica proporcionará una liberación local prolongada de antibióticos y puede acelerar la resolución de la osteomielitis.

Los huesos metacarpianos y metatarsianos grandes son adecuados para la FEE porque estos huesos tienen un tejido blando mínimo cubriéndolos y los tejidos neurovasculares principales se encuentran caudolaterales y caudomediales a los huesos. Por tanto, se elige fácilmente el lugar para la colocación de los clavos de transfijación, sin ayuda de radiografías. Solo utilizamos radiografías para determinar la ubicación de los fragmentos de la fractura y las líneas de fisura en relación a los clavos. La mayoría de las fracturas del MC/MT III/IV responden favorablemente a la coaptación externa. La FEE se indica para el tratamiento de fracturas abiertas infectadas o fracturas conminutas inherentemente inestables en el ganado de alto valor económico (Figuras 8 y 9). Utilizamos habitualmente la TCE para fracturas cerradas (Figuras 10-12). La escayola se puede colocar abarcando solo la región metacarpiana/metatarsiana si el paciente pesa menos de 150 kg. Esto permite que camine de forma óptima. Debería usarse una escayola de media caña o completa en los pacientes más pesados para aumentar la estabilidad del conjunto (ver Figura 11).

Las facturas abiertas se tratan con el uso de una FEE con barras laterales metálicas o acrílicas (ver Figuras 8, 9 y 13). La configuración de la fractura determina la ubicación de los clavos. Las fracturas del MC/MT III/IV distal pueden requerir la colocación de un clavo de transfijación a través de la primera falange (PI). Hemos tratado fracturas abiertas con FEE en dos terneros (ver Figuras 8, 9, 13) con el clavo más distal colocado a través de la PI. Los terneros caminaban bien, pero la osteolisis y el aflojamiento del clavo parecían más graves en este punto.

El pronóstico para las fracturas cerradas del MC/MT III/IV es entre bueno y excelente con TCE (Figuras 14-16). Los animales tratados con una escayola para andar (clavos de transfijación y un marco metálico dentro de la escayola) tiene una buena productividad a largo plazo. En un experimento que evaluaba los acrílicos de autopolimerización, los tubos de polietileno con un diámetro interno de 19 mm proporcionaban una estabilidad adecuada para el ganado de entre 90 y 105 kg de peso. Técnicas similares han tenido éxito en tres llamas y una oveja.

Falanges

Las fracturas cerradas de las falanges se pueden tratar mediante la aplicación de una suela de entre 2,5 y 3,5 cm de altura a la planta del dedo sano. Se recomienda el confinamiento a un establo o corral pequeño durante 6-8 semanas.

Complicaciones en el Escayolamiento y Entablillado de Fracturas

Las complicaciones más frecuentes de las fracturas son la sepsis, la lesión de nervios y la lesión vascular. Las complicaciones más comunes en el tratamiento de las fracturas son las úlceras provocadas por la férula o escayola, lesiones en la extremidad contralateral y la mala consolidación. Un cierre en falso séptico puede ocurrir por una combinación de factores implicados en la fractura y en el tratamiento de la misma. Las lesiones vasculares y de los nervios se pueden minimizar con una apropiada inmovilización de la fractura antes de transportar al animal para recibir el tratamiento definitivo para la factura. La sepsis se puede minimizar prestando atención a los detalles, limpiando a fondo el lugar de la fractura y seleccionando los medicamentos antimicrobianos adecuados. Deben hacerse cultivos microbianos en todas las fracturas abiertas que no tengan grandes limitaciones económicas. Son preferibles los cultivos de hueso a los cultivos de herida para la selección de los fármacos antimicrobianos. La mala consolidación se puede evitar con una buena reducción cerrada o con una reducción abierta y fijación interna cuando no se pueda conseguir una reducción cerrada. Las lesiones en la extremidad contralateral se pueden prevenir por un confinamiento estricto del animal durante la convalecencia, un seguimiento frecuente, la retirada de la coaptación externa en el primer momento posible y la educación del cliente en el manejo de las fracturas de los pacientes en la granja.

COMPLICACIONES ASOCIADAS CON LA FEE

Las complicaciones clínicas más comunes relacionadas con el uso de fijaciones externas del esqueleto son la inestabilidad en el lugar de la fractura, el aflojamiento de los clavos, la osteolisis en el trayecto del clavo, las infecciones en el trayecto del clavo, el fallo de los implantes, la osteomielitis y la consolidación retardada o no consolidación de la fractura. La FEE en rumiantes se ha hecho, con más frecuencia, utilizando material de escayola como el marco de soporte externo para los clavos (transfijación con clavos y escayola). Las complicaciones más frecuentes fueron la osteolisis en el trayecto del clavo, el aflojamiento de los clavos y la sepsis en el trayecto de los clavos.

Desde nuestra experiencia en el ganado, más del 50% de los clavos utilizados en la FEE se sueltan a las 6-8 semanas. El dolor en el lugar del clavo asociado al aflojamiento se da en el ganado, pero este dolor no suele resultar en problemas clínicamente importantes en el ganado en comparación con los caballos. El ganado reposa en decúbito esternal durante la mayoría del tiempo de la convalecencia de la fractura. Este reposo disminuye notablemente el dolor asociado con la carga de peso y, por tanto, permite la prolongación de la vida útil de la FEE. Aunque son comunes, la osteolisis y la infección en el trayecto del clavo raramente suponen un problema para la resolución de la fractura. En el momento de la consolidación clínica, se retiran los clavos, los tractos de los clavos se limpian y se pueden indicar, o no, antibióticos. Los tractos de los clavos se curan rápidamente con pocos cuidados posteriores.

Hemos observado fracturas de radio en varios bovinos en los que se utilizaron clavos de transfijación. Estas fracturas se dan invariablemente en el radio a través de los agujeros distales de los clavos y se pueden producir durante la FEE o después de que se haya retirado la TCE. Anteriormente, hemos utilizado escayolas completas después de la retirada de la FEE en un intento de proteger el radio de ser cargado de tal forma que se produzca una fractura por el agujero de un clavo. No obstante, este tipo de retirada por etapas de la coaptación externa no ha disminuido notablemente la probabilidad de que se produzcan estas fracturas del radio por los agujeros de los clavos desde nuestra experiencia. La escayola puede servir como un fulcro en el cual se pueda dar una carga local excesiva del agujero del clavo (resvisar esta frase entera).

REFERENCIAS

1. Ferguson JG. Management and repair of bovine fractures. Compen Contin Educ Pract Vet 4:S128-135, 1982.

2. Anderson DE, St-Jean G. External Skeletal Fixation in Ruminants. Vet Clin N Amer Food An Pract 12:117-152, 1996.

3. Anderson DE, St-Jean G, Vestweber JG, et al. Use of a Thomas splint-cast combination for stabilization of tibial fractures in cattle: 21 cases (1973-1993). Agri-Practice 15:16-23, 1994.

ENGLISH VERSION ▼

Management of Fractures in Field Settings

David E. Anderson, DVM, MS, DACVS

Professor and Head, Large Animal Clinical Sciences

College of Veterinary Medicine

University of Tennessee

Knoxville, Tennessee, USA

Fractures in Food Animals

Fractures involving the limbs are common in farm animals, are most commonly found in young stock, and often occur subsequent to trauma during dystocia or handeling. The most common fractures diagnosed in food animals include metacarpus and metatarsus (~ 50 %), tibia (~ 12 %), radius and ulna (~ 7 %), femur (uncommon), humerus (< 5 %), pelvis (uncommon), and phalanges (rare).[1] Fractures of the axial skeleton (mandible, vertebra, ribs, pelvis) are found less commonly. Food animals are excellent patients for treatment of orthopaedic injuries because they spend a majority of time lying down, have a tremendous potential for bone healing, are more resistant to contralateral limb breakdown and stress laminitis, and usually do not resist having orthopedic devices on their limbs. The decision to treat a fracture in a food animal is made by considering the cost of the treatment, the success rate of the treatment, the perceived or potential economic or genetic value of the animal, and the location and type of fracture. Most owners will elect to pursue inexpensive treatment for fractures with a high success rate, but owners also often elect to pursue costly fracture treatment, even when the success rate is estimated to be poor, when cattle are perceived to have high economic or genetic potential.

Emergency Treatment

Temporary stabilization of limb fractures may be performed prior to moving the animal or attempting to get the animal to stand.

As a general rule, fractures below the level of the mid-radius or mid-tibia may be temporarily stabilized with splints or casts. In my experience, field stabilization of fractures proximal to this level should not be attempted. These efforts often result in the creation of a "fulcrum effect" at the fracture site and result in increased soft tissue trauma, damage to neurovascular structures, or compounding of the fracture. Cattle with these fractures should be carefully loaded into the trailer and allowed time to lay down before beginning transport. For these proximal injuries, cattle will protect the limb adequately for transport and any additional trauma that occurs is less severe than that which may occur as a result of the "fulcrum effect".

External coaptation for temporary stabilization of the fracture may be done by using two splints or a cast. Two boards or pieces of a large PVC pipe cut in half, placed 90 degrees to each other (e.g., caudal and lateral aspect of the limb), create a stable external coaptation. A padded bandage is placed on the limb, the splints positioned, and elastic tape applied firmly. Circular clamps (e.g., hose clamps) may be used to achieve firm placement of the splints on the limb. The injury should be centered within the coaptation with as much support proximal and distal to the injury as possible. All external coaptation devices should extend to the ground (to a level immediately distal to the sole of the hooves). For injuries distal to the carpus or hock, the splints should be placed to the level of the proximal radius or tibia, respectively. For injuries proximal to the carpus or hock and distal to the mid-radius or mid-tibia, the lateral splint should extend to the level of the proximal scapula or pelvis, respectively.

Principles of Fracture Management

The location of the fracture, presence of soft tissue and neurovascular trauma, closed or open fracture environment, behavioral nature of the animal, and experience of the veterinarian are important factors for considering what type of treatment is chosen. Fractures of the axial skeleton are often treated by stall rest, alone, because external or internal fixation is not required. For fractures involving the apendicular skeleton, the following questions must be answered: 1) is treatment required, 2) can the fracture be acceptably reduced closed or is internal reduction required, 3) can the fracture be adequately immobilized using external coaptation, alone, or is internal fixation, with or without external coaptation, required, 4) and what is the cost-benefit analysis.

Walking Block

Cattle have two weightbearing digits for each limb, and, therefore, may stand on one digit during convalescence of the paired digit (e.g., phalangeal fracture). A wooden, rubber, or plastic block (2.5 to 3.5 cm height and formed to the size and shape of the healthy hoof) can be applied to the sole of the healthy digit. The animal is confined to a stall or small pen for 6 to 10 weeks while fracture healing procedes and the block is removed. Often, wooden blocks will become worn and removal is not neccessary.

Casting

Half-limb casts (short casts) can be used for immobilization of phalangeal fracture and for distal metacarpal or metatarsal physis fracture. The cast is placed from a point immediately distal to the carpus or hock extending to the ground and encasing the foot. The dew claws and the top of the cast are padded, but only stockinette or foam resin padding (3M company) is placed on the remainder of the limb. Thick padding, placed along the entire limb, will quickly become compressed leaving room for the limb to move within the cast and displacement of the fracture to occur.

Full-limb casts are used for fractures occurring at or proximal to the mid-metacarpus or metatarsus, but distal to the mid-radius or mid-tibia. Full limb casts are placed similarly to half limb casts, but the bony prominences of the accessory carpal bone, styloid process of the ulna, calcaneous, and medial and lateral maleolus of the tibia must be padded.

Placement of the cast is facilitated by use of rope restraint, sedation, or anesthesia as needed. An assistant should help to maintain alignment of the limb during application, being sure to check the position of the limb in craniocaudal and lateromedial planes. Tension on the limb during casting may be achieved by placing wires through holes drilled in the hoof wall and applying tension. The holes should be placed such that the hoof is positioned in a normal to slightly flexed position. The thickness of the cast is usually based on clinical judgement. Casts 6 to 8 layers thick may be adequate for calves less than 150 kgs body weight, but adult cattle may require casts 12 to 16 layers thick. Casts used on the hind limbs must be made thicker because of stress concentration by the angulation of the hock. Incorporation of metal rods within the cast (two rods placed 90 degrees to each other) can increase the strength of the cast, but is only needed in the largest of patients. Newer fiberglass casting materials are more resistant to breaking and do not weaken when wet if sufficient cast material is used. Use of a walking bar ("U" shaped bar placed under the hoof and incoporated into the cast) will increase distribution of loading forces into the cast and away from the distal limb, but the foot should always be included in the cast.

Casts may be maintained in calves for up to 6 weeks without being changed. Scheduled cast changes at 3 week intervals may be required for rapidly growing calves or for calves that become lame during convalescence. Physeal fractures are usually healed within 4 weeks, but non-physeal fractures often require 6 weeks to reach clinical union in calves. Fractures in adult cattle may heal within 8 to 10 weeks, but often require 12 to 16 weeks for clinical union to occur. Radiographic union of the fracture (defined as bone union with resolution of the fracture line) is not seen for weeks to months after clinical union (defined as sufficient bridging callus to allow weight bearing without additional support to the limb) has been reached.

Thomas Splint and Cast Combination

Use of a Thomas splint and cast combination is appropriate for fractures distal to the elbow or stifle. The length of the splint should be measured while the animal is standing and by using the normal limb for measurements. An appropriate splint is chosen or constructed, and the patient is placed into lateral recumbency (rope restraint, sedation, and / or anesthesia). The fracture is reduced and a cast applied from the distal metacarpus or metatarsus to the level of the proximal radius or tibia. The splint is placed on the limb, the foot is attached to the base of the splint by drilling holes in the hoof walls and wiring the foot to the splint base, and casting tape is used to attach the cast to the splint frame. The limb cast should be firmly attached to the splint frame to prevent rotation of the limb along the splint during ambulation. The hoop of the splint must be firmly placed into the axilla or groin to allow maximal weigh transferance, and, therefore, the hoop must be heavily padded. Cattle having a Thomas splint-cast must be assisted to stand for 3 to 5 days until they learn how to rise under their own power. Also, these patients must be checked several times daily to ensure that they have not laid down ontop of the splint. Often patients are not able to rise after lying down on the splint and life-threatening rumen tympanities may occur if they remain trapped for a prolonged period.

Transfixation Pinning and Casting and External Skeletal Fixation

External skeletal fixation (ESF) refers to the stabilization of a debilitating musculoskeletal injury (typically fractures but also joint luxation or tendon rupture) using transfixation pins (or transcortical pins) and any external frame connecting the pins and spanning the region of instability. The goal of ESF is to provide a sustainable, comfortable means to return the patient to weight-bearing (or function) as soon as possible after surgery, to maintain normal joint mobility, if possible, and to provide an optimal environment for osteosynthesis and wound healing.

Mechanical limitations of external skeletal fixators include failure of the implants (bending or breaking of the pins), side bars, or clamps because of acute failure or cyclical fatigue. These potential problems have contributed to the slow and cautious adaptation of ESF in large 'animals. Use of ESF in ruminants has also been impeded by economic constraints. External skeletal fixation is being increasingly used in cattle, sheep, goats, llamas, and ratites. This article concentrates on adaptation of the principles of ESF to cattle and discusses the application of ESF to individual bones including complications in the use of ESF.

DECISION-MAKING FOR ESF

Cast immobilization of fractures in ruminants is chosen, whenever appropriate, because of economic considerations.37 Complications of casting can include one or more of the following: muscle contracture, loss of range of motion of joints because of joint capsule and ligament contracture, reduction in articular cartilage quality of and health because of prolonged immobilization, cast ulcers, impingement of soft tissues and vasculature, creation of open wounds that may communicate with the fracture, malalignment of the fracture, mal-union of the fracture, delayed union of the fracture, and prolonged convalescence. Depending on the type of ESF used, these complications can be prevented or minimized. When cast immobilization is not appropriate or does not provide optimal management of fractures, other modalities must be considered. Casts cannot adequately immobilize fractures proximal to the distal radial physis or the distal tibial physis. Also, soft tissue injuries and open fractures may not be managed optimally by use of casts, splints, or splint-cast combinations. ESF presents a better option for stability and healing of fractures in many cases based on fracture configuration, soft tissue injuries, or open fractures. Usually, ESF is used in purebred animals, show animals, or other cattle of high perceived economic value.

Advantages

ESF has many advantages for the treatment of fractures.14, 20, 28, 29, 87, 93,99 ESF provides early return to function of the affected limb, management of soft tissue wounds on the limb, preservation of local blood flow to the fracture site, preservation of bone stimulatory proteins that exude into the fracture site at the time of initial injury, diversity in design for comminuted fractures, ease of implant removal after clinical union of the fracture, and relatively few complications resulting from the implants. ESF has been applied to most of the long bones of the domestic species. Transarticular application of external fixators has been used in the presence of severe soft tissue trauma or severe comminution of the proximal or distal end of the affected bone, and for arthrodesis or ankylosis of joints.23, 119 Transarticular use of external fixators must be done with consideration for the potential of inducing damage to the involved joint because of immobilization.3, 70, 127

Disadvantages

Disadvantages of ESF are suboptimal fracture reduction and poor anatomic alignment, absence of interfragmentary compression, less rigid stabilization of the affected bone compared with bone plates, increased postoperative management compared with bone plates or casting, pain associated with micromotion at the pin-bone interface, and potential failure of the implants before clinical union of the fracture.

Whenever possible, transcortical pins should be inserted between muscles and through facial planes. Pins placed through major muscle groups may result in pain and reduced usage of the affected limb. In a femoral fracture study, dogs returned to normal, full function within 3.5 weeks after application of a bone plate compared with 7.5 weeks after application of a intramuscular pin and half Kirchner splint.28 Also, rnuumal mtervenmg soft tissue between the sidebar and bone is desirable so that the bone-sidebar distance can be optimized.

GUIDELINES FOR ESF IN FOOD ANIMALS

Fractures of the metacarpus/metatarsus III/IV, radius, ulna, and tibia may be most easily repaired using ESF with the patient in dorsal recumbency and the limb suspended from an overhead frame. Lateral recumbency is done with careful attention to alignment in the sagittal planes. Fractures of the humerus and femur are approached with the animal in lateral recumbency. Excessive soft-tissue swelling and inflammation is typical of fractures in large animals. If the surgeon has little experience with ESF in ruminants, we suggest placement of marker needles at the proposed site for placement of the transcortical pins. Then, radiograph images are obtained and the pins sites are chosen based on the relationship of the marker needles with the fracture, fissure lines, adjacent joints, and intact cortical bone. With experience in choosing placement of pins and thorough knowledge of the limb anatomy of cattle, this step can be omitted.

A l-cm incision is made through the skin at the chosen pin site. A hole is then drilled through the bone and another incision is made for the exit site of the pin (for bilateral transcortical pins). We use a pneumatic orthopedic drill with variable speeds up to 700 rpm (Small Air Drill, Synthes, Paoli, PA). Pins are implanted with the drill at low speed. However, standard electric or battery-powered drills may be used after appropriate sterilization. During drilling, the drill bit should be continuously flushed with a sterile isotonic solution to help decrease thermal injury to the bone. Finally, the pin is implanted. Selection of drill bit and pin sizes should be done such that the pin is large enough to sustain full ambulatory weight loading by the patient. A tissue protector, or pin guide, is beneficial to prevent excessive soft-tissue trauma during drilling and implantation.

Types of External Skeletal Fixation

Traditional Sidebars And Clamps

ESF was designed for the use of transfixation pins, sidebars, and clamps to stabilize fractures unsuited for external coaptation alone or for internal fixation. The sidebars typically are stainless steel, but aluminum and carbon frames are also available. Traditional ESF provides rigid immobilization of a fracture with minimal soft-tissue trauma and without disrupting the blood supply via soft tissue attachments to the fracture fragments. Also, this type of ESF provides optimal access to soft-tissue injuries for daily management of open fractures.

The clamps connecting the pins to the sidebars are a potential "weak link" in traditional external fixators. Welding the transfixation pins to the sidebar has been proposed as a means to

decrease postoperative management and strengthen the attachment of the pin to the sidebar for use in cattle.33 Welding may result in thermal injury to the bone because of heat conduction in the transfixation pins, and may also result in electric shock to the patient. Also, the sidebars are not reusable and poorly applied welds may break, leading to failure of the assembly.

The main limitation of traditional external fixators is the ability of the assembly to resist failure during loading. We have used commercially available fixator frames in animals weighing less than 150 kg. We do not recommend the use of traditional sidebar-clamp assemblies for cattle weighing more than 150 kg because of the higher risk of failure of the pin-damp-sidebar unit. Table 2 includes suggested diameters for Sidebars for use in cattle based on body weight. Regardless of the size of the animal, damps should be examined daily for tightness, position, and evidence of fatigue.

Acrylic Polymer Sidebars

The use of methylmethacrylate as an inexpensive, conformable sidebar has biomechanical advantages compared with the standard steel SIdebars and clamps. In an in vitro biomechanical study using a type I ESP configuration (unilateral frame), a 20-mm acrylic sidebar was equal to or stronger than a 4.8-mm steel sidebar in compression, shear, and torsion.89 Additional studies have shown similar results for 1.91-cm and 2.54-cm acrylic sidebars used in type II and type III configurations.132 We have successfully extrapolated this data to clinical cases.

Use of acrylic sidebars has advantages similar to those of traditional ESP. However, acrylic sidebars cannot be adjusted after the reSIn has hardened and must be replaced if an error in configuration of the frame has occurred.86 Acrylics (Technovit, Jorgensen Laboratories, Loveland, CO) harden with an exothermic reaction (greater than 55°C.P Therefore, potential thermal injury to the skin and bone must be considered. Transfixation pins should be rmsed wlth stenle IsotOniC fluids during the exothermic period to help dissipate heat. Research on the dissIP.atIOn of heat from these acrylics has recommended a mInImUm safe skin-tosidebar distance of 10 mm?6 An adequate supply of acrylic should be readily available at the time of surgery, and the acrylic must be poured into the tubing mold while it is relatively liquid. Pouring the acrylic in multiple layers or while it is firming up causes air pockets, layering, or cracking of the sidebar and may result in catastrophic failure. Though acrylics have good mechanical stiffness, they are brittle. Therefore, acrylic sidebars must be inspected daily to ensure that failure of the fixator does not occur. The acrylic sidebars may be removed in sections by using obstetrical wire to cut the acrylic surrounding the pins.

Transfixation Pinning And Casting

TPC has been used successfully in cattle for fractures of various bones.67, 75, 97,103 This adaptation of ESP techniques has the distinct advantage of multiplanar fixation with the placement of transfixahon pinS limited only by anatomic structures and fracture configureation. Also, TPC allows minimal postoperative case management with a high degree of success. This advantage is particularly suited to food animals.

We exclusively use fiberglass casting tape for TPC. We have found that inclusion of metal braces or walking bars is not necessary when using fiberglass casts. Recent biomechanical studies have shown differences with application techniques for fiberglass casts and potenhal benefits of placing a metal bar on the compression and tension sides of the limb.l33• 134 Clinical judgement is the best guide for the thickness of the cast (see Table 2). We have seen two full-limb rear limb casts fail after surgery; both failed at the dorsal aspect of the hock. The first cast failed when an adult bull with a tibial fracture tried to stand before the cast had completely dried. The other cast broke because of insufficient cast material to withstand the forces imparted by an adult bull. Both casts were repaired, and both bulls made a complete recovery.

Pin position and fixator configuration cannot be adjusted after the cast has been applied when using TPC. Also, open wounds or open fractures are difficult to manage with TPC. Complications during TPC, such as creation of an open fracture or development of cast sores, are difficult to assess and some delay may result before these problems are addressed. We recommend using resin-impregnated foam (3M Custom Support Foam, 3M Animal Care Products, St. Paul, MN) on the l˜mb prior to casting. This foam padding conforms to the limb, provides excellent protection of the limb, and allows the IImb to remam dry under the cast because of its porous structure. We have observed a decrease in the severity of pin tract complications when the foam padding was used.

Closed versus Open Fractures

Overall, closed fractures without damage to the blood supply to the limb have a good to excellent prognosis for healing in cattle. The prognosis for success is less for older cattle or cattle of high body weight. Open fractures have a guarded prognosis for healing in cattle. The success rate depends on the severity of soft tissue damage, the bone affected, the age of the patient, the duration and degree of contamination of the wound, and the economic limitations placed on fracture management. Prolonged antibiotic therapy is indicated, and open wound management is preferable to enclosing the wound within a cast. Mature cattle are better able to overcome bone infection associated with open fractures than young calves. Often, mature cattle having an open metacarpal fracture are able to heal and return to productivity after thorough cleaning of the wound, administration of antibiotics, and application of a full limb cast. However, young calves with similar injury are prone to septic non-union or delayed union.

MANAGEMENT OF OPEN FRACTURES

The use of prophylactic antibiotics in veterinary orthopedic surgery has been questioned.[62. 124] However, we routinely use antibiotics for 7 to 10 days after surgery for closed fractures because of the environment to which food animals are exposed. Antibiotic selection for use in cattle must be made with consideration for extra-label use and potential antibiotic residues.[61.100]

The management of open fractures presents special challenges to the surgeon. Treatment of open fractures in humans by extensive debridement, copious lavage, antibiotic therapy for 72 hours, and appropriate fracture management resulted in a wound infection rate of 2.5% despite the fact that bacteria were cultured from 70.3% of wounds at the time of presentation.[57] We consider all fractures with a penetrating skin wound associated with the fracture to be infected because of the severity of contamination with dirt and manure typical of food animals. After induction of anesthesia, we clean and superficially debride the wound, prepare the limb for aseptic surgery, and copiously lavage the wound. We then obtain aerobic and anaerobic cultures of the bone and medullary cavity. This procedure decreases contamination with transient, surface bacteria and yields a more reliable indication of the true pathogen(s). Empiric antibiotic therapy is initiated at the time of surgery and continued until bacterial culture and sensitivity results are obtained.

Empiric antibiotic therapy should be based on known osseous pathogens affecting cattle. The most common bacteria cultured

from skeletal infections in cattle are *Arcanobacter pyogenes, Streptoccoccus* spp., *Staphylococcus* spp., *Fusobacterium necrophorum, Bacteroides* spp., and coliforms. [16, B1, 101, 110, 122, 129] *Salmonella* spp. have also been cultured from osseous lesions in cattle.[B3] Antibiotics proven to achieve therapeutic concentrations in bone include penicillin, cephalosporins, fluoroquinolones, and trimethoprim-sulfa combinations (age-dependent).[32, 41, 55, 59] Based on our clinical experience and bacterial susceptibility results, we routinely initiate antibiotic therapy with procaine penicillin G (22,000 U/kg body weight, every 24 hours, subcutaneously or intramuscularly) or sodium ceftiofur (2.2 mg/kg body weight, every 24 hours, subcutaneous or intramuscular).

When open wounds are present and adequate drainage established from the wound, we perform copious lavage one to two times daily, depending on the degree of contamination and the severity of the infection. The wound, limb, and ESF are wrapped with clean bandage materials to prevent contamination from the environment. Sterile gauze padding is applied to the wound. We frequently use topical antiseptic ointments to cover the external wound. We feel that the potential benefit of topical antiseptics in preventing ascending infection outweighs mild inhibitory effects on wound healing. Daily wound care is continued until granulation tissue has covered the wound.

Chronic infection (osteomyelitis) of the fracture can be more difficult to resolve. Intravenous infusion of antibiotics distal to a tourniquet achieves high levels of antibiotics in synovial fluid,51, 131 and we have adapted this technique to the treatment of chronic osseous infections. Fractures caused by calving chain injuries and those having extensive soft tissue damage often are associated with osseous sequestra. Fracture healing is slowed by the presence of the sequestrum and sequestrectomy will usually allow fracture healing to procede. In calves having fracture of the metacarpus or metatarsus caused by injudicious use of calving chains, full cortical sequestra can be seen and often lead to nonunion or extreme delayed union. In these calves, we remove the sequestrum at the earliest time possible based on radiographs or clinical findings, cleanse the wound until a healthy granulation bed is present, then perform cancellous bone grafting from the sternum. The sternum provides the largest volume of cancellous bone for grafting. Alternatively, the proximal tibia, proximal humerus, or ileum may be used for cancellous grafts.

Infected fractures that progress to septic nonunion should be treated similarly to cortical sequestrum cases. Aerobic and anaerobic cultures and microbial susceptibility tests are repeated, and the fracture site is extensively debrided of fibrous tissue. The debridement is continued until healthy bone is exposed. A fresh, autologous cancellous bone graft is then harvested and implanted into the fracture site. We use a 4.5- to 6.0-mm drill bit to gain access to the medullary cavity of the normal bone. In cattle having chronic non-healing fractures, failure to ambulate and altered weight bearing caused by lameness causes medullary atrophy. This limits the volume of cancellous bone that can be harvested from the long bones. Thus, we use the sternum as the site of choice for cancellous boen harvest if the procedure is to be performed under general anesthesia or using methods that prevent accidental trauma to the sternum or thorax. A bone curette is used to collect the maximum quantity of cancellous bone accessible. This bone is packed into the fracture and the skin is closed over the site, if possible. This treatment was based on a similar technique that has been used successfully to treat septic nonunion in humans.[53]

When the infection is too extensive for routine debridement and cancellous bone grafting or when the wound does not have a healthy granulation bed to provide blood supply to the graft, we perform extensive debridement and implant hand-made antibiotic impregnated beads. We prepare orthopedic grade polymethylmethacrylate bone cement and then mix in powdered penicillin, sodium ceftiofur, cefazolin, or ampicillin before implanting the cement. Therapeutic concentrations may be achieved locally for more than 21 days after implantation.[1,17,39,B2,107]

Septic nonunion may be successfully treated by rigid immobilization and the surgical techniques described above. However, the economic limitations of an individual animal may be encountered before clinical union of the fracture has occurred.

Clinical Perspectives on Fractures Suitable for treatment in Field Settings

Radius and Ulna

Closed fractures of the distal physis of the radius may be treated by a full limb cast and has a good prognosis for success. Fracture of the mid-radius and ulna requires use of a Thomas splint-cast, transfixation pin-cast, or bone plate. The prognosis for healing is good, but significant contralateral limb injury may occur in animals treated by Thomas splint-cast. Transfixation pinning and casting and bone plating have good to excellent prognoses with minimal risk of permanent injury to the contralateral limb. Where applicable and economical, I prefer to treat fractures of the radius and ulna using transfixation pinning and casting.

The radius is well suited to ESF using TPC when the fracture is closed. When fracture configuration allows placement of multiple pins proximal and distal to the fracture and the patient weighs less than 150 kgs, we place the cast spanning the antebrachium only. This allows free movement of all joints in the forelimb. In patients weighing more than 150 kgs, we use a full-limb cast to provide additional support to the assembly. When the fracture is open, we use ESF with metal or acrylic sidebars to provide access to the wound for daily fracture management. Septic osteomyelitis may lead to destruction of the patient if extensive debridement and wound care are not performed.J7

In the authors' experience, most open radial fractures involve the distal diaphysis or physis. A type II, transarticular ESF is necessary to stabilize the fracture because of the small size and irregular geometry of the distal radial epiphysis. Two or three pins are placed into the diaphysis of the proximal radius, one pin may be placed into the distal radial epiphysis, and two or three pins are placed into the diaphysis of the metacarpus III/IV. The ESF should be maintained until the infection has resolved and clinical bone union is achieved. Clinical union is expected within 4 to 6 weeks in calves and within 8 to 10 weeks in adults after stabilization (Fig. 7). Open fractures may require 12 weeks or more for clinical bone union. Clinical bone union refers to fracture stability sufficient to allow ambulation without external support, but with incomplete osseous remodeling.

Placement of transcortical pins through the radius should be done in the fascial plane between the lateral digital extensor muscle and the ulnaris lateralis muscle (placement from lateral to medial direction). The principle neurovascular structures of the antebrachium are located on the caudomedial aspect of the radius. Therefore, placement of pins through the center of the radius in a lateral-to-medial direction has minimal risk of damaging these vessels and nerves. Multiplanar unilateral pins may be placed into the radius with the aid of palpation, marker pins, and intraoperative radiographs to estimate the optimal position for the pins. When casting is not used, the sidebars are placed so that a 1em space exists between the skin and sidebar at the closest point (usually the distal radial metaphysis).

The authors also have used acrylic sidebars to stabilize an open, Salter-Harris type II fracture of the distal radius in a IO-month-

old, 375kg Angus heifer (see Fig. 5). A type II ESF configuration was used with three pins in the diaphysis of the radius and three pins in the diaphysis of the metacarpus III/IV. The soft tissue injuries and sepsis resolved during a 4-week period. Radiographic evidence of a bridging callus was apparent 10 weeks after surgery and the ESF was removed. Published reports of treatment of fractures of the radius and ulna have described transfixation pinning and casting in calves younger than 60 days old and in a yearling heifer.6. 19.67.111 Similar methods have been reported in a ewe and a llama.?' 67

Tibia

Although fracture of the tibia has been seen as a result of forced extraction during dystocia, tibia fractures are usually caused by trauma. Fracture of the distal physis of the tibia may be treated with a full limb cast, but these fractures are uncommon. Fracture of the middle portion of the tibia may be treated by Thomas splint-cast, transfixation pinning and casting, or use of a bone plate. Thomas splint-casts have a good prognosis for bone healing, but have a high rate of injury to the contralateral limb. Transfixation pin-casts and bone plates have a good to excellent prognosis for healing, and minimal problems with contralateral limb injury.

Fracture of the tibia is the most common fracture, treated by ESF/TPC in cattle. Use of a modified Thomas splint-cast combination is associated with multiple short-term and long-term complications.?' 5 TPC of tibial fractures can be successful in cattle and we have used this in cattle weighing up to 1000 kgs (2200 lbs) ~ (Figs. 20-23).58.113 126. 128

Traditional TPC involves using thick fiberglass casts as the external framework into which the pins are incorporated. Modification of this technique has been done using large diameter (> 3.5-cm) tubing filled with polymethylmethacrylate or a wide aluminum bar incorporated into cast and connecting the pins. In our experience, fiberglass casting tape provides sufficient support, when constructed to appropriate thickness for the body weight, that these modifications are unnecessary.

Transfixation pins are more difficult to place correctly in the tibia compared with the metacarpus or metatarsus because of the extensive soft tissue coverage of the cranial, lateral, and caudal aspects of the bone. The principle neurovascular structures of the pelvic limb are located on the caudomedial aspect of the tibia. Therefore, lateral-to-medial transfixation pins may be placed with minimal risk of neurovascular trauma. Ideally, transfixation pins should be implanted, from lateral to medial, between the muscles and through fascial planes to minimize post-operative pain associated with muscle interference. However, the fascial planes between muscles surrounding the tibia are difficult to palpate and extensive swelling associated with inflammation and fracture hematoma make palpation of these structures difficult. Therefore, we place transfixation pins based primarily on the fracture configuration with accommodation to soft tissues made when possible. Although significant complications were observed in foals when pins interfered with muscle movement,116 we have not observed a clinical detriment in cattle after TPC.

In calves weighing less than 150 kg, TPC may be place soley on the injured boen to optimize joint mobility. Two to three pins are placed proximal and distal to the fracture and fiberglass cast material is applied to span the length of the tibia. We usually cut a segment out of the caudal portion of the cast to allow free movement of the calcaneal tendons. Normal ambulation is afforded by this technique. Cattle weighing > 150 kg require construction of a full limb cast in support of the transfixing pins to optimize fracture stability.

Metacarpus and Metatarsus III/IV

Fractures involving the metacarpus (MC) or metatarsus (MT) III/IV are the most common fractures to occur in food animals. These injuries often occur as a result of forced extraction during dystocia. Closed fracture of the distal physis of the MC or MT may be treated using a half limb cast. Closed fracture of the middle portion of the MC or MT may be treated with a full limb cast. Open fractures in mature cattle may be treated by thoroughly debriding, cleaning, and flushing the wound, applying a full limb cast, and administering antibiotics for 10 to 14 days. In valuable cattle and young calves, open fractures are best treated by use of an external skeletal fixator and daily wound care until the wound is healed. Bone sequestra are often associated with open fractures of the MC and MT. Bone healing may not occur until sequestra have been removed. If prolonged sepsis has been present, cancellous bone grafts may be required to facilitate bone union. The optimal site for harvesting cancellous bone grafts are the wing of the ileum and the proximal tibia. Implantation of antibiotic impregnated bone cement beads into a septic wound will provide prolonged local release of antibiotics and may accelerate resolution of osteomyelitis.

The large metacarpal and metatarsal bones are readily suited for ESF because these bones have minimal soft tissue covering and the principle neurovascular tissues are located caudolateral and caudomedial to the bones. Therefore, transfixation pin placement is easily chosen without the aid of radiographs. We use radiographs only to determine the location of the fracture fragments and fissure lines relative to the pins. Most fractures of the MC/MT III/IV respond favorably to external coaptation. ESF is indicated for treatment of open, infected fractures or highly comminuted, inherently unstable fractures in cattle of high economic value (Figs. 8 and 9). We routinely use TPC for closed fractures (Figs. 10-12). The cast may be placed to span only the metacarpal/metatarsal region if the patient weighs less than 150 kg. This allows optimal ambulation. A half-limb or full-limb cast should be used in heavier patients to increase the stability of the assembly (see Fig. 11).

Open fractures are treated by use of an ESF with metal or acrylic sidebars (see Figs. 8, 9, and 13). Fracture configuration determines the location of the pins. Distal MC/MT III/IV fractures may require placement of a transfixation pin through the first phalanx (PI). We have treated open fractures in two calves with ESF (see Figs. 8, 9, 13) with the distal-most pin placed through PI. The calves ambulated well, but pin tract osteolysis and pin loosening seemed more severe at this location.

The prognosis for closed MC/MT III/IV fractures is fair to excellent with TPC (Figs. 14-16). Animals treated with a walking cast (transfixation pins plus a metal frame within the cast) have good long-term productivity.114.115 In an experiment evaluating self-polymerizing acrylics, polyethylene tubes with an internal diameter of 19 mm provided adequate stability for cattle weighing between 90 and 105 kg.102 Similar techniques have been successful in three llamas and one ewe.67

Phalanges

Closed fractures of the phalanges may be treated by application of a 2.5 to 3.5 cm height block to the sole of the healthy digit. Confinement to a stall or small pen is recommended for 6 to 8 weeks.

Complications of Casting and Splinting of Fractures

The most common complications of fracture are sepsis, nerve injury, and vascular injury. The most common complications of fracture treatment are cast or splint sores, breakdown injury in

the contralateral limb, and malunion. Septic non-union may occur from a combination of factors involved with fracture and fracture treatment. Nerve and vascular injury can be minimized by appropriate fracture immobilzation prior to transporting the animal of achieving definitive fracture treatment. Sepsis can be minimized by close attention to detail, thorough cleaning of the fracture site, and selection of appropriate antimicrobial drugs. Microbial cultures should be performed on all open fractures where economic limitations are not severe. Bone cultures are preferred to wound cultures for selection of antimicrobial drugs. Malunion can be prevented by optimal closed reduction or by open reduction and internal fixation when closed reduction can not be achieved. Contralateral limb injury can be prevented by strict confinement of the animal during convalescence, frequent monitoring, removal of external coaptation at the earliest appropriate time, and client education for on-farm fracture patient management.

COMPLICATIONS ASSOCIATED WITH ESF

The most common clinical complications with use of external skeletal fixators are instability at the fracture site, pin loosening, pin tract osteolysis, pin tract infections, implant failure, osteomyelitis, and delayed union or nonunion of the fracture.[13. 54. 65. 78. 92] ESF in ruminants has, most commonly, been performed using cast material as the external supporting frame for the pins (transfixation pinning and casting).?' 19. 58••67. 88. 114.130 The most common complications were pin tract osteolysis, pin loosening, and pin tract sepsis.

In our experience in cattle, more than 50 % of pins used in ESF become loose within 6 to 8 weeks. Pin site pain associated with loosening occurs in cattle, but pin pain does not often result in clinically significant problems in cattle as compared with horses. Cattle rest in sternal recumbency during a majority of the time during fracture convalescence. This repose markedly lessens pain associated with weight bearing and thus allows prolongation of the useful lifetime of ESF. Although common, pin tract osteolysis and pin tract infection rarely present a problem for resolution of the fracture. At the time of clinical union, pins are removed, the pin tracts cleansed, and antibiotics may or may not be indicated. Pin tracts heal rapidly with little after care.

We have observed fracture of the radius in several cattle in which transfixation pins were used. These fractures invariably occur in the radius through the distal pin holes and may occur during ESF or after a TPC had been removed. Previously, we have used full limb casts after removal of the ESF in an attempt to protect the radius from being loaded in such a way that a pin hole fracture may occur. However, this type of staged removal of the external coaptation has not significantly lessened the likelihood of radius pin-hole fracture in our experience. The cast may serve as a fulcrum in which excessive focal loading of the pin hole can occur.

REFERENCES

1. Ferguson JG. Management and repair of bovine fractures. Compen Contin Educ Pract Vet 4:S128-135, 1982.

2. Anderson DE, St-Jean G. External Skeletal Fixation in Ruminants. Vet Clin N Amer Food An Pract 12:117-152, 1996.

3. Anderson DE, St-Jean G, Vestweber JG, et al. Use of a Thomas splint-cast combination for stabilization of tibial fractures in cattle: 21 cases (1973-1993). Agri-Practice 15:16-23, 1994.

ENFERMEDADES DEL CORAZÓN EN EL GANADO: ¿ENFERMEDADES GRAVES POR EL PRONÓSTICO, DE MENOR IMPORTANCIA POR LA INCIDENCIA?

Sébastien Buczinski, DrVét, DÉS, MSc, DACVIM,
Faculté de médecine vétérinaire, St-Hyacinthe, Université de Montréal, Qc, Canada.

Las enfermedades cardíacas en el ganado son una tarea desafiante para los clínicos. La insuficiencia cardíaca congestiva (ICC) es el punto terminal de la enfermedad cardíaca, produciéndose cuando los mecanismos compensatorios cardíacos y neurohormonales iniciales se ven desbordados. Se dice clásicamente que el pronóstico para los casos de enfermedad cardíaca (**EC**) en el ganado es malo. Este pronóstico es mejor en los casos de EC sin insuficiencia cardíaca (**IC**) que en los casos de enfermedad cardíaca con signos de IC. La mayoría de los informes disponibles se enfrentan con trastornos cardíacos en los que la IC se observó con frecuencia. No obstante, hay distintas herramientas de diagnóstico disponibles para detectar la enfermedad cardíaca antes de que los signos de IC aparezcan. El diagnóstico temprano puede permitir un tratamiento temprano efectivo en el ganado valioso o evitar el sobrecoste en animales menos valiosos. Esta presentación hace hincapié en las manifestaciones de enfermedades cardíacas en el ganado, las herramientas de diagnóstico disponibles para hacer el diagnóstico y el conocimiento actual sobre el pronóstico y el tratamiento de la mayoría de las enfermedades cardíacas bovinas.

Enfermedades cardíacas sin insuficiencia cardíaca

El clínico se enfrenta a dos grandes retos en cardiología bovina. El primero es el de sospechar de una EC cuando no hay signos clínicos de insuficiencia cardíaca. El segundo es el de diagnosticar la enfermedad y establecer un pronóstico para el animal en función de la gravedad de la enfermedad, el valor del animal, las pérdidas productivas, y las expectativas del propietario. La presentación clínica de los trastornos del corazón en el ganado podría representarse en dos grandes categorías. Estudios realizados recientemente llevan a distinguir entre enfermedades cardíacas que vienen acompañadas frecuentemente por signos clínicos de IC (pericarditis, miocardiopatía dilatada, neoplasia), y enfermedades cardíacas que no vienen acompañadas frecuentemente con signos de ICC (defectos cardíacos no cianóticos, endocarditis bacteriana valvular (**EBV**)) [1-3]. Esta distinción puede ayudar al clínico en el diagnóstico diferencial de la enfermedad cardíaca en función de la presencia o no de signos de insuficiencia cardíaca. Uno de los signos más comunes de la EC con o sin IC es la taquicardia. La presencia de una taquicardia en ausencia de causas obvias de taquicardias secundarias puede ser una herramienta valiosa para el clínico para sospechar de EC [4]. Anomalías asociadas de los sonidos del corazón (sonidos amortiguados, soplo, chapoteo) y del ritmo son también hallazgos interesantes. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que no son la norma y que pueden perderse fácilmente en condiciones de campo o en pacientes grandes [5].

Enfermedades cardíacas con insuficiencia cardíaca

La insuficiencia cardíaca en el ganado se representa principalmente por EC del lado derecho[2]. Varias enfermedades del corazón pueden causar insuficiencia cardíaca congestiva, incluyendo pericarditis exudativa, miocardiopatía dilatada, neoplasmas, EBV y enfermedad cardíaca congénita. Esos signos consistían en distensión venosa yugular y/o latido, edema pectoral, submandibular o mamario, distensión abdominal secundaria a ascitis. Síncope, tos y edema pulmonar que van acompañados de insuficiencia cardíaca del lado izquierdo parecen ser raros en el ganado, incluso cuando problemas respiratorios pueden estar presentes[2,5]. Los signos respiratorios que se encuentran en enfermedades cardíacas son principalmente las consecuencias de una infección pulmonar, en lugar de anomalías del ventrículo izquierdo. [5]

Pruebas auxiliares en enfermedades cardíacas

Los hallazgos en sangre en casos de enfermedad cardíaca no son específicos. Se pueden observar procesos inflamatorios y varios grados de daños renales, hepáticos y musculares. Las isoenzimas en el miocardio de creatinina fosfoquinasa (CK-MB), lactato deshidrogenasa (LDH-1) y, más recientemente, troponina I cardíaca (cTnI) también pueden aumentar cuando el músculo del corazón se ve comprometido[6,7]. Finalmente, en áreas enzoóticas, un examen serológico de anticuerpos contra el virus de la leucosis bovina puede ser de ayuda, pero no es diagnóstico, en casos de infiltración linfomatosa auricular como causa de una insuficiencia cardíaca en el lado derecho.

Las radiografías torácicas son útiles en pequeños animales con enfermedades del corazón. No obstante, los datos son escasos en casos de enfermedades cardíacas bovinas. En un estudio retrospectivo sobre el DSV (defecto del septo ventricular) en terneros, las radiografías torácicas no fueron útiles para detectar la anomalía. Sin embargo, sí fueron útiles para evaluar la presencia y extensión de la neumonía, que se encontró con frecuencia en estos casos[5]. En un segundo estudio sobre ganado con insuficiencia cardíaca, se tomaron radiografías de 32 casos, pero la cardiomegalia se mencionó solo en tres casos[2]. En muchos casos el patrón pulmonar y el derrame pleural impidieron una evaluación correcta del tamaño del corazón. No se pueden extraer pautas precisas de estos estudios, pero las radiografías torácicas pueden ser útiles para precisar la extensión del daño pulmonar y, en raras ocasiones, del agrandamiento del corazón. Además, las radiografías torácicas solo están disponibles en hospitales de referencia para el ganado adulto y no son prácticas para usar en condiciones de campo.

El electrocardiograma (**ECG**) es una herramienta no invasiva para evaluar la disritmia cardíaca. La disritmia más grave en el ganado es la fibrilación auricular, que solo puede diagnosticarse a través de un ECG. Sin embargo, la organización difusa de las fibras de Purkinje en el miocardio no permite una buena sensibilidad para esta prueba auxiliar[4].

El ecocardiograma transtorácico (**ETT**) permite un diagnóstico no invasivo de las enfermedades cardíacas más comunes en el ganado. Entre estas enfermedades, la pericarditis y la endocarditis bacteriana (y linfoma cardíaco en los países donde la infección por el virus de la leucosis bovina está presente) son el principal diagnóstico diferencial de EC en animales adultos. En terneros, se tienen que añadir a la lista diferencial las enfermedades cardíacas congénitas (**ECC**) (sobre todo, el DSV). El ETT se realiza normalmente utilizando una sonda de baja frecuencia, sobre todo en vacas adultas, debido a la profundidad requerida por el examen. La

forma de la sonda es idealmente fina y puede manipularse fácilmente en el estrecho espacio intercostal. Si está disponible, es preferible una sonda de elementos en fase (sonda phased array). El área de interés se recorta y se enjuaga, y se aplica una cantidad abundante de gel de ecografía en la parte ventral del tórax desde el tercer hasta el sexto espacio intercostal. Yo, personalmente, recomiendo colocar la pierna del operador medial a la extremidad craneal e intentar crear una sujeción suave de la extremidad. Esto lo tolera la mayoría de las vacas y es fácil de realizar con un poco de experiencia.

Es necesario llevar a cabo un examen en profundidad de las principales estructuras cardíacas, incluyendo el pericardio, el miocardio y el endocardio[8-10]. La evaluación de las cavidades cardíacas también debe calcularse para buscar la dilatación de las cavidades. El examen se puede hacer desde los lados derecho e izquierdo, no obstante, desde una perspectiva práctica, las vistas más informativas se consiguen a través de ETT del lado derecho. Con algo de experiencia, este examen en dos dimensiones se puede realizar en menos de 10 minutos, y se puede utilizar en la granja con el fin de confirmar o descartar enfermedades cardíacas. Esto puede tener, potencialmente, un impacto importante sobre la decisión terapéutica (decidir tratar o no invertir dinero en un animal con pocas posibilidades de recuperación).

Las vistas del eje largo paraesternal derecho consisten en (1) la vista de las cuatro cámaras que permite ver los ventrículos derecho e izquierdo (VD, VI), las aurículas derecha e izquierda (AD, AI) y las válvulas auriculoventriculares (válvulas tricúspide [VT] y mitral [VM]), (2) la vista de la salida del ventrículo izquierdo que permite ver la raíz de la aorta y la válvula aórtica, además de las estructuras previas observadas en la vista anterior, (3) la vista del tracto de salida del ventrículo derecho, mostrando la AD, la VT, el VD, el tronco pulmonar, la válvula pulmonar y la aorta en sección transversal.

Herramientas de diagnóstico específicas, pronóstico e intentos terapéuticos en las principales enfermedades cardíacas

La terapia para las enfermedades del corazón se intenta clásicamente con tratamientos específicos que dependen del diagnóstico preciso de la enfermedad cardíaca. No obstante, se requieren terapias no específicas para los signos de ICC. La administración de diurético puede ser útil para reducir la precarga cardíaca y, finalmente, el edema periférico. La administración repetitiva de fármacos diuréticos debe ir acompañada del control de los electrolitos en suero en los pacientes tratados. También se requiere una corrección del desequilibrio de electrolitos para mantener una buena contractilidad miocárdica.

Pericarditis

Se observa acumulación de líquido pericárdico en casos de pericarditis séptica (de origen traumático o por extensión de neumonía), pericarditis hemorrágica idiopática (**PHI**) y linfoma cardíaco. Dependiendo de la cantidad de líquido pericárdico, se pueden ver distintos signos de taponamiento cardíaco, incluidos el colapso del ventrículo derecho durante la diástole y el colapso de la aurícula durante la diástole auricular.

La ecogenicidad del líquido pericárdico puede ayudar en el diagnóstico diferencial de estas enfermedades. Normalmente, se observa líquido pericárdico anecoico en casos de linfoma o PHI. Tradicionalmente, se ve ecogenicidad heterogénea con coágulos de fibrina ecogénica en pericarditis séptica, aunque también se puede observar en otras condiciones pericárdicas. Por este motivo, debe hacerse siempre una pericardiocentesis para confirmar el diagnóstico.

El pronóstico en caso de pericarditis depende de la etiología de la pericarditis. Recientemente, la PHI se ha tratado con éxito con drenajes y lavados pericárdicos periódicos. Sin embargo, la punción del pericardio o el drenaje, o la colocación de un drenaje, después de una pericardiotomía no tienen eficacia en el tratamiento de la pericarditis bacteriana. En estos casos, la pericardiotomía con anestesia local se ha descrito como un tratamiento interesante para la pericarditis. Los estudios centrados en la eficacia de este tratamiento mencionan un pronóstico que varía del 11 al 14%. En un estudio reciente, el éxito a largo plazo de la pericardiotomía en casos de pericarditis traumática asociada a signos de insuficiencia cardíaca fue de 2 por cada 3 casos [2]. No obstante, no hay estudios prospectivos recientes disponibles para confirmar esta alta tasa de éxito. Debido a los costes del tratamiento y el uso extendido de antimicrobianos, el tratamiento de la pericarditis debe reservarse para el ganado de alto valor.

Endocarditis bacteriana (EB)

La EBV es la enfermedad del endocardio más común en el ganado. En un meta-análisis reciente que realizamos sobre los informes publicados sobre la enfermedad[3] en la literatura, buscamos las pruebas diagnósticas utilizadas para describir esta enfermedad. En esta revisión, la sensibilidad/especificidad (intervalo de confianza [IC] de 95%) fue de 79,7% (70,1-86,8%) /27,1% (14,3-45,2%) para taquicardia, 60,3% (51,8-68,3%)/72,6% (45,8-89,2%) para la auscultación de un soplo en el corazón, 45,7% (32,5-59,5%) / 67,0% (55,5-76,7%) para la presencia de fiebre, y 43,5% (25,6-63,3%)/95,3% (93,3-96,8%) para cojera/poliartritis. La sensibilidad de la IC para detectar EBV fue de 37,3% (21,6-57,0%). En cuanto al cultivo positivo de sangre, su sensibilidad fue de 86,9% (39,1-98,6%). El ecocardiograma es un método sensible (84,3%, 95% IC: 60,4-95,0%) para detectar el engrosamiento valvular en comparación con los hallazgos necrópsicos, como se ha reportado recientemente[3]. Sin embargo, el estudio previo tiene limitaciones ya que la mayor parte de la información disponible procedía de estudios en hospitales en los que se podía anticipar un sesgo en el espectro de la enfermedad (viendo los casos con la forma más severa de EBV). Las cuatro válvulas cardíacas deben ser evaluadas sistemáticamente. Se requieren las tres vistas del eje largo paraesternal derecho para evaluar las válvulas tricúspide, mitral, aórtica y pulmonar. Los hallazgos ecocardiográficos típicos en endocarditis en el ganado consisten en engrosamientos valvulares irregulares con un aspecto peludo. El grosor valvular máximo aparente en vacas sanas utilizando el ETT en el lado derecho se ha descrito como menor de 0,97cm para la VT, 1,05cm para la VA, 0,91cm para la VP y menos de 1,28cm para la VM, utilizando una sonda phased-array de 2MHz[11]. Secundarias de la insuficiencia valvular, se pueden observar turbulencias utilizando el examen Doppler. También se puede observar dilatación de las cámaras cardíacas derivadas de la regurgitación crónica (por ejemplo, aurícula derecha distendida con endocarditis tricúspide).

La endocarditis bacteriana se diagnostica frecuentemente cuando el engrosamiento del endocardio es obvio. El tratamiento consiste en la administración prolongada de antimicrobianos (más de 4 semanas) en función de los resultados de los hemocultivos. El pronóstico a largo plazo (más de 6 meses de supervivencia) de EB queda reservado. Healy menciona que solo 4 de 22 (18%) de los casos de EB tuvieron un buen pronóstico a largo plazo. La edad del paciente afectó significativamente el pronóstico en este estudio (con una media de edad de 14 meses para los supervivientes, frente a una media de edad de 38 meses de los no supervivientes a largo plazo). El pronóstico de la EB fue mejor en los casos en los que no había signos de ICC que en los casos con signos de ICC[4].

Defectos cardíacos congénitos (DCC)

Dependiendo de la anomalía, el pronóstico varía entre reservado y malo. El defecto del septo ventricular, que es la anomalía más común, se ha estudiado retrospectivamente en terneros[5]. La presentación clásica es un ternero de un crecimiento entre normal y retardado que ha sido tratado por un problema respiratorio crónico. La detección del soplo cardíaco puede perderse fácilmente en entornos de campo por la enfermedad respiratoria asociada frecuentemente al DSV y por las condiciones subóptimas de auscultación. No obstante, es típico de esta condición un soplo sistólico derecho con palpación de un frémito cuando la mano

se sitúa sobre la pared torácica derecha[5]. El ecocardiograma es una herramienta útil para evaluar los DCC simples o complejos. Solo describiremos los hallazgos ecocardiográficos en los casos de defecto del septo ventricular (DSV) que es, con diferencia, el DCC más común en terneros. Normalmente, la presentación clínica es suficiente para plantear una sospecha clínica de DSV, que se puede confirmar a través de un ecocardiograma transtorácico. La mejor vista para observar el defecto en la parte membranosa del septo es la vista del eje largo paraesternal derecho del tracto de salida del ventrículo izquierdo[10]. El defecto se observa normalmente justo debajo de la válvula aórtica. Es importante recordar que la vista de las cuatro cámaras por sí sola no se recomienda para el diagnóstico del DSV en el ganado.

Otros DCC más complejos también se pueden diagnosticar utilizando ecografías en dos dimensiones y Doppler, pero requieren de habilidades más avanzadas en ecocardiografía y son menos frecuentes. Se remite al lector a libros más especializados que abordan hallazgos ecocardiográficos específicos para el diagnóstico de estos DCC menos frecuentes.

No hay factores pronósticos en este momento para el ganado bovino, en contraste con los que sí existen para el caballo. No obstante, los defectos pequeños pueden tener un resultado favorable cuando la infección pulmonar concomitante se trata y si se hace la prevención de endocarditis bacteriana. La mayoría del resto de los defectos congénitos tienen un mal pronóstico porque no hay ningún tratamiento específico disponible para el ganado. Se mencionan con frecuencia en la evolución a largo plazo de estos casos la muerte súbita, un crecimiento deficiente y un pobre desempeño reproductivo, lo que lleva a la eutanasia o al sacrificio temprano.

Miocardiopatía dilatada

No se han reportado tratamientos específicos en el caso de miocardiopatía dilatada (MCD) primaria o secundaria. Cuando se plantea el diagnóstico, el resultado es irreversiblemente fatal en el caso de MCD primaria, incluso si los fármacos diuréticos se han utilizado con poca frecuencia. La MCD secundaria se puede tratar con tratamientos de apoyo, incluyendo la restauración de los desequilibrios de electrolitos, la corrección de la disritmia cardíaca y la corrección de la deficiencia de elementos traza. No hay ningún informe sobre supervivencia a largo plazo en caso de miocardiopatía primaria.

Neoplasias cardíacas

La localización cardíaca de linfomas es con diferencia el tumor de corazón más común en el ganado en áreas donde el virus de la leucosis bovina está presente[12]. La infiltración de la aurícula derecha junto a un derrame pericárdico es la manifestación más frecuentemente observada de esta neoplasia. Hay dos hallazgos ecocardiográficos principales para el linfoma cardíaco, incluyendo (1) acumulación de grandes cantidades de líquido pericárdico anecoico con signos de taponamiento cardíaco y (2) un efecto de masa en la pared de la aurícula derecha. Estos descubrimientos ecocardiográficos no son específicos (diagnóstico diferencial con pericarditis y/o endocarditis) y, por tanto, deberían confirmarse utilizando otras pruebas auxiliares (por ejemplo, evidencia de células neoplásicas a través del análisis de fluidos corporales [líquido pericárdico, paracentesis]). El linfoma tiene un mal pronóstico. En todos los casos publicados de neoplasias cardíacas, el resultado fue irreversiblemente fatal de unos días a unas semanas después del diagnóstico.

Las enfermedades cardíacas son un reto para el diagnóstico clínico antes de que se dé la IC. Incluso si se sospecha fácilmente de una enfermedad cardíaca cuando se observan los signos clínicos típicos, esta no es la regla, sobre todo, en algunas enfermedades del corazón (EBV o DSV). Es importante para el veterinario que sea capaz de manejar estos casos de forma efectiva, alcanzando un diagnóstico antes de ningún intento terapéutico en animales poco valiosos y que sea capaz de proponer una terapia adecuada cuando se hayan intentado algunos tratamientos. A pesar de la ausencia de estudios científicos sobre el tratamiento de EC, utilizar medicina comparativa, si el diagnóstico se hace en etapas tempranas de la enfermedad, aumentará las posibilidades de recuperación. El tratamiento y el pronóstico dependen de la enfermedad, las repercusiones de esta enfermedad sobre la función cardiovascular, así como, del valor de la vaca y las expectativas del propietario. Se necesitan más estudios prospectivos aleatorizados para precisar las directrices para abordar estas enfermedades. No obstante, debido a la baja prevalencia de estas enfermedades y a su mal pronóstico percibido, las enfermedades cardíacas pueden permanecer como enfermedades huérfanas lo que limitará el diagnóstico basado en la evidencia y el enfoque terapéutico de los datos empíricos.

Referencias

1. Buczinski S, Francoz D, Fecteau G, et al. A study of heart diseases without clinical signs of heart failure in 47 cattle. Can Vet J 2010;51:1239-1246.

2. Buczinski S, Francoz D, Fecteau G, et al. Heart disease in cattle with clinical signs of heart failure: 59 cases. Can Vet J 2010;51:1123-1129.

3. Buczinski S, Tsuka T, Tharwat M. The diagnostic criteria used in bovine bacterial endocarditis: a meta-analysis of 460 published cases from 1973 to 2011. Vet J 2012;193:349-357.

4. Buczinski S, Rezakhani A, Boerboom D. Heart disease in cattle: diagnosis, therapeutic approaches and prognosis. Vet J 2010;184:258-263.

5. Buczinski S, Fecteau G, DiFruscia R. Ventricular septal defects in cattle: a retrospective study of 25 cases. Can Vet J 2006;47:246-252.

6. Mellanby RJ, Henry JP, Cash R, et al. Serum cardiac troponin I concentrations in cattle with cardiac and noncardiac disorders. J Vet Intern Med 2009;23:926-930.

7. Varga A, Schober KE, Holloman CH, et al. Correlation of serum cardiac troponin I and myocardial damage in cattle with monensin toxicosis. J Vet Intern Med 2009;23:1108-1116.

8. Braun U, Schweizer T, Pusterla N. Echocardiography of the normal bovine heart: technique and ultrasonographic appearance. Vet Rec 2001;148:47-51.

9. Hallowell GD, Potter TJ, Bowen IM. Methods and normal values for echocardiography in adult dairy cattle. J Vet Cardiol 2007;9:91-98.

10. Buczinski S. Cardiovascular ultrasonography in cattle. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2009;25:611-632.

11. Buczinski S, Tolouei M, Rezakhani A, et al. Echocardiographic measurement of cardiac valvular thickness in healthy cows, cows with bacterial endocarditis, and cows with cardiorespiratory diseases. J Vet Cardiol 2013.

12. Buczinski S. Echocardiographic findings and clinical signs in dairy cows with primary cardiac lymphoma: 7 cases (2007-2010). J Am Vet Med Assoc 2012;241:1083-1087.

ENGLISH VERSION ▼

Heart disease in cattle: Major disease by the prognosis, minor for the incidence?

Sébastien Buczinski, DrVét, DÉS, MSc, DACVIM,
Faculté de médecine vétérinaire, St-Hyacinthe, Université de Montréal, Qc, Canada.

Cardiac diseases in cattle are a challenging task for the clinician. Congestive heart failure is the terminal event of cardiac disease occuring when initial cardiac and neuro-hormonal compensatory mechanisms are overwhelmed. Prognosis is classically said to be guarded to poor in case of heart disease (**HD**) in cattle. This prognosis is better in cases of HD without heart failure (**HF**) than in cases of cardiac disease with signs of HF. Most of available reports are dealing with heart disorders in which HF was frequently observed. However, different diagnostic tools are available to precise cardiac disease before signs of HF appear. Early diagnosis could allow early effective treatment in valuable cattle or avoid overcost in less valuable animals. This presentation emphasizes on manifestations of cardiac diseases in cattle, the diagnostic tools available to make the diagnosis and the current knowledge on prognosis and therapy of major bovine heart diseases.

Heart diseases without heart failure

The clinician faces to two major challenges in bovine cardiology. The first one is to suspect HD when there are no clinical signs of heart failure. The second one is to diagnose the disease and to establish a prognosis for the animal depending on the severity of the disease, the value of the animal, productive losses, and owner's expectations. Clinical presentation of heart disorders in cattle could be represented in two different categories. The recent studies performed lead to distinguish cardiac diseases that are frequently accompanied by clinical signs of HF (pericarditis, dilated cardiomyopathy, neoplasms), and heart diseases that are not frequently accompanied with signs of CHF (non cyanotic heart defects, valvular bacterial endocarditis (**VBE**)) [1-3]. This distinction may help the clinician in the differential diagnosis of heart disease depending on the presence of signs of heart failure or not. One of the commonest signs of HD with or without HF is tachycardia. The presence of a tachycardia in the absence of obvious causes of secondary tachycardia can be a valuable tool for the clinician to suspect HD [4]. Associated anomalies of the heart sounds (muffled sounds, murmur, clapotis) and rhythm are also interesting findings. However, it should be kept in mind that they are not the rule and can be easily missed in field condition or in large patients[5].

Heart diseases with heart failure

Heart failure in cattle is mainly represented by right sided HF.[2] Various heart diseases can cause congestive heart failure including exsudative pericarditis, dilated cardiomyopathy, neoplasms, VBE and congenital heart disease. Those signs consisted in jugular venous distension and/or pulse, brisket, submandibular or mammary edema, abdominal distension secondary to ascites. Syncope, cough and pulmonary edema which are accompanied by left sided heart failure seemed to be rare in cattle, even if respiratory problem can be a complaint.[2,5] Respiratory signs encountered in cardiac disease are mainly the consequences of lung infection rather than left ventricular anomalies.[5]

Ancillary tests in heart diseases

Blood findings in case of heart disease are non specific. Inflammatory process, various degrees of renal, hepatic, and muscular damages can be observed. Myocardial isoenzymes of creatine phosphokinase (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH-1) and more recently cardiac troponin I (cTnI) can also be increased when heart muscle is compromised.[6,7] Finally, in enzootic area, serologic examination for antibody against the bovine leukosis virus can be helpful but not diagnostic in case of atrial lymphomatous infiltration as a cause of right-sided heart failure.

Thoracic radiographs are helpful in small animals with heart diseases. However, data are scant in case of bovine cardiac disease. In a retrospective study about VSD in calves, thoracic radiographs were not useful to detect the anomaly. However, they were useful to assess the presence and extension of pneumonia which was frequently found in these cases.[5] In a second study concerning cattle with heart failure, radiographs were taken in 32 cases, but cardiomegaly was mentioned in only 3 cases.[2] In many cases pulmonary pattern and pleural effusion precluded to a correct assessment of heart size. No precise guidelines can be drawn from these studies, but thoracic radiographs can be helpful to precise the extension of lung damage and in rare instances heart enlargement. Moreover, thoracic radiographs are only available in referral hospital for adult cattle and are not practical to use under field condition.

The electrocardiography (**ECG**) is a non invasive tool to assess cardiac dysryhthmia. Major dysryhthmia in cattle is atrial fibrillation which can only be diagnosed by ECG. However, the diffuse organization of the Purkinje fibers in the myocardium does not allow a good sensitivity for this ancillary test.[4]

Transthoracic echocardiography (**TTE**) allows a non-invasive diagnosis of the most common heart diseases in cattle. Among these diseases pericarditis, bacterial endocarditis (and cardiac lymphoma in country where bovine leukosis virus infection is present) are the main differential diagnosis of HD in adult animals. In calves, congenital heart diseases (**CHD**) need to be added in the differential list (especially VSD). The TTE is generally performed using a low-frequency probe especially in adult cows due to the required depth of examination. The shape of the probe is ideally thin and could be easily manipulated in the narrow intercostal space. If available, a phased array probe should be preferred. The area of interest is clipped, rinsed and copious amount of ultrasonographic gel are applied on the ventral part of the thorax from the 3rd to the 6th intercostal space. I personnally recommend to place the operator leg medial to the cranial limb and try to create a gentle abduction of the limb. This is well tolerated by most of the cows and is easy to perform with some experience.

A thorough examination of the main cardiac structures need to be performed including the pericardium, the myocardium as well as the endocardium.[8-10] The assessment of the cardiac cavities should also be or calculated looking for dilation of the cavities. The examination is performed from the right and the left side, however, from a practical perspective the more informative views are obtained using right-side TTE views. With some experience, this two-dimensional examination is performed in less than 10 minutes, and can be used in the farm in order to confirm or exclude heart disease. This may potentially have an important impact on the therapeutic decision (decide to treat or to not invest money in an animal with poor chances of recovery).

The right parasternal long axis views consist in (1) the four chamber view allowing to see both right and left ventricles (RV, LV), right and left atria (RA, LA) and atrioventricular valves (tricuspid (TV) and mitral (MV) valves), (2) the left ventricular outflow view allowing to see the aortic root and aortic valve in addition with the

previous structures seen in the precedent view, (3) the right ventricular outflow tract seeing the RA, TV, RV, the pulmonary trunk, pulmonary valve and the aorta in transverse section.

Specific diagnostic tools, prognosis and therapeutic attempts in major heart diseases

Therapy of heart disease is classically attempted with specific treatment which depends on the precise diagnosis of the heart disease. However, non specific therapy is required for signs of CHF. Administration of diuretic can be useful in decreasing the cardiac preload and finally decreasing peripheral edema. Repetitive administration of diuretic drugs must be accompanied by monitoring serum electrolytes in the treated patients. Correction of electrolyte imbalance is also required to maintain a good myocardial contractility.

Pericarditis

Pericardial fluid accumulation is observed in cases of septic pericarditis (traumatic origin or extension of pneumonia), idiopathic hemorrhagic pericarditis (**IHP**) and cardiac lymphoma. Depending of the amount of pericardial fluid, different signs of cardiac tamponade may be seen including collapsed right ventricle during diastole and atrial collapse during atrial diastole.

The echogenicity of pericardial fluid may help in the differential diagnosis of these conditions. Anechoic pericardial fluid is classically observed in cases of lymphoma or IHP. Heterogenic echogenicity with echogenic fibrin clots is classically seen with septic pericarditis but can also be seen with other pericardial conditions. For these reasons, pericardiocentesis should always be performed to confirm the diagnosis.

The prognosis in case of pericarditis depends on the etiology of the pericarditis. Recently IHP has been treated successfully with periodic pericardial drainage and lavage. However, puncture of the pericardium and drainage or placement of a drain after pericardiotomy has no efficacy on the treatment of bacterial pericarditis. In these cases, pericardiostomy under local anesthesia has been described as an interesting treatment for pericarditis. Studies which focused on the efficacy of this treatment mentioned a prognosis varying from 11 to 14%. In a recent study, the long term success of pericardiostomy in case of traumatic pericarditis associated with signs of heart failure was 2 of 3 cases [2]. However, no recent prospective studies are available to confirm this high success rate. Due to the costs of treatment and extended antimicrobial use, treatment of pericarditis must be reserved for high valuable cattle.

Bacterial endocarditis

The VBE is the more common endocardial disease in cattle. In a recent meta-analysis that we performed on the published reports of the disease[3] in the literature, we looked for the diagnostic tests used for describing this disease. In this review the sensitivity/specificity (95% CI) were 79.7% (70.1-86.8%) /27.1% (14.3-45.2%) for tachycardia, 60.3%(51.8-68.3%)/72.6% (45.8-89.2%) for the auscultation of a heart murmur , 45.7% (32.5-59.5%) / 67.0% (55.5-76.7%) for the presence of fever, and 43.5% (25.6-63.3%)/95.3% (93.3-96.8%) for lameness/polyarthritis. The sensitivity of HF to detect VBE was 37.3% (21.6-57.0%). Concerning the positive blood culture its sensitivity was 86.9% (39.1-98.6%). Echocardiography is a sensitive method (84.3%, 95% CI : 60.4-95.0%) to detect valvular thickening when compared with necropsic findings as recently reported[3]. However, the previous study has limitations since most of the available information were from hospital studies in which a spectrum bias of the disease (seeing the more severe form of VBE) could be anticipated. The 4 cardiac valves should be systematically evaluated. The three right parasternal long axis views are required to assess the tricuspid, mitral, aortic and pulmonary valves. The typical echocardiographic findings in endocartitis in cattle consist in irregular valvular thickening with a shaggy appearance. The apparent maximal valvular thickness in healthy cows using right TTE has been reported to be less than 0.97 cm for TV, 1.05 cm for AV, 0.91 for PV and less than 1.28cm for MV using a 2MHz phased-array probe.[11] Secondary to valvular insufficiency, turbulences may be observed using Doppler examination. Dilation of cardiac chambers may also be observed secondary to chronic regurgitation (eg distended right atrium with tricuspid endocarditis).

Bacterial endocarditis is frequently diagnosed when thickening of the endocardium is obvious. Treatment consists in prolonged antimicrobial administration (more than 4 weeks) according to blood culture results. Long term prognosis (more than 6 months of survival) of BE is guarded. Healy mentioned that only 4 of 22 (18%) cases of BE had a favorable long term prognosis. Age of the patient significantly affected the prognosis in this study (with a mean age of survivors of 14 months, vs a mean age of non long term survivors of 38 months). Prognosis of BE was better in cases that did not have signs of CHF than in cases with signs of CHF.[4]

Congenital heart defects

Depending on the anomaly, the prognosis is variable from guarded to poor. Ventricular septal defect which is the most common anomaly has been studied retrospectively in calves.[5] The classical presentation is a calf with normal to retarded growth that has been treated for chronic respiratory problem. The detection of cardiac murmur can easily be missed in a field setting and because of the respiratory disease frequently associated with VSD and also because of suboptimal auscultation conditions. However a right systolic murmur with palpation of a fremitus when the hand is placed against the right thoracic wall is typical with this condition.[5] Echocardiography is a useful tool to assess simple or complex CHD. We will just describe echocardiographic findings in cases of ventricular septal defect (VSD) which is by far the most common CHD in calves. The clinical presentation is generally sufficient to raise a clinical suspicion of VSD and can be confirmed using transthoracic echocardiography. The best view to observe the defect in the membranous part of the septum is the right parasternal long-axis view of the left ventricular outflow tract.[10] The defect is classically observed just below the aortic cusp. It is important to remember that the four chambers view alone is not recommended for the diagnosis of VSD in cattle.

Other more complex CHD can also be diagnosed using 2-dimensional and Doppler ultrasonography, but require more advanced skills in echocardiography and are less frequent. The reader is referred to more specialized textbooks addressing specific echocardiographic findings for diagnosing these less commonly encountered CHD.

There are no prognostic factors at that time for cattle by contrast to those existing in horse. However, small defects can have favorable outcome when concomitant lung infection is treated and if prevention of bacterial endocarditis is done. Most others congenital defects have a poor prognosis because no specific treatment is available in cattle. Sudden death, poor growth and poor reproductive performance, are frequently mentioned in the long term evolution of these cases leading to euthanasia or early culling.

Dilated cardiomyopathy

There are no reported specific treatments in the case of primary or secondary dilated cardiomyopathy. When the diagnosis is posed, the outcome is irreversibly fatal in case of primary DCM, even if diuretic drugs have been used unfrequently. Secondary DCM can be treated by supportive treatments includings restoration of electrolytes imbalances, correction of cardiac dysrhythmia and correction of trace elements deficiency. There is no report of

long term survival in case of primary cardiomyopathy.

Heart neoplasms

Cardiac localization of lymphoma is by far the most common heart tumor in cattle in area where bovine leucosis virus is present[12]. The infiltration of the right atrium in addition with pericardial effusion is the most common observed manifestation of this neoplasm. There are two main echocardiographic findings in cardiac lymphoma including (1) massive amounts of anechoic pericardial fluid accumulation with signs of cardiac tamponade and (2) a mass effect in the right atrial wall. These echocardiographic findings are not specific (differential diagnosis with pericarditis and/or endocarditis) and therefore should be confirmed using other ancillary tests (eg : evidence of neoplastic cells using body fluid analysis (pericardial fluid, paracentesis...). Lymphoma has a poor prognosis. In all published cases of cardiac neoplasms, the outcome was irreversibly fatal a few days to weeks after the diagnosis.

Heart disease is a clinical diagnostic challenge before HF occurs. Even if the cardiac disease is easily suspected when typical clinical signs are observed, this is not the rule especially in some cardiac diseases (VBE or VSD). It is important for the veterinarian to be able to manage these cases effectively reaching a diagnosis before any therapeutic attempts in low-valuable animals and to be able to propose adequate therapy when the some treatment can be attempted. Despite the absence of scientific studies on the treatment of the HD, using comparative medicine if the diagnosis is done in early stages of the disease it will increase the chances of recovery. Treatment and prognosis depend on the disease, the repercussions of this disease on cardiovascular function as well as the value of the cow and owner expectations. Further prospective randomised studies are needed to precise guidelines to approach these diseases. However, due to the low prevalence of these diseases and their perceived poor prognosis, heart diseases may remain orphan diseases which will limit the evidence-based diagnostic and therapeutic approach to empirical data.

References

1. Buczinski S, Francoz D, Fecteau G, et al. A study of heart diseases without clinical signs of heart failure in 47 cattle. Can Vet J 2010;51:1239-1246.

2. Buczinski S, Francoz D, Fecteau G, et al. Heart disease in cattle with clinical signs of heart failure: 59 cases. Can Vet J 2010;51:1123-1129.

3. Buczinski S, Tsuka T, Tharwat M. The diagnostic criteria used in bovine bacterial endocarditis: a meta-analysis of 460 published cases from 1973 to 2011. Vet J 2012;193:349-357.

4. Buczinski S, Rezakhani A, Boerboom D. Heart disease in cattle: diagnosis, therapeutic approaches and prognosis. Vet J 2010;184:258-263.

5. Buczinski S, Fecteau G, DiFruscia R. Ventricular septal defects in cattle: a retrospective study of 25 cases. Can Vet J 2006;47:246-252.

6. Mellanby RJ, Henry JP, Cash R, et al. Serum cardiac troponin I concentrations in cattle with cardiac and noncardiac disorders. J Vet Intern Med 2009;23:926-930.

7. Varga A, Schober KE, Holloman CH, et al. Correlation of serum cardiac troponin I and myocardial damage in cattle with monensin toxicosis. J Vet Intern Med 2009;23:1108-1116.

8. Braun U, Schweizer T, Pusterla N. Echocardiography of the normal bovine heart: technique and ultrasonographic appearance. Vet Rec 2001;148:47-51.

9. Hallowell GD, Potter TJ, Bowen IM. Methods and normal values for echocardiography in adult dairy cattle. J Vet Cardiol 2007;9:91-98.

10. Buczinski S. Cardiovascular ultrasonography in cattle. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2009;25:611-632.

11. Buczinski S, Tolouei M, Rezakhani A, et al. Echocardiographic measurement of cardiac valvular thickness in healthy cows, cows with bacterial endocarditis, and cows with cardiorespiratory diseases. J Vet Cardiol 2013.

12. Buczinski S. Echocardiographic findings and clinical signs in dairy cows with primary cardiac lymphoma: 7 cases (2007-2010). J Am Vet Med Assoc 2012;241:1083-1087.

LA ECOGRAFÍA EN EL DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS

Sébastien Buczinski, DrVét, DÉS, MSc, DACVIM
Faculté de médecine vétérinaire, St-Hyacinthe, Université de Montréal, Qc, Canada.

La enfermedad respiratoria bovina (ERB) es una de las principales causas de enfermedad, tanto en el ganado lechero como en el de carne.[1,2] A pesar del hecho de que el diagnóstico para la ERB se hace, sobre todo, en base a los signos clínicos típicos (por ejemplo, fiebre, depresión y alteración de la función respiratoria), este diagnóstico puede resultar difícil cuando los signos clínicos no son obvios o en casos crónicos de ERB. Varios estudios han mostrado las dificultades para diagnosticar ERB tanto en terneras lecheras[3] como de engorde.[4] La inspección clínica es especialmente difícil debido a las restricciones que impone la producción y al hecho de que algunas de las técnicas disponibles para el diagnóstico pueden ser difíciles de enseñar a los encargados de las granjas (por ejemplo, la auscultación). Recientemente, hemos demostrado que, incluso en terneras lecheras antes del destete, la auscultación torácica daba una información limitada en el campo.[3]

Aparte de estos descubrimientos, las pruebas auxiliares que se pueden hacer a pie de vaca son de máximo interés, ya que permiten un diagnóstico más preciso. Entre estas pruebas complementarias, la ecografía es una de las herramientas más prácticas que permite examinar directamente las lesiones (por ejemplo, consolidación pulmonar por ERB; presencia de líquido pleural; o evaluación de las diferentes partes de la anatomía cardíaca si una enfermedad cardíaca necesita ser descartada o tenida en cuenta durante el proceso de diagnóstico). Por tanto, el objetivo de esta sesión es presentar una revisión actualizada de la enfermedad respiratoria bovina, centrada no solo en el diagnóstico *per se*; sino también, en la aplicación de la ecografía en el pronóstico de la ERB.

ECOGRAFÍA DEL TRACTO RESPIRATORIO INFERIOR (TRI)

La ecografía del TRI se puede realizar fácilmente con las sondas de alta frecuencia que se utilizan para fines reproductivos, ya que esta prueba se centra principalmente en el examen de la pleura y la parte periférica del parénquima pulmonar.[5] Básicamente, uno de mis mensajes finales es que **"¡Tú puedes hacerlo con la sonda que utilizas para comprobar la preñez en tu práctica!"** Los espacios intercostales (EIC) se pueden recortar y se puede aplicar gel de ecografía en la zona de interés para optimizar la calidad de la imagen[6], pero la prueba también se puede hacer sin recortar y aplicando solo alcohol directamente sobre el área de interés.[7,8] Esto es de interés clínico, para llevar a cabo este examen más rápidamente en entornos de granja. Utilizando esta rápida preparación, una ternera lechera sin destetar puede escanearse por ambos lados en 2 o 3 minutos. Es de interés señalar que esta técnica se puede aprender fácilmente incluso si el operador no está acostumbrado a la ecografía no-reproductiva con una concordancia entre operadores que varía desde 0,6 (moderada) hasta 1,0 (perfecta).[7]

Después comienza la exploración, que consiste en una rápida revisión de los EIC, especialmente en la parte ventral ya que este es el lugar más común de neumonía en el ganado. Los hallazgos ecográficos típicos en animales sanos consisten en capas viscerales y parietales hiperecoicas de la pleura deslizándose a la vez en los movimientos respiratorios. Debido a su contenido gaseoso, ningún parénquima pulmonar se puede observar y todos los ultrasonidos se reflejan de vuelta al transductor en ocasiones dando lugar a un artefacto de reverberación.[5] Es importante examinar ambos lados del tórax ya que la concordancia entre hallazgos en ambos lados del tórax es un hecho consumado (Kappa=0.33)[3] a moderado (Kappa=0.5).[6] Así que, otro mensaje final sería: **"¡Hazlo en ambos lados!"**

Las diversas anomalías encontradas en ERB consisten en (1) irregularidad o engrosamiento de la pleura, (2) visualización del parénquima pulmonar debido a la inflamación y al depósito de exudado en el parénquima o atelectasia y (3) acumulación de diversas cantidades de líquido pleural. La ecografía del TRI puede, por tanto, usarse para evaluar la extensión de la consolidación del pulmón y el parénquima pulmonar no ventilado.

Irregularidad o engrosamiento pleural

La línea pleural normalmente se corresponde con dos líneas ecoicas finas con contorno liso. Las anomalías pulmonares tempranas asociadas con la neumonía y que pueden observarse con una ecografía consisten en la observación de artefactos de cola de cometa, que son numerosas líneas paralelas hiperecoicas debidas a artefactos de reverberación asociados con pequeñas superficies reflectantes dentro del espacio pleural. Estas lesiones también se pueden observar en casos de edema pulmonar, así como en enfermedades parenquimatosas difusas. También se pueden observar colas de cometa en animales sanos, de modo que no deben considerarse como un marcador fiable de enfermedades pulmonares. Se han encontrado observaciones difusas de múltiples colas de cometa en casos de enfisema pulmonar en el hombre; no obstante, hasta la fecha, este descubrimiento no se ha confirmado en estudios sobre bovinos.

Anomalías pleurales: Acumulación de líquido

La pleuritis y la bronconeumonía se caracterizan por la acumulación ventral de distintas cantidades de líquido entre hipoecoico y anecoico con cantidades variables de hebras de fibrina ecoica. La característica más llamativa en estos casos será la observación de la separación tanto de la pleura visceral como de la parietal al mover el transductor de dorsal a ventral. En función de la cantidad de líquido pleural, otra observación asociada puede ser la visualización del parénquima pulmonar a pesar de la ausencia de infección pulmonar, pero secundaria a la atelectasia pulmonar. La ecografía también puede permitir comprobar el lugar óptimo para la punción del líquido.

Neumotórax

En los casos de neumotórax, el hallazgo principal será la ausencia de movimiento de deslizamiento en la parte dorsal del tórax debido a la presencia de gas entre la pleura visceral y parietal. La extensión del neumotórax podría, por tanto, evaluarse objetivamente midiendo el punto donde se observa el movimiento de deslizamiento pleural. En estos casos, la ecografía se podría utilizar para controlar la respuesta al tratamiento cuando se retira el gas pleural.

Consolidación pulmonar

El pulmón consolidado tiene una apariencia hipoecoica parecida a la ecotextura hepática.[5] La consolidación solo se puede observar si es adyacente a la línea pleural ya que las áreas consolidadas más profundas no se pueden ver debido a la reflexión del haz de ultrasonidos por el tejido pulmonar sano. El parénquima consolidado la mayor parte del tiempo es heterogéneo debido a (1) la aparición de bronquios hiperecoicos que también podrían contener gas residual o (2) producción secundaria de gas debida

a las bacterias responsables de la neumonía. La consolidación también se puede observar en casos de atelectasia pulmonar, que no siempre está asociada con la infección. La atelectasia pulmonar puede derivar de la compresión pulmonar por líquido pleural (atelectasia compresiva), pero también puede ser causada por la reabsorción gradual de aire en el pulmón infectado. A pesar de la falta de estudios específicos que aborden ese punto, personalmente pienso que, en un entorno de campo e intentando usar la ecografía como una herramienta práctica, cualquier consolidación significante debería interpretarse como una infección activa o como una secuela de una infección pulmonar previa.

También se pueden observar lesiones cavitarias con una cápsula gruesa y contenido heterogéneo cuando hay presencia de abscesos. En estos casos, el operador necesita saber si el absceso está adherido a la pleura parietal con el fin de drenarlo de forma segura sin que haya riesgo de extensión pleural o neumotórax.

La ecografía pulmonar como herramienta de pronóstico

Terneras lecheras

La mayor parte de los datos relativos a la ecografía son solo información descriptiva de informes de casos o estudios retrospectivos, sin ninguna información sobre la aplicación de esta prueba auxiliar en el pronóstico. Incluso si uno puede dudar sobre el retraso potencial entre la infección aguda del TRI y la presencia de lesiones pulmonares, estudios experimentales recientes han mostrado que las evidencias ecográficas de consolidación pulmonar pueden aparecer tan pronto como 2 horas después del desafío experimental con *Mannheimia haemolytica*.[9] En un estudio previo, cuando se realizaba una ecografía torácica dos veces durante el periodo de pre-destete, las terneras con consolidación pulmonar (definida como 1cm o más de consolidación medida en la pantalla) tuvieron un menor peso al destete que las terneras sin lesiones. [8,9] En un estudio que hicimos en explotaciones lecheras con ERB enzoótica en Quebec, encontramos una prevalencia general de consolidación pulmonar de más del 50% (56/106) de las terneras pre-detetadas.[3] De estas terneras consolidadas, solo el 41% (23/56) había sido tratado previamente por ERB. Cuando se utilizó una herramienta sistemática para evaluar el estado clínico de las terneras, 31 de las 56 terneras consolidadas fueron correctamente clasificados como enfermos. La mortalidad de las terneras se siguió durante un periodo de 30 días. Cuatro de las 106 terneras murieron a lo largo de este periodo. El número de sitios observados con consolidación pulmonar (utilizando la misma definición con ≥1cm de profundidad), y la máxima profundidad de consolidación, fueron asociados con las probabilidades de morir durante este periodo, mostrando que la ecografía tiene algún potencial de ser de interés pronóstico incluso si debe ser confirmado por estudios posteriores.

Terneros de engorde

En la parte de engorde, se realizó un estudio clínico en explotaciones de engorde de Alberta mediante la revisión sistemática de tres espacios intercostales en terneros con sospecha clínica de ERB basada en la evaluación clínica del controlador del corral. Los autores no encontraron ninguna información pronóstica cuando realizaron la ecografía durante el procesamiento o cuando se apartaron los terneros a la manga por una sospecha de ERB.[10] El examen unilateral del tórax, así como un examen centrado, una sonda de baja frecuencia y una lectura fuera de línea de imágenes en vez que de vídeo deben tenerse en cuenta a la hora de interpretar este estudio. En un estudio más reciente sobre terneros de engorde en Idaho, EEUU, con ocurrencia natural de ERB, las ecografías torácicas sistemáticas mostraron que la máxima profundidad de la consolidación pulmonar, la zona máxima de pulmón consolidado por sitio, y el área total de pulmón consolidado estaban asociadas significativamente con la supervivencia. Por cada aumento de 1cm en la máxima profundidad de consolidación, el riesgo de morir aumentaba en 2,24 (intervalo de confianza [IC] del 95%: 1,35-3,66; P=0,001). No obstante, esta investigación era un estudio experimental en el que los animales no fueron tratados antes de los 15 días después de la primera exploración.[6]

Ecografía del pulmón como una prueba auxiliar basada en el rebaño

Estos resultados diferentes mostraron que 1) la ecografía torácica es un complemento útil en el examen clínico que es factible en contextos de campo y no debería utilizarse solamente en entornos hospitalarios, 2) la ecografía tiene el potencial para ser utilizada en un programa de manejo de la salud del rebaño para ayudar en la evaluación del diagnóstico. Utilizar esta herramienta para detectar animales con una consolidación significante que no hubieran sido tratados previamente es de interés práctico para mejorar la detección de los animales no tratados. La investigación activa en este campo se lleva a cabo por distintos grupos en terneras de leche y de engorde. Estos estudios son el siguiente paso para poder recomendar directrices prácticas relativas a la aplicación a pie de ternero de la ecografía torácica como prueba auxiliar de pronóstico.

Como conclusión, la ecografía torácica es una herramienta interesante y práctica que puede usarse no solo por el internista, sino también por el veterinario de campo para el diagnóstico de diversas enfermedades. En caso de sospecha de ERB, el examen torácico se puede realizar con unidades que están disponibles para el trabajo de reproducción y pueden ayudar a evaluar la consolidación pulmonar. La información de pronóstico extraída por estas pruebas auxiliares puede ser prometedora, pero los datos sobre coste-efectividad son todavía escasos. Mi último mensaje final sería: **"¡Intente usarla y verá cómo puede mejorar su precisión del diagnóstico! Usted no necesita ninguna otra máquina o sonda más que su unidad para la evaluación de la reproducción"**.

REFERENCIAS

1. Duff GC, Galyean ML. Board-invited review: recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. J Anim Sci 2007;85:823-840.

2. McGuirk SM. Disease management of dairy calves and heifers. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2008;24:139-153.

3. Buczinski S, Forte G, Francoz D, et al. Comparison of thoracic auscultation, clinical score, and ultrasonography as indicators of bovine respiratory disease in preweaned dairy calves. J Vet Intern Med 2014;28:234-242.

4. White BJ, Renter DG. Bayesian estimation of the performance of using clinical observations and harvest lung lesions for diagnosing bovine respiratory disease in post-weaned beef calves. J Vet Diagn Invest 2009;21:446-453.

5. Babkine M, Blond L. Ultrasonography of the bovine respiratory system and its practical application. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2009;25:633-649,

6. Rademacher RM, Buczinski S, Edmonds M, Tripp HT, Johnson E. Use of thoracic ultrasonography for the evaluation of lung pathology in beef cattle with acute bovine respiratory disease. In: Annual convention of the American Association of Bovine Practitioners. Milwaukee, WI: 2013.

7. Buczinski S, Forte G, Belanger AM. Short communication: ultrasonographic assessment of the thorax as a fast technique to assess pulmonary lesions in dairy calves with bovine respiratory disease. J Dairy Sci 2013;96:4523-4528.

8. Ollivett TL, Burton, A.J., Bicalho, R.C., Nydam, D.V. Use of rapid thoracic ultrasonography for detection of subclinical and clinical pneumonia in dairy calves. . In Annual convention of the American Association of Bovine Practitioners. St-Louis, MO 2011;148.

9. Ollivett T, Hewson J, Schubotz R, et al. Ultrasonographic progression of lung consolidation after experimental infection with Mannheimia haemolytica in Holstein calves. J Vet Intern Med 2013;673-673.

10. Abutarbush SM, Pollock CM, Wildman BK, et al. Evaluation of the diagnostic and prognostic utility of ultrasonography at first diagnosis of presumptive bovine respiratory disease. Can J Vet Res 2012;76:23-32.

ENGLISH VERSION ▼

Ultrasonography for the diagnosis of respiratory diseases

Sébastien Buczinski, DrVét, DÉS, MSc, DACVIM,

Faculté de médecine vétérinaire, St-Hyacinthe, Université de Montréal, Qc, Canada.

Bovine respiratory disease (BRD) is one of the leading causes of disease in both dairy and beef cattle.[1,2_ENREF_1_ENREF_1_ENREF_1] Despite the fact that diagnosis of BRD is mostly made based on typical clinical signs (e.g. fever, depression and alteration of respiratory function), this diagnosis may be difficult when clinical signs are not obvious or in chronic cases of BRD. Several studies have shown the difficulties to diagnose BRD in both dairy[3] and feedlot calves.[4] The clinical inspection is especially difficult due to production constraints and the fact that some of the skills available for the diagnosis may not be easily teachable for farm managers (eg auscultation). Recently we have shown that even in preweaned dairy calves the thoracic auscultation was of limited information in a field setting.[3]

Moving from these findings, ancillary tests that can be performed cow-side are of outmost interest since they allow a more accurate diagnosis. Among these ancillary tests, ultrasonography is one of the more practical tool that directly allows to examine the lesions (e.g. consolidated lung for BRD; presence of pleural fluid; or assessment of the various parts of cardiac anatomy if a cardiac disease needs to be rule-out or rule-in during the diagnostic process). The aim of this session is therefore to present an up-to-date review of bovine respiratory disease focusing not only on the diagnosis *per se* but also on the prognostic application of ultrasound in BRD.

ULTRASONOGRAPHY OF THE LOWER RESPIRATORY TRACT (LRT)

The ultrasound of the LRT may be easily performed with the high frequency probes that are used for reproductive purpose since this examination mostly focus on the examination of the pleura and peripheral part of lung parenchyma.[5] Basically one of my take-home message is that **"You can do it with the probe you are using for pregnancy cheacking in your practice!"** The intercostal spaces (ICS) can be clipped with ultrasonographic gel applied in the area of interest to optimize the image quality,[6] but the examination can also be performed without clipping and only applying alcohol directly on the area of interest.[7,8] This is of clinical interest to perform this examination faster in a farm setting. Using this quick preparation a pre-weaned dairy calf can be scanned on both sides within 2 or 3 minutes. It is of interest to note that this technique can be easily learned even if the operator is not used with non-reproductive ultrasound with inter-operator agreement varying from 0.6 (moderate) to 1.0 (perfect).[7]

The scanning then begins and consists in a rapid screening of the ICS especially on the ventral part since this is the most common location of pneumonia in cattle. The typical ultrasonographic findings in healthy animal consist in hyperechoic visceral and parietal layers of the pleura sliding together during the breathing movements. Due to its gaseous content, no lung parenchyma is observed and all ultrasounds are reflected back to the transducer occasionally leading to a reverberation artifact.[5] It is of importance to screen both sides of the thorax since the agreement of findings between both sides of the thorax is fait (Kappa=0.33)[3] to moderate (Kappa=0.5).[6] So another take-home message would be: **"Do it on both sides!"**

The various anomalies encountered during BRD consist in (1) pleural irregularity or thickening, (2) visualization of the lung parenchyma due to inflammation and exsudate deposit in the parenchyma or atelectasia and (3) various amounts of pleural fluid accumulation. Ultrasound of the LRT can therefore be used for assessing the extension of the lung consolidation and non ventilated pulmonary parenchyma.

Pleural irregularity or thickening

The pleural line usually corresponds to 2 thin echoic lines with a smooth contour. The early lung anomalies associated with pneumonia and that can be observed with ultrasonography consist in the observation of comet tails artifacts which are numerous hyperechoic parallel lines due to reverberation artifacts associated with small reflective surfaces within the pleural space. These lesions can also be observed in cases of lung edema as well as in diffuse parenchymatous diseases. Comet-tails can also be observed in healthy animals so they should not be considered as a reliable marker of lung disease. Diffuse observation of multiple comet-tails has been found in cases of pulmonary emphysema in man, however to date this finding has not been confirmed in bovine studies.

Pleural anomalies :

Fluid accumulation

Pleuritis and bronchopneumonia are characterized by ventral accumulation of various amounts of hypochoic to anechoic fluid with variable quantity of echoic fibrin strands. The most striking feature in these cases will be the observation of separation of both visceral and parietal pleura when moving the transducer from dorsal to ventral. Depending on the amount of pleural fluid, other observation associated can be lung parenchyma visualization despite the absence of lung infection but secondary to lung atelectasia. Ultrasound may also allow checking for the optimal site for fluid puncture.

Pneumothorax

In cases of pneumothorax, the main finding will be the absence of sliding movement on the dorsal part of the thorax due to the presence of gas between the pleural and parietal pleura. The extension of the pneumothorax could therefore be objectively assessed when measuring the point where the sliding pleural movement is observed. In these cases, ultrasound can be used to monitor treatment response when the pleural gas removal is performed.

Lung consolidation

Consolidated lung has a hypoechoic appearance close to the liver echotexture.[5] The consolidation can only be observed if adjacent to the pleural line since deeper consolidated area cannot be observed due to the reflection of the ultrasound beam by healthy lung tissue. The consolidated parenchyma is most of time heterogenous due to (1) the appearance of hyperechoic bronchi that could also contain residual gas or (2) secondary gas production by the bacteria responsible of the pneumonia. Consolidation can also be observed in cases of pulmonary atelectasia which is not always associated with infection. Lung atelectasia can be secondary to lung compression by pleural fluid (compression atelectasia) but can also be caused by gradual resorption of air in infected lung. Despite the lack of specific studies addressing that point, I personally think that in a field context and when trying to used ultrasound as a practical tool any significant consolidation should be interpreted as an active infection or as a sequella of previous lung infection.

Cavitary lesions can also be observed with a thick capsula and heterogenic content when abcedative lesions are present. In these cases, the operator needs to know if the abscess is adhered to the parietal pleura in order to be safely drained without any risk of pleural extension or pneumothorax.

Lung ultrasonography as a prognostic tool

Dairy calves

Most of the available data concerning ultrasonography are only descriptive information from case reports or retrospective studies without any information on the prognostic application of this ancillary test. Even if one can doubt on the potential delay between the acute infection of the LRT and the presence of lung lesions, recent experimental studies have shown that ultrasonographic evidences of lung consolidation can appear as soon as 2 hours after experimental challenge with *Mannheimia haemolytica*.[9] In a previous study when thoracic ultrasonography was performed twice during the pre-weaning period, calves with lung consolidation (defined as 1 or more cm of measured consolidation on the screen) had lower weaning weight than calves without lesions.[8,9] In a study we did in Québec dairy farms with enzootic BRD we found an overall prevalence of lung consolidation of more than 50% (56/106) of pre-weaned calves.[3] Of these consolidated calves only 41% (23/56) had been previously treated for BRD. When using a systematic tool to assess clinical status of the calves 31 of the 56 consolidated calves were correctly classified as sick. Mortality of the calves was followed during a 30 days period. Four of the 106 calves died during this period. The number of observed sites with lung consolidation (using the same definition with ≥1cm of depth), and the maximal depth of consolidation were associated with the odds of dying during this period showing that at ultrasound has some potential of being of prognostic interest even if it should be confirmed by future studies. _ENREF_8

Feedlot calves

In the feedlot side, a clinical study was performed in Albertan feedlots using systematic screening of 3 intercostal spaces in calves with a clinical suspicion of BRD base on penchecker clinical assessment. The authors did not find any prognostic information when performing ultrasonography during the processing or when pulled to the chute for a BRD suspicion.[10] The unilateral examination of the thorax, as well as a focused examination, low frequency probe and off-line reading of pictures rather than video must be taken into account when interpreting this study. In a more recent study on feedlot calves in Idaho, USA with naturally occuring BRD, systematic thoracic ultrasonography showed that maximal depth of lung consolidation, maximal area of consolidated lung per site, and total area of consolidated lungs were significantly associated with survival. For each 1cm increase in maximal depth of consolidation the hazard of dying increased by 2.24 (95% CI: 1.35-3.66, *P*=0.001). However this study was an experimental study in which the animals were not treated before 15 days after the first pull.[6]

Lung ultrasonography as a herd-based ancillary test

These different results showed that 1) thoracic ultrasound is a useful adjunct to clinical examination that is feasible in field context and should not be only used in hospital settings, 2) ultrasound has the potential to be used in a herd health management program to help in the assessment of producer diagnosis. Using this tool to detect animals with significant consolidation that were not previously treated is of practical interest to improve the detection of non-treated animals. Active research on that field is performed by different groups in dairy and feedlot calves. These studies are the next step to be able to recommend practical guidelines concerning the calf-side application of thoracic ultrasonography as a prognostic ancillary test.

In conclusion, thoracic ultrasonography is an interesting and practical tool that can be used not only by the internist but also by the bovine practitioner for the diagnosis of various diseases. In cases of suspected BRD, thoracic examination can be performed with units that are available for reproduction work and may help to assess lung consolidation. The prognostic information brought by these ancillary tests may be promising but cost-effectiveness data are still scant. My last takehome message would be: **"Try to use it and you will see how it may improve your diagnostic accuracy! You don't need any other machine or probe than your unit for reproduction assessment"**

REFERENCES

1. Duff GC, Galyean ML. Board-invited review: recent advances in management of highly stressed, newly received feedlot cattle. J Anim Sci 2007;85:823-840.

2. McGuirk SM. Disease management of dairy calves and heifers. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2008;24:139-153.

3. Buczinski S, Forte G, Francoz D, et al. Comparison of thoracic auscultation, clinical score, and ultrasonography as indicators of bovine respiratory disease in preweaned dairy calves. J Vet Intern Med 2014;28:234-242.

4. White BJ, Renter DG. Bayesian estimation of the performance of using clinical observations and harvest lung lesions for diagnosing bovine respiratory disease in post-weaned beef calves. J Vet Diagn Invest 2009;21:446-453.

5. Babkine M, Blond L. Ultrasonography of the bovine respiratory system and its practical application. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2009;25:633-649,

6. Rademacher RM, Buczinski S, Edmonds M, Tripp HT, Johnson E. Use of thoracic ultrasonography for the evaluation of lung pathology in beef cattle with acute bovine respiratory disease. In: Annual convention of the American Association of Bovine Practitioners. Milwaukee, WI: 2013.

7. Buczinski S, Forte G, Belanger AM. Short communication: ultrasonographic assessment of the thorax as a fast technique to assess pulmonary lesions in dairy calves with bovine respiratory disease. J Dairy Sci 2013;96:4523-4528.

8. Ollivett TL, Burton, A.J., Bicalho, R.C., Nydam, D.V. Use of rapid thoracic ultrasonography for detection of subclinical and clinical pneumonia in dairy calves. . In Annual convention of the American Association of Bovine Practitioners. St-Louis, MO 2011;148.

9. Ollivett T, Hewson J, Schubotz R, et al. Ultrasonographic progression of lung consolidation after experimental infection with Mannheimia haemolytica in Holstein calves. J Vet Intern Med 2013;673-673.

10. Abutarbush SM, Pollock CM, Wildman BK, et al. Evaluation of the diagnostic and prognostic utility of ultrasonography at first diagnosis of presumptive bovine respiratory disease. Can J Vet Res 2012;76:23-32.

USO PRÁCTICO DE LA ECOGRAFÍA PARA ENFERMEDADES ABDOMINALES BOVINAS

Sébastien Buczinski, DrVét, DÉS, MSc, DACVIM
Faculté de médecine vétérinaire, St-Hyacinthe, Université de Montréal, Qc, Canada.

Durante las últimas décadas, el ultrasonido no-reproductivo se ha convertido en una prueba auxiliar interesante para muchos problemas médicos y quirúrgicos en el ganado. El trabajo pionero fue realizado por el Pr. Ueli Braun[1-10] de la Universidad de Zúrich, Suiza, que describió la apariencia ecográfica de muchos órganos abdominales y enfermedades comunes en el ganado, demostrando el interés potencial de esta herramienta de imagen. La tecnología y la portabilidad de las unidades de ultrasonido están constantemente mejorando, lo que es un punto importante para el veterinario que quiera utilizarlo a pie de vaca en una granja. En esta presentación, me centraré en el interés de la ecografía en el diagnóstico de las enfermedades abdominales más frecuentemente encontradas en vacas lecheras adultas. No voy a hacer una extensa revisión, que está disponible en libros de texto[1,11], pero sí insistiré en los usos comunes de la ecografía abdominal en la práctica veterinaria.

Preparación estándar para la ecografía abdominal

La mayoría de las veces, sobre todo los no-expertos, necesitamos obtener una buena calidad de imagen para interpretar correctamente lo que vemos. Por estas razones, recomiendo recortar o afeitar el área de interés, enjuagarla con agua tibia o con alcohol de 70° y aplicar gel de ecografía. No obstante, si la vaca está limpia y con el pelo corto, se puede hacer un examen directamente con alcohol +/- gel. Esto puede ser de especial interés para mejorar la rapidez del examen. El operador también debe recordar que la aplicación frecuente de alcohol puede conducir a daños en el revestimiento de la sonda (lo que requerirá una sustitución más frecuente del revestimiento). En el ganado adulto, debido a la profundidad del abdomen, generalmente se requiere una sonda de baja frecuencia (<3.5MHz) para poder tener una mejor interpretación de los órganos y la extensión de cualquier anomalía. También se puede utilizar una configuración específica para cada órgano, dependiendo de la unidad utilizada. En terneros, se pueden obtener buenas imágenes con el mismo tipo de sonda utilizada para exploraciones de reproducción (sonda de alta frecuencia lineal>5MHz).

Abdomen craneal: retículo, abomaso e hígado

El retículo se capta mejor desde el lado izquierdo del animal. El área de interés está delimitada cranealmente por el proceso xifoides; caudalmente, craneal respecto a la vena mamaria, a la derecha de la línea media y a la izquierda por encima del codo. La ecografía del retículo es interesante para manejar vacas clavadas.[6-8] El aspecto normal del retículo es una línea hiperecoica con forma de media luna, que se corresponde con la pared reticular. El contenido del retículo (como el rumen y el omaso) está lleno de micro-burbujas de gas, que impiden su observación. El retículo se reconoce fácilmente por su localización craneal y su patrón de contracción bifásica. Cada minuto se observa una contracción de pequeña amplitud que precede inmediatamente a una contracción completa. Durante la fase de pequeña amplitud, la pared se mueve menos de 10cm dorsalmente, después vuelve a su estado relajado e, inmediatamente, se mueve dorsalmente (la pared desaparece de la pantalla en una pantalla de 20cm de profundidad). En una vaca clavada, se observa hipomotilidad (disminución de la frecuencia -menos de 2 cada 2 minutos-, y la amplitud); así como, otros signos de peritonitis (líquido libre en el abdomen craneal, hebras de fibrina o abscesos). El cuerpo extraño normalmente no se observa *per se*. El diagnóstico se basa, por tanto, en la localización de cambios (situados en el área de proyección del retículo); así como, en la motilidad reticular severamente reducida. El principal diagnóstico diferencial es úlcera perforada abomasal con peritonitis craneal.

Un interés práctico interesante de la ecografía es que permite elegir el mejor punto para hacer la paracentesis, lo que es muy práctico para aumentar las posibilidades de conseguir una muestra interpretativa y evitar resultados negativos falsos cuando se realiza el procedimiento a ciegas.

Cuando la sonda se mueve hacia la parte ventral derecha craneal del abdomen, se observa el abomaso. Este órgano tiene varias diferencias por contraste con el retículo. Es de pared fina y no tiene un patrón de motilidad cíclico. La localización del abomaso varía dependiendo del estado fisiológico de la vaca (lactación temprana vs preñez tardía). El cuerpo abomasal puede ser difícil de reconocer pero la parte pilórica del abomaso tiene un aspecto ecográfico típico que consiste en una víscera de pared gruesa en forma de cuarto creciente que está aboralmente seguida por el duodeno craneal de pared fina. Esta típica imagen de reconocimiento puede ser de interés cuando se sospeche un desplazamiento del abomaso cuando no se detecten los típicos ping . En casos de úlceras perforadas abomasales, no se han reportado visualizaciones de la lesión ulcerada, pero se observan los cambios compatibles con peritonitis en el área proyectada del órgano. Yo, personalmente, uso en la práctica la distribución relativa de los cambios entre las áreas reticular y abomasal para ayudarme a hacer el diagnóstico entre la vaca clavada y la úlcera perforada, pero la precisión exacta de este enfoque no ha sido explorada.

La ecografía transabdominal también es una forma interesante de explorar la textura ecoica del parénquima hepático. El área clásica de interés va desde la 8ª hasta la 13ª costilla derecha con alguna variación dependiendo del individuo. El parénquima hepático es homogéneamente ecoico, con pequeños puntos o líneas anecoicas (vasos sanguíneos). Los vasos portales se reconocen por su pared hiperecoica, en contraste con los vasos hepáticos. La vena porta tiene forma redonda con pared hiperecoica y se observa de forma ventral y más superficial que la vena cava caudal, que tiene forma triangular y se encuentra más profunda[12]. Este descubrimiento es de interés cuando se sospecha una trombosis de la vena cava caudal, en la que un incremento de la presión venosa daría lugar a una forma redonda de la vena cava caudal, lo que es anormal[12,13]. La vesícula biliar es un órgano anecoico con forma de pera con pared fina que se encuentra ventral al hígado. Su tamaño es variable en función de varios parámetros (anorexia, alimentación previa a la exploración, etc.). Las principales anomalías hepáticas incluyen abscesos, hígado graso y trematodos hepáticos. En casos de abscesos en el hígado, se observa un área heterogénea entre pequeña y grande con presencia (o no) de lesiones cavitadas[14]. En casos de hígado graso [15], la ecogenicidad del hígado se incrementa en superficie debido al contenido en grasa, pero pocos ecos permiten ir a más profundidad, lo que lleva

a una atenuación considerable del haz de ultrasonidos. Algunos estudios han tratado de determinar algunos factores pronósticos o medidas que podrían adoptarse en este caso[16]. Sin embargo, hasta la fecha no existen recomendaciones prácticas que puedan utilizarse fácilmente en el campo.

Intestino delgado

El examen del intestino delgado es un procedimiento directo. Una de las principales indicaciones para realizar este examen es la presencia de dolor abdominal (cólico) con el fin de ayudar a la hora de decidir si la enfermedad se puede controlar médicamente o si se precisa una intervención quirúrgica. La ubicación del intestino delgado está en la parte caudal del abdomen derecho. Las asas intestinales son pequeñas estructuras que tienen varias formas y diámetros cambiantes debido a la perístasis. El contenido intestinal es visible y puede tener varios aspectos ecogénicos. En caso de distensión del íleo intestinal del intestino delgado se observará con un diámetro de 5cm o más en las asas distendidas. Si la distensión solo afecta a varias asas intestinales y otras están vacías, se debe sospechar de una condición quirúrgica (obstrucción mecánica). Si todas las asas observadas están distendidas, se puede sospechar de íleo paralítico y la cirugía puede aplazarse después de un tratamiento médico adecuado. Es importante recordar que, la mayoría de las veces, debido a la profundidad del abdomen, la causa específica de obstrucción (intususcepciones, coágulo de sangre por síndrome hemorrágico intestinal) no puede observarse directamente. La decisión de realizar la cirugía se basa en el examen clínico, así como, en la sospecha de obstrucción, basada en el aspecto de las asas intestinales pequeñas (algunas distendidas y otras vacías). La ecografía del intestino grueso y del ciego no es de interés práctico, según mi opinión, ya que 1) las enfermedades del intestino grueso son poco frecuentes (por ejemplo: hasta el momento no se ha diagnosticado Johnes a través de la ecografía, excepto en pequeños rumiantes y camellos); y 2) en los casos de enfermedades del ciego, el examen transrectal es el componente clave del diagnóstico y el tratamiento.

Riñón y pielonefritis

La ecografía tiene otra indicación muy práctica en casos de pielonefritis. La pielonefritis en el riñón izquierdo se puede diagnosticar con un examen clínico (examen transrectal) y una ecografía transrectal. No obstante, el tratamiento de esta enfermedad depende de la integridad del otro riñón, que también está afectado en casi el 50% de los casos. Si la nefrectomía es una opción, es importante saber si el otro riñón está afectado o no, ya que cambiaría el pronóstico. Los marcadores sanguíneos clásicos (BUN y creatinina) carecen de sensibilidad para detectar la implicación temprana del parénquima renal. Pueden permanecer sin cambios hasta que más de la mitad del parénquima renal esté afectado. El riñón derecho no puede ser escaneado por ecografía transrectal y se escanea en la parte craneal superior del flanco derecho justo caudal al hígado[17]. También se puede hacer un examen entre los procesos transversales derechos de las vértebras lumbares para visualizar el riñón derecho. El aspecto del riñón normal es una estructura lobulada. La corteza y la médula no se pueden distinguir, pero las pirámides renales se ven como una estructura piramidal hipoecoica en el parénquima. La zona del hilio es normalmente más ecoica debido a un mayor contenido de grasa y tejido conectivo.

En casos de pielonefritis, el uso de la ecografía permitirá observar directamente el riñón y buscar cualquier anomalía que incluye, pero no se limita a, un aumento de la ecogenicidad y heterogeneidad de la orina, distensión del riñón afectado y pérdida del aspecto típico del parénquima (es decir, la pérdida del contraste entre la corteza y las pirámides)[18]. El uso de la ecografía en estos casos en un procedimiento sencillo que permite un mejor manejo del caso cuando la cirugía es una opción.

Como conclusión, en esta presentación he intentado ilustrar un "popurrí" de lo que se puede hacer fácilmente con la ecografía transabdominal para enfermedades abdominales, incluso para ecografistas noveles. Practicar con hallazgos normales en seminarios prácticos o consultar las referencias existentes[1, 11,19] puede ayudar definitivamente a los veterinarios a utilizar esta prueba en casos de sospecha de enfermedades. La ecografía es una prueba de diagnóstico a pie de vaca asequible que permite enfocar otros procedimientos (por ejemplo, punción abdominal) y examinar la extensión de la enfermedad en el órgano o área afectada. El interés pronóstico exacto de esta prueba no se ha estudiado ampliamente en vacas, pero definitivamente este es un área de investigación que necesita realizarse en el futuro para añadir una perspectiva "coste-efectividad" en animales de consumo.

Referencias:

1. Braun U. Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik beim Rind. Parey Buchverlag Berlin. 1997: 279PP
2. Braun U. Ultrasound as a decision-making tool in abdominal surgery in cows. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice 2005;21:33-53.
3. Braun U, Wild K, Guschetti F. Ultrasonographic examination of the abomasum in 50 healthy cows. Veterinary Record 1997;140:93-98.
4. Braun U, Pusterla N, Wild K. Ultrasonographic findings in 11 cows with a hepatic abscess. Veterinary Record 1995;137:284-290.
5. Braun U, Marmier O, Pusterla N. Ultrasonographic examination of the small intestine of cows with ileus of the duodenum, jejunum or ileum. Veterinary Record 1995;137:209-215.
6. Braun U, Flückiger M, Götz M. Comparison of ultrasonographic and radiographic findings in cows with traumatic reticuloperitonitis. Veterinary Record 1994;135:470-478.
7. Braun U, Götz M. Ultrasonography of the reticulum in cows. American Journal of Veterinary Research 1994;55:325-332.
8. Braun U, Götz M, Marmier O. Ultrasonographic findings in cows with traumatic reticuloperitonitis. Veterinary Record 1993;133:416-422.
9. Braun U, Feller B. Ultrasonographic findings in cows with right displacement of the abomasums and abomasal volvulus. Veterinary Record 2008;162:311-315.
10. Braun U. Ultrasonography in gastrointestinal disease in cattle. The Veterinary Journal 2003;166:112-124.
11. Buczinski S. Échographie des bovins Les Éditions du point Vétérinaire, Wolter-Kluwer France, 2009, 191p
12. Braun U. Clinical findings and diagnosis of thrombosis of the caudal vena cava in cattle. The Veterinary Journal 2008;175:118-125.
13. Sigrist I, Francoz D, Leclère M, Buczinski S. Antemortem diagnosis of caudal vena cava thrombosis in 2 cows. Journal of Veterinary Internal Medicine 2008;22:684-686
14. Lechtenberg KF, Nagaraja TG. Hepatic ultrasonography and blood changes in cattle with experimentally induced hepatic abscesses. American Journal of Veterinary Research 1991;52:803-809.
15. raun U. Ultrasonography of the liver. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2009 ;25 :591-609.
16. Weijers G, Starke A, Thijssen JM, Haudum A, Wohlsein P, Rehage J, de Korte CL. Transcutaneous vs. intraoperative quantitative ultrasound for staging bovine hepatic steatosis. Ultrasound Med Biol. 2012 ; 38:1404-13.
17. Braun U. Ultrasonographic of the right kidney in cows. Am J Vet Res 1991;52:1933-1939.
18. Braun U, Nuss K, Wehrbrink D, Rauch S, Popischil A. Clinical and ultrasonographic findings, diagnosis and treatment of pyelonephritis in 17 cows. The Veterinary Journal 2008;175:240-248.
19. Buczinski S. Guest Editor. Bovine Ultrasound. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice. 2009:25(3):553-822.

ENGLISH VERSION ▼

Practical use of ultrasonography for bovine abdominal diseases

Sébastien Buczinski, DrVét, DÉS, MSc, DACVIM,

Faculté de médecine vétérinaire, St-Hyacinthe, Université de Montréal, Qc, Canada.

During last decades, non-reproductive ultrasound has emerged as an interesting ancillary test to many medical and surgical problems in cattle. The pioneer work was performed by Pr Ueli Braun[1-10] from the University of Zürich, Switzerland who described the ultrasonographic appearance of many abdominal organs and common cattle disease demonstrating the potential interest of this imaging tool. The technology and portability of ultrasound units is constantly improving which is an important point for the practitioner who wants to use it cow-side in a farm setting. During this presentation, I will focus on the interest of ultrasound in the diagnosis of the most commonly encountered abdominal diseases of adult dairy cows. I will not make an extensive review which is available in textbook,[1,11] but I will insist on common uses of abdominal ultrasound in practice.

Standard preparation for abdominal ultrasonography

Most of time, especially for the non-expert we need to get a good image quality to correctly interpret what we see. For these reasons I recommend to clip or shave the area of interest, to rinse it with warm water or 70 °alcohol and to apply ultrasound gel. However, it the cow is clean with short hair, direct examination with alcohol +/- gel can be performed. This may be of special interest to improve the rapidity of the examination. The operator needs also to remember that frequent application of alcohol can lead to damage to the probe coating (which will require more frequent coating replacement). In adult cattle, due to the depth of the abdomen, a low frequency probe (<3.5MHz) is generally required to be able to have a better interpretation of the organs and the extension of any anomaly. Specific setting can also be used for each organ depending on the unit used. In calves, good images can be obtained with the same type of probe that used for reproductive examinations (linear high frequency probe >5MHz).

Cranial abdomen: reticulum, abomasum and liver

The reticulum is better imaged from the left of the animal. The area of interest is delimited cranially by the xyphoid process, caudally cranial to the mammary vein, on the right of the median line and on the left above the elbow. Ultrasound of the reticulum is interesting to rule-in hardware disease.[6-8] The normal appearance of the reticulum is a half-moon shape hyperechoic line which corresponds to the reticular wall. The content of the reticulum (as the rumen and the omasum) is full of gas microbubbles which preclude its observation. The reticulum is easily recognized by its cranial localization and its biphasic contraction pattern. Every minute a small amplitude contraction which immediately precedes a full contraction is observed. During the small amplitude phase the wall will move less than 10cm dorsally, then goes back to the relaxed state then immediately move dorsally (the wall disappearS from the screen in a 20cm depth screen). When hardware disease is present, hypomotility (decreased frequency (less than 2 per 2 minutes, and amplitude) will be observed as well as other signs of peritonitis (free fluid in the cranial abdomen, fibrin strands or abscess). The foreign body is generally not observed *per se*. The diagnosis is therefore based on the localization of the changes (located in the projection area of the reticulum) as well as on the severely decreased reticular motility. The main differential diagnosis is abomasal perforated ulcer with cranial peritonitis.

An interesting practical interest of ultrasound is that it allows choosing the better spot to perform the paracentesis which is very practical to increase the chances of getting an interpretive sample and avoiding false negative results when blind procedure is performed.

When the probe is moved on the cranial right ventral part of the abdomen, the abomasum is then observed. This organ has several differences by contrast with the reticulum. It is thin walled and has no cyclic motility pattern. The location of the abomasum is varying depending on the physiological status of the cow (early lactating vs late-pregnancy...). The abomasal body can be difficult to recognize but the pyloric part of the abomasum has a typical ultrasonographic appearance which consists in a thick-walled crescent shaped viscus that is aborally followed by the thin walled cranial duodenum. This typical image recognition may be of interest for suspicion of abomasal displacement when no typical ping is detected. In cases of abomasal perforating ulcers, no visualization of the ulcerated lesion has been reported but the changes compatible with peritonitis are observed in the projected area of the organ. I personally use in practice the relative distribution of changes between the reticular and abomasal area to help me to make the diagnosis between hardware and perforated ulcer but the exact accuracy of this approach has not been explored.

The transabdominal ultrasonography is also an interesting way to explore the liver parenchyma echotexture. The classical area of interest is from the 8th to the 13th right rib with some variation depending on the individual. The liver parenchyma is homogenously echoic with small anechoic dots or lines (blood vessels). The biggest portal vessels are recognized by their hyperechoic wall by contrast to hepatic vessels. The portal vein has round shape with hyperechoic wall and is observed ventral and more superficial than the caudal vena cava which has a triangular shape and is located more deeply.[12] This finding is of interest when suspecting thrombosis of the caudal vena cava in which increased venous pressure will lead to a round shape of the caudal vena cava which is abnormal.[12,13] The gallbladder is a pear shaped anechoic organ with a thin wall that lies ventral to the liver. Its size is variable depending on various parameters (anorexia, previous feeding,...). The principal liver anomalies include abscesses, fatty liver and liver flukes. In cases of liver abscessation, small to large heterogenic area are observed with the presence (or not) of cavitary lesions.[14] In cases of fatty liver,[15] the echogenicity of the liver is increased in surface due to fat content but less echoes are allowing to go more deeply which lead to an important attenuation of the ultrasound beam. Some studies have tried to determine some prognostic factors or measurement that could be taken in this case.[16] However, to date no practical recommendations exist that can be easily used on a field basis.

Small intestine

Examination of the small intestine is a straightforward procedure. One of the main indications for performing this examination is the presence of abdominal pain (colic) in order to help in deciding if the condition can be medically managed or if a surgical intervention is required. The location of the small intestine is on the caudal part of the right abdomen. The intestinal loops are small structures that have various shapes and changing diameter due to peristalsis. The intestinal content is visible and can have various echogenic aspects. In case of intestinal ileus distension of the small intestine will be observed with diameter of 5 or more cm for distended loops. If the distension is only concerning several

intestinal loops and that others are empty a surgical condition should be suspected (mechanical obstruction). If all the observed loops are distended a paralytic ileus could be suspected and surgery may be delayed after adequate medical management. It is important to remember that most of time due to the depth of the abdomen the specific cause of obstruction (intussusceptions, blood clot due to intestinal hemorrhagic syndrome...) cannot be directly observed. The decision to perform the surgery is based on the clinical examination as well as on the suspicion of obstruction based on small intestine loops aspect (some distended and other empty). The ultrasonography of the large intestine and the caecum is not of practical interest in my opinion since 1) large intestine conditions are uncommon (eg: Johnes has for the moment not been diagnosed using ultrasound except in small ruminants or camels) and 2) in cases of caecal diseases the transrectal examination is the key component of the diagnosis and management.

Kidney and pyelonephritis

The ultrasonography has another very practical indication in cases of pyelonephritis. Left kidney pyelonephritis can be diagnosed with the clinical examination (transrectal examination) and transrectal ultrasonography. However, the management of this condition depends on the integrity of the other kidney which is also affected in almost 50% of cases. If nephrectomy is an option, it is important to know if the other kidney is affected or not sine it will change the prognosis. The classical blood markers (BUN and creatinine) lacks of sensitivity to detect early kidney parenchyma involvement. They can remain unchanged until more than half or the renal parenchyma is affected. The right kidney cannot be scanned by transrectal ultrasound and is scanned on the upper cranial part of the right flank just caudal to the liver.[17] Examination between the right transverse processes of the lumbar vertebra can also be used to image the right kidney. The appearance of the normal kidney is a lobulated structure. The cortex and medulla cannot be distinguished but renal pyramid are seen as hypoechoic pyramidal structure in the parenchyma. The hilus area is generally more echoic due to higher fat and connective tissue content.

In pyelonephritris cases the use of ultrasound will allow to directly observe the kidney and to look for any anomaly which include but is not limited to increased echogenicity and heterogeneity of the urine, distension of the affected kidney and loss of the parenchyma typical aspect (ie loss of contrast between the cortex and the pyramids).[18] Using ultrasound in these cases is a straightforward procedure that allows a better management of the case when surgery is an option.

In conclusion, in this presentation I tried to illustrate a "pot-pourri " of what can be easily done with transabdominal ultrasound for abdominal diseases even for novice ultrasonographers. Practicing on normal findings during wet-labs or consulting existing references[1,11,19] may definitely help the practioners to use this test in cases of disease suspicion. Ultrasound is an affordable cow-side diagnostic test that allows to focus other procedures (eg abdominal tap) and to examine the extension of the disease in the affected organ or area. The exact prognostic interest of this test has not been extensively studied in cows but this is definitely an area of research that needs to be performed in the future to add a " cost-effectiveness " perspective in food animals.

References:

1. Braun U. Atlas und Lehrbuch der Ultraschalldiagnostik beim Rind. Parey Buchverlag Berlin. 1997: 279PP
2. Braun U. Ultrasound as a decision-making tool in abdominal surgery in cows. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice 2005;21:33-53.
3. Braun U, Wild K, Guschetti F. Ultrasonographic examination of the abomasum in 50 healthy cows. Veterinary Record 1997;140:93-98.
4. Braun U, Pusterla N, Wild K. Ultrasonographic findings in 11 cows with a hepatic abscess. Veterinary Record 1995;137:284-290.
5. Braun U, Marmier O, Pusterla N. Ultrasonographic examination of the small intestine of cows with ileus of the duodenum, jejunum or ileum. Veterinary Record 1995;137:209-215.
6. Braun U, Flückiger M, Götz M. Comparison of ultrasonographic and radiographic findings in cows with traumatic reticuloperitonitis. Veterinary Record 1994;135:470-478.
7. Braun U, Götz M. Ultrasonography of the reticulum in cows. American Journal of Veterinary Research 1994;55:325-332.
8. Braun U, Götz M, Marmier O. Ultrasonographic findings in cows with traumatic reticuloperitonitis. Veterinary Record 1993;133:416-422.
9. Braun U, Feller B. Ultrasonographic findings in cows with right displacement of the abomasums and abomasal volvulus. Veterinary Record 2008;162:311-315.
10. Braun U. Ultrasonography in gastrointestinal disease in cattle. The Veterinary Journal 2003;166:112-124.
11. Buczinski S. Échographie des bovins Les Éditions du point Vétérinaire, Wolter-Kluwer France, 2009, 191p
12. Braun U. Clinical findings and diagnosis of thrombosis of the caudal vena cava in cattle. The Veterinary Journal 2008;175:118-125.
13. Sigrist I, Francoz D, Leclère M, Buczinski S. Antemortem diagnosis of caudal vena cava thrombosis in 2 cows. Journal of Veterinary Internal Medicine 2008;22:684-686
14. Lechtenberg KF, Nagaraja TG. Hepatic ultrasonography and blood changes in cattle with experimentally induced hepatic abscesses. American Journal of Veterinary Research 1991;52:803-809.
15. raun U. Ultrasonography of the liver. Vet Clin North Am Food Anim Pract 2009 ;25 :591-609.
16. Weijers G, Starke A, Thijssen JM, Haudum A, Wohlsein P, Rehage J, de Korte CL. Transcutaneous vs. intraoperative quantitative ultrasound for staging bovine hepatic steatosis. Ultrasound Med Biol. 2012 ; 38:1404-13.
17. Braun U. Ultrasonographic of the right kidney in cows. Am J Vet Res 1991;52:1933-1939.
18. Braun U, Nuss K, Wehrbrink D, Rauch S, Popischil A. Clinical and ultrasonographic findings, diagnosis and treatment of pyelonephritis in 17 cows. The Veterinary Journal 2008;175:240-248.
19. Buczinski S. Guest Editor. Bovine Ultrasound. Veterinary Clinics of North America Food Animal Practice. 2009:25(3):553-822.

TRATAMIENTO DE LESIONES DE PEZUÑAS EN EL GANADO LECHERO: DESAFÍOS Y OPORTUNIDADES

Jon Huxley
Professor of Cattle Health and Production, School of Veterinary Medicine and Science, University of Nottingham

Introducción

El número de cojeras en el ganado, en particular de las vacas lecheras, en Europa y en todo el mundo, sigue siendo inaceptablemente alto. El control de las cojeras es actualmente uno de los mayores desafíos a los que se enfrentan las industrias lecheras desarrolladas en todo el mundo. Reducir la enfermedad y lograr reducciones sostenibles de su prevalencia en el ganado requiere una combinación de dos enfoques. En primer lugar, una identificación temprana y un tratamiento rápido y efectivo de los casos clínicos para reducir el tiempo en que los animales están cojos (reducir la prevalencia) y, en segundo lugar, la implementación de estrategias de prevención efectivas específicas para cada granja para reducir la tasa a la que se desarrollan los nuevos casos (reducir la incidencia). La investigación en el campo de las cojeras se ha rezagado respecto a la de enfermedades endémicas similares, como la mamitis y la infertilidad. Mucho de lo que pensamos que comprendemos sobre las cojeras y su tratamiento y control viene realmente de sabiduría no confirmada por investigación experimental. En muchas áreas de la etiología de enfermedades individuales, su tratamiento y prevención, una vez que se rasca por debajo de la superficie puede ser sorprendente lo limitada que es nuestra comprensión científica en realidad. Este trabajo revisará la base actual de evidencias sobre el tratamiento de las lesiones de la pezuña (hemorragia y úlcera plantar y enfermedad de línea blanca) y, en concreto, hablará sobre el trabajo reciente que el autor y sus colegas han conducido en este área, explorando los obstáculos para un tratamiento rápido y efectivo y desarrollando protocolos basados en la evidencia para el tratamiento de las lesiones de la pezuña.

Estudio 1: Una Revisión de la Literatura Revisada por otros Autores o Sin Revisar sobre el Tratamiento de las Cojeras en el Ganado

Materiales y Métodos

El objetivo general de este estudio era recopilar y revisar la literatura lengua inglesa estuviera o no revisada por otros autores, sobre el tratamiento y la prevención de las cojeras en el ganado, publicada desde enero del 2000. El estudio pretendía identificar las lagunas en el conocimiento y las áreas de disparidad entre lo que recomiendan los veterinarios en el campo, los arregladores de pezuñas y los asesores, y lo que se ha confirmado experimentalmente. La literatura revisada por compañeros que contenía trabajos originales fue recogida a través de la búsqueda en tres bases de datos; los artículos se clasificaron y se revisaron si contenían material sobre el tratamiento y la prevención. Los materiales clínicos no revisados fueron recopilados a partir de una variedad de fuentes; los materiales fueron revisados y clasificados en función de si recomendaban una variedad de posibles tratamientos o de medidas de prevención (Potterton *et al.* 2012).

Resultados

Solo serán reportados aquí los resultados que cubran el tratamiento de las lesiones de la pezuña. En la literatura revisada, de 1364 artículos publicados desde el año 2000, sobre el tratamiento y la prevención de las cojeras, no se encontró ningún documento que contuviera información sobre el tratamiento de la enfermedad de línea blanca (ELB) y solamente 3 tenían información sobre el tratamiento de la úlcera plantar (UP). De estos trabajos, dos describían el tratamiento y los resultados de los casos, pero ninguno de ellos contenía información que pudiera ser trasladada a la toma de decisiones clínicas; y el tercero describía un pequeño ensayo clínico que evaluaba la eficacia de los suplementos de biotina como complemento de los tratamientos estándares, en los resultados clínicos (Lischer *et al.* 2002).

Se identificaron y se incluyeron en la revisión cuarenta y seis fuentes de literatura no revisada; 23 libros, 6 planes de control de las cojeras y 17 fuentes de 'otro' tipo. El grado de acuerdo entre las fuentes en el tratamiento de las cojeras era moderado y variaba entre los tratamientos y las lesiones. El único tratamiento apoyado por el 100% de las fuentes era el recorte terapéutico en caso de UP y ELB (Potterton *et al.* 2012).

Estudio 2: Actitudes de los Productores de Leche hacia el Tratamiento de las Vacas Cojas

Materiales y Métodos

Se llevó a cabo una encuesta telefónica con 84 productores de leche del Reino Unido a finales del 2011. La encuesta fue diseñada para investigar las prácticas actuales y las barreras y motivaciones potenciales en relación al tratamiento de la úlcera plantar leve (UP) / magulladuras de la suela (SB; en inglés) y la enfermedad de la línea blanca (ELB) (Horseman *et al.* 2013a). Se realizó un estudio de seguimiento con 12 ganaderos para investigar más a fondo sus actitudes y enfoques (Horseman *et al.* 2013b). Se realizaron más entrevistas en profundidad mientras el ganadero estaba recortando o tratando a una vaca coja.

Resultados

En más de dos tercios de las granjas, las vacas eran tratadas por alguien que trabajaba en la explotación. Tres cuartas partes de los encuestados afirmaron que trataban a las vacas cojas en un plazo de 48 horas desde que eran identificadas, aunque un menor número de ganaderos afirmó que el tratamiento se retrasaba en épocas de mucho trabajo y/o que la rapidez del tratamiento estaba relacionada con la severidad de la cojera. Los productores que participaron en la encuesta raramente diferenciaban entre la UP y la ELB en cuanto al tratamiento realizado. El recorte de la pezuña afectada, con o sin la aplicación de una suela terapéutica, era el tratamiento más comúnmente administrado. La falta de tiempo fue considerada un obstáculo clave para el tratamiento rápido de las vacas cojas. Un número significativo de ganaderos también reportó problemas con la mala calidad del equipo para el recorte de pezuñas y/o los sistemas de manejo y de retención como una barrera para el tratamiento. Los motivadores claves para el tratamiento rápido incluyen un equipo y sistemas de

manejo de buena calidad y el sentimiento de satisfacción cuando la cojera mejora después del tratamiento.

Trabajos anteriores han indicado que cuando se pide a los ganaderos que calculen el número de animales cojos en su rebaño, solo reportan los animales con una cojera severa. Esto ha llevado a la suposición de que los productores no pueden o no identifican las cojeras. Los resultados provisionales de este estudio indican que esta puede ser una visión demasiado simplista. Más que una incapacidad de identificar a las vacas con cojera leve, parece ser que existen distintas definiciones entre lo que los investigadores y los ganaderos consideran como vaca coja. Los productores en esta encuesta tendían a evitar la palabra 'coja' al describir a los animales con cojera leve. Por ejemplo, un ganadero declaró '*Ella quiere hacer (el tratamiento) en el próximo mes. Quiero decir, no está coja de ninguna manera, ella simplemente no está caminando correctamente*'. Los productores tendían a reservar la palabra 'coja' para los animales gravemente lisiados; estos eran los animales que priorizaban para el tratamiento.

Estudio 3: Un Ensayo Clínico Controlado y Aleatorizado sobre el Tratamiento de los Nuevos Casos de Lesiones de la Pezuña en el Ganado Lechero

Materiales y Métodos

El objetivo de este estudio era probar los tratamientos para las lesiones de la pezuña en vacas con cojera reciente, en un ensayo clínico controlado y aleatorizado (RCT, por sus siglas en inglés). Aproximadamente 1100 vacas de cinco granjas lecheras comerciales en el centro de Inglaterra fueron puntuadas en movilidad quincenalmente durante un periodo de 12 meses utilizando una escala de 6 puntos. Los nuevos casos de cojeras (dos puntuaciones de no-cojera seguidas de una puntuación de cojera), que cumplían los criterios de inclusión, fueron asignados al azar para recibir uno de los cuatro protocolos de tratamiento, seleccionados para el uso por la consultora encargada del ensayo clínico. Las vacas en los cuatro grupos de tratamiento recibieron un recorte terapéutico del pie estándar de 5 pasos. Los animales en el grupo de tratamiento 1 no recibieron ningún tratamiento adicional y actuaron como el grupo de control positivo. El grupo de tratamiento 2 consistía en un recorte y la aplicación de una suela a la pezuña en buen estado. El grupo de tratamiento 3 consistía en un recorte y la administración de un medicamento antiinflamatorio no esteroideo (AINE) durante el curso de tres días. Las vacas del grupo de tratamiento 4 recibieron el recorte, la suela y los AINEs. La asignación al tratamiento fue bloqueada por el diagnóstico: hemorragia / úlcera plantar (H/UP), ELB u 'otras' (normalmente la combinación de lesiones por H/UP y ELB) y la granja. El resultado principal fue evaluado por una escala de movilidad a los 35 días post-tratamiento completado por un observador, ciego al tratamiento administrado. Los resultados secundarios incluían los datos de producción lechera y la puntuación de la condición corporal.

Resultados Provisionales

Ciento ochenta y un animales cumplieron los criterios de inclusión y fueron asignados aleatoriamente al tratamiento. El análisis univariado provisional indicó que existen diferencias significativas en la tasa de recuperación entre los cuatro grupos de tratamiento.

Discusión

El déficit más sorprendente identificado en el estudio 1 fue la falta de trabajos bien controlados sobre el tratamiento de las lesiones de la pezuña (ELB y UP); había una deficiencia casi completa en esta área. En la búsqueda se identificaron solo tres artículos, todos sobre el tratamiento de la UP. Una revisión extendida de la literatura revisada otros autores publicada antes del 2000 indica que esta última década no es única; desde siempre solo se ha publicado un número muy reducido de trabajos en este área (Potterton *et al.* 2012). Los protocolos de tratamiento actuales se basan en libros y en otras fuentes clave que representan el conocimiento recibido y la experiencia clínica de un pequeño número de líderes de opinión claves en el ámbito que escriben y que contribuyen en este material tan ampliamente distribuido.

Esto no quiere decir que esos tratamientos sean incorrectos, sino que nunca se han probado en ensayos clínicos aleatorizados y controlados (RCTs) para evaluar los tratamientos más eficaces. En ausencia de, o hasta que exista una evidencia de mejor calidad, este enfoque sigue siendo clínicamente justificado pero puede no llevar a los animales a ser tratados utilizando los métodos más apropiados. La falta de evidencia de alta calidad es preocupante porque, como clínicos, somos inherentemente incapaces de evaluar objetivamente los resultados clínicos de nuestros pacientes. Estudios psicológicos han definido y han demostrado toda una serie de sesgos (se han descrito ~100) innata a la psique humana. El *sesgo de confirmación* es uno de los más importantes en este contexto. Describe la tendencia inherente de las personas de favorecer inmediatamente la información que valida sus preconcepciones, hipótesis y creencias personales independientemente de que sean verdaderas o no. Esto no es una crítica hacia nadie, sino una parte fundamental de la condición humana y significa que nuestras opiniones sobre lo que pensamos que iría mejor para nuestros pacientes tiene inherentemente puntos débiles y no es especialmente útil y eso es tan cierto para el experto que escribe el libro como lo es para vosotros o para mí.

Al reportar los resultados del estudio 2, (Horseman *et al.* 2013b) concluyeron que era sorprendente cómo los ganaderos evitaban utilizar el término 'coja', reservando su uso para los animales afectados de forma más severa, que eran los que priorizaban para el tratamiento. Mientras que este enfoque es encomiable (es decir, que se tienda a tratar a las vacas con cojera grave inmediatamente), otro trabajo reciente indica que los mejores resultados se alcanzarían tratando a los animales con cojera leve tan pronto como se identificaran como cojos (y generalmente leves). Es de vital importancia que encontremos la forma de salvar esta aparente contradicción para asegurar que comunicamos de forma efectiva a los ganaderos la importancia de tratar pronto a los animales con cojera leve. Esto puede ser tan simple como cambiar el lenguaje y la terminología utilizada a la hora de tratar la cojera con los productores o comparar las cojeras con la mamitis. La idea de que los casos leves de mamitis se quedarían sin tratamiento durante unas semanas, permitiendo que se hicieran graves antes de ser tratados, parece ilógica; sin embargo esta es la situación actual para la mayoría de los casos de cojera.

El ensayo clínico aleatorizado aquí descrito es uno de los primeros que ha investigado los tratamientos más eficaces para las lesiones de la pezuña, a pesar del hecho de que, cada semana, miles de animales son tratados por estas enfermedades en todo el mundo. La metodología era compleja y su aplicación llevaba mucho tiempo, a pesar del alcance relativamente limitado del estudio. Estas dificultades pueden explicar en parte por qué se han hecho tan pocos estudios de este tipo anteriormente. Se necesita con urgencia más trabajo para abordar este déficit significativo e importante de conocimiento para asegurar que los animales actualmente sin tratamiento son tratados según los métodos más eficaces.

Agradecimientos

El trabajo aquí presentado ha sido financiado por DairyCo (www.

dairyco.org.uk / www.ahdb.org.uk) una organización sin ánimo de lucro con financiación pública que trabaja en favor de los ganaderos lecheros británicos y parte de la Junta de Desarrollo Agrícola y Hortícola.

El autor quisiera reconocer y agradecer a todos sus co-autores y colegas (Simon Archer, Owen Atkinson, Nick Bell, Elizabeth Berry, Nikki Bollard, Colin Mason, Ollie Maxwell, Giuliana Miguel Pacheco, Sarah Potterton, John Remnant, Pip Sleeman Hettie Thomas y Becky Whay) y a los ganaderos que han participado en los estudios de las cojeras a lo largo de los últimos cinco años.

Este artículo se basa en parte en los trabajos presentados en el 17th International Symposium y 9th International Conference on Lameness in Ruminants (Bristol 2013) y el Symposium of the European College of Bovine Health Management (Bern 2013). El autor reconoce con gratitud la fuente.

Referencias

1. Horseman S.V., Huxley J.N., Bell N.J., Mason S.C. & Whay H.R. (2013a) Current on-farm practice in the treatment of sole ulcer and white line disease associated with lameness in dairy cattle. *The Veterinary Journal* 197, 461-7.
2. Horseman S.V., Roe E.J., Huxley J.N., Bell N.J., Mason C.S. & Whay H.R. (2013b) The use of in-depth interviews to understand the process of treating lame dairy cows from the farmers' perspective. Submitted.
3. Huxley J.N. (2012) Lameness in cattle: An ongoing concern. *The Veterinary Journal* 193, 610-1.
4. Lischer C.J., Koller U., Geyer H., Mulling C., Schulze J. & Ossent P. (2002) Effect of therapeutic dietary biotin on the healing of uncomplicated sole ulcers in dairy cattle - a double blinded controlled study. *Veterinary Journal* 163, 51-60.
5. Potterton S.L., Bell N.J., Whay H.R., Berry E.A., Atkinson O.C.D., Dean R.S., Main D.C.J. & Huxley J.N. (2012) A descriptive review of the peer and non-peer reviewed literature on the treatment and prevention of foot lameness in cattle published between 2000 and 2011. *The Veterinary Journal* 193, 612-6.

ENGLISH VERSION ▼

Treating Claw Horn Lesions in Dairy Cattle: Challenges and Opportunities

Jon Huxley

Professor of Cattle Health and Production, School of Veterinary Medicine and Science, University of Nottingham

Introduction

The levels of lameness in cattle, particularly dairy cows, in Europe and around the world, remain unacceptably high. Controlling lameness is currently one of the greatest challenges facing developed dairy industries worldwide. Reducing disease and achieving sustainable reductions in the prevalence of lameness in cattle, requires a combination of two approaches. Firstly early identification and prompt and effective treatment of clinical cases to reduce the duration of time over which animals are lame (decreasing prevalence) and secondly, the implementation of effective farm-specific prevention strategies to decrease the rate at which new cases develop (decreasing incidence). Research in the lameness field has lagged behind that of similar endemic disease such as mastitis and infertility. Much of what we think we understand about lameness treatment and control is actually received wisdom unsubstantiated by experimental research. In many areas of individual disease aetiology, treatment and prevention, once you scratch beneath the surface it can be surprising just how limited our scientific understanding actually is. This paper will review the current evidence base on the treatment of claw horn lesions (sole haemorrhage and ulceration and white line disease) and in particular discuss recent work the author and colleagues have conducted in this area, exploring barrier to prompt and effective treatment and developing evidence based protocols for the treatment of claw horn lesions.

Study 1: A Review of the Peer and Non-peer Reviewed Literature on the Treatment of Lameness in Cattle

Materials and Methods

The overall aim of this study was to collate and review the peer and non-peer reviewed English language literature on the treatment and prevention of lameness in cattle published since January 2000. The study aimed to identify deficits in knowledge and areas of disparity between what is recommended in the field by veterinarians, foot trimmers and advisors and what has been substantiated experimentally. Peer reviewed literature containing original work was gathered by searching three databases; papers were categorised and reviewed if they contained material on treatment or prevention. Non-peer reviewed clinical materials were collated from a range of sources; the materials were reviewed and categorised based on whether they recommended a range of possible treatment or prevention measures (Potterton *et al.* 2012).

Results

Only results which cover the treatment of claw horn lesions will be reported here. In the peer reviewed literature, of the 1364 papers published since 2000, on the treatment and prevention of lameness, no papers were identified which contained information on the treatment of white line disease (WLD) and only 3 contained information on the treatment of sole ulcer (SU). Of these papers, two described the treatment and outcomes of cases, neither of which contained information which could be translated into clinical decision making, and the third described a small clinical trial assessing the efficacy of Biotin supplementation as an addition to standard treatments, on clinical outcome (Lischer *et al.* 2002).

Forty six sources of non-peer reviewed literature were identified and included in the review; 23 text books, 6 lameness control plans and 17 'other' sources. The degree of agreement between sources on the treatment of lameness was moderate and varied between treatments and lesions. The only treatment advocated by 100% of sources was a therapeutic trim in the case of SU and WLD (Potterton *et al.* 2012).

Study 2: Attitudes of Dairy Farmers to the Treatment of Lame Cows

Materials and Methods

A telephone survey of 84 UK dairy farmers was conducted at the end of 2011. The survey was designed to investigate current practice and potential barriers and motivators in relation to the treatment of mild sole ulcer (SU) / sole bruising (SB)and white line disease (WLD) (Horseman *et al.* 2013a). A follow up study was conducted with 12 farmers to further investigate their attitudes and approaches (Horseman *et al.* 2013b). More in-depth interviews were conducted whilst the farmer was trimming or treating a lame cow.

Results

On over two thirds of farms, lame cows were treated by someone working on the farm. Three quarters of respondents stated they treated lame cows within 48 hours of them being identified, although smaller numbers of farmers reported that treatment was delayed at busy times and / or that speed of treatment was related to the severity of the lameness. Farmers who took part in the survey rarely differentiated between SU and WLD in terms of the treatments carried out. Trimming the diseased claw, with or without the application of a therapeutic foot block were the most commonly administered treatments. Lack of time was considered a key constraint to the prompt treatment of lame cows. A significant number of farmers also reported problems with poor quality foot trimming equipment and / or handling and restraint systems as a barrier to treatment. Key motivators to prompt treatment including good quality equipment and handling systems and a sense of satisfaction when lameness improved following treatment.

Previous work has indicated that when farmers are asked to estimate the number of lame animals in their herd, they only report the severely lame animals. This has led to an assumption that farmers cannot or do not identify lameness. Provisional results from this study indicate that this may be an overly simplistic view. Rather than an inability to identify mildly lame cows it appears that different definitions exist between what researcher and farmers consider a lame cow. Farmers in this survey tended to avoid the word 'lame' when describing mildly lame animals. For example one farmer stated '*She wants doing (treating) in the next month. I mean, she's not lame in any way, she's just not walking correctly*'. Farmers tended to reserve the term 'lame' for severely lame animals; these were the animals they prioritised for treatment.

Study 3: A Randomised Controlled Clinical Trial on the Treatment of New Cases of Claw Horn Lesions in Dairy Cattle.

Materials and Methods

The aim of the study was to test treatments for claw horn lesions in newly lame cows, in a randomised controlled clinical trial (RCT). Approximately 1100 cows on five commercial dairy farms in central England were mobility scored fortnightly over a 12 month period using a 6 point scale. New case of lameness (two non-lame scores followed by a lame score), which met the enrolment criteria were randomly allocated to receive one of four treatment protocols, selected for use in the trial following industry consultation. Cows in all four treatment groups received a standard 5-step therapeutic foot trim. Animals in treatment group 1 received no additional treatment and acted as the positive control group. Treatment group 2 consisted of a trim and the application of a foot block to the sound claw. Treatment group 3 consisted of a trim and a three day course of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID). Cows in treatment group 4 received a trim, a foot block and a course of NSAIDs. Treatment allocation was blocked by diagnosis: sole haemorrhage / sole ulcer (SH/U), WLD or 'Other' (usually a combination of both SH/U and WLD lesions) and farm. Primary outcome was assessed by a mobility score at 35 days post treatment completed by an observer, blind to the treatment administered. Secondary outcomes included milk production data and body condition score.

Provisional Results

One hundred and eighty one animals met the enrolment criteria and were randomly assigned for treatment. Provisional univariate analysis indicated that there are significant differences in recovery rate across the four treatment groups.

Discussion

The most striking shortfall identified in study 1 was the lack of well controlled papers on the treatment of the claw horn lesions (WLD and SU); there was an almost complete deficiency in this area. The search identified only three papers, all on the treatment of SU. An extended review into the peer-reviewed literature published before 2000 has identified that the last decade is not unique; only a tiny number of papers have ever been published in this area (Potterton *et al.* 2012). Current treatment protocols are based on text books and other key sources which represent the received wisdom and clinical experience of a small number of key opinion leaders in the field who write and contribute to such widely distributed material.

That does not mean to say that these treatments are incorrect, rather that they have never been tested in controlled randomised clinical trials (RCTs) to assess the most efficacious treatments. In the absence of, or until better quality evidence exists, this approach remains clinically justified but may not lead to animals being treated using the most appropriate methods. The lack of high quality evidence is concerning because as clinicians we are inherently incapable of objectively assessing the clinical outcomes of our own patients. Psychological studies have defined and demonstrated a whole raft of biases (~100 have been described) innate to the human psyche. *Confirmation bias* is one of the most important in this context. It describes the inherent tendency for people to immediately favour information that validates their preconceptions, hypotheses and personal beliefs regardless of whether they are true or not. That isn't a criticism of anyone, rather it is a fundamental part of the human condition and means that our own opinions on what we think works best for our patients is inherently flawed and not particularly useful and that is just as true for the expert who right text books as it is for you or I.

When reporting the results from study 2, (Horseman *et al.* 2013b) concluded that it was striking how farmers avoided using the term 'lame', they reserved its use for the most severely affected animals and it is these animals which they prioritise for treatment. Whilst this approach is commendable (i.e. severely lame cows tend to be treated immediately), other recent work indicates that best results will be achieved by treating mildly lame animals as soon as they are identifiable (and usually mildly) lame. It is vital we find ways to bridge this apparent contradiction to ensure that we effectively communicate to farmers the importance of treating early and mildly lame animals. This may be as simple as altering the language and terminology used when discussing lameness with producers or comparing lameness to mastitis. The idea that mild cases of mastitis would be left untreated for a number of weeks, allowing them to become severe before they were treated seems illogical, yet this is currently the situation for the majority of lameness cases.

The randomised clinical trial described here is one of the very first which has investigated the most efficacious treatments for claw horn lesions despite the fact that every week many thousands of animals are treated for these conditions around the world. The methodology was complex and time consuming to implement, despite the relatively limited scope of the study. These difficulties may in part explain why so few such studies have been conducted previously. Further work is urgently needed to address this significant and important knowledge deficit to ensure that animals under out care are treated by the most efficacious methods.

Acknowledgments

The work reported here was funded by DairyCo (www.dairyco.org.uk / www.ahdb.org.uk) a levy funded, not for profit organisation working on behalf of British dairy farmers and part of the Agricultural and Horticultural Development Board.

The author would like to acknowledge and thank all his co-authors and colleagues (Simon Archer, Owen Atkinson, Nick Bell, Elizabeth Berry, Nikki Bollard, Colin Mason, Ollie Maxwell, Giuliana Miguel Pacheco, Sarah Potterton, John Remnant, Pip Sleeman Hettie Thomas and Becky Whay) and the farmers who have taken part in lameness studies over the last five years.

This paper is in part based on papers presented at the 17th International Symposium and 9th International Conference on Lameness in Ruminants (Bristol 2013) and the Symposium of the European College of Bovine Health Management (Bern 2013). The author gratefully acknowledges the source.

References

Horseman S.V., Huxley J.N., Bell N.J., Mason S.C. & Whay H.R. (2013a) Current on-farm practice in the treatment of sole ulcer and white line disease associated with lameness in dairy cattle. *The Veterinary Journal* 197, 461-7.

Horseman S.V., Roe E.J., Huxley J.N., Bell N.J., Mason C.S. & Whay H.R. (2013b) The use of in-depth interviews to understand the process of treating lame dairy cows from the farmers' perspective. Submitted.

Huxley J.N. (2012) Lameness in cattle: An ongoing concern. *The Veterinary Journal* 193, 610-1.

Lischer C.J., Koller U., Geyer H., Mulling C., Schulze J. & Ossent P. (2002) Effect of therapeutic dietary biotin on the healing of uncomplicated sole ulcers in dairy cattle - a double blinded controlled study. *Veterinary Journal* 163, 51-60.

Potterton S.L., Bell N.J., Whay H.R., Berry E.A., Atkinson O.C.D., Dean R.S., Main D.C.J. & Huxley J.N. (2012) A descriptive review of the peer and non-peer reviewed literature on the treatment and prevention of foot lameness in cattle published between 2000 and 2011. *The Veterinary Journal* 193, 612-6.

REPRODUCCIÓN

ENFERMEDADES UTERINAS EN LA VACA LECHERA: UN TEMA CONTROVERTIDO

Giovanni Gnemmi

RETENCIÓN DE MEMBRANAS FETALES (RMF)

DEFINICIÓN

Fallo en la expulsión de las membranas fetales. El verdadero problema no es definir esta enfermedad, sino cómo determinar cuándo debes y puedes empezar a hablar de RMF. En la literatura, es posible hablar de RMF si a las 12-24 horas después del nacimiento, las membranas aún no han sido expulsadas (*Gilbert 2008*). Sin embargo, en las granjas comerciales, se puede hablar de RMF si después de seis horas tras el nacimiento, las membranas todavía no han sido expulsadas completamente.

DIAGNÓSTICO DE LA RMF

Las membranas fetales pueden sobresalir del borde de la vulva o pueden estar completamente alojadas en el útero y el vestíbulo vaginal. Algunas veces puede ser necesaria una exploración manual del vestíbulo vaginal, con cumplimiento estricto de unas buenas prácticas de higiene (*Gilbert 2008*).

TRATAMIENTO DE LA RMF

En muchos países todavía se recurre a la extracción manual de la placenta, aunque hace tiempo que se ha demostrado que la extracción manual produce más daños que beneficios (*Bolinder et al 1998, Paisley et al., 1986*).

Existen tratamientos convencionales y tratamientos no convencionales.

Tratamientos convencionales

Los tratamientos convencionales están basados en antibióticos (penicilinas) o quimioterapia con medicamentos bacteriostáticos (tetraciclina). El uso del tratamiento antimicrobiano en la RMF ha demostrado resultados contradictorios (*Peters et al. 1996, Hewieser et al 2008, Beagley et al. 2010*).

Los antibióticos y los agentes quimioterapéuticos se utilizan por vía general o se introducen directamente en el útero.

La **infusión intrauterina de bolos uterinos** no ha demostrado reducir la incidencia de metritis o mejorar la fertilidad (*Peters et al 1996, Beagley et al 2010*); en el mercado hay compuestos de penicilinas sintéticas, sulfonamidas y tetraciclinas. El verdadero problema con este tipo de tratamiento es el modo de administración y la efectividad del fármaco en el útero. La administración manual puede ser uno de los problemas: el cuello del útero empieza a contraerse a las 6 horas después del parto (*Arthur et al., 1989*). Este órgano es fibro-elástico y, con el paso de la mano, es posible producir microsoluciones de continuidad, que pueden infectarse fácilmente, dando lugar a cervicitis y/o abscesos dentro o alrededor del cuello del útero (*Gnemmi 2013, Gnemmi et al. 2014*). Además, la administración de pesarios se puede hacer en una sola dosis o en dos dosis separadas por 12-24 horas. Si la retención de las membranas fetales se considera después de 12-24 horas del nacimiento, el veterinario tendrá que introducir los bolos a las 12-24 horas tras el nacimiento, en el mejor de los casos,...con un cuello uterino cerrado en gran medida.

El segundo punto crítico de este enfoque es el respeto de las pautas de higiene cuando es necesario introducir una mano en el vestíbulo – cuello – útero: el recto debe vaciarse de materia fecal, y la región perineal se debe lavar, limpiar y desinfectar.

Un tercer punto crítico es la interacción negativa entre los antibióticos y el medio uterino, la inhibición de los mecanismos de defensa del útero, por la manipulación y por los fármacos irritantes (*Kaitu'u et al 2005, Eiler et al. 2007*, *Hewieser et al 2008*). En la retención de placenta, hay un tono uterino pobre, que se traduce en una acumulación de líquidos en el útero (a veces, varios litros), junto con materia orgánica, todo en una condición de anaerobiosis,...un pábulo ideal para el desarrollo de bacterias G+ y G-.

Todas estas condiciones limitan en gran medida la actividad de los antibióticos utilizados; pero, sobre todo, se necesitarían cefalosporinas, que no están disponibles en forma de bolos en el mercado. La literatura no puede demostrar la mayor efectividad de un pesario frente a un antibiótico usado en general (*Gilbert 2008; Drillich et al. 2003; Drillich et al 2006; Drillich et al. 2007*).

Las vacas tratadas con antibióticos intrauterinos sí que mostraron una incidencia más reducida de fiebre, mientras que no se encontraron diferencias en la producción de leche o en el desempeño reproductivo, entre las vacas tratadas y no tratadas (*Drillich et al 20006, Drillich et al 2007*, *Beagley et al 2010)*.

El **tratamiento antibiótico sistémico** se basa en el uso general de penicilinas. En los últimos años el tipo de productos utilizado ha cambiado drásticamente debido a las nuevas reglas sobre los periodos de retirada, especialmente en carne, de muchos antibióticos: la bencilpenicilina/procaína/dihidroestreptomicina ha desaparecido prácticamente debido a los más de 70 días de retirada de la carne. En su lugar, han surgido otras moléculas debido a sus periodos de retirada más cortos: amoxicilina, ampicilina/dicloxacilina, fármacos con panetamato...con periodos de retirada de 4-20 días. En los últimos años, sin embargo, la tercera y cuarta generación de cefalosporina han ganado terreno y hay muchos intentos de convencer a los veterinarios y criadores para que utilicen estas moléculas también en la retención de la placenta (*Gilbert 2006, Gilbert 2008, Parmigiani 2011*). No obstante, ningún trabajo ha demostrado nunca la efectividad de las cefalosporinas en la RMF, y nadie ha demostrado nunca la mejora en la capacidad reproductiva en comparación con otras penicilinas. Todos los experimentos se limitan a demostrar la correlación con un menor nivel de metritis, sin buscar demostraciones adicionales sobre mejoras en las tasas de concepción o acortamientos del periodo parto/concepción. Se cree que los antibióticos sistémicos son activos en los casos de RMF si la fiebre desaparece (*Beagley et al 2010),* sin embargo, no está claro si la resolución de la fiebre se debe a los antibióticos o a los mecanismos de la defensa inmunológica de la vaca (*Beagley et al 2010).*

Por otro lado, la UE, desde el año 2012, ha invitado a los estados miembros a regular estrictamente el uso de estos y otros medicamentos debido a la mayor frecuencia de respuestas cruzadas en humanos.

El tratamiento antibiótico se desarrolla de acuerdo con dos filosofías diferentes:

Nota del editor: Esta conferencia es un debate científico entre los dos ponentes. La mitad de los temas a desarrollar por escrito deberían haber sido aportados por cada autor. Sin embargo, desgraciadamente, la parte correspondiente a JE Santos (Epidemiología, Medidas preventivas y Consejos Finales) no ha podido llegar a tiempo, para entrar en imprenta.

1. Tratamiento antibiótico sistémico en todos los animales que no han expulsado la placenta. Este enfoque es preferible en las granjas comerciales, donde, en el mejor de los casos, la temperatura rectal se registra una vez al día. Mientras se considera con mucho cuidado el hecho de tratar hasta el 40% de las vacas que, a pesar de tener una retención de la placenta, no desarrollan fiebre y no deberían recibir ningún antibiótico, no se debe perder de vista el hecho de que aproximadamente el 60% de las vacas que tienen una retención de la membrana fetal presenta fiebre y, sin un tratamiento antibiótico oportuno, desarrollaría una metritis puerperal. Además, en vista de la incidencia de retención de la placenta, 8-12%, los animales que son tratados con antibióticos, aunque no sea necesario, son un número muy pequeño.
2. Tratamiento antibiótico selectivo, solo en vacas que tengan fiebre. El colegio alemán (*Drillich et al. 2006*) ha demostrado que el tratamiento antibiótico sistemático no produce ninguna ventaja productiva/reproductiva (Drillich et al. 2007). Este enfoque se basa en la consideración de que alrededor del 40% de las vacas con retención de la membrana fetal no desarrolla, realmente, fiebre (*Gilbert et al. 2006 Hewieser et al. 2008*). Por esta razón, se considera impropio el uso de antibióticos sistemáticamente. No obstante, el tratamiento selectivo requiere una especial atención y observación de las vacas durante el postparto: la temperatura debería tomarse 2-3 veces al día, de forma que se pueda comenzar un tratamiento antibiótico a tiempo si se registra un aumento de la temperatura (> 39,5°C). Este enfoque, por tanto, es preferible en granjas pequeñas, con una relación muy positiva entre hombres/número de vacas bajo su control.

Terapias no convencionales

Se incluyen en este capítulo las terapias sin antibióticos y/o quimioterapia. Los tratamientos homeopáticos, la terapia natural y las terapias que se dictan sin ningún tipo de experimentación científica: una muy utilizada implica el uso de agua oxigenada: 100ml de peróxido de hidrógeno de 10 volúmenes, 100ml de agua y 50 IU de oxitocina.

También se ha propuesto el uso de la colagenasa como una ayuda terapéutica en la retención de membranas fetales, en particular en animales sometidos a cesárea (*Beagley et al. 2010, Guerin et al. 2004, Peters et al. 1996*); no obstante, este tratamiento es difícil (la colagenasa debe inyectarse en las arterias umbilicales) y caro.

Terapias de apoyo y terapias uterotónicas

Las terapias complementarias implican el uso de bolos de calcio (cloruro de calcio + sulfato de calcio), boro, gluconato cálcico IV, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (cuya efectividad ha sido cuestionada, respecto a la metritis) (*Duffield et al. 2009, Beagley et al. 2010*), pero, especialmente, oxitocina, ergometrina y prostaglandina.

La prostaglandina y la oxitocina juegan un papel en la contracción del útero, aunque varios estudios no defienden el efecto positivo de estas dos hormonas en el tratamiento de la RMF (*Stevens et al 1997, Frazer 2001, Drillich et al 2005, Beagley et al. 2010*).

La oxitocina funciona muy bien en las primeras 12 horas. Pero, a las 24 horas su eficacia clínica es tan baja como para no aconsejar su uso (*Gnemmi 2013, Gnemmi et al 2014*). La administración previa de oxitocina inmediatamente después del parto, para reducir la incidencia de la retención de la placenta, es inconsistente (*Frazer 2001*).

La asociación ergometrina-serotonina se ha utilizado y se sigue utilizando ampliamente. No obstante, no hay estudios que demuestren científicamente la eficacia terapéutica (*Gnemmi 2013*).

En cuanto al uso de prostaglandinas, el debate está abierto: el 50% de los expertos cree que no serviría absolutamente de nada (*Kunding et al 1990, Burton et al. 1986, Eiler et al. 1989 Eiler et al. 1984 Thun et al. 1993*); y el 50% restante cree que, en su ausencia, la retención de la placenta sería el destino de muchas víctimas entre las vacas afectadas (*Gilbert 2008, Frazer 2001*).

METRITIS

DEFINICIÓN

La metritis se define como una infección-inflamación del miometrio y el endometrio, típica en los primeros veinte días después del parto (*Sheldom et al. 2006 Sheldom et al. 2009*).

Las metritis se clasifican en: metritis de grado I, de grado II o metritis puerperal y de grado III o metritis séptica (*Sheldom 2008*).

Esta clasificación ha sido cuestionada actualmente por el colegio israelí, que considera impropio hablar de metritis puerperal: sería mejor hablar de endometritis puerperal, inflamatoria (Gosh*en et al., 2013*).

DIAGNÓSTICO

Mano en la vagina.

Esta técnica, si se ejecuta bien, ofrece muy buenos resultados con la mínima inversión (tiempo y dinero) (*Gnemmi 2013*). El diagnóstico es fácil y solo lleva unos segundos, también respetando las pautas de higiene (*Gnemmi et al. 2011*).

Existen dos procedimientos estándar: vaciar el recto de materia fecal, lavar, limpiar y desinfectar la región perineal, ponerse un guante para exámenes rectales, introducir la mano en el vestíbulo vaginal. Llevar la mano hasta el cuello del útero y luego girarla 90°, sacar la mano al exterior, intentando que asuma forma de cuchara (*Gnemmi et al. 2011*).

Exploración rectal. Es para proporcionar un masaje al útero, en un intento de sacar afuera el líquido. En más del 40% de los casos, incluso cuando se hace un masaje vigoroso, no hay salida de líquidos (*Gnemmi et al. 2011*).

Espéculo. El espéculo es definitivamente una herramienta muy buena para el diagnóstico de la metritis, pero no es práctico. Después de cada examen, debe ser lavado, limpiado, desinfectado y flameado antes de que pueda ser reutilizado (*Gnemmi et al 2014*). También existen formas alternativas de espéculos: conos de material plástico, cubiertos con un film que se cambia después de cada observación. Aunque es más práctico que los anteriores, sigue siendo poco práctico, sobre todo, en las grandes granjas.

Ecografía. Las características ecográficas de un útero normal en los días 5-7 después del parto son parecidas a las características ecográficas de la metritis puerperal, no hay diferencias sustanciales (*Gnemmi 2010*). Por tanto, el uso de la ecografía para el diagnóstico de una metritis puerperal o séptica en el estado actual de conocimiento no se justifica (*Gnemmi 2010*).

Medición de la temperatura rectal. La detección de la temperatura rectal está motivada por el hecho de que el aumento de la temperatura precede entre 12 y 24 horas a la aparición de los síntomas clínicos que conducen a la fiebre (*Burnell 2008 Benzaquen et al. 2004 Kristula et al. 2001 Sheldom et al. 2004*).

No es simplemente tomar la temperatura rectal, sino aprovechar este tiempo para observar y oler a la vaca (*Gnemmi et al 2014*). Observar si hay hinchazón y/o edema en la ubre (puntuación de edema), y/o si hay cambios en el color de la ubre; observar si hay algún tipo de cojera; observar la puntuación de locomoción de la vaca; observar el llenado del rumen (puntuación de llenado del rumen); observar si su cola y los lados de la región perineal están manchados con secreción vaginal, comprobando si esta es muy líquida o densa y observando el color de la misma. Oler: la metritis puerperal se caracteriza por un olor nauseabundo (*Gnemmi et al. 2012*).

La temperatura se toma por la mañana temprano (sobre todo, en verano), en los primeros 10 días después del parto o entre el cuarto y el décimo día después del parto (*Benzaquen et al. 2004, Kristula et al. 2001, Sheldom et al. 2004*). El punto de corte se establece en 39,5°C durante la estación templada y en 40-40,5°C durante el verano (*Benzaquen et al. 2004, Kristula et al. 2001, Sheldom et al. 2004*).

La detección de la temperatura rectal tiene el objeto de propor-

cionar una selección diaria de los animales que deben ser sometidos a un examen clínico, y no deben someterse a tratamiento antibiótico las vacas con una temperatura por encima del punto de corte (*Kristula et al. 2001*). Alrededor del 38% de las vacas durante los primeros 10 días después del parto tienen, por lo menos, un aumento de temperatura superior a 39,5°C, sin tener ningún problema clínico (*Benzaquen et al. 2004*). Los animales con una temperatura superior a 39,5°C deben ser sometidos a un examen clínico para verificar la presencia de un problema ginecológico, gastrointestinal, de la ubre, del pie, o de cualquier otra parte. Al mismo tiempo, debe revisarse la producción lechera de la vaca en los dos últimos ordeños.

TRATAMIENTO

El diagnóstico precoz es probablemente el factor clave para mejorar y/o disminuir (en caso de retraso) el resultado del tratamiento (*Sheldom 2011*). El propósito del tratamiento es eliminar en el menor tiempo posible las bacterias del útero, sin alterar al mismo tiempo los mecanismos defensivos del propio útero (*Sheldom 2011, Drillich et al. 2006*). Además del tratamiento antibiótico, muchas veces es necesario asociar una terapia de rehidratación (en caso de deshidratación del animal), un tratamiento para hipocalcemia y/o cetosis, que están normalmente asociadas a la metritis (*Sheldom 2011*).

Metritis de II-III°

Antibiótico intrauterino. Es posible utilizar bolos/infusión de antibióticos en el útero. La infusión debe hacerse con un catéter blando de silicona número 18 (los que se utilizan para la recuperación de los embriones).

Uno de los productos más ampliamente utilizado para este propósito es la oxitetraciclina; este quimioterapéutico se ha utilizado durante mucho tiempo en forma de bolos y cápsulas y, recientemente, se ha usado en una solución al 10-20% en volumen de 350-400cc, directamente en el útero. La alta resistencia de las bacterias implicadas en la metritis (*E.coli, A.pyogenes*), y la muy alta MIC de esta quimioterapia, hacen que ahora este fármaco no sea generalmente muy interesante en el tratamiento de la metritis; pero, a pesar de esto, sigue siendo uno de los tratamientos más utilizados en el mundo.

Los tratamientos locales no garantizan los mejores resultados en términos de desempeño reproductivo en comparación con los tratamientos generales y tenemos que tener en cuenta el coste total (coste de procesamiento, coste laboral). Además de la fragilidad de la pared uterina, siempre existe un riesgo de perforación (*Palmer 2008*); estas prácticas deben ir siempre acompañadas de un tratamiento antibiótico sistémico (*Gilbert 2008)*.

Tratamiento antibiótico general. En los últimos años, ciertos antibióticos, como la tercera generación de cefalosporinas (ceftiofur), han ganado terreno, sobre todo, por la aparición en el mercado de muchos genéricos de alta calidad a precios muy asequibles. La rentabilidad de estas moléculas, la ausencia de periodo de retirada en leche y el corto tiempo de suspensión en carne (8 días) han determinado su rápida difusión.

En marzo de 2012, la Comunidad Europea, para hacer frente al abuso de esta y otras moléculas importantes (quinolonas), pidió a las autoridades sanitarias de los países miembros una solicitud para conseguir unas pautas precisas para regular también el uso de estas moléculas en el sector ganadero. Esta intervención era necesaria por el alarmante aumento de la resistencia a estos medicamentos en humanos.

La adhesión a unas buenas prácticas veterinarias debería asegurar que el veterinario puede elegir el tratamiento más apropiado para cada caso clínico, pero sin perder de vista los principios de referencia de seguridad alimentaria, bienestar animal, y elección responsable del antibiótico y/o la quimioterapia. La elección de las cefaloporinas para la metritis puerperal y/o séptica debe estar unida a la certeza de que un antibiótico más sencillo no actúa. Sin embargo, la sospecha es que la elección de las cefalosporinas está, hoy en día, condicionada por la ausencia de un tiempo de retirada en leche y el bajo coste de estas moléculas como genéricas.

No obstante, no hay trabajos que demuestren científicamente un mejor funcionamiento de las cefaloporinas de tercera y cuarta generación frente a otras penicilinas, o una mejora de la capacidad reproductiva en comparación con una penicilina estreptomicina, o una amoxicilina sola o combinada, o un panetamato o una ampicilina.

Todas las pruebas conducen meramente a mostrar que el tiempo entre el parto y la primera IA se acorta, pero sin notificar ninguna mejora en el parto-concepción y/o en otros parámetros reproductivos (*Okker et al. 2010 Chenault et al. 2006 Drillich et al. 2010, Zhou et al . 2010 , Risco et al . 2004 , Smith et al . 2005 Sheldom et al . 2008 Drillich et al . 2006*).

A pesar de que ha sido ampliamente demostrado que el tratamiento general con oxitetraciclina es, a menudo, inefectivo debido a la alta MIC y a la alta resistencia bacteriana (*Sheldom 2011 Sheldom et al. 2004*), estos agentes quimioterapéuticos se siguen utilizando ampliamente (*Goshen et al. 2013*), sobre la base de los resultados positivos vistos en algunos experimentos, que de otra manera deberían ser analizados según criterios más severos (*Sheldom 2011, Amiridis et al. 2010*).

El tratamiento antibiótico general es definitivamente necesario en caso de metritis puerperal y séptica, sin embargo, la elección del antibiótico debe hacerse de acuerdo a un criterio objetivo, más que económico.

AINE's. Los medicamentos antiinflamatorios son extremadamente importantes en el tratamiento de la metritis postparto. Se aprovecha especialmente el efecto analgésico, antipirético, antiinflamatorio y anti-endotóxico de estos medicamentos. Mientras que actúan sobre la COX, durante el tiempo del tratamiento (hasta dos días) y/o en la dosis terapéutica utilizada, no tienen un impacto negativo sobre la involución del útero, pero se pueden aprovechar todos sus efectos positivos (*Gnemmi 2006, Drillich 2007, Amiridis et al. 2010*).

Prostaglandinas. El debate está siempre abierto: en la actualidad no hay evidencia científica sobre la eficacia de las prostaglandinas (*Frazer 2001*).

En cuanto al tipo de prostaglandinas a utilizar, sintéticas o naturales, la discusión también está siempre abierta, a pesar de que solo la natural tiene un efecto probado de contracción en el útero (*Frazer 2001*).

Masaje uterino. Era una práctica muy en boga en el pasado. El masaje, cuando se realiza adecuadamente, puede tener un efecto beneficioso en el útero: mediante la liberación de oxitocina, promueve el drenaje del útero. La técnica, sin embargo, no está completamente libre de inconvenientes: si el masaje no está tan bien hecho, puede surgir perimetritis, cuyo resultado puede ser, en muchos casos, desafortunado. Cuando el animal no muere, permanecen tales adherencias que, en muchos casos, hacen que la vaca no sea apropiada para la reproducción (*Gilbert 2008*).

Metritis de I°

En el caso de la metritis clínica o de grado I, típica en los días 10 y 20 después del parto, la tendencia actual es no utilizar ningún tratamiento, a menos que la vaca tenga secreciones olorosas y/o fiebre. En ausencia de uno de estos síntomas o ambos, la mejor terapia parece ser esperar; obviamente en el caso de que haya fiebre y/o secreciones vaginales pútridas, un tratamiento antibiótico general y el tratamiento con AINE son indispensables.

No se recomienda el uso de prostaglandinas, naturales o sintéticas, en el tratamiento de la metritis de grado I: el uso de este tratamiento induce una ralentización de la involución uterina, con un retraso de la primera IA o un empeoramiento de la capacidad reproductiva (*Frazer 2001*).

Se ha debatido mucho sobre el uso de los lavados intrauterinos: actualmente no hay estudios científicos que justifiquen su uso, mientras que sí que hay varios trabajos que desaconsejan el uso

de los lavados intrauterinos (con o sin antibióticos) antes de 40 días después del parto (*LeBlanc et al. 2002*).

ENDOMETRITIS

DEFINICIÓN

De acuerdo con la terminología aceptada por la Sociedad Internacional de Teriogenología en el 2006 (*Sheldom et al, 2006*), definimos endometritis como una inflamacion del endometrio después de los primeros veinte días posteriores al parto.

En función del contenido en PMN (%), se distinguen:

Endometritis purulenta (> 50% pus). Es una inflamación del útero típica entre los días 20-25 después del parto.

Endometritis mucopurulenta (el contenido de pus es como mucho del 50%). Es una inflamación del útero típica entre los días 26-35 después del parto.

Endometritis subclínica: el contenido en PMN está relacionado con la distancia desde el parto: >18% entre los días 20-35 después del parto; <8-10% entre los días 35-47 después del parto. Sobre la prevalencia de la endometritis subclínica existen opiniones muy diferentes: esta diferencia, a menudo sustancial, deben atribuirse con mucha probabilidad al método de diagnóstico utilizado (*Okker et al. 2004, Gnemmi et al. 2013*).

La piometra es una acumulación purulenta dentro del útero (*Thun et al. 1993*), detectable al final del periodo de espera voluntario, normalmente caracterizado por la presencia de uno o dos cuerpos lúteos persistentes (anestro Tipo IV) (*Thun et al 1993, Burnell 2008, Benzaquen et al. 2004, Gnemmi et al 2012*).

La mucometra es una acumulación de mocos dentro del útero (*Kristula et al. 2001, Gnemmi 2004, Gnemmi 2013, Gnemmi et al 2014*). Se distingue entre una mucometra real, caracterizada por una hiperproducción de mocos, probablemente por un fenómeno degenerativo del sistema glandular endometrial, que se asocia con la persistencia del cuerpo lúteo, que de hecho determina una dilatación uterina; y una mucometra falsa, donde no se da una hiperproducción de mocos, sino que simplemente hay una falta de drenaje de los mismos debido a la persistencia del cuerpo lúteo (*Gnemmi 2004, Gnemmi 2013, Gnemmi et al 2014*). El pronóstico de la mucometra real es malo, mientras que el de la falsa tiende a ser favorable. El diagnóstico de la mucometra puede resultar difícil: es crucial en el diagnóstico diferencial con la gestación, de hecho hay uno o más cuerpos lúteos, líquido en el lumen uterino, pero falta (sólo) el embrión o feto.

DIAGNÓSTICO

Tacto rectal. El examen rectal digital, aunque todavía se utiliza extensamente, no es un método preciso para el diagnóstico de la endometritis clínica y, sobre todo, subclínica (*LeBlanc et al. 2002*).

Palpación vaginal. Su precisión, sobre todo en el caso de endometritis subclínica, es muy pobre: en ausencia de secreciones vaginales puede haber endometritis presente, mientras que la presencia de secreciones vaginales no significa que haya endometritis presente (*Lewis 1997, Sheldom et al 2006, 2002, Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*).

Espéculo. Es una prueba que no tiene una ratio coste/beneficio favorable y que tampoco permite un diagnóstico preciso de la endometritis subclínica (*Gnemmi 2013, Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*).

Metricheck. Es una herramienta muy utilizada en algunos países (Nueva Zelanda), donde tiene mucho éxito, debido al sistema de ganadería. Se considera una forma rápida de hacer un diagnóstico de endometritis clínica (*Zhou et al., 2004*) bajo condiciones de ganadería extensiva, con una distribución estacional de los nacimientos (*McDougall et al 2014*). La precisión del diagnóstico sigue siendo baja (en ausencia de secreciones en el vestíbulo vaginal), especialmente en el caso de endometritis subclínica (*Gnemmi et al 2013*).

Biopsia. El diagnóstico es muy preciso, pero el daño que permanece después de la biopsia es suficiente para amenazar la futura fertilidad de la vaca (*Etherington et al 1988*). No obstante, esta opción se comparte completamente (*Bollowein 2013*).

Se deben hacer varias extracciones en el tercio distal del cuerno uterino.

Recuento de PMN. Se ha enfatizado mucho este examen en los últimos años (*Barlund et al 2008*), proponiéndose como el estándar de oro para el diagnóstico de la endometritis subclínica.

Existen dos métodos: el cepillo citológico (*Kasimanickam et al 2004, Kasimanickam et al 2005*, *Barlund et al., 2008*) y el lavado (*Gilbert et al 2005*).

En la primera técnica se utiliza una unidad de alrededor de 20 cm de largo, con un diámetro de aproximadamente 2 mm, con un cepillo de unos 3 cm de largo, con una sección cónica. Actualmente, hay sets que incluyen el cepillo, metido en un dispositivo que permite la superación del cuello del útero y la retracción del mismo; una vez que se hace el frotis en una placa de vidrio y se fija la muestra, la placa se coloca en un contenedor especial y luego se analiza después de la tinción.

Ecografía. La ecografía te permite hacer un diagnóstico de endometritis extremadamente preciso en tiempo real (*Gnemmi et al 2013*). Al mismo tiempo te permite diferenciar entre los distintos tipos de inflamación uterina (*Gnemmi et al. 2010, Gnemmi et al. 2011, Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*). En comparación con el diagnóstico de la endometritis subclínica, debe señalarse que los parámetros de diagnóstico proporcionados por Barlund y Palmer en el 2008 te permiten hacer un diagnóstico, pero de precisión baja: la sensibilidad es muy baja, de hecho, hay muchos positivos falsos. Los parámetros propuestos son los siguientes: un grosor endometrial superior a 8 mm, el diámetro del lumen uterino mayor de 3 mm (*Barlund et al. 2008*). En la práctica, todas las vacas en proestro, estro y metoestro tienen una endometritis subclínica potencial (*Gnemmi et al 2010, Gnemmi 2010*, *Gnemmi et al. 2013, Gnemmi et al 2014*). Claramente, un uso más preciso, pero sobre todo más inteligente, de la ecografía nos permite hacer un diagnóstico sin este inmenso e inaceptable margen de error (*Gnemmi et al, 2013, Gnemmi et al 2014*). Esto implica evaluar el mapa folicular para determinar no solo la cantidad de líquido presente en el útero, sino su naturaleza (ecogenicidad), principalmente para analizar los artefactos ecográficos presentes, para diferenciar los fisiológicos de los patológicos (*Gnemmi et al., 2013, Gnemmi et al 2014*). Sin ninguna duda, podemos decir que gracias a la ecografía en tiempo real podemos hacer diagnósticos extremadamente precisos de endometritis subclínica, garantizando no solo una alta especificidad, sino especialmente una alta sensibilidad (*Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*).

TRATAMIENTO

La endometritis es una inflamación del endometrio. Cuando se habla del tratamiento de la endometritis, uno puede preguntarse qué hacer (tratamiento antibiótico general, tratamiento antibiótico intrauterino, tratamiento con soluciones poco irritantes, prostaglandinas,...) y, sobre todo, cuándo hacerlo (¿tratamiento entre el 20 y el 40 DEL o solo después del final del periodo de espera voluntario?) (*Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*).

No hay que subestimar el hecho de que alrededor del 70% de las endometritis tienen una recuperación espontánea en los dos primeros meses después del parto (*Gautam et al. 2010*).

También se debe hacer una clara distinción entre una secreción vaginal purulenta y la endometritis: como ya se ha señalado, ¡la presencia de una secreción vaginal purulenta no está necesariamente vinculada con una endometritis! (*Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*).

Endometritis Purulenta y Mucopurulenta

Tratamiento general. El tratamiento con antibióticos, independientemente del tipo de antibiótico y/o quimioterapia utilizado, no tiene hallazgos positivos en la literatura cuando se ha aplicado un método científico de evaluación *(LeFebvre et al 2012).*

Tratamiento local. El tratamiento local (intrauterino) consiste en la introducción de un antibiótico (*Goshen et al., 2013, LeBlanc et al. 2014),* o soluciones poco irritantes en el útero (*Drillich et al. 2007 Drillich 2013*). El tratamiento antibiótico se utiliza extensamente en el campo, con un apoyo considerable de la bibliografía (*LeBlanc et al. 2002, LeBlanc 2014*). Un análisis científico de la literatura (*Lefebvre et al. 2012*), deja claro que los trabajos basados sobre un criterio científico cuidadoso son muy pocos. Sobre la base de trabajos recientes, más del 90% de las endometritis al final del periodo de espera voluntario (PEV) no son infecciones, sino inflamaciones (*McDougall et al. 2010, Shastant et al. 2011*); dicho esto, es legítimo preguntarse cuál es el papel entonces del tratamiento antibiótico intrauterino con un agente antibiótico o quimioterapéutico. En cuanto al momento de la intervención, varias partes han sugerido un retraso del tratamiento intrauterino hasta justo después de 30 DEL (*LeBlanc et al., 2008*): no hay pruebas de que el tratamiento intrauterino (independientemente del tipo: antibiótico, quimioterapia, solución poco irritante) anterior al final del PEV resulte en una mejora de la capacidad reproductiva. En vista del tratamiento en granja (sincronización), el hecho de que la mayoría de las endometritis no son procesos infecciosos, sino inflamatorios (*McDougall et al. 2010, Shastant et al. 2011*), y el hecho de que no hay datos determinados que apoyen la hipótesis de que un tratamiento más precoz del útero mejora la capacidad reproductiva, sería mejor iniciar el tratamiento solo después del final del PEV. Si hay fiebre y/o secreción olorosa, en este caso el tratamiento antibiótico (general) se considera indispensable.

Prostaglandinas. La bibliografía sobre el uso de prostaglandinas en el tratamiento de la endometritis es vasta, pero, a menudo, poco apoyada en lo científico (*Hewieser et al. 2012, LeBlanc 2014*).

Existen prostaglandinas naturales y sintéticas; para las primeras se ha demostrado actividad de remoción contráctil (*Fraizer 2001*), para las segundas nunca se ha demostrado. De hecho, ambas se utilizan abundantemente en el tratamiento de la endometritis, con el propósito de drenar el útero. El veterinario debe hacerse algunas preguntas antes de emprender este, pero también otros, tratamientos contra la endometritis. ¿Cuál es el propósito del tratamiento? ¿Cuáles son las expectativas de esta terapia? ¿Cuándo empezar el tratamiento y por qué? ¿Cuándo utilizo esta medicación?

Incluso actualmente se hace un uso abundante de las prostaglandinas en el tratamiento de la endometritis; ¿este es un procedimiento correcto? En ausencia de un cuerpo lúteo, definitivamente, no (*Gnemmi et al. 2013*). El uso de las prostaglandinas en el tratamiento de la endometritis debe limitarse a los casos en los que haya un cuerpo lúteo.

Cuándo comenzar la terapia con prostaglandinas es otro punto clave. Esta no debe iniciarse antes del final del periodo de espera voluntario (*Gnemmi et al., 2013*).

En el caso de una endometritis con cuerpo lúteo al final del periodo de espera voluntario, puede ser posible aplicar un programa PRESYNCH-OVSINCH®, que garantiza un excelente rendimiento (*Kasimanickam et al 2006, Gnemmi et al 2013, McDougall et al 2013*).

La elección de la estrategia terapéutica requiere que el clínico se pregunte sobre los objetivos de la misma: ¿tratar un síntoma (endometritis) o que las vacas se queden preñadas?

Endometritis Subclínica

Existe una abundante literatura sobre el tema (*LeFebvre et al. 2012*), orientada al uso de las cefalosporinas de tercera generación como tratamiento de la endometritis subclínica. Dado que la pregunta principal es el sentido de una terapia (tratar el síntoma o cubrir las vacas), merece la pena comprobar cuál es la prevalencia de esta enfermedad. En la bibliografía, hay trabajos que hablan de una prevalencia del 20-50%, incluso al final del periodo de espera voluntario (*Gilbert et al. 2005, Duboc et al. 2010, Cheong et al. 2011*); probablemente un enfoque más científico (*LeFebvre et al. 2012*), podría reducir esta cifra. Por otra parte, es posible encontrar trabajos que hablan de una prevalencia mucho menor certificable del 8-10% (*Gnemmi et al., 2013*).

El tratamiento de la endometritis subclínica es el mismo que el de la endometritis clínica; la pregunta principal es: ¿hay un cuerpo lúteo?

La segunda pregunta es: cuándo iniciar la terapia.

En presencia de un cuerpo lúteo, un tratamiento con prostaglandina dentro de un programa Presynch-Ovsynch® debe considerarse cuidadosamente, asegurándose de que la vaca entra en celo tres veces antes del FTI. Cada vez que la vaca está en celo, aumenta la tasa de estrógenos; estos últimos estimulan la quimiotaxis de los PMN, en otras palabras, estimulan indirectamente la fagocitosis; promueven la contracción uterina, con el drenaje de la materia del interior del útero; determinan un aumento de anticuerpos en el útero y la producción de lactoferrina y lisozima. Es importante no inseminar a los animales con endometritis después de la segunda prostaglandina del programa, sino llegar hasta el final del programa.

En el caso de la endometritis subclínica asociada al celo (ternera con mucosidad dentro de la cual se ven puntos blancos), puedes utilizar un tratamiento con antibióticos, 12-24 horas después de la inseminación (*Gnemmi et al 2010, Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*).

En cuanto al momento del tratamiento, este es, como se ha escrito anteriormente: el tratamiento debe llevarse a cabo solo al final del periodo de espera voluntario.

Piometra y Mucometra

Son inflamaciones uterinas típicas al final del PEV.

El tratamiento se debe elegir de acuerdo a un principio: ¿queremos tratar el síntoma, o que las vacas se queden preñadas? En base a este criterio, se sugiere colocar a estos animales en un programa de PRESYNCH-Ovsynch®, partiendo del día 50 en vacas multíparas y en el día 60 en las primíparas, terminando el programa de sincronización estrictamente y evitando la tentación de inseminar a estos animales después de la segunda prostaglandina, con el riesgo de tener bajas tasas de concepción y altas de muerte embrionaria (*Kasimanickam et al. 2006, McDougall et al. 2013*). Obviamente, esta terapia es factible cuando hay un cuerpo lúteo presente.

EVALUACIÓN ECONÓMICA

La evaluación económica de las patologías uterinas es tan importante como difícil. El cálculo del coste de una enfermedad, normalmente, se hace solo sobre la base de los costes directos de las patologías (*Esslemont 2013*), limitando el análisis a solo los costes de los medicamentos y los gastos veterinarios (*Esslemont et al. 1999-2002-2013*). De hecho, el cálculo de los costes debe incluir varios elementos:

1. Costes directos.
    a. Costes veterinarios
    b. Costes laborales
    c. Coste de la mortalidad
    d. Coste de la leche descartada
    e. Coste de los medicamentos
2. Costes indirectos.
    a. Aumento del riesgo de otras enfermedades
    b. Más servicios
    c. Intervalo entre partos extendido
3. Pérdida de ingresos.
    a. Menor producción de leche
    b. Mayor número de descartes
    c. Menor fertilidad

4. Costes ocultos.
    a. Aumento de los costes de la salud
    b. Menor bienestar animal
    c. Mayor contaminación ambiental

El coste directo de una RMF es de unos 640€; el coste directo de una metritis ronda los 700€; y el de una endometritis es de aproximadamente 430€.

Tabla 1. Coste directo de RMF, Metritis y Endometritis. (*Esslemont et al. 2013, modificado*).

Coste directo estimado de un caso de RMF	**Coste (€)**
Coste medio de un tratamiento: a. PGF (a) + Ampicilina-dicloxacilina (b) (genérico más barato) b. PGF (c) + Ceftiofur (d) (genérico más barato)	[2,8 € + (5.04 € x 3)] [2,8 € + (8,64 € x 3)]
Coste de la leche eliminada (40% menos de producción) a. 3 dd a. 5 dd b. 3 dd b. 5 dd	0 15,84 € 0 0
Coste del rendimiento reducido (15%)	1372,5 L x 0,44 € **603,9 €**
Número de tratamientos: a. 3 dd (a) b. 5 dd (a) c. 3 dd (b) d. 5 dd (b)	 17,92 € 28,00 € 28,72 € 46,00 €
Coste de la mano de obra (10' x vaca x día) a/1 a/2 b/1 b/2	 8,43 € 14,06 € 8,43 € 14,06 €
Coste directo de la RMF **a/1** **a/2** **b/1** **b/2**	 630,25 € 661,80 € 641,05 € 663,96 €
Coste directo estimado de un caso de Metritis	
Coste medio de un tratamiento: a. [(a) + (b)] x 3 dd + FANS x 2 dd b. [(a) + (b)] x 5 dd + FANS x 2 dd c. [(c) + (d)] x 3 dd + FANS x 2 dd d. [(c) + (d)] x 5 dd + FANS x 2 dd	 [(5,01 € x 3) + (8,4 € x 2)] [(5,01 € x 3) + (8,4 € x 2)] [(8,64 € x 3) + (8,4 € x 2)] [(8,64 € x 5) + (8,4 € x 2)]
Coste de la leche eliminada (40% menos de producción) b. 3 dd c. 5 dd d. 3 dd b. 5 dd	 39,60 € 55,44 € 23,96 € 47,52 €
Coste del rendimiento reducido (15%)	1372,5 L x 0,44 € **603,9 €**
Número de tratamientos por cada caso de Metritis a. 3 dd (a) + 2 dd b. 5 dd (a) + 2 dd c. 3 dd (b) + 2 dd d. 5 dd (b) + 2 dd	 34,72 € 41,85 € 42,72 € 60,00 €
Coste de la mano de obra (10' x vaca x día) a/1 a/2 b/1 b/2	 8,43 € 14,06 € 8,43 € 14,06 €
Coste directo de la Metritis **a/1** **a/2** **b/1** **b/2**	 686,65 € 715,25 € 679,01 € 726,02 €
Coste directo estimado de la Endometritis	
Coste medio de un tratamiento: (a) PFG x 3 veces (b) Presynch-Ovsynch® (c) Cefapirina x 2 veces	 5,60 € 8,45 € 19,05 €
Reducción en la producción de leche (10%)	915 L
Coste del rendimiento reducido	402,60 €
Coste de la mano de obra (a) (b) (c)	 12,64 € 21,07 € 16,86 €
Coste directo de la Endometritis **(a)** **(b)** **(c)**	 420,84 € 432,12 € 438,51 €

De media, en el curso de la RMF, la endometritis y la metritis, el número de días abiertos aumenta 25-35 días.

Bibliografía

BIBLIOGRAFÍA OVIEDO

1. Gilbert R.O. Postpartum uterine health and disease. 2008 Dairy cattle Reproduction Council Convention, Omaha, Nebraska, pp: 29-38
2. A.Bolinder, B.Seguin, H.Kindahl, D.Bouley, D. Otterby. 1998. Retained fetal membranes in cows: manual removal versus nonremoval and its effect on reproductive performance. Theriogenology 30: 45-46
3. L.G.Paisley, W.D.Mickelsen, P.B.Anserson. 1986. Mechanism and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: a review. Theriogenology 25: 353-381
4. G.H.Arthur, D.E.Noakes, H.Pearson. 1989. Veterinary Reproduction and Obstetrics. Baillière Tindall

5. Peters A.R., Laven R.A., Treatment of bovine retained placenta and its effects. Vet Rec 1996; 139: 539-541
6. Beagley J.C., Whitman K.J., Baptiste K.E., Scherzer J. Physiolofy andTreatment of Retained Fetal Membranes in Cattle. J Vet Intern Med 2010; 24:261-268
7. Heuwieser W., Drillich M. Treating post-calving infections in dairy cattle. Advance Fertility Management Pfizer 2008: pp 61-69
8. Eiler H., Fecteau K.A., Retained placenta. In: Yougquist R.S., Threlfall WR, eds. Current Therapy in Large Animal Theriogenology, 2nd ed. St Luis, MO: WB Saunders; 2007: 345-354
9. Kaitu'u T.J., Shen J., Zhang J., et al. Matrix metalloproteinases in endometrial breakdown and repair: functional significance in a mouse model. Biol Reprod 2005; 73:672-680
10. Gnemmi G. Patologie uterine di interesse clinico. Cap VI pp:121-145 in Gestione clinica della riproduzione bovina. Sali Giovanni Point Veterinaire Italie Ottobre 2013
11. Gnemmi G. Ferrari E., Maraboli C. Patologie Uterine nel bovino: Diagnosi e Terapia. Long Distance Continuing Education Program, Summa Veterinaria . La Point Veterinaire Italie 2014 in press.
12. R.O.Gilbert. 2008. Postpartum Uterine Health and Disease. Dairy Cattle Reproduction Council Convention. Omaha, Nebraska 2008. Pag.29-38
13. M.Drillich, A.Pfutzenr, H.J.Sabin, M.Sabin, W.Heuwieser.2003. Comparision of two protocols for the treatment of retained fetal membranes in dairy cattle. Theriogenology 59: 951-960
14. M.Drillich, U.Reichert, M.Mahlstedt, W.Heuwieser. 2006. Comparision of two strategies for the systemic antibiotic treatment of dairy cows with retained fetal membranes: preventive vs.selective treatment. J. Dairy Sci. 89: 1502-1508
15. M.Drillich, N.Klever, W.Heuwieser. 2007. Comparision of two management strategies for retained fetal membranes on small dairy farm in Germany. J.Dairy Sci. 2007 Sep; 90(9): 4275-81
16. M.Drillich, M.Mahistedt, U.Reicherrt, B.A.Tenhagen, W.Heuwieser. 2006. Strategies to improve the therapy of retained fetal membranes in dairy cows. J. Dairy Sci. 2006 Feb; 89(2): 1502-1508
17. Gilbert R.O., Shin S.T., Frajblat M., Guard C.L., Erb H.N., Roman H. The incidence of endometritis and its effect on reproductive performances of dairy cows. Production diseases in farm animal. 2006:116
18. Parmigiani E. Gestione riproduttiva e impiego del ceftiofur nella terapia delle endometriti della bovina da latte. XX° Congresso Nazionale Società Italiana Embryo Transfer. Parma 30 Setttembre-1 Ottobre 2011
19. P.Guérin, J.J.Thiébault, M.L. Delignette-Muller, F.Badinand, L.Bosc, Y.Mènézo. 2004. Effect of injecting collagenase into the uterine artery during a caesarean section on the placental separation of cows induced to calve with dexamethasone. Vet Rec 2004 Mar 13; 154 (11): 326-8
20. T.Duffield, H.PDingwell, A.Skidmore, D.Weary, L.Neuder, W.Rapheal, S.Millman, N.Newby, K.Leslie. 2009. Effect of flunixin meglumine treatment following partutition on cow health and milk ptoduction. The AABP Proceedings . Omaha, Nebraska Sep.10-12 2009. Vol.42: 188
21. S.G.Frazer. 2001. Hormonal therapy in the postpartum cow. Day 1 to 10. Fact or fiction? The AABP Proceedings . Vancouver, British Columbia Canada Sep.13-15 2001. Vol.34: 109-122
22. Stevens R.D, Dinsmore R.P. Treatment of dairy cows at partutirion with prostaglandin F2a or oxitocine for prevention of RFM. J Am Med Assoc 1997; 21:1280-1284
23. Drillich M, Schröder A, Tenhagen B.A, et al. Efficacy of a treatment of RFM in dairy cows with prostaglandin F2a in addition to a local antibiotic treatment. Dtsch Tierärztl Wochenschr 2005; 112:174-179
24. H.Kunding, R.Thun, K.Zerobin. 1990. Uterine motility in the cow during late pregnancy, parturition and puerperium. II. Drug influence. Schweiz Arch Tierheilk 132:515-524
25. M.J.Burton. 1986. Uterine motility in peripartum dairy cattle. Ph.D Thesis. University of Minnesota.
26. H. Eiler, W.Byrd, F. Hopkins. 1989. Uterokinetic activity of fenprostalene (a prostaglandin F2α) in vivo and in vitro in the bovine. Theriogelogy 32:5: 755-764
27. H.Eiler, F.M.Hopkins, C.S. Armstrong-Backus. 1984. Uterotonic effect of PGF2α and ocytocin on the postpartum cow. AJVR 45: 1011-1014
28. R.Thun, H.Kunding, K.Zerobin, H.Kindahl, B.Gustafsson, W.Zeigler. 1993. Uterine motility in the cow during the late pregnancy, parturition and puerperium. Schweiz Arch Tierheilk 135: 333-344
29. Sheldom I.M., Lewis G.S., LeBlanc S. Gilbert R.O. Defining postpartum uterine disease in cattle. Theriogenology 2006 May 65(8): 1516-1530
30. Sheldom I.M., Cronin J., Goetze L., Donofrio G., Schuberth H.J. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. Biol Reprod 2009; 81:1025-1032
1.
31. Sheldom I.M. The definition of metritis. Reccomendation against metritis. Advance Fertility Management Pfizer 2008: pp 9-16
32. Goshen T., V.Kaplan, N.Kedem-Vaanunu, E.Elnekave, Y. Gottlieb, N.Y. Shpigel. 2013. Cytology and microbial metagenomic analysis of puerperal metritis in Israeli dairy cows. Workshop: Endometritis as a cause of infertility in domestic animals: New diagnostic and therapeutic strategies. Olsztyn, Poland, 6-8 October 2013.
33. Gnemmi G., Maraboli C. Algoritmi di lavoro dal parto alla fine del tempo di attesa volontario. Summa 8/2011: 6-15
34. Gnemmi G. Practical uses for transrectal ultrasonography in reproductive management of cattle. XXVI Worl Buiatric Congress. Santiago Chile 2010
35. Burnell M. The diagnosis of metritis in dairy cows. Which cows to treat? Advance Fertility Management Pfizer 2008: pp 52-58
36. Benzaquen M.E., Risco C., Archbald L.F., Thatcher M.J. Evaluation of rectal temperature and calving related factors on the incidence of metritis in postpartum dairy cows. AABP 37th Annual Convention. Forth Worth, Texas. Sept 23-25, 2004; pp 197-198
37. Kristula M., Smith B., Simeone A. The use of daily postpartum rectal temperatures to select dairy cows for treatment with systemic antibiotics. AABP 34th Annual Convention. Vancuver, British Columbia, Canada. Sept.13-15, 2001; pp117-125
38. Sheldom I.M., Rycroft A., Zhou C. Association between postpartum pyrexia and uterine bacterial infection in dairy cattle. Veterinary Record 2004; 154: 289-293
39. Sheldom M. The postpartum uterus. Vet Clin Food Anim 20(2004) 569-591
40. Gnemmi G., Maraboli C. I segnali della vacca in rproduzione. Summa 2/2012: 5-13
41. Sheldom I.M. Mechanisms of infection and immunity in the bovine female genital tract post partum. Dairy Symposium Proceedings August 13, 2011. Milwaukee, Wisconsin

42. Palmel C. 2009. Personal comunication
43. Gnemmi G., Ferrari E. Maraboli C. Endometritis: Diagnosis and therapy: New approach. Endometritis as a cause of infertility in domestic animals: New diagnostic and therapeutic strategies. Olsztyn, Poland, 6-8 October 2013.
44. Okker H., Schmitt E.J., Vos P.L., Scherpenisse P., Bergwerff A.A., Jonker F.H. Pharmacokinetics of ceftiofur in plasma and uterine secretions and tissues after subcutaneous postpartum administration in lactating dairy cows. J.Vet.Med. Pharmacol. Ther 2004, 25: 33-38
45. Gnemmi G., Ferrari E. Maraboli C. 2013. Endometrite clinica e subclinica. Significato della diagnosi e prospettive terapeutiche. Summa N°7: 29-33
46. Chenault J.R., McAllister J.F., Chester Jr. S.T., Dame K.J., Kausche F.M., Robb E.J. Efficacy of ceftiofur hydrochloride sterile suspension administered parentally for the treatment of acute postpartum metritis in dairy cows. J.Am.Vet. Med. Assoc. 224:1634-1639
47. Drillich M., Beetz O., Pfutzner A., Sabin M., H.J Sabin, Kutzer P., Nattermann H., Heuwieser W. Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. J.Dairy Sci. 2010, 84: 2010-2017
48. Zhou C., Boucher J.F., Dame K.J., Moreira M., Graham R., Natel J., Zuidhof S., Arfi L., Flore R., Neubauer, Olson J. Multilocation trial of ceftiofur for treatment of postpartum cows with fever. J Am Vet Med Assoc.2010, 219: 805-808
49. Smith B.I., Donovan G.A., Risco C., Littell R., Young C., Stanker L.H., Elliot J. Comparison of various antibiotic treatments for cows diagnosed with toxic puerperal metritis. J Dairy Sci 2005, 81: 1555-1562
50. Amiridis G.S., Leontides L., Tassos E., Kostulas P., Fthenakis C. Flunixin meglumine accellerates uterine involution and shortens the calving to first oestrus interval in cows with puerperal metritis. J Vet Pharmacol Ther. 2010, 24: 365-367
51. Gnemmi G. Il complesso metrite endometrite postparto nell'allevamento bovino da latte ad alta produzione. Valutazione in campo dell'utilizzo di due antinfiammatori non steroidei nella terapia della metrite post parto. Tesi di dottorato 2006.
52. Drillich M., Voigt D., Forderung D., Heuwieser W. Treatment of purperal metritis with flunixin meglumine in addition to antibiotic treatment. J Dairy Sci 2007; 90:3758-3763
53. LeBlanc S.J., Duffield T.F., Leslie K.E., Bateman K.G., Keefe G.P., Walton J.S., Johnson W.H. The Effect of Treatment of Clinical Endometritis on Reproductive Performance in Dairy Cows. J Dairy Sci 2002; 85: 2237-2249
54. Gnemmi G. Atlante di ultrasonografia ginecologica buiatrica. Point Veterinaire italie 2004
55. LeBlanc S.J., Duffield T.F., Leslie K.E., Walton J.S., Johnson W.H.. Defining and diagnosis postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performances in dairy cows. J Dairy Sci 2002; 85(9):2223-2236
56. Lewis G.S. Uterine health and disorders. J Dairy sci 1997; 80: 984-994
57. McDougall S. Diagnostic, resolution & therapies for uterine infection. Workshop 1 BSAS International cow fertility conference. Westport, Mayo, Ireland Sun 18-Wed 21 May 2014
58. Etherington W.G., Martin S.W., Bonnett B., Johnson W.H., Miller R.B, Savage N.C, et al. Reproductive performances of dairy cows following treatment with cloprostenol 26 and/or 40 days postpartum: a field trial. Theriogenology 1998; 29:565-575
59. Bollowein H, 2013: personal comunication
60. Kasimanickam R., Duffield T.F., Foster R.A., Gartley C.J., Leslie K.E., Walton J.S., Johnson W.H. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. Theriogenology 2004; 62:9-23
61. Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. Can Vet J. 2005 Mar;46(3):255-9.
62. Barlund CS, Carruthers TD, Waldner CL, Palmer CW. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. Theriogenology. 2008 Apr 1;69(6):714-23.
63. Gilbert R, Shin S.T, Guard C.L, Erb H.N, Frajblat M. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. Theriogenology 2005; 64:1879-1888
64. Gnemmi G, Maraboli C. Endometrite subclinica nel bovino da latte. Summa Animali da Reddito N°6 Luglio/Agosto 2010, pp 38-42
65. Gautam G., Nakao T., Loike K., Spontaneus recovery or persistence of postpartum endometritis and risk factors for its persistance in Holstein cows. Theriogenology 2010; 73: 168-179
66. Lefebvre R., Stok A.E. Therapeutic efficiency of antibiotics and prostaglandin F2α in postpartum dairy cows with clinical endometritis: an Evidence-Based Evaluation. Vet Clin Food Anim 28(2012): 79-96
67. LeBlanc S.J. Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. BSAS International cow fertility conference. Westport, Mayo, Ireland Sun 18-Wed 21 May 2014
68. Chastant-Maillard S. Is there a future for pharmaceutical management in cow reproduction? European perspective. XXIV WBC
69. LeBlanc S.J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance. A review. The Veterinary Journal 176, 102-114
70. Kasimanickam R, Cornwell J.M, Nebel R.L. Effect of presence of clinical and subclinical endometritis at the initiation of Presynch-Ovsynch program on the first service pregnancy in dairy cows. Animal reproduction Scince 95(2006):214-223
71. Sheldom I.M., Noakes D.E. Comparison of three treatments for bovine endometritis. Vet Rec 1998; 142: 575-579
72. Cheong S.H., Nydam D.V., Galvao K.N., Croiser B.M., Gilbert R.O. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating holstein cows. J.Dairy Sci 2011; 94:762-770
73. Dubuc J., Duffield T., Leslie K.E., Walton J.S., LeBlanc S.J. Risk factors, impact and treatment of postpartum uterine diseases in dairy cows. XXVI Worl Buiatric Congress. Santiago Chile 2010
74. R.J.Esslemont. 2013. Consensus conferences on breeding protocols.Zoetis Marsille 22-23/03/13
75. R.J.Esslemont, M.A.Kossaibati, J.Allcock. 1999. Economics of fertility in dairy cows. Fertility in high-producing dairy cow. British Society of Animal Science. Occasional Publication No.26: 19-29

ENGLISH VERSION ▼

Enfermedades uterinas en la vaca lechera: un tema controvertido.

Giovanni Gnemmi

RETENTION OF FETAL MEMBRANES

DEFINITION

Failure expulsion of the fetal membranes. The real problem is not to define this disease, how to determine when you should and you can start to talk about RFM. In the literature, may be possible to speak of RFM if after 12-24 hours after birth, the membranes have not yet been expelled (*Gilbert 2008*). However, in commercial farms, may be possible to speak of RFM, if after six hours after birth, the membranes have not yet been completely expelled.

DIAGNOSIS OF RFM

The fetal membranes can protrude from the vulva rhyme, or be entirely hosted in the uterus and vaginal vestibule. Some times may be necessary a manual exploration of the vaginal vestibule, strict compliance, good hygiene practices (*Gilbert 2008*).

THERAPY OF RFM

In many countries still resort to manual removal of the placenta, although it has been long proven that the manual extraction produces more harm than good (*Bolinder et al 1998, Paisley et al., 1986*).

There are conventional therapies and unconventional therapies.

Conventional therapies.

Conventional therapies are based on antibiotics (penicillins) or chemotherapy with bacteriostatic drugs (tetracycline). The use of antimicrobical therapy in RFM has demonstrated conflicting results (*Peters et al. 1996, Hewieser et al 2008, Beagley et al. 2010*)

Antibiotics and chemotherapeutic agents, are used via general, or introduced directly into the uterus.

The **intra uterine boluses-uterine infusion** have not been shown to reduce the incidence of metritis or improve fertility (*Peters et al 1996, Beagley et al 2010*); on the market, are made from synthetic penicillins, sulfonamides and tetracyclines. The real problem with this type of therapy is the mode of administration and the effectiveness of the drug in the uterine . The manual administration may be one of the problems: the cervix begins to contract as early as 6 hours after birth (*Arthur et al. , 1989*) . This organ is fibro-elastic and then in the passage of the hand, it is possible to produce micro continuous solutions, which can easily become infected , giving rise to cervicitis and/or abscesses in or around the cervix (*Gnemmi 2013, Gnemmi et al. 2014*) . Furthermore, the administration of pessaries can be done in a single dose or in two doses spaced 12-24 hours. If the retention of fetal membranes, it is considered after 12-24 hours of birth , the technician will introduce boluses 12-24 hours after birth , at best , ... with a closed cervix greatly.

The second critical point of this approach is the respect of hygiene guide lines when is necessary to introduce a hand in the vestibule - cervix - uterus: the rectum should be emptied of fecal matter , the perineal region washed , cleaned and disinfected .

A third critical point, is the negative interection between antibiotics and the uterine environment, the inihibition of the uterine defence mechanism, by manipulation and by irritating drugs (*Kaitu'u et al 2005, Eiler et al. 2007*, *Hewieser et al 2008*). In retained placenta there is a poor uterine tone, this translates into a fluid collection in the uterus (sometimes several liters), together with organic material, all in a condition of anerobiosi, ... an ideal pabulum for the development of bacteria G+ and G-.

All these conditions, greatly restrict the activity of antibiotics used, but above all would be needed cephalosporins, but they are not present in the form of a boluses, on the market. The literature can't demonstrate the greater effectiveness of a pessary to an antibiotic used for general (*Gilbert 2008; Drillich et al. 2003; Drillich et al 2006; Drillich et al. 2007*).

Cows treated with intruterine antibiotics did show a reduced incidence of fever, while no differences were found in milk yield or reproductive performances, between treated and no treated cows (*Drillich et al 20006, Drillich et al 2007*, *Beagley et al 2010)*

The **systemic antibiotic therapy** is based on the general use of penicillins. In recent years the type of products used has changed dramatically because of the new rules on withdrawal periods, especially on the meat of many antibiotics: the benzilpeniccilina procaine/dihydrostreptomycin it is practically disappeared because of more than 70 days of withdrawal on the meat. In its place, other molecules have emerged because of the shorter withdrawal periods: amoxicillin, ampicillin/dicloxacillin, panetamato drugs ... with withdrawal periods of 4-20 days. In recent years, however, have taken over, the third and fourth generation cephalosporin and there are many attempts to convince veterinarians and breeders to use these molecules also in the retention of the placenta (*Gilbert 2006,, Gilbert 2008 Parmigiani 2011*). However, no work has ever demonstrated the effectiveness of cephalosporins in the RFM, or no one to ever demonstrated the improvement of reproductive performance, when compared with other penicillins. All experiments are limited to demonstrate the correlation with a lower level of metritis, without for another demonstrate best conception rates or a shortening calving/conception. Systemic antibiotics are believed to be active in RFM cases if the fever disappear (*Beagley et al 2010),* however it is unclear whether the resolution of fever was determined by the antibiotics or the cow's immune defence mechanisms (*Beagley et al 2010).*

In addition, the EU, since 2012, has invited member states to strictly regulate the use of these and other drugs , because of the more frequent crusades responses in human.

The systemic antibiotic therapy is developed according to two different philosophies:

1. Systemic antibiotic therapy in all the animals that have not expelled the placenta. This approach is preferred in commercial farms, where, in the best case, the rectal temperature is recorded once a day. While considering very carefully the fact of treating up to 40% of cows, which albeit with retention of placenta, do not develop fever should not receive any antibiotic, you should not lose sight of the fact that about 60% of the cows that have a retention of fetal membran instead develops a fever and without timely antibiotic treatment, would develop a puerperal metritis and / or tank. Moreover, in view of the incidence of retention of placenta retention, 8-12%, the animals that are treated with antibiotics, though not necessary, are a small number.
2. Selective antibiotic therapy, only on cows that have fever. The German school (*Drillich et al. 2006*) has shown that systematic antibiotic treatment does not produce any advantage productive/reproductive (Drillich et al. 2007). This approach is based on the consideration that about 40% of the cows with retention of fetal entice, not developed, really, fever (*Gilbert et al. 2006 Hewieser et al. 2008*). For this

reason, it is considered improper use of antibiotics systematically. However, the selective treatment, requires special attention and observation of the cows during the postpartum: the temperature should be taken 2-3 times a day, so by undertaking a timely antibiotic therapy, if you would record an increase in temperature (> 39.5 ° C). This approach is therefore preferred, in small farms, with a very positive relationship between man/number of cows in control.

Non-conventional therapies.

Are included in this chapter the therapy without antibiotic and/or chemotherapy. Omeopathic therapies, neural therapy, and therapies that are handed down without any scientific experimentation: a very used involves the use of oxygenated water: 100 ml Hydrogen Peroxide 10 volumes, 100 ml of water and 50 IU of oxytocin.

Has also been proposed the use of collagenase as a therapeutic aid towards the retention of the fetal membranes, in particularly in animals subjected to cesarean (*Beagley et al. 2010, Guerin et al. 2004, Peters et al. 1996*); however this treatment is difficult (collagenase must be injected in umbelical arteries) and expencive.

Supportive therapies and utero-tonics therapies

The supportive therapies involve the use of boluses of calcium (calcium chloride + calcium sulphate), boron, calcium gluconate IV, nonsteroidal anti-inflammatory drugs (whose effectiveness has been questioned, preparing to metritis (*Duffield et al. 2009, Beagley et al. 2010*), but especially oxytocin, ergometrine and prostaglandin.

Prostaglandin and oxitocine, have a role in uterine contraction, however several studies have not supported the positive effect of these two hormones in the therapy of RFM (*Stevens et al 1997, Frazer 2001, Drillich et al 2005, Beagley et al. 2010*)

Oxytocin works very well in the first 12 hours. Already 24 hours its clinical efficacy is so low as to advise against the use (*Gnemmi 2013, Gnemmi et al 2014*). The prior administration of oxytocin immediately after delivery, to reduce the incidence of retained placenta, is inconsistent (*Frazer 2001*).

The association ergometrine-serotonin has been widely used and is still widely used. However, there are no studies that prove scientifically the therapeutic efficacy (*Gnemmi 2013*).

With regard to the use of prostaglandins, the discussion is open: 50% of the experts believe that it will serve absolutely nothing (*Kunding et al 1990, Burton et al. 1986, Eiler et al. 1989 Eiler et al. 1984 Thun et al. 1993*); the remaining 50%, believe that in their absence the retention of the placenta would be destined to many victims among the cows that are affected (*Gilbert 2008, Frazer 2001*).

METRITIS

DEFINITION

Metritis is defined as an infection-inflammation of the myometrium and endometrium, typical of the first twenty days postpartum (*Sheldom et al. 2006 Sheldom et al. 2009*).

The metritis are in turn classified into: metritis grade I, grade II or puerperal metritis, grade III or septic metritis (*Sheldom 2008*).

This classification was today questioned by the Israeli school, which considers improper to speak of puerperal metritis: it would be better to speak of puerperal endometritis, inflammatory (Gosh*en et al., 2013*)

DIAGNOSIS

Hand into the vagina.

This technique if well executed, yields very good results with the least investment (time and money)(*Gnemmi 2013*). The diagnosis is easy and takes just a few seconds also respecting the hygiene guide lines (*Gnemmi et al. 2011*).

There are two standard procedures: empty the rectum of fecal matter, wash, clean and disinfect the perineal region, put the hand into a glove for rectal examination, introduce the hand in the vaginal vestibule. Bring the hand up to the cervix, and then rotate it by 90 °, bringing it to the outside, trying to make them assume a spoon shape (*Gnemmi et al . 2011*) .

The second procedure is much faster: disinfection of the vulva (paying particular attention to the inner surface) and introduction of the hand in vagina.The second part of the technique is similar to the previous one (*Gnemmi et al. 2011*).

Rectal exploration. It is to provide a massage of the uterus, in an attempt to exit out of the liquid. In over 40% of the cases, even after vigorous massage, there is no output out of liquids (*Gnemmi et al. 2011*).

Speculum. The speculum is definitely a great tool for the diagnosis of metritis, but it isn't practical. After each exam, it should be washed, cleaned, disinfected and flambéed before it can be reused (*Gnemmi et al 2014*). There are also alternative forms of speculum: cones of plastic material, covered with a film which is changed after each observation. More practical than previous ones, remain impractical especially in commercial companies.

Ultrasonography. The ultrasound characteristics of a normal uterus at day 5-7 post partum are similar to the ultrasound characteristics of a puerperal metritis, there are no substantial differences (*Gnemmi 2010*). Therefore the use of the ultrasound for the diagnosis of a puerperal or septical metritis in the current state of knowledge justification, it is justify (*Gnemmi 2010*).

Measurement of rectal temperature. The detection of rectal temperature is motivated by the fact that the increase in temperature precedes of 12-24 hours, the onset of clinical symptoms that led to a fever (*Burnell 2008 Benzaquen et al. 2004 Kristula et al. 2001 Sheldom et al. 2004*).

It is not simply to take a rectal temperature, but to take advantage of this time to observe and smell the cow (*Gnemmi et al 2014*). Observe if there are swelling and/or edema of the udder (edema score), and/or if there are color changes of the udder; observe if there are any lameness; observe the locomotion score of the cow; observe the filling of the rumen (rumen fill score); observe if its tail, the side of the perineal region, are smeared with vaginal discharge, making sure if these are very liquid or dense and observing the color of the same. Smelling: the puerperal metritis is characterized by nauseating smell (*Gnemmi et al. 2012*).

The temperature is detected early in the morning (especially in summer), in the first 10 days postpartum or between the 4th and 10th day post-partum. (*Benzaquen et al. 2004 Kristula et al. 2001 Sheldom et al. 2004*). The cut off is used to 39.5 ° C during the temperate season and 40-40.5 ° C during the summer (*Benzaquen et al. 2004 Kristula et al. 2001 Sheldom et al. 2004*).

The detection of the rectal temperature has the object to provide a daily selection of animals to be subjected to the clinical examination, and not to be subjected to antibiotic therapy the cows with a temperature above the cut off (*Kristula et al. 2001*). About 38% of the cows in the first 10 days postpartum has at least an increase in temperature greater than 39.5 ° C, without having any clinical problem (*Benzaquen et al. 2004*). Animals with a temperature higher than 39.5 ° C, must be subjected to clinical examination to verify the presence of a gynecological problem, gastro intestinal, udder, foot, or elsewhere problems. At the same time, it should also be checked for milk production of the cow in the last two milkings.

Therapy

Earlier diagnosis is probably the key factor to improve and/or

depress (in case of delay), the result of therapy (*Sheldom 2011*). Purpose of therapy is to eliminate in the shortest possible time the bacteria from the uterus, without altering at the same time the defensive mechanisms of the uterus itself (*Sheldom 2011, Drillich et al. 2006*). In addition to antibiotic therapy, many times you need to associate re-hydration therapy (in the case of dehydration of the animal), a therapy for hypocalcemia and/or ketosis, which are often associated with metritis (*Sheldom 2011*).

Metritis II-III°

Intra uterus antibiotic. May be possible to use boluses/infusion of antibiotics into the uterus. The infusion have to be done with a soft silicon catheter number 18 (those in use for the recovery of the embryos).

One of the products most widely used for this purpose is the oxytetracycline; this chemo therapeutic has been used for a very long time in the form of boluses and capsules and recently is used in solution at 10-20% by volume of 350-400 cc, directly into the uterus. The high resistance of the bacteria involved in the metritis (*E.coli, A.pyogenes*), the very high MIC of this chemotherapy, now make this drug, generally not very interesting in the treatment of metritis, but despite this it remains one of the most widely used treatments in the world.

Local treatments, do not guarantee the best results, in terms of reproductive performance, compared to general treatments and we have to consider the aggregate cost (processing cost, labor cost. In addition to the fragility of the uterine wall, there is always the risk of a perforation (*Palmer 2008*); these practices should always be accompanied by a systemic antibiotic therapy (*Gilbert 2008)*.

General Antibiotic treatment. In recent years, certain antibiotics such as third-generation cephalosporins (ceftiofur), have taken over, especially for the appearance on the market of many generic of high quality at a very affordable price. The cost effectiveness of these molecules, the lack of withdrawal periods in milk and the short time of suspension in meat (8 days), has determined a rapid spread.

In March 2012, the European Community, to counter the abuse of this and other important molecules (quinolones) called on the health authorities of the member countries, a solicitation to achieve precise guidelines in order to also regulate the use of these molecules in the livestock sector. This intervention was necessary, because of the alarming increase of resistance towards these drugs in humans.

Adherence to good veterinary practices, should ensure that the veterinarian can choose the most appropriate therapy for each clinical case, but without losing sight of the guiding principles of food safety, animal welfare, choice responsible of the antibiotic and/or chemotherapy . The choice of cephalosporins in puerperal metritis and/or septic, should be bound to the certainty that an easier antibiotic does not act. The suspicion is that the choice of cephalosporins is today, however, conditional on the absence of a withdrawal time in milk and low cost of these molecules as generic.

However, there are no jobs that scientifically demonstrate a better functioning of cephalosporins of the third or fourth generation than vs others penicillins, or that improved reproductive performance, compared to a penicillin-streptomycin, or to a amoxicillin alone or in combination, or to a panetamato or an ampicillin .

All tests conducted merely to show that the time calvilving/first AI is shortened but without other notice of any improvement in the calving-conception and/or other reproductive parameters (*Okker et al. 2010 Chenault et al. 2006 Drillich et al . 2010 , Zhou et al . 2010 , Risco et al . 2004 , Smith et al . 2005 Sheldom et al . 2008 Drillich et al . 2006*)

Although it has been widely demonstrated that general treatment with ossitetracicline is often ineffective due to the high MIC and high bacterial resistance (*Sheldom 2011 Sheldom et al. 2004*), these chemotherapeutic agents are still widely used (*Goshen et al. 2013*), based on the positive results seen in some experiments, which otherwise should be analyzed with greater severity criterias (*Sheldom 2011, Amiridis et al. 2010*).

Antibiotic treatment for general, it is definitely necessary in case of puerperal and septic metritis, however, the choice of the antibiotic should be made according to an objective criterion, rather than economic.

NSAIDs. The anti-inflammatory drugs, are extremely important, in the treatment of post-partum metritis. It is exploited the analgesic, the antipyretic, the anti-inflammatory and the anti-endotoxic effect especially of these drugs. While acting on COX, for the duration of therapy (up to two days) and/or to the therapeutic dose used, you do not have a negative impact on uterine involution, but you can take advantage of all their positive effects (*Gnemmi 2006, Drillich 2007, Amiridis et al. 2010*)

Prostaglandins. The discussion is always open: at present there is no scientific evidence, about efficacy of prostaglandins (*Frazer 2001*).

Also with respect to the type of prostaglandins to use, synthetic or natural, the discussion is always open, despite only natural for you is a proven contractile effect on the uterus (*Frazer 2001*).

Uterine massage. Practice very much in vogue in the past. Massage, when properly implemented can have a beneficial effect on the uterus: through the release of oxytocin, promotes the drainage of the uterus. The technique, however, is not entirely free from drawbacks: if the massage is not that well done, can arise peri-metritis, the outcome of which can in many cases be unlucky. When the animal dies, there remain many and such adhesions to make in many cases, the cow is not suitable for reproduction (*Gilbert 2008*)

Metritis I°

In the case of clinical metritis or I°, typical of the 10 th -20 th day postpartum, the current trend is not to use any therapy, unless the cow has no odorous disharges and/or fever. In the absence of one or both of these symptoms, the best therapy seems to be the wait; obviously in the case of fever and/or putrid vaginal discharge, antibiotic treatment for general and the treatment of NSAID, is indispensable.

The use of prostaglandins, natural and/or synthetic is not recommended in the treatment of metritis grade I: the use of this therapy induces a slowdown uterine involution, with a delay of the first AI, or a worsening of reproductive performance (*Frazer 2001*).

Much has been discussed about the use of intra- uterine washings: there are currently no scientific studies to justify its use, as are several jobs that advise against the use of intra- uterine washings (with or without antibiotics) before the forty days postpartum (*LeBlanc et al. 2002*).

ENDOMETRITIS

DEFINITION

According to the accepted terminology by the International Society of TeriogenologY in 2006 (*Sheldom et al, 2006*), we define endometritis, an inflammation of the endometrium, after the first twenty days post-partum.

On the basis of the content in PMN (%), are distinguished:

Purulent endometritis (> 50% pus). It is an inflammation of the uterine typical 20-25th day post partum.

Mucus Purulent endometritis (the content of pus is at most 50%). It is an inflammation of the uterine typical of the 26th-35th day.

Sub Clinical endometritis: the content in PMN, is related to the distance from the calving: > 18% between 20-35th day postpartum, <8-10% between 35-47th day postpartum. About the prevalence of sub-clinical endometritis there are very different opinions: this difference, often substantial, must be ascribed with high probability, the diagnostic method used (*Okker et al. 2004, Gnemmi et al. 2013*)

The pyometra is a purulent collection within the uterus (*Thun et al . 1993*) , detectable at the end of the voluntary waiting period, normally characterized by the presence of one or two persistent corpora lutea(anoestrus Type IV) (*Thun et al 1993, Burnell 2008, Benzaquen et al. 2004, Gnemmi et al 2012*).

The mucometra is a collection of mucus within the uterus (*Kristula et al . 2001, Gnemmi 2004, Gnemmi 2013, Gnemmi et al 2014*). It distinguishes a true mucometra, characterized by a hyper mucus production, probably for a degenerative phenomenon of endometrial glandular system, that associated with the persistence of the corpus luteum, in fact determines a uterine dilation, and a false mucometra, where there is any hyper- production of mucus, but simply a lack of drainage of the same due to the persistence of the corpus luteum (*Gnemmi 2004, Gnemmi 2013, Gnemmi et al 2014*). The prognosis of the true form is poor, while tends to be favorable prognostic the false mucometra. The diagnosis of mucometra may be difficult: is crucial in the differential diagnosis with gestation, in fact there is one or more corpora lutea, the fluid in the uterine lumen , but lacks (only) the embryo or fetus.

DIAGNOSIS

Rectal examination. Digital rectal examination although still widely used, it is not an accurate method in the diagnosis of clinical and above all sub clinical endometritis (*LeBlanc et al. 2002*)

Hand into the vagina. The accuracy, above all in case of sub clinical endometritis, is very poor: in abscence of vaginal disharges may be present endometritis, while in presence of vaginal disharges, not mean that is present an endometritis (*Lewis 1997, Sheldom et al 2006, 2002, Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*)

Speculum. It is a test that does not have a favorable cost/benefit ratio, also does not allow an accurate diagnosis of sub clinical endometritis (*Gnemmi 2013, Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*).

Metricheck. It is a widely used tool in some countries (New Zealand), where was a great success, because of the farming method. Is considered a quick way to make a diagnosis of clinical endometritis (*Zhou et al., 2004*) under conditions of extensive farming, with seasonal distribution of births (*McDougall et al 2014*). The accuracy of the diagnosis is still low (in the absence of discharges in the vaginal vestibule), especially in the case of subclinical endometritis (*Gnemmi et al 2013*)

Biopsy. The diagnosis is very accurate, but the damage that remains after the biopsy is enough to threaten the future fertility of the cow *(Etherington et al 1988)*. However, this opinion is not entirely shared (*Bollowein 2013*).

Should be made several withdrawals in the distal third of the uterine horn.

PMN counts. This exam in recent years has been widely emphasized (*Barlund et al 2008*), proposing as the gold standard for the diagnosis of sub-clinical endometritis.

There are two methods: the ciyto brush (*Kasimanickam et al 2004, Kasimanickam et al 2005*, *Barlund et al., 2008*) and flushing (*Gilbert et al 2005*).

In the first technique using a unit about 20 cm long, with a diameter of about 2 mm, with a brush about 3 cm long, with a conical section. Today sets are available that include the brush, entered on a device that allows the overcoming of the cervix and the retraction of the same, once the smear was made on a glass slide and smear is fixed after collection. The slide is placed in a special container and then analyzed after staining.

Ultrasonography . Ultrasonography allows you to make in real-time diagnosis of endometritis extremely accurate (*Gnemmi et al 2013*) . At the same time allows you to differentiate between different types of uterine inflammation (*Gnemmi et al. 2010, Gnemmi et al. 2011, Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*). Compared to the diagnosis of sub- clinical endometritis, it must be said that the diagnostic parameters provided by Barlund and Palmer in 2008, allow you to make a diagnosis, but the accuracy poor: the sensitivity is very low in fact, there are many false positive. The proposed parameters are as follows: endometrial thickness greater than 8 mm, the diameter of the uterine lumen greater than 3 mm(*Barlund et al. 2008*). In practice, all the cows in proestrus, estrus and metoestrus are potential sub- clinical endometritis (*Gnemmi et al 2010, Gnemmi 2010*, *Gnemmi et al. 2013, Gnemmi et al 2014*). Clearly, a more accurate, but especially more intelligent ultrasound use, allows us to make a diagnosis without this huge and unacceptable margin of error (*Gnemmi et al, 2013, Gnemmi et al 2014*). This involves evaluating the follicular map, to determine not only the amount of fluid present in the uterus, but its nature (echogenicity), it is mainly to analyze the sonographic artifacts present, to differentiate physiological from pathological ones (*Gnemmi et al., 2013, Gnemmi et al 2014*). Without a doubt we can say that thanks to real-time ultrasonography we can make an extreme accurate diagnosis of sub-clinical endometritis, ensuring not only high specificity, but especially high sensitivity (*Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*) .

THERAPY

Endometritis is an inflammation of the endometrium. Speaking of therapy of endometritis, can be questioned on what to do (general antibiotic therapy, antibiotic therapy intra-uterine, therapy with low irritant solutions, prostaglandins, ...) and especially when to do it (therapy between 20 and 40 DIM or only after the and of VWP?) (*Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*)

Do not underestimate the fact that about 70% of endometritis is spontaneous recovery in the first two months postpartum (*Gautam et al. 2010*).

It must also make a clear distinction between purulent vaginal disgarge and endometritis: as already pointed out, the presence of purulent vaginal discharge, it is not necessarily associated with endometritis! (*Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*)

Purulent and Muco-Purulent Endometritis

General therapy. Antibiotic therapy, regardless of the type of antibiotic and/or chemotherapy used, is not positive findings in the literature, when applied a scientific method of evaluating *(LeFebvre et al 2012).*

Local therapy. Local therapy(intra-uterine) provides for the introduction of an antibiotic (*Goshen et al., 2013, LeBlanc et al. 2014),* or weakly irritant solutions into the uterus (*Drillich et al. 2007 Drillich 2013*). The antibiotic therapy is widely used in the field, with considerable support of bibliography (*LeBlanc et al. 2002, LeBlanc 2014*). A scientific analysis of the literature (*Lefebvre et al. 2012*), it is clear that the jobs that are based on a careful scientific criterion, are very few. On the basis of recent work, over 90% of endometritis the end of the VWP, are not infections, but inflammations

(*McDougall et al. 2010, Shastant et al. 2011*); that being said, it is legitimate to ask what is the role, then, of an intra-uterine antibiotic treatment with an antibiotic or a chemotherapeutic agent. About the time of intervention is suggested by several parties a delay of intra- uterine treatment, just after the 30 DIM (*LeBlanc et al., 2008*): there are no proofs that the intra-uterine treatment (regardless of type: antibiotic, chemotherapy, mild irritant solution), before the end of VWP, results in a improvement of reproductive performance. In view of the farm's management (synchronization), the fact that the majority of endometritis are not infections but inflammatory processes (*McDougall et al . 2010, Shastant et al. 2011*) and the fact that there aren't certain data for to support the hypothesis that the earlier treatment of the uterus improve the reproductive performance, could be better to start the treatment only after the and of the VWP. While if tis present fever and/or odorous disharge, in this case the antibiotic treatment (general) is considered indispensable .

Prostaglandins. The bibliography for the use of prostaglandins in the treatment of 'endometritis is vast, but often poorly supported in the scientific (*Hewieser et al. 2012, LeBlanc 2014*).

There are natural and synthetic prostaglandins; has been demonstrated for the first mine-contractile activity (*Fraizer 2001*), never demonstrated for the latter. De facto, both are abundantly used in the therapy of endometritis, with the purpose of draining the uterus. The veterinarian should be some questions before embarking on this, but also all other therapies against endometritis. What is the purpose of therapy? What are the expectations of this therapy? When initiating therapy and why? When I use this medication?

Even today it makes abundant use of prostaglandins in the treatment of endometritis; this is a correct procedure? In the absence of a corpus luteum, definitely not (*Gnemmi et al. 2013*). The use of prostaglandins in the treatment of endometritis, should be limited to cases where there is a corpus luteum.

When initiating therapy with prostaglandins, is another key point. This should not be started before the end of the voluntary waiting period (*Gnemmi et al., 2013*).

In the case of endometritis with corpus luteum at the end of the voluntary waiting period, may be possible to apply a PRESYNCH-OVSINCH® program, ensuring excellent performance (*Kasimanickam et al 2006, Gnemmi et al 2013, McDougall et al 2013*)

The choice of the therapeutic strategy should require the clinician to a discussion of the objectives thereof: treating a symptom (endometritis) or get pregnant the cows?

Sub-clinical Endometritis

There is an abundant literature on the subject (*LeFebvre et al. 2012*), oriented to the use of third-generation cephalosporins such as sub- clinical endometritis therapy. Given that the main question is the meaning of a therapy (treat the symptom or impregnate cows), it is worthwhile to check what is the prevalence of this disease. In the bibliography are works that speak to a prevalence of 20-50% even at the end of the voluntary waiting period (*Gilbert et al. 2005 Duboc et al. 2010 Cheong et al. 2011*); probably a more scientific approach (*LeFebvre et al. 2012*), could reduce this figure. On the other hand may be possible to find works that speak to a much lower prevalence certifiable 8 to 10% (*Gnemmi et al. , 2013*)

The sub clinical endometritis therapy is the same as the clinical endometritis; the main question is: is there a corpus luteum?

The second question is: when to start therapy.

In the presence of a corpus luteum a prostaglandin therapy, within a program Presynch.Ovsynch®, should be carefully considered, ensuring the cow came into heat three times before the FTI. Each time the cow is in heat, increases the rate of estrogen; these last, stimulate chemotaxis of PMN, in other words indirectly stimulates phagocytosis; promote uterine contraction, with drainage of the material inside the uterus; determine an increase of antibodies in the uterine and the production of lactoferrin and lysozyme. It 'important to not inseminate animals with endometritis after the second prostaglandin of the program, but to get to the bottom of the program.

In the case of sub-clinical endometritis associated with heat (veal with mucus inside which you see white spots), you can use a treatment with antibiotics, 12-24 hours after insemination (*Gnemmi et al 2010, Gnemmi et al 2013, Gnemmi et al 2014*).

About the timing of therapy, that is, when written previously: the treatment should be undertaken only by the end of the voluntary waiting period.

Pyometra and Mucometra

It is typical uterine inflammations at the end of the VWP.

Therapy should be chosen according to a principle: we want to treat the symptom, or to get pregnant the cows? On the basis of this criterion, it is suggested to place these animals in a program of PRESYNCH-Ovsynch®, departing from 50th day in multiparus cows and in 60th day in primiparous, ending the strict synchronization program and avoiding the temptation to inseminate these animals already after the second prostaglandin, with the risk of having low conception rates and higher embryo death (*Kasimanickam et al. 2006. McDougall et al. 2013*). Obviously, this therapy is feasible, when present a corpus luteum.

ECONOMICAL EVALUATION

The economic evaluation of uterine pathologies is as important as difficult. The calculation of the cost of a disease, it is normally done on the basis of only the direct cost of the pathologies (*Esslemont 2013*), limiting the analysis to only the costs of drugs and veterinary expenses (*Esslemont et al. 1999-2002-2013*). In fact, the calculation of costs must include several items:

1. Direct Cost.
   a. Veterinary's cost
   b. labor cost
   c. mortality cost
   d. milk discarded cost
   e. Cost of the drugs
2. Indirect Cost.
   a. Increased risk of other diseases
   b. More services
   c. Extended calving interval
3. Loss of Earning.
   a. Lower milk production
   b. increased culling
   c. lower fertility
4. Hidden cost.
   a. Increased health costs
   b. Lower animal welfare
   c. Increased environmental contamination

The direct cost of a RFM is about 640 €; the direct cost of a metritis is about 700 €, that of a endometritis is approximately 430 €

Table 1. Direct cost of RFM, Metritis and Endometritis. (*Esslemont et al. 2013, modified*).

Estimated direct cost of a case RFM	**Cost (€)**
Average cost of a treatment:	
a. PGF (a) + Ampicillina-dicloxacillina (b) (cheaper generic)	[2,8 € + (5.04 € x 3)]
b. PGF (c) + Ceftiofur (d) (cheaper generic)	[2,8 € + (8,64 € x 3)]
Cost of the milk eliminated (40% decreased production)	
a. 3 dd	0
a. 5 dd	15,84 €
b. 3 dd	0
b. 5 dd	0
Cost of reduced yield (15%)	1372,5 L x 0,44 €
	603,9 €
Number of treatments:	
a. 3 dd (a)	17,92 €
b. 5 dd (a)	28,00 €
c. 3 dd (b)	28,72 €
d. 5 dd (b)	46,00 €
Cost of the labor (10' x cow x day)	
a/1	8,43 €
a/2	14,06 €
b/1	8,43 €
b/2	14,06 €
Direct cost of RFM	
a/1	630,25 €
a/2	661,80 €
b/1	641,05 €
b/2	663,96 €
Estimated direct cost of a case Metritis	
Average cost of a treatment:	
a. [(a) + (b)] x 3 dd + FANS x 2 dd	[(5,01 € x 3) + (8,4 € x 2)]
b. [(a) + (b)] x 5 dd + FANS x 2 dd	[(5,01 € x 3) + (8,4 € x 2)]
c. [(c) + (d)] x 3 dd + FANS x 2 dd	[(8,64 € x 3) + (8,4 € x 2)]
d. [(c) + (d)] x 5 dd + FANS x 2 dd	[(8,64 € x 5) + (8,4 € x 2)]
Cost of the milk eliminated (40% decreased production)	
b. 3 dd	39,60 €
c. 5 dd	55,44 €
d. 3 dd	23,96 €
b. 5 dd	47,52 €
Cost of reduced yield (15%)	1372,5 L x 0,44 €
	603,9 €
Number of treatments per case of Metritis	
3 dd (a) + 2 dd	34,72 €
5 dd (a) + 2 dd	41,85 €
3 dd (b) + 2 dd	42,72 €
5 dd (b) + 2 dd	60,00 €
Cost of the labor (10' x cow x day)	
a/1	8,43 €
a/2	14,06 €
b/1	8,43 €
b/2	14,06 €
Direct cost of Metritis	
a/1	686,65 €
a/2	715,25 €
b/1	679,01 €
b/2	726,02 €
Estimated direct cost of Endometritis	
Average cost of a treatment:	
(a) PFG x 3 times	5,60 €
(b) Presynch-Ovsynch®	8,45 €
(c) Cephapirine x 2 times	19,05 €
Reduced milk yield (10%)	915 L
Cost of reduced yield	402,60 €
Cost of the labor	
(a)	12,64 €
(b)	21,07 €
(c)	16,86 €
Direct cost of Endometritis	
(a)	420,84 €
(b)	432,12 €
(c)	438,51 €

On average, in the course of RMF, endometritis, metritis the day open increase of 25-35 days.

Bibliography

1. Gilbert R.O. Postpartum uterine health and disease. 2008 Dairy cattle Reproduction Council Convention, Omaha, Nebraska, pp: 29-38
2. A.Bolinder, B.Seguin, H.Kindahl, D.Bouley, D. Otterby. 1998. Retained fetal membranes in cows: manual removal versus nonremoval and its effect on reproductive performance. Theriogenology 30: 45-46
3. L.G.Paisley, W.D.Mickelsen, P.B.Anserson. 1986. Mechanism and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: a review. Theriogenology 25: 353-381
4. G.H.Arthur, D.E.Noakes, H.Pearson. 1989. Veterinary Reproduction and Obstetrics. Baillière Tindall
5. Peters A.R., Laven R.A., Treatment of bovine retained placenta and its effects. Vet Rec 1996; 139: 539-541
6. Beagley J.C., Whitman K.J., Baptiste K.E., Scherzer J. Physiolofy andTreatment of Retained Fetal Membranes in Cattle. J Vet Intern Med 2010; 24:261-268
7. Heuwieser W., Drillich M. Treating post-calving infections in

dairy cattle. Advance Fertility Management Pfizer 2008: pp 61-69

8. Eiler H., Fecteau K.A., Retained placenta. In: Yougquist R.S., Threlfall WR, eds. Current Therapy in Large Animal Theriogenology, 2nd ed. St Luis, MO: WB Saunders; 2007: 345-354
9. Kaitu'u T.J., Shen J., Zhang J., et al. Matrix metalloproteinases in endometrial breakdown and repair: functional significance in a mouse model. Biol Reprod 2005; 73:672-680
10. Gnemmi G. Patologie uterine di interesse clinico. Cap VI pp:121-145 in Gestione clinica della riproduzione bovina. Sali Giovanni Point Veterinaire Italie Ottobre 2013
11. Gnemmi G. Ferrari E., Maraboli C. Patologie Uterine nel bovino: Diagnosi e Terapia. Long Distance Continuing Education Program, Summa Veterinaria . La Point Veterinaire Italie 2014 in press.
12. R.O.Gilbert. 2008. Postpartum Uterine Health and Disease. Dairy Cattle Reproduction Council Convention. Omaha, Nebraska 2008. Pag.29-38
13. M.Drillich,A.Pfutzenr,H.J.Sabin,M.Sabin,W.Heuwieser.2003. Comparision of two protocols for the treatment of retained fetal membranes in dairy cattle. Theriogenology 59: 951-960
14. M.Drillich, U.Reichert, M.Mahlstedt, W.Heuwieser. 2006. Comparision of two strategies for the systemic antibiotic treatment of dairy cows with retained fetal membranes: preventive vs.selective treatment. J. Dairy Sci. 89: 1502-1508
15. M.Drillich, N.Klever, W.Heuwieser. 2007. Comparision of two management strategies for retained fetal membranes on small dairy farm in Germany. J.Dairy Sci. 2007 Sep; 90(9): 4275-81
16. M.Drillich, M.Mahistedt, U.Reicherrt, B.A.Tenhagen, W.Heuwieser. 2006. Strategies to improve the therapy of retained fetal membranes in dairy cows. J. Dairy Sci. 2006 Feb; 89(2): 1502-1508
17. Gilbert R.O., Shin S.T., Frajblat M., Guard C.L., Erb H.N., Roman H. The incidence of endometritis and its effect on reproductive performances of dairy cows. Production diseases in farm animal. 2006:116
18. Parmigiani E. Gestione riproduttiva e impiego del ceftiofur nella terapia delle endometriti della bovina da latte. XX° Congresso Nazionale Società Italiana Embryo Transfer. Parma 30 Setttembre-1 Ottobre 2011
19. P.Guérin, J.J.Thiébault, M.L. Delignette-Muller, F.Badinand, L.Bosc, Y.Mènézo. 2004. Effect of injecting collagenase into the uterine artery during a caesarean section on the placental separation of cows induced to calve with dexamethasone. Vet Rec 2004 Mar 13; 154 (11): 326-8
20. T.Duffield, H.PDingwell, A.Skidmore, D.Weary, L.Neuder, W.Rapheal, S.Millman, N.Newby, K.Leslie. 2009. Effect of flunixin meglumine treatment following partutition on cow health and milk ptoduction. The AABP Proceedings . Omaha, Nebraska Sep.10-12 2009. Vol.42: 188
21. S.G.Frazer. 2001. Hormonal therapy in the postpartum cow. Day 1 to 10. Fact or fiction? The AABP Proceedings . Vancouver, British Columbia Canada Sep.13-15 2001. Vol.34: 109-122
22. Stevens R.D, Dinsmore R.P. Treatment of dairy cows at partutirion with prostaglandin F2a or oxitocine for prevention of RFM. J Am Med Assoc 1997; 21:1280-1284
23. Drillich M, Schröder A, Tenhagen B.A, et al. Efficacy of a treatment of RFM in dairy cows with prostaglandin F2a in addition to a local antibiotic treatment. Dtsch Tierärztl Wochenschr 2005; 112:174-179
24. H.Kunding, R.Thun, K.Zerobin. 1990. Uterine motility in the cow during late pregnancy, parturition and puerperium. II. Drug influence. Schweiz Arch Tierheilk 132:515-524
25. M.J.Burton. 1986. Uterine motility in peripartum dairy cattle. Ph.D Thesis. University of Minnesota.
26. H. Eiler, W.Byrd, F. Hopkins. 1989. Uterokinetic activity of fenprostalene (a prostaglandin F2α) in vivo and in vitro in the bovine. Theriogelogy 32:5: 755-764
27. H.Eiler, F.M.Hopkins, C.S. Armstrong-Backus. 1984. Uterotonic effect of PGF2α and ocytocin on the postpartum cow. AJVR 45: 1011-1014
28. R.Thun, H.Kunding, K.Zerobin, H.Kindahl, B.Gustafsson, W.Zeigler. 1993. Uterine motility in the cow during the late pregnancy, parturition and puerperium. Schweiz Arch Tierheilk 135: 333-344
29. Sheldom I.M., Lewis G.S., LeBlanc S. Gilbert R.O. Defining postpartum uterine disease in cattle. Theriogenology 2006 May 65(8): 1516-1530
30. Sheldom I.M., Cronin J., Goetze L., Donofrio G., Schuberth H.J. Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. Biol Reprod 2009; 81:1025-1032
1.
31. Sheldom I.M. The definition of metritis. Reccomendation against metritis. Advance Fertility Management Pfizer 2008: pp 9-16
32. Goshen T., V.Kaplan, N.Kedem-Vaanunu, E.Elnekave, Y. Gottlieb, N.Y. Shpigel. 2013. Cytology and microbial metagenomic analysis of puerperal metritis in Israeli dairy cows. Workshop: Endometritis as a cause of infertility in domestic animals: New diagnostic and therapeutic strategies. Olsztyn, Poland, 6-8 October 2013.
33. Gnemmi G., Maraboli C. Algoritmi di lavoro dal parto alla fine del tempo di attesa volontario. Summa 8/2011: 6-15
34. Gnemmi G. Practical uses for transrectal ultrasonography in reproductive management of cattle. XXVI Worl Buiatric Congress. Santiago Chile 2010
35. Burnell M. The diagnosis of metritis in dairy cows. Which cows to treat? Advance Fertility Management Pfizer 2008: pp 52-58
36. Benzaquen M.E., Risco C., Archbald L.F., Thatcher M.J. Evaluation of rectal temperature and calving related factors on the incidence of metritis in postpartum dairy cows. AABP 37th Annual Convention. Forth Worth, Texas. Sept 23-25, 2004; pp 197-198
37. Kristula M., Smith B., Simeone A. The use of daily postpartum rectal temperatures to select dairy cows for treatment with systemic antibiotics. AABP 34th Annual Convention. Vancuver, British Columbia, Canada. Sept.13-15, 2001; pp117-125
38. Sheldom I.M., Rycroft A., Zhou C. Association between postpartum pyrexia and uterine bacterial infection in dairy cattle. Veterinary Record 2004; 154: 289-293
39. Sheldom M. The postpartum uterus. Vet Clin Food Anim 20(2004) 569-591
40. Gnemmi G., Maraboli C. I segnali della vacca in rproduzione. Summa 2/2012: 5-13
41. Sheldom I.M. Mechanisms of infection and immunity in the bovine female genital tract post partum. Dairy Symposium Proceedings August 13, 2011. Milwaukee, Wisconsin
42. Palmel C. 2009. Personal comunication

43. Gnemmi G., Ferrari E. Maraboli C. Endometritis: Diagnosis and therapy: New approach. Endometritis as a cause of infertility in domestic animals: New diagnostic and therapeutic strategies. Olsztyn, Poland, 6-8 October 2013.
44. Okker H., Schmitt E.J., Vos P.L., Scherpenisse P., Bergwerff A.A., Jonker F.H. Pharmacokinetics of ceftiofur in plasma and uterine secretions and tissues after subcutaneous postpartum administration in lactating dairy cows. J.Vet.Med. Pharmacol. Ther 2004, 25: 33-38
45. Gnemmi G., Ferrari E. Maraboli C. 2013. Endometrite clinica e subclinica. Significato della diagnosi e prospettive terapeutiche. Summa N°7: 29-33
46. Chenault J.R., McAllister J.F., Chester Jr. S.T., Dame K.J., Kausche F.M., Robb E.J. Efficacy of ceftiofur hydrochloride sterile suspension administered parentally for the treatment of acute postpartum metritis in dairy cows. J.Am.Vet. Med. Assoc. 224:1634-1639
47. Drillich M., Beetz O., Pfutzner A., Sabin M., H.J Sabin, Kutzer P., Nattermann H., Heuwieser W. Evaluation of a systemic antibiotic treatment of toxic puerperal metritis in dairy cows. J.Dairy Sci. 2010, 84: 2010-2017
48. Zhou C., Boucher J.F., Dame K.J., Moreira M., Graham R., Natel J., Zuidhof S., Arfi L., Flore R., Neubauer, Olson J. Multilocation trial of ceftiofur for treatment of postpartum cows with fever. J Am Vet Med Assoc.2010, 219: 805-808
49. Smith B.I., Donovan G.A., Risco C., Littell R., Young C., Stanker L.H., Elliot J. Comparison of various antibiotic treatments for cows diagnosed with toxic puerperal metritis. J Dairy Sci 2005, 81: 1555-1562
50. Amiridis G.S., Leontides L., Tassos E., Kostulas P., Fthenakis C. Flunixin meglumine accellerates uterine involution and shortens the calving to first oestrus interval in cows with puerperal metritis. J Vet Pharmacol Ther. 2010, 24: 365-367
51. Gnemmi G. Il complesso metrite endometrite postparto nell'allevamento bovino da latte ad alta produzione. Valutazione in campo dell'utilizzo di due antinfiammatori non steroidei nella terapia della metrite post parto. Tesi di dottorato 2006.
52. Drillich M., Voigt D., Forderung D., Heuwieser W. Treatment of purperal metritis with flunixin meglumine in addition to antibiotic treatment. J Dairy Sci 2007; 90:3758-3763
53. LeBlanc S.J., Duffield T.F., Leslie K.E., Bateman K.G., Keefe G.P., Walton J.S., Johnson W.H. The Effect of Treatment of Clinical Endometritis on Reproductive Performance in Dairy Cows. J Dairy Sci 2002; 85: 2237-2249
54. Gnemmi G. Atlante di ultrasonografia ginecologica buiatrica. Point Veterinaire italie 2004
55. LeBlanc S.J., Duffield T.F., Leslie K.E., Walton J.S., Johnson W.H.. Defining and diagnosis postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performances in dairy cows. J Dairy Sci 2002; 85(9):2223-2236
56. Lewis G.S. Uterine health and disorders. J Dairy sci 1997; 80: 984-994
57. McDougall S. Diagnostic, resolution & therapies for uterine infection. Workshop 1 BSAS International cow fertility conference. Westport, Mayo, Ireland Sun 18-Wed 21 May 2014
58. Etherington W.G., Martin S.W., Bonnett B., Johnson W.H., Miller R.B, Savage N.C, et al. Reproductive performances of dairy cows following treatment with cloprostenol 26 and/or 40 days postpartum: a field trial. Theriogenology 1998; 29:565-575
59. Bollowein H, 2013: personal comunication
60. Kasimanickam R., Duffield T.F., Foster R.A., Gartley C.J., Leslie K.E., Walton J.S., Johnson W.H. Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. Theriogenology 2004; 62:9-23
61. Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. Can Vet J. 2005 Mar;46(3):255-9.
62. Barlund CS, Carruthers TD, Waldner CL, Palmer CW. A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. Theriogenology. 2008 Apr 1;69(6):714-23.
63. Gilbert R, Shin S.T, Guard C.L, Erb H.N, Frajblat M. Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. Theriogenology 2005; 64:1879-1888
64. Gnemmi G, Maraboli C. Endometrite subclinica nel bovino da latte. Summa Animali da Reddito N°6 Luglio/Agosto 2010, pp 38-42
65. Gautam G., Nakao T., Loike K., Spontaneus recovery or persistence of postpartum endometritis and risk factors for its persistance in Holstein cows. Theriogenology 2010; 73: 168-179
66. Lefebvre R., Stok A.E. Therapeutic efficiency of antibiotics and prostaglandin F2α in postpartum dairy cows with clinical endometritis: an Evidence-Based Evaluation. Vet Clin Food Anim 28(2012): 79-96
67. LeBlanc S.J. Reproductive tract inflammatory disease in postpartum dairy cows. BSAS International cow fertility conference. Westport, Mayo, Ireland Sun 18-Wed 21 May 2014
68. Chastant-Maillard S. Is there a future for pharmaceutical management in cow reproduction? European perspective. XXIV WBC
69. LeBlanc S.J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance. A review. The Veterinary Journal 176, 102-114
70. Kasimanickam R, Cornwell J.M, Nebel R.L. Effect of presence of clinical and subclinical endometritis at the initiation of Presynch-Ovsynch program on the first service pregnancy in dairy cows. Animal reproduction Scince 95(2006):214-223
71. Sheldom I.M., Noakes D.E. Comparison of three treatments for bovine endometritis. Vet Rec 1998; 142: 575-579
72. Cheong S.H., Nydam D.V., Galvao K.N., Croiser B.M., Gilbert R.O. Cow-level and herd-level risk factors for subclinical endometritis in lactating holstein cows. J.Dairy Sci 2011; 94:762-770
73. Dubuc J., Duffield T., Leslie K.E., Walton J.S., LeBlanc S.J. Risk factors, impact and treatment of postpartum uterine diseases in dairy cows. XXVI Worl Buiatric Congress. Santiago Chile 2010
74. R.J.Esslemont. 2013. Consensus conferences on breeding protocols.Zoetis Marsille 22-23/03/13
75. R.J.Esslemont, M.A.Kossaibati, J.Allcock. 1999. Economics of fertility in dairy cows. Fertility in high-producing dairy cow. British Society of Animal Science. Occasional Publication No.26: 19-29

PROGRAMACIÓN DEL DESARROLLO Y SUS CONSECUENCIAS PARA LA PRODUCCIÓN GANADERA

Peter J. Hansen
Department of Animal Sciences, University of Florida

Bases Ontogénicas de la Vida Post-Natal

Uno de los rasgos distintivos de los sistemas de leche y de carne modernos ha sido la selección de genes que confieren mayor producción de leche, tasa de crecimiento, eficiencia alimentaria, fertilidad y otros rasgos. La expresión de estos genes y la productividad resultante dependen del ambiente en el que el organismo vive. Este concepto se ha encapsulado desde hace mucho en la idea de heredabilidad, que calcula la proporción de las variaciones entre animales debidas a la genética frente al entorno. Muchas de las prácticas ganaderas implementadas en los sistemas ganaderos modernos se basan en la optimización del ambiente del animal para que pueda maximizar la expresión de su potencial genético para la producción. Lo que no se ha entendido demasiado, sin embargo, es que el ambiente no solo es importante después de que el animal haya nacido, sino que también mientras se está desarrollando en el útero.

Fue en la población humana donde se hicieron las primeras observaciones que indicaron que el ambiente en el útero tenía consecuencias que se extendían hasta la vida adulta. En particular, el análisis de los individuos que nacieron alrededor de la época de la hambruna holandesa en el invierno de 1944-1945 reveló un aumento en la incidencia de varias enfermedades durante la vida adulta, incluyendo intolerancia a la glucosa, enfermedad coronaria y obesidad (Roseboom et al., 2001, 2006). Desde estos informes iniciales, varios factores prenatales se han asociado al fenotipo adulto, incluyendo desnutrición y sobrealimentación, exposición a productos químicos tóxicos y señales endocrinas (Ganu et al., 2012; Rosenfeld, 2012; Walker and Ho, 2012). Los mecanismos responsables de la programación del desarrollo de la vida adulta no están bien establecidos, pero es posible que impliquen cambios en la función placentaria, la reprogramación del epigenoma y alteraciones en el desarrollo de órganos y tejidos.

El papel del ambiente prenatal para la función de cría se ha descuidado en gran medida por la ciencia animal y la comunidad veterinaria. Como resultado, probablemente estemos perdiendo oportunidades de mejorar la productividad de por vida a través de la manipulación dirigida de la hembra preñada. El objetivo de este trabajo es ilustrar el impacto potencial de la programación del desarrollo en la producción ganadera. Los ejemplos sirven como recordatorio de la importancia de considerar el entorno prenatal en los esfuerzos para optimizar la eficiencia de las operaciones del ganado lechero y de carne.

La Programación del Desarrollo Causada por la Nutrición Proteica Maternal Puede Afectar al Crecimiento Postnatal y la Reproducción

Investigadores en Australia han examinado el impacto de la nutrición proteica durante la gestación sobre el crecimiento prenatal y postnatal de la descendencia masculina y femenina (Micke et al., 2010a, 2010b, 2011). Utilizando un diseño factorial de 2 x 2, las novillas de carne preñadas fueron alimentadas con dietas que eran altas (240% de la ingesta recomendada) o bajas en proteína bruta (70% de la ingesta recomendada) durante el primer o el segundo trimestre de gestación.

No hubo ningún efecto de la dieta maternal en el primer trimestre sobre el peso del ternero al nacer, pero el crecimiento postnatal de vio afectado según su sexo. Para los terneros, aquellos que venían de las madres que habían recibido una dieta pobre en proteínas eran más pesados que aquellos que venían de madres con una dieta rica en proteínas. La tendencia opuesta se dio para las terneras. El área de sección transversal de los músculos *semitendinosus* y *longissimus dorsi* siguieron un patrón similar: la nutrición baja en proteínas de la madre estaba asociada con un tamaño mayor de los músculos en los machos, pero no en las hembras.

La programación del desarrollo causada por la nutrición proteica maternal durante el segundo trimestre fue distinta a la programación durante el primer trimestre. Los terneros de madres alimentadas con proteína baja en el segundo trimestre tuvieron pesos al nacer menores que los terneros de la dieta alta en proteína. Después de los 29 días de edad, no había ningún efecto del tratamiento en el peso corporal o, en general, en el crecimiento muscular. El área de sección transversal del *longissimus dorsi* en el matadero era mayor en la progenie de las madres con proteína baja aunque este efecto se eliminó cuando el área se ajustó al peso en canal.

Hay indicios de que la nutrición en proteínas maternal también puede afectar la fertilidad de las crías hembras. En concreto, Martin et al. (2007) descubrieron que las novillas nacidas de madres que recibieron un suplemento de proteínas tres veces a la semana eran más fértiles en su primera estación de cría que las novillas de las madres que no habían tenido el suplemento. Aunque la dieta materna no afectó al peso al nacer o a la edad de la pubertad, más novillas de las madres con suplemento se quedaron preñadas después del día 45 de la época de cría que novillas de las madres sin suplemento (Tabla 1). Las diferencias fueron especialmente pronunciadas al examinar el porcentaje de las novillas que se quedaron preñadas al principio de la época de cría (determinado por la evaluación del porcentaje de novillas que parieron en los primeros 21 días de la época de cría).

Tabla 1. Características de las novillas de carne según la ingesta de proteínas de sus madres durante el último trimestre de gestación (Martin et al., 2007).

Rasgo	Madres Control	Madres alimentadas con un suplemento de proteínas	SEM
Peso al nacer (kg)	35	36	1
Peso ajustado a los 205-días(kg)	218	226	7
Edad de pubertad (días)	334	339	10
Tasa de preñez después de la época de cría (%)	80	93*	
Novillas que parieron en los primeros 21 d de la época de parto (porcentaje de todas las novillas)	49	77**	

Efecto del tratamiento, *P=0,05, ** P=0,005

La Programación del Desarrollo Causada por la Ingesta Energética Maternal Puede Afectar la Función Ovárica Postnatal

Un determinante importante de la fertilidad en el ganado es el número de folículos ováricos captados en el conjunto de folículos en desarrollo durante una onda folicular. Esta característica, que normalmente se calcula como el número de folículos > 3 mm de diámetro (recuento de folículos antrales; RFA), es una propiedad sumamente repetible (r=0,95) de un animal individual (Burns et al., 2005). El RFA también se puede evaluar indirectamente, midiendo las concentraciones de la hormona antimulleriana (AMH) en sangre (Monniaux et al., 2010). El RFA es un índice importante porque está asociado a la respuesta de la superovulación (Monniaux et al., 2010) y porque hay evidencias de que el RFA está relacionado con la fertilidad en las vacas lecheras (Mossa et al., 2012).

Las razones de las diferencias inherentes en el RFA entre las vacas no se entienden bien. Es probable que haya un componente genético en la variación en el RFA entre las vacas (Santos-Biase et al., 2012). Por otra parte, un experimento reciente llevado a cabo en Irlanda indica la importancia del ambiente nutricional durante el principio y a la mitad de la gestación para el establecimiento del RFA en las crías (Mossa et al., 2013). Las novillas de carne fueron alimentadas individualmente con una dieta que les proporcionaba 1,2 ó 0,6 veces los requerimientos de energía para el mantenimiento desde 11 días antes de la inseminación hasta el Día 110 de gestación. Las características de las terneras resultantes fueron monitoreadas hasta 94 semanas de edad.

Alimentar con una dieta baja en energía no redujo el peso de las terneras o las placentas al nacer (Tabla 2). Aunque las novillas nacidas de las vacas subalimentadas no sufrieron un retraso de la pubertad, el RFA fue permanentemente más bajo en las terneras nacidas de madres subalimentadas. Además de la reducción en el RFA como determinan las ecografías de las 7-86 semanas de edad, el número de folículos antrales visibles en el ovario en el matadero a las 95 semanas de edad fue menor en las novillas de madres subalimentadas (Tabla 2). Las concentraciones en plasma de la AMH también fueron más bajas en las novillas de madres subalimentadas.

Tabla 2. Características de las novillas según la ingesta de energía de sus madres desde 11 días antes de la inseminación hasta los 110 días de gestación (Mossa et al., 2013).

Rasgo	Madres Control	Madres subalimentadas
Peso al nacer (kg)	40,5 ± 1,0	39,5 ± 2,0
Peso de la placenta al nacer (kg)	5,6 ± 0,6	5,3 ± 0,5
Edad de pubertad (semanas)	95 ± 0,2	95 ± 0,2
Media del recuento de folículos antrales, 86 semanas de edad	23,6 ± 19,9	15,8 ± 1,8*
Folículos antrales visibles en el matadero, 95 semanas de edad	47 ± 5	32 ± 6*

* Efecto del tratamiento, P<0,05

Además de la alteración en el RFA, las novillas de madres subalimentadas tenían elevada la presión sistólica, diastólica y arterial media desde la semana 20 de edad hasta la 85.

Los Efectos Remanentes del Estrés por Calor Durante el Final de la Gestación en la Madre y sus Crías

Desde hace tiempo se sabe que el estrés por calor en la madre puede comprometer la función de la placenta y el peso al nacer. En el ganado lechero, el enfriamiento de las vacas durante las últimas semanas del periodo seco durante el estrés por calor puede tener efectos significativos en el rendimiento lechero en la siguiente lactación (Figura 1).

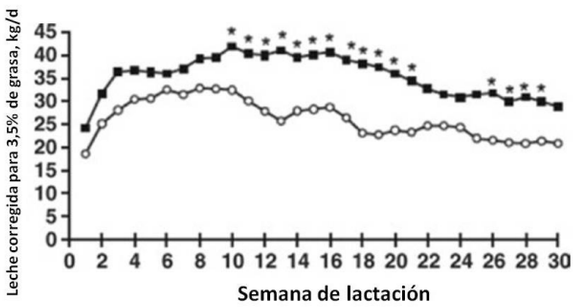


Figura 1. Efecto de refrescar a las vacas durante el periodo seco (desde los 46 días anteriores al parto esperado) sobre la producción lechera posterior. En el eje Y se muestra la producción de leche corregida por grasa al 3,5%. La línea con los círculos rellenos representa a las vacas que fueron enfriadas al estar alojadas en un establo de estabulación libre con ventiladores y aspersores durante el periodo seco; y la línea con los círculos vacíos representa a las vacas que fueron alojadas en establos de estabulación libre sin ventiladores ni aspersores. Los asteriscos indican las diferencias significativas entre los grupos. Los datos son de do Amaral et al. (2009).

Las consecuencias del estrés por calor en la madre en el ternero resultante están siendo estudiadas ahora por Geoff Dahl y sus colegas en la Universidad de Florida. Han estudiado los efectos a largo plazo del enfriamiento de las madres sobre la posterior

fisiología de los terneros Holstein nacidos durante el verano y el otoño. Los terneros venían de madres que, o bien, habían sido enfriadas, o no lo habían sido, empezando en el secado a los 45 días anteriores al parto esperado. La refrigeración se conseguía colocando a las vacas secas en establos de estabulación libre con ventiladores y aspersores. Las vacas no enfriadas también estaban en establos de estabulación libre, pero no tenían ningún tipo de refrigeración adicional.

En dos estudios publicados (Tao et al., 2012, 2014), los terneros nacidos de madres con estrés por calor tenían pesos más bajos al nacer que los terneros de las madres del grupo control. Esta diferencia se mantenía en el destete en uno de los estudios; pero no en el otro (Tabla 3). También había evidencia de que el estrés por calor en el útero comprometía la absorción de IgG (los terneros con estrés por calor tenían concentraciones más bajas de IgG en suero a pesar de la ausencia de diferencias en el contenido de IgG del calostro), reducía la capacidad de respuesta de los linfocitos (según lo medido en las pruebas in vitro de proliferación de linfocitos) y aumentaba la capacidad de respuesta de la insulina (según lo medido por la reducción inducida por la insulina en las concentraciones de glucosa en plasma).

Tabla 3. Características de los terneros según el nivel de estrés por calor experimentado por sus madres durante los 45 días anteriores al parto esperado.

Rasgo	Madres enfriadas	Madres con estrés por calor	SEM
Experimento 1 (Tao et al., 2012)[a]			
Peso al nacer (kg)	42,5	36,5	1,2**
Peso al destete (kg)	78,5	65,9	4,0*
Peso, 3-7 meses de edad, kg	154,6	146,4	4,5
IgG del calostro en el calostro (mg/dL)	7727	8681	726
IgG en suero, del nacimiento a los 28 d (mg/dL)	1577	1058	149*
Proliferación de linfocitos, veces la inicial	23,8	14,1	4,5†
Experimento 2 (Tao et al., 2014)[b]			
Peso al nacer (kg)	45,0	40,2	1,4*
Peso al destete a los 49 días (kg)	71,3	68,2	3,3
Prueba de la insulina, 55 días de edad, área de glucosa bajo la curva, 30 minutos (mg x min/dL)	-505	-648	41*

[a] Novillas (n=17/tratamiento)

[b] n=6 terneros y 4 novillas para el control y 5 terneros y 5 novillas para el estrés por calor

Efecto del tratamiento, † P=0,05; *P<0,05; ** P<0,01

Datos recientes no publicados del grupo de Dahl (Monteiro et al., sin publicar) indican que la producción lechera en la primera lactación fue un 15-17% menor para las vacas nacidas de madres estresadas por calor que para las vacas nacidas de madres enfriadas. Por tanto, una herramienta relativamente simple de manejo (proporcionar refrigeración durante el periodo seco) no solo puede aumentar la producción lechera de la vaca (Figura 1) sino que tiene efectos positivos en la producción lechera de la siguiente generación.

Programación del Desarrollo durante el Periodo de Preimplantación

Experimentos con modelos no bovinos han revelado que los cambios en el ambiente maternal pueden afectar la posterior fisiología y salud de la descendencia incluso en el periodo de preimplantación cuando el embrión se desarrolla desde el cigoto hasta las etapas de blástula. En ratones y ratas, los efectos de proporcionar una dieta pobre en proteínas durante el periodo de desarrollo preimplantacional sobre la biología postnatal dependían del sexo. Por ejemplo, los ratones hembra nacidos de madres alimentadas con una dieta baja en proteínas durante los primeros 3,5 días de gestación eran más pesadas al nacer y durante todo el primer año de vida y, de adultas, tenían puntuaciones de comportamiento alteradas, mayor presión sanguínea y menor ratio del peso corazón-cuerpo (Watkins et al., 2008, 2011). Estas variables no se vieron afectadas en los machos. Por el contrario, los machos adultos nacidos de madres alimentadas con una dieta baja en grasas durante el periodo de preimplantación, pero no las hembras, tenían una expresión reducida del gen para la proteína desacoplante 1 en grasa retroperitoneal (Watkins et al., 2011) y una elevada enzima convertidora de angiotensina en el pulmón (Watkins et al., 2010). En ovejas, proporcionar una dieta deficiente en cobalto y azufre para interrumpir la disponibilidad de ácido fólico, vitamina B12 y metionina desde 8 semanas antes del apareamiento hasta 6 días después del apareamiento aumentaba el peso adulto y el engrasamiento en la descendencia de ambos sexos, causaba resistencia a la insulina en ambos sexos, siendo más afectados los machos que las hembras, y causaba hipertensión solo en los descendientes machos (Sinclair et al., 2007).

No se sabe si las alteraciones en el ambiente materno durante el periodo de preimplantación reprograman el desarrollo del embrión bovino. No obstante, está claro que la perturbación del ambiente del embrión durante su desarrollo temprano puede tener consecuencias que se extiendan hasta su vida postnatal. En concreto, los embriones producidos in vitro y que se desarrollan en un medio de cultivo durante los primeros siete días de vida tienen una mayor probabilidad de convertirse en terneros con anomalías del desarrollo (Farin et al., 2006). Los efectos de una programación aberrante del desarrollo durante el periodo de preimplantación pueden ser considerables. En un experimento, el 22% de los terneros nacidos como resultado de la fertilización in vitro murió dentro de los 20 días de vida, frente al 4,5% de los terneros nacidos como resultado de la inseminación artificial (Bonilla et al., 2014).

Conclusión

Este trabajo representa un muestreo del abanico de posibles consecuencias de la programación del desarrollo para la producción ganadera. Obviamente, se necesita más trabajo para identificar los aspectos de la fisiología de la hembra preñada que causan los cambios a largo plazo en su descendencia. Llevarlo a cabo generará nuevas oportunidades para maximizar el potencial genético de un animal para la producción.

Referencias

1. Bonilla L, Block J, Denicol AC, Hansen PJ. Consequences of transfer of an in vitro-produced embryo for the dam and resultant calf. J Dairy Sci 2014;97:229-239.

2. Burns DS, Jimenez-Krassel F, Ireland JL, Knight PG, Ireland JJ. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. Biol Reprod 2005;73:54-62.
3. do Amaral BC, Conner EE, Tao S, Hayen J, Bubolz J, Dahl GE. Heat-stress abatement during the dry period: does cooling improve transition into lactation? J Dairy Sci 2009; 92:5988-5999.
4. Farin PW, Piedrahita JA, Farin CE. Errors in development of fetuses and placentas from in vitro-produced bovine embryos. Theriogenology 2006; 65:178-191.
5. Ganu RS, Harris RA, Collins K, Aagaard KM. Early origins of adult disease: approaches for investigating the programmable epigenome in humans, nonhuman primates, and rodents. ILAR J 2012;53:306-321.
6. Martin JL, Vonnahme KA, Adams DC, Lardy GP, Funston RN. Effects of dam nutrition on growth and reproductive performance of heifer calves. J Anim Sci 2007;85:841-847.
7. Micke GC, Sullivan TM, Soares Magalhaes RJ, Rolls PJ, Norman ST, Perry VE. Heifer nutrition during early- and mid-pregnancy alters fetal growth trajectory and birth weight. Anim Reprod Sci 2010a;117:1-10.
8. Micke GC, Sullivan TM, Gatford KL, Owens JA, Perry VE. Nutrient intake in the bovine during early and mid-gestation causes sex-specific changes in progeny plasma IGF-I, liveweight, height and carcass traits. Anim Reprod Sci 2010b;121:208-217.
9. Micke GC, Sullivan TM, McMillen IC, Gentili S, Perry VE. Protein intake during gestation affects postnatal bovine skeletal muscle growth and relative expression of IGF1, IGF1R, IGF2 and IGF2R. Mol Cell Endocrinol 2011;332:234-241.
10. Monniaux D, Barbey S, Rico C, Fabre S, Gallard Y, Larroque H. Anti-Müllerian hormone: a predictive marker of embryo production in cattle? Reprod Fertil Dev. 2010;22:1083-1091.
11. Mossa F, Walsh SW, Butler ST, Berry DP, Carter F, Lonergan P, Smith GW, Ireland JJ, Evans AC. Low numbers of ovarian follicles ≥3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. J Dairy Sci 2012; 95:2355-2361.
12. Mossa F, Carter F, Walsh SW, Kenny DA, Smith GW, Ireland JL, Hildebrandt TB, Lonergan P, Ireland JJ, Evans AC. Maternal undernutrition in cows impairs ovarian and cardiovascular systems in their offspring. Biol Reprod 2013;88:92.
13. Roseboom TJ, van der Meulen JH, Ravelli AC, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP. Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in later life: an overview. Mol Cell Endocrinol 2001;185:93-98.
14. Roseboom T, de Rooij S, Painter R. The Dutch famine and its long-term consequences for adult health. Early Human Dev 2006; 82: 485-491.
15. Rosenfeld CS. Effects of maternal diet and exposure to bisphenol A on sexually dimorphic responses in conceptuses and offspring. Reprod Domest Anim 2012;47 Suppl 4:23-30.
16. Santos-Biase WK, Biase FH, Buratini J Jr, Balieiro J, Watanabe YF, Accorsi MF, Ferreira CR, Stranieri P, Caetano AR, Meirelles FV. Single nucleotide polymorphisms in the bovine genome are associated with the number of oocytes collected during ovum pick up. Anim Reprod Sci 2012;134:141-149.
17. Sinclair KD, Allegrucci C, Singh R, Gardner DS, Sebastian S, Bispham J, Thurston A, Huntley JF, Rees WD, Maloney CA, Lea RG, Craigon J, McEvoy TG, Young LE. DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104:19351-19356.
18. Tao S, Monteiro AP, Thompson IM, Hayen MJ, Dahl GE. Effect of late-gestation maternal heat stress on growth and immune function of dairy calves. J Dairy Sci 2012;95:7128-7136.
19. Tao S, Monteiro AP, Hayen MJ, Dahl GE. Short communication: Maternal heat stress during the dry period alters postnatal whole-body insulin response of calves. J Dairy Sci 2014;97:897-901.
20. Walker CL, Ho SM. Developmental reprogramming of cancer susceptibility. Nat Rev Cancer 2012;12:479-486.
21. Watkins AJ, Lucas ES, Torrens C, Cleal JK, Green L, Osmond C, Eckert JJ, Gray WP, Hanson MA, Fleming TP. Maternal low-protein diet during mouse pre-implantation development induces vascular dysfunction and altered renin-angiotensin-system homeostasis in the offspring. Br J Nutr 2010;103:1762-1770.
22. Watkins AJ, Lucas ES, Wilkins A, Cagampang FR, Fleming TP. Maternal periconceptional and gestational low protein diet affects mouse offspring growth, cardiovascular and adipose phenotype at 1 year of age. PLoS One 2011;6:e28745.
23. Watkins AJ, Ursell E, Panton R, Papenbrock T, Hollis L, Cunningham C, Wilkins A, Perry VH, Sheth B, Kwong WY, Eckert JJ, Wild AE, Hanson MA, Osmond C, Fleming TP. Adaptive responses by mouse early embryos to maternal diet protect fetal growth but predispose to adult onset disease. Biol Reprod 2008;78:299-306.

ENGLISH VERSION ▼

Developmental programming and its consequences for cattle production

Peter J. Hansen
Department of Animal Sciences, University of Florida

Developmental Origins of Postnatal Life

One of the hallmarks of modern dairy and beef systems has been the selection of genes that confer superior milk production, growth rate, feed efficiency, fertility and other traits. The expression of these genes and resultant productivity depends upon the environment in which the organism lives. This concept has long been encapsulated in the idea of heritability, which estimates the proportion of variation between animals that is due to genetics vs environment. Many of the husbandry practices implemented in modern animal agricultural systems are based on optimization of the animal's environment so it can maximize expression of its genetic potential for production. What has not been widely understood, however, is that environment is not only important after the animal is born but also while it is developing *in utero*.

It was in the human population that the first observations were made that indicated that environment in utero has consequences that extend into adult life. In particular, analysis of individuals who were born around the time of the Dutch famine in the winter of 1944-1945 revealed increased incidence of several diseases during adult life including glucose intolerance, coronary heart dis-

ease, and obesity (Roseboom et al., 2001, 2006). Since these initial reports, several prenatal factors have been associated with adult phenotype including under- and overnutrition, exposure to toxic chemicals and endocrine signals (Ganu et al., 2012; Rosenfeld, 2012; Walker and Ho, 2012). The mechanisms responsible for developmental programming of adult life are not well established but are likely to involve changes in placental function, reprogramming of the epigenome and alterations in organ and tissue development.

The role of prenatal environment for function of the offspring has been largely neglected by the animal science and veterinary community. As a result, we are probably missing opportunities to improve lifetime productivity through targeted manipulation of the pregnant female. The purpose of this paper is to illustrate the potential impact of developmental programming on cattle production. The examples serve as reminders of the importance of considering prenatal environment in efforts to optimize efficiency of beef and dairy cattle operations.

Developmental Programming Caused by Maternal Protein Nutrition Can Affect Postnatal Growth and Reproduction

Researchers in Australia have examined the impact of protein nutrition during pregnancy on prenatal and postnatal growth of male and female offspring (Micke et al., 2010a, 2010b, 2011). Using a 2 x 2 factorial design, pregnant beef heifers were fed diets that were either high (240% of recommended intake) or low in crude protein (70% of recommended intake) during the first or second trimesters of gestation.

There was no effect of maternal diet in the first trimester on calf birth weight but postnatal growth was affected in a gender-specific manner. For male offspring, those that were derived from dams receiving a low protein diet were heavier than those from dams fed a high protein diet. The opposite trend was apparent for female offspring. Cross-sectional area of the *semitendinosus* and *longissimus dorsi* muscles followed a similar pattern: low protein nutrition of the dam was associated with larger muscle size for males but not for females.

Developmental programming caused by maternal protein nutrition during the second trimester was different than for programming during the first trimester. Calves from mothers fed a low protein in the second trimester had lower birth weights than calves fed a high protein diet. After 29 days of age, there was no effect of treatment on body weight or, in general, on muscle growth. Cross-sectional area of *longissimus dorsi* at slaughter was increased for male and female progeny from low protein dams although this effect was removed when area was adjusted for carcass weight.

There are indications that maternal protein nutrition can also affect the fertility of female offspring. Specifically, Martin et al. (2007) found that heifers born from dams that received a protein supplement three times per week were more fertile in their first breeding season than heifers from dams that were not supplemented. While maternal diet did not affect birth weight or age at puberty, more heifers from supplemented dams became pregnant after a 45 day breeding season than heifers from non-supplemented dams (Table 1). Differences were particularly pronounced when examining the percent of heifers that became pregnant early in the breeding season (determined by assessment of the percent of heifers that calved in the first 21 days of the breeding season).

Table 1. Characteristics of beef heifers as affected by protein intake of their dams during the last trimester of gestation (Martin et al., 2007).

Trait	Control dams	Dams fed protein supplement	SEM
Birth weight (kg)	35	36	1
Adjusted 205-day weight(kg)	218	226	7
Age at puberty (days)	334	339	10
Pregnancy rate after breeding season (%)	80	93*	
Heifers that calved in the first 21 d of calving season (percent of all heifers)	49	77**	

Treatment effect, *P=0.05, ** P=0.005

Developmental Programming Caused by Maternal Energy Intake Can Affect Postnatal Ovarian Function

An important determinant of fertility in cattle is the number of ovarian follicles recruited into the growing pool during a follicular wave. This characteristic, which is usually estimate as the number of follicles > 3 mm in diameter (antral follicle count; AFC), is a highly repeatable (r=0.95) property of an individual animal (Burns et al., 2005). The AFC can also be assessed indirectly by measuring concentrations of antimullerian hormone (AMH) in the blood (Monniaux et al., 2010). The AFC is an important trait because it is associated with superovulation response (Monniaux et al., 2010) and because there is evidence that AFC is related to fertility in dairy cows (Mossa et al., 2012).

Reasons for inherent differences in AFC between cows are not well understood. There is likely to be a genetic component to the variation in AFC between cows (Santos-Biase et al., 2012). In addition, a recent experiment conducted in Ireland indicates the importance of nutritional environment during early- and mid-gestation for establishment of AFC in the offspring (Mossa et al., 2013). Beef heifers were individually fed a diet that provided either 1.2 or 0.6 times the energy requirements for maintenance from 11 days before insemination until Day 110 of gestation. Characteristics of the resultant heifer calves were monitored until 94 weeks of age.

Feeding a low-energy diet did not reduce calf or placental weight at birth (Table 2). While heifers born from undernourished cows did not experience a delay in puberty, the AFC was permanently reduced in heifers born from dams that were undernourished. In addition to a reduction in AFC as determined by ultrasound from 7-86 weeks of age, the number of visible antral follicles on the ovary at slaughter at 95 weeks of age was lower in heifers from underfed dams (Table 2). Plasma concentrations of AMH were also lower in heifers from underfed dams.

Table 2. Characteristics of heifers as affected by energy intake of their dams from 11 days before insemination to 110 days of gestation (Mossa et al., 2013).

Trait	Control dams	Underfed dams
Birth weight (kg)	40.5 $\pm$ 1.0	39.5 $\pm$ 2.0
Placental weight at birth (kg)	5.6 $\pm$ 0.6	5.3 $\pm$ 0.5
Age at puberty (weeks)	95 $\pm$ 0.2	95 $\pm$ 0.2
Mean antral follicle count, 86 weeks of age	23.6 $\pm$ 19.9	15.8 $\pm$ 1.8*
Visible antral follicles at slaughter, 95 weeks of age	47 $\pm$ 5	32 $\pm$ 6*

* Treatment effect, P<0.05

In addition to altered AFC, heifers from underfed dams had increased systolic, diastolic and mean arterial blood pressure from 20 to 85 weeks of age.

Carryover Effects of Heat Stress During Late Gestation on the Dam and Offspring

It has long been known that maternal heat stress can compromise placental function and birth weight. In dairy cattle, cooling cows during the last several weeks of the dry period during heat stress can have significant effects on milk yield in the subsequent lactation (Figure 1).

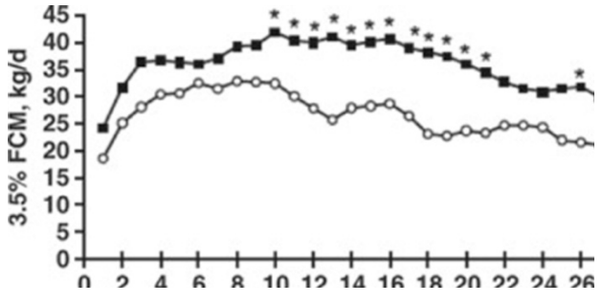


Figure 1. Effect of cooling cows during the dry period (from 46 days before expected calving) on subsequent milk yield. Shown on the y-axis is 3.5% fat-corrected milk yield. The line with solid circles represents cows that were cooled by being housed in a freestall barn with fans and sprinklers during the dry period and the line with open circles represents cows that were housed in a freestall barn without fans and sprinklers. The asterisks indicate significant differences between groups. Data are from do Amaral et al. (2009).

The consequences of maternal heat stress for the resulting calf are now being studied by Geoff Dahl and colleagues at the University of Florida. They have studied the long-term effects of maternal cooling on subsequent physiology of Holstein calves born during the summer and autumn. Calves were from dams that had either been cooled or not beginning at dry-off at 45 days before expected calving. Cooling was achieved by placing dry cows in freestall barns with fans and sprinklers. Non-cooled cows were also in freestall barns but without additional cooling.

In two published studies (Tao et al., 2012, 2014), calves born from heat-stressed dams had lower birth weights than calves from control dams. This difference persisted to weaning in one study but not in the other (Table 3). There was also evidence that heat stress *in utero* compromised IgG absorption (heat-stressed calves had lower serum IgG concentrations despite a lack of difference in colostral IgG content), reduced lymphocyte responsiveness (as measured by in vitro tests of lymphocyte proliferation) and enhanced insulin responsiveness (as measured by insulin-induced reduction in plasma glucose concentrations).

Table 3. Characteristics of calves as affected by level of heat stress experienced by their dams during the 45 days before expected calving.

Trait	Cooled dams	Heat-stressed dams	SEM
Experiment 1 (Tao et al., 2012)[a]			
Birth weight (kg)	42.5	36.5	1.2**
Weaning weight (kg)	78.5	65.9	4.0*
Weight, 3-7 mo of age, kg	154.6	146.4	4.5
Colostral IgG in colostrum (mg/dL)	7727	8681	726
Serum IgG, birth to 28 d (mg/dL)	1577	1058	149*
Lymphocyte proliferation, fold-change	23.8	14.1	4.5†
Experiment 2 (Tao et al., 2014)[b]			
Birth weight (kg)	45.0	40.2	1.4*
Weaning weight at 49 days (kg)	71.3	68.2	3.3
Insulin challenge, 55 days of age, glucose area under the curve, 30 minutes (mg x min/dL)	-505	-648	41*

[a] Heifers (n=17/treatment)

[b] n=6 bulls and 4 heifers for control and 5 bulls and 5 heifers for heat stress

Treatment effect, † P=0.05; *P<0.05; ** P<0.01

Recent unpublished data from the Dahl group (Monteiro et al., unpublished) indicates that milk yield in the first lactation was 15-17% less for cows born to heat stressed mothers than cows born to cooled mothers. Thus, a relatively simple management tool (providing cooling during the dry period) can not only enhance milk yield of the cow (Figure 1) but have positive effects on milk yield in the next generation.

Developmental Programming during the Preimplantation Period

Experiments with non-bovine models have revealed that changes in the maternal environment can affect subsequent physiology and health of the offspring even during the preimplantation period when the embryo develops from the zygote to blastocyst stages. In mice and rats, effects of feeding a low-protein diet during the period of preimplantation development on postnatal biology depended upon sex. For example, female mice born from mothers fed a low protein diet for the first 3.5 days of gestation were heavier at birth and throughout the first year of life and, as adults, had altered behavioral scores, increased blood pressure, and reduced heart to body weight ratio (Watkins et al., 2008, 2011). These variables were not affected in males. Conversely, adult males born from mothers fed a low fat diet during the preimplantation period, but not females, had reduced expression of the gene for uncoupling protein 1 in retroperitoneal fat (Watkins et al., 2011) and elevated lung angiotensin-converting enzyme (Watkins et al., 2010). In sheep, feeding a diet deficient in cobalt and sulfur to disrupt folic acid, vitamin B12 and methionine availability from 8 weeks before mating to 6 days after mating increased adult weight and fatness in offspring of both sexes, caused insulin resistance in both sexes, with males affected more than females, and caused hypertension in male offspring only (Sinclair et al., 2007).

It is not known whether alterations in maternal environment during the preimplantation period reprogram development of the bo-

vine embryo. It is clear, though, that perturbation of the embryo's environment during early development can have consequences that extend into postnatal life. In particular, embryos produced in vitro and that develop in culture medium for the first seven days of life have an increased probability of developing into a calf with developmental abnormalities (Farin et al., 2006). The effects of aberrant developmental programing during the preimplantation period can be large. In one experiment, 22% of calves born as a result of in vitro fertilization died within 20 days of life vs 4.5% of calves born as a result of artificial insemination (Bonilla et al., 2014).

Conclusion

This paper represents a sampling of the range of possible consequences of developmental programming for cattle production. Clearly, more work is needed to identify aspects of physiology of the pregnant female that cause long-term changes in its offspring. Doing so will generate new opportunities to maximize an animal's genetic potential for production.

References

1. Bonilla L, Block J, Denicol AC, Hansen PJ. Consequences of transfer of an in vitro-produced embryo for the dam and resultant calf. J Dairy Sci 2014;97:229-239.
2. Burns DS, Jimenez-Krassel F, Ireland JL, Knight PG, Ireland JJ. Numbers of antral follicles during follicular waves in cattle: evidence for high variation among animals, very high repeatability in individuals, and an inverse association with serum follicle-stimulating hormone concentrations. Biol Reprod 2005;73:54-62.
3. do Amaral BC, Conner EE, Tao S, Hayen J, Bubolz J, Dahl GE. Heat-stress abatement during the dry period: does cooling improve transition into lactation? J Dairy Sci 2009; 92:5988-5999.
4. Farin PW, Piedrahita JA, Farin CE. Errors in development of fetuses and placentas from in vitro-produced bovine embryos. Theriogenology 2006; 65:178-191.
5. Ganu RS, Harris RA, Collins K, Aagaard KM. Early origins of adult disease: approaches for investigating the programmable epigenome in humans, nonhuman primates, and rodents. ILAR J 2012;53:306-321.
6. Martin JL, Vonnahme KA, Adams DC, Lardy GP, Funston RN. Effects of dam nutrition on growth and reproductive performance of heifer calves. J Anim Sci 2007;85:841-847.
7. Micke GC, Sullivan TM, Soares Magalhaes RJ, Rolls PJ, Norman ST, Perry VE. Heifer nutrition during early- and mid-pregnancy alters fetal growth trajectory and birth weight. Anim Reprod Sci 2010a;117:1-10.
8. Micke GC, Sullivan TM, Gatford KL, Owens JA, Perry VE. Nutrient intake in the bovine during early and mid-gestation causes sex-specific changes in progeny plasma IGF-I, liveweight, height and carcass traits. Anim Reprod Sci 2010b;121:208-217.
9. Micke GC, Sullivan TM, McMillen IC, Gentili S, Perry VE. Protein intake during gestation affects postnatal bovine skeletal muscle growth and relative expression of IGF1, IGF1R, IGF2 and IGF2R. Mol Cell Endocrinol 2011;332:234-241.
10. Monniaux D, Barbey S, Rico C, Fabre S, Gallard Y, Larroque H. Anti-Müllerian hormone: a predictive marker of embryo production in cattle? Reprod Fertil Dev. 2010;22:1083-1091.
11. Mossa F, Walsh SW, Butler ST, Berry DP, Carter F, Lonergan P, Smith GW, Ireland JJ, Evans AC. Low numbers of ovarian follicles ≥3 mm in diameter are associated with low fertility in dairy cows. J Dairy Sci 2012; 95:2355-2361.
12. Mossa F, Carter F, Walsh SW, Kenny DA, Smith GW, Ireland JL, Hildebrandt TB, Lonergan P, Ireland JJ, Evans AC. Maternal undernutrition in cows impairs ovarian and cardiovascular systems in their offspring. Biol Reprod 2013;88:92.
13. Roseboom TJ, van der Meulen JH, Ravelli AC, Osmond C, Barker DJ, Bleker OP. Effects of prenatal exposure to the Dutch famine on adult disease in later life: an overview. Mol Cell Endocrinol 2001;185:93-98.
14. Roseboom T, de Rooij S, Painter R. The Dutch famine and its long-term consequences for adult health. Early Human Dev 2006; 82: 485-491.
15. Rosenfeld CS. Effects of maternal diet and exposure to bisphenol A on sexually dimorphic responses in conceptuses and offspring. Reprod Domest Anim 2012;47 Suppl 4:23-30.
16. Santos-Biase WK, Biase FH, Buratini J Jr, Balieiro J, Watanabe YF, Accorsi MF, Ferreira CR, Stranieri P, Caetano AR, Meirelles FV. Single nucleotide polymorphisms in the bovine genome are associated with the number of oocytes collected during ovum pick up. Anim Reprod Sci 2012;134:141-149.
17. Sinclair KD, Allegrucci C, Singh R, Gardner DS, Sebastian S, Bispham J, Thurston A, Huntley JF, Rees WD, Maloney CA, Lea RG, Craigon J, McEvoy TG, Young LE. DNA methylation, insulin resistance, and blood pressure in offspring determined by maternal periconceptional B vitamin and methionine status. Proc Natl Acad Sci USA 2007;104:19351-19356.
18. Tao S, Monteiro AP, Thompson IM, Hayen MJ, Dahl GE. Effect of late-gestation maternal heat stress on growth and immune function of dairy calves. J Dairy Sci 2012;95:7128-7136.
19. Tao S, Monteiro AP, Hayen MJ, Dahl GE. Short communication: Maternal heat stress during the dry period alters postnatal whole-body insulin response of calves. J Dairy Sci 2014;97:897-901.
20. Walker CL, Ho SM. Developmental reprogramming of cancer susceptibility. Nat Rev Cancer 2012;12:479-486.
21. Watkins AJ, Lucas ES, Torrens C, Cleal JK, Green L, Osmond C, Eckert JJ, Gray WP, Hanson MA, Fleming TP. Maternal low-protein diet during mouse pre-implantation development induces vascular dysfunction and altered renin-angiotensin-system homeostasis in the offspring. Br J Nutr 2010;103:1762-1770.
22. Watkins AJ, Lucas ES, Wilkins A, Cagampang FR, Fleming TP. Maternal periconceptional and gestational low protein diet affects mouse offspring growth, cardiovascular and adipose phenotype at 1 year of age. PLoS One 2011;6:e28745.
23. Watkins AJ, Ursell E, Panton R, Papenbrock T, Hollis L, Cunningham C, Wilkins A, Perry VH, Sheth B, Kwong WY, Eckert JJ, Wild AE, Hanson MA, Osmond C, Fleming TP. Adaptive responses by mouse early embryos to maternal diet protect fetal growth but predispose to adult onset disease. Biol Reprod 2008;78:299-306.

CALIDAD DE LECHE Y MASTITIS

INMUNIDAD DE LA GLÁNDULA MAMARIA Y SUSCEPTIBILIDAD DE MAMITIS

Lorraine M. Sordillo
College of Veterinary Medicine
Michigan State University
East Lansing, MI, USA

1. Introducción

La capacidad de las vacas para resistir el establecimiento de la mamitis está relacionada, en parte, con la eficiencia de su sistema inmune. Sin embargo, muchos aspectos de las defensas mamarias bovinas innatas y adquiridas no son óptimos en el periodo de transición lo que contribuye al aumento de la gravedad y la duración de la mamitis (Aitken et al., 2011). Los problemas de salud que se dan durante este tiempo pueden afectar en gran medida la eficiencia productiva del ganado lechero en la siguiente lactación. Por tanto, no es sorprendente que esfuerzos considerables de investigación se hayan centrado en definir cómo las defensas del huésped cambian como consecuencia del ciclo de lactación y en comprender esos factores que pueden llevar a la disfunción inmune durante este periodo crítico (Sordillo y Streicher, 2002, Aitken et al., 2011). El sistema inmunitario consta de una variedad de componentes y procesos biológicos que sirven para proteger a las vacas lecheras de los patógenos causantes de la mamitis. Las funciones primarias del sistema inmune mamario son prevenir la invasión microbiana de la ubre, eliminar las infecciones existentes y otras fuentes de lesión celular, y recuperar la función normal de los tejidos hasta su función normal. En las vacas, el sistema inmunológico utiliza una red multifacética de factores físicos, celulares y solubles para facilitar la defensa frente a una gran variedad de desafíos microbianos. Este sistema integrado de mecanismos de defensa está muy regulado para mantener un delicado equilibrio entre la activación de la inmunidad necesaria para prevenir el establecimiento de enfermedades y la resolución de la actividad una vez que la amenaza de invasión ha pasado. Este trabajo ofrecerá una breve visión general del sistema inmune mamario, describirá cómo unas respuestas inmunológicas subóptimas pueden fracasar a la hora de prevenir la mamitis y señalará las estrategias actuales para optimizar las respuestas inmunes de las vacas lecheras durante las épocas de mayor susceptibilidad a la enfermedad.

2 Visión General del Sistema Inmune

El sistema inmunitario de la glándula mamaria utiliza una red compleja y dinámica de mecanismos de defensa que se pueden separar convenientemente en dos categorías distintas: inmunidad innata e inmunidad adaptativa o adquirida (Tabla 1). Tanto dentro de la inmunidad innata como de la adaptativa, los mecanismos de defensa se pueden clasificar en barreras físicas, inmunidad mediada por células, e inmunidad soluble o humoral.

2.1 Inmunidad Innata. El sistema inmune innato es el mecanismo de defensa del huésped dominante en la glándula mamaria. La inmunidad innata incluye los componentes no específicos del sistema inmunitario que pueden responder a los microbios infecciosos de manera genérica. Los componentes de la inmunidad innata constituyen la primera línea de defensa contra los patógenos invasores, puesto que ya están presentes o se activan rápidamente en el lugar de la exposición. Dependiendo de la eficiencia de las defensas innatas, los microbios pueden ser eliminados en cuestión de minutos o de horas después de la invasión. Esta línea inicial de defensa puede ser tan rápida y eficiente que puede no haber cambios notables en la cantidad o calidad de la leche como consecuencia de la invasión microbiana intentada. Debido a su naturaleza no específica, sin embargo, los mecanismos inmunitarios innatos no aumentan por la exposición repetida a la misma agresión. Los componentes del sistema inmune innato incluyen barreras físicas y mecánicas de la punta del pezón, fagocitos, y varios mediadores solubles (Tabla 2).

Tabla 1. Categorías del Sistema Inmune

Inmunidad Innata	Inmunidad Adaptativa
Respuesta no-específica o genérica	Respuesta específica al antígeno
Inmediata después de la exposición (min)	Retardada después de la exposición (días)
Barreras físicas y mecánicas	No tiene barreras físicas/ mecánicas
Factores celulares y solubles	Factores celulares y solubles
No tiene memoria inmunológica	Memoria inmunológica
Inflamación	Respuesta de anticuerpos (vacunas)

Como los patógenos tienen que conseguir entrar en la glándula mamaria para causar la mamitis, la punta del pezón es considerada la primera línea de defensa localizada contra las bacterias invasoras. La punta del pezón tiene músculos esfínter que rodean la abertura de la punta del pezón y mantienen un cierre hermético entre ordeños para dificultar la entrada de bacterias. El conducto mamario también está recubierto de queratina que deriva del tejido epitelial de revestimiento. La acumulación de queratina puede proporcionar una obstrucción física para las bacterias, sobre todo durante el periodo no lactante cuando el conducto puede estar completamente ocluido (Sordillo y Aitken, 2011). Los componentes lipídicos de la queratina también contienen factores antibacterianos en forma de ácidos grasos bacteriostáticos y bactericidas. En general, las bacterias gram-positivas son más susceptibles que las bacterias gram-negativas a los efectos bacteriostáticos y bactericidas de la queratina. Mientras que los mecanismos propuestos para la actividad antibacteriana de la queratina son todavía objeto de debate, hay evidencia para sug-

erir que los ácidos grasos de cadena larga alteran las membranas lipídicas de las bacterias, dando lugar a la perforación de la célula bacteriana. Las diferencias en la composición de las paredes celulares de las bacterias gram-positivas y gram-negativas pueden explicar los efectos antibacterianos diferenciados de la queratina con respecto de las especies bacterianas. A través de varios mecanismos, la punta del pezón puede impedir la entrada de los patógenos causantes de la mamitis e inhibir la mayor parte del crecimiento bacteriano. No obstante, el aumento de permeabilidad de los músculos lisos en la punta del pezón y la eliminación del revestimiento de queratina están relacionados directamente a una mayor incidencia de mamitis (Sordillo y Aitken, 2011).

Tabla 2. Componentes de la Inmunidad Innata

Factor	Funciones principales
Barreras físicas	El final del pezón se bloquea & atrapa a los microbios
Receptores de reconocimiento de patrones	Vigilancia y activación de las respuestas inmunes innatas
Complemento	Bacteriolítica & facilita la fagocitosis
Citoquinas	Pro-inflamatoria & inmunorregulador
Eicosanoides	Pro-inflamatoria & pro-resolución
Células endoteliales	Regula la migración y activación de los leucocitos
Neutrófilos	Fagocitosis y producción de ROS
Macrófagos	Fagocitosis; producción de citoquinas y eicosanoides
Células dendríticas	Fagocitosis; conectar la inmunidad innata & adaptativa
Células asesinas (Natural Killer)	Identificar y ayudar a eliminar las células huésped infectadas

Una vez que los patógenos consiguen abrir una brecha en esta primera línea de defensa, los componentes celulares y solubles de la respuesta inmune innata deben actuar con rapidez para evitar el establecimiento exitoso de la mamitis. Los receptores de reconocimiento de patrones juegan un papel crítico en la inmunidad innata mediante la detección de la presencia de los patógenos invasores que atraviesen con éxito las barreras defensivas superficiales. Los receptores de reconocimiento de patrones pueden expresarse en la superficie celular, secretarse, o expresarse intracelularmente y actúan para reconocer una serie de factores microbianos asociados con patógenos infecciosos. En conjunto, esta diversa variedad de motivos conservados únicos de grupos específicos de microbios se denominan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, por sus siglas en inglés) e incluyen, por ejemplo, lipopéptidos de bacterias gram-positivas y lipopolisacáridos de bacterias gram-negativas (Jungi et al., 2011, Kumar et al., 2011). Algunos ejemplos de receptores de reconocimiento de patrones encontrados en células inmunes y no-inmunes en vacas que pueden diferenciar una variedad de PAMPs son CD14, los dominios de oligomerización de nucleótidos (NOD, por sus siglas en inglés) y la familia de los receptores tipo Toll (TLR, por sus siglas en inglés), que incluye TLR2, TLR4, TLR5 y TLR9 (Kumar et al., 2011). Después de unirse a su ligando, los receptores de reconocimiento de patrones pueden iniciar cascadas de señalización intracelular que den lugar a la iniciación de las respuestas inmunitarias innatas o puedan facilitar la actividad antimicrobiana directamente (Aitken et al., 2011).

Si las bacterias consiguen superar las defensas locales de la punta del pezón, las actividades antibacterianas del microambiente de la glándula mamaria pueden servir para evitar el establecimiento de la enfermedad. Varias defensas solubles endógenas de la inmunidad innata pueden afrontar los microbios invasores que consiguen acceder con éxito a la ubre. Algunos de estos factores solubles pueden ser preexistentes o bien inducidos a través de cascadas de señalización tras el reconocimiento de los PAMPs microbianos por los receptores de reconocimiento de patrones en las células huésped. El complemento, por ejemplo, es un componente del sistema de defensa innato que consta de una colección de proteínas presentes en el suero y otros fluidos corporales. Las proteínas que comprenden el sistema del complemento son sintetizadas principalmente por hepatocitos, pero otras fuentes celulares incluyen monocitos y macrófagos tisulares. La activación del sistema del complemento puede dar lugar a actividades bactericidas directas del depósito de complejos formadores de poros (factores del complemento C3 y C5a) sobre la superficie de las bacterias (Riollet et al., 2000). Otras funciones biológicas importantes del complemento que contribuyen a la rápida muerte de los microbios incluyen la opsonización de bacterias y la detonación o activación de las células inmunitarias del huésped para la fagocitosis y la destrucción intracelular. El complemento también es un quimioatrayente para los neutrófilos y los monocitos durante las primeras etapas de la infección (Rainard, 2003).

Las citoquinas son un excelente ejemplo de defensas innatas solubles inducidas tras la activación de los receptores de reconocimiento de patrones por PAMPs. Por ejemplo, la activación de los TLR lleva a la activación de la vía de señalización NFκB donde el aumento de la expresión de las citoquinas es una respuesta principal. La red de citoquinas consta de un grupo variado de proteínas producidas tanto por células inmunes como por células no-inmunes en todo el cuerpo y bajo diversas circunstancias. La capacidad fisiológica e inmunomoduladora de la red de citoquinas es compleja. Las citoquinas individuales pueden interactuar con otras citoquinas sinérgicamente, aditivamente, o antagónicamente sobre múltiples dianas celulares. Varias citoquinas diferentes pueden afectar procesos biológicos de la misma manera, ya que hay una redundancia funcional considerable dentro de la red de citoquinas. La mayoría de las citoquinas tienen una muy corta vida media, por lo que su síntesis y función se da normalmente en explosiones de actividad (Sordillo y Streicher, 2002). Las citoquinas son capaces de influir en las funciones celulares mediante los receptores de alta afinidad para cada citoquina ubicados en las células huésped. Por lo tanto, la actividad de cualquier célula respondedora se debe no solo a la cantidad y tipo de citoquinas en el microambiente tisular, sino también a la expresión relativa de los receptores de citoquinas. En cuanto a la inmunidad innata, las citoquinas ejercen sus efectos diversos iniciando la respuesta inflamatoria y facilitando la migración de leucocitos desde la sangre hacia las ubres infectadas tras el reconocimiento de las bacterias por las poblaciones de células mamarias locales. El patrón de expresión de las citoquinas por las células de la ubre será diferente en función del tipo de patógeno que provoque su respuesta. Sin embrago, en general, las bacterias gram-negativas inician una mayor magnitud de respuestas de las citoquinas pro-inflamatorias (es decir, IL1, IL6, IL8, y TNFα) en comparación con las bacterias gram-positivas que tienden a expresar una respuesta de citoquinas más débil y lenta durante las primeras etapas de la infección (Aitken et al., 2011).

Los eicosanoides son un tipo de mediadores de lípidos que contribuyen en la inmunidad innata a través de la regulación de la aparición, magnitud y duración de la respuesta inflamatoria. Los eicosanoides se sintetizan a partir de los sustratos de ácidos grasos poliinsaturados que se encuentran principalmente en la mem-

brana celular, incluyendo los ácidos grasos omega-6 linoleicos y araquidónicos o los ácidos grasos omega-3 eicosapentanoicos y docosahexaenoicos (Schmitz y Ecker, 2008). Estos sustratos de ácidos grasos se oxidan de forma no enzimática por especies reactivas del oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) o mediante distintas vías enzimáticas incluyendo la vía de la ciclooxigenasa (COX), de la lipoxigenasa (LOX), y citocromo P450 para producir una variedad de eicosanoides incluyendo prostaglandinas (PG), tromboxanos (TX), leucotrienos (LT) y lopoxinas. Dependiendo del momento y la magnitud de la expresión, ciertos eicosanoides pueden mejorar o resolver la respuesta inflamatoria (Sordillo et al., 2009). Los eicosanoides pueden mejorar el proceso inflamatorio incrementando la permeabilidad vascular, la infiltración de leucocitos, el edema localizado y la fiebre. Como respuesta a los estímulos microbianos, por ejemplo, la actividad enzimática COX2 aumenta, provocando la biosíntesis de eicosanoides con propiedades vasoactivas y proinflamatorias conocidas, tales como PGE_2, $PGF_{2\alpha}$, y TXA_2. Los medicamentos antiinflamatorios no-esteroideos pueden inhibir la biosíntesis de PG y TX centrándose en la actividad de la COX y se utilizan para tratar una variedad de enfermedades de base inflamatoria en animales destinados al consumo (Sordillo et al., 2009). No obstante, los supuestos previos de que todos los metabolitos de la COX son los únicos responsables de la propagación de la respuesta inflamatoria no están apoyados por la literatura actual (Serhan et al., 2008). Mientras que la expresión aumentada de la COX2 durante la aparición de la inflamación está tipificada por la producción de PGE_2, la presencia de PGD_2 derivada de la COX y de 15d-PGJ_2 se asocian con la resolución de la inflamación (Prasad et al., 2008). Estudios más recientes han llevado al descubrimiento de lipoxinas (LX) antiinflamatorias que se producen a partir del metabolismo de los ácidos grasos hidroperóxidos intermediarios por la vía 5LOX (Serhan et al., 2008). Los ácidos grasos omega-3 también pueden oxidados por COXs y LOXs para producir eicosanoides con más propiedades antiinflamatorias o de resolución (Schmitz y Ecker, 2008). Por ejemplo, el EPA se metaboliza por 5LOX y las formas modificadas de COX2 para producir series resolvinas de la serie E (Rv), mientras 15LOX transforma DHA resolvinas de la serie D, protectinas (PD1), y la maresina, específica de macrófagos (MaR1) (Serhan y Chiang, 2008). Durante la inflamación descontrolada, una combinación de la producción exacerbada de eicosanoides inflamatorios y la producción disminuida de eicosanoides antiinflamatorios impide la resolución completa y la restauración de la homeostasis en los tejidos afectados. Por lo tanto, el equilibrio entre la producción de oxilipidos pro- y anti-inflamatorios es uno de los factores que determina el fenotipo inflamatorio de una célula/microambiente circundante (Mattmiller et al., 2013).

2.2 Inflamación. La inflamación es un componente crítico del sistema de defensa innato que implica respuestas biológicas complejas tanto de factores celulares como solubles tras una lesión tisular local o traumatismo. La finalidad de las respuestas inflamatorias del huésped es eliminar la fuente de la lesión tisular, restablecer la homeostasis inmunológica y devolver los tejidos mamarios a su función normal. La cascada inflamatoria no solo da lugar a la escalada de los factores antimicrobianos locales, sino también al aumento de la circulación de leucocitos y componentes plasmáticos de la sangre a la ubre. Los signos clínicos de la inflamación incluyen enrojecimiento, calor, hinchazón y dolor (Mattmiller et al., 2013). Estos síntomas clínicos pueden explicarse por los distintos cambios de las respuestas endoteliales vasculares. Por ejemplo, el enrojecimiento, el calor y el dolor son causados por el aumento del flujo sanguíneo como consecuencia de la ampliación del diámetro vascular. El incremento en la permeabilidad vascular, producido por la separación de las células endoteliales fuertemente unidas que recubren el vaso sanguíneo, conduce a la salida de fluidos y proteínas de la sangre y su acumulación en los tejidos. Estos hechos explican la hinchazón o el edema asociado a la inflamación (Aitken et al., 2011).

Además de los cambios en el flujo sanguíneo, el endotelio vascular también sirve como un "portero" que regula el movimiento de los leucocitos desde los vasos sanguíneos a los tejidos afectados. Las células huésped expresan receptores de patrones moleculares que se activan por PAMPs y después liberan varios mediadores inflamatorios como las citoquinas y los eicosanoides que inician la cascada inflamatoria. Estos mediadores inflamatorios actúan directamente sobre el endotelio vascular para causar reducciones en la velocidad de la sangre con una expresión incrementada concomitante de moléculas de adhesión en las células endoteliales. Las moléculas de adhesión de los leucocitos se pegan a las moléculas de adhesión vasculares para facilitar la migración de leucocitos de la sangre al lugar de la lesión (Maddox et al., 1999, Hodgkinson et al., 2007). En la leche de las glándulas mamarias sanas, los recuentos de células somáticas (RCS) totales suelen ser $<10^5$ células/ml y la distribución de leucocitos en leche varía en función de la etapa de lactación. No obstante, el RCS total puede aumentar a $>10^6$ células/ml de leche a las pocas horas de una penetración bacteriana y los tipos de leucocitos predominantes son neutrófilos. La rapidez y la magnitud de la migración de los neutrófilos al tejido de la glándula mamaria y a la leche se consideran como un factor determinante principal para el establecimiento de nuevas infecciones intramamarias.

Los neutrófilos son el tipo de célula predominante para sufrir este proceso de extravasación durante las primeras etapas de la inflamación. Los neutrófilos primero se separan y luego se adhieren al endotelio local cerca del lugar de la infección. Las citoquinas, los eicosanoides y otras moléculas mediadoras estimulan a los neutrófilos adheridos a moverse entre las células enditeliales y pasar la membrana basal hasta las zonas de los tejidos dañados. El movimiento de los neutrófilos dentro de los tejidos se ve facilitado por los gradientes quimiotácticos creados por las moléculas mediadoras de la inflamación en el lugar localizado de la infección. La migración de los neutrófilos puede ocurrir rápidamente, acumulándose en los tejidos afectados a los 30-60 minutos siguientes a la lesión (Summers et al., 2010).

Tanto las poblaciones de leucocitos recién reclutados como las de leucocitos preexistentes actúan de forma cooperativa para eliminar los patógenos microbianos. Los macrófagos localizados dentro de los tejidos responden a la invasión bacteriana mediante la liberación de citoquinas inmuno-reguladoras y eicosanoides. Tanto los macrófagos como los neutrófilos recién reclutados también funcionan para fagocitar y matar a los microbios invasores. El proceso de fagocitosis implica la internalización de las bacterias dentro de fagosomas que contienen especies reactivas del oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) bactericidas y enzimas hidrolíticas. Las ROS se forman por la actividad de la explosión respiratoria que implica la activación de la NADPH oxidasa y la posterior producción de radicales superóxidos y peróxido de hidrógeno (Sordillo y Aitken, 2009). La mieloperoxidasa puede combinar adicionalmente el peróxido de hidrógeno con cloruro para producir hipoclorito, que está asociado con actividades bacterianas. Además de la fagocitosis, los neutrófilos pueden matar a las bacterias a través de mecanismos extracelulares. Los neutrófilos activados pueden formar trampas extracelulares de neutrófilos (NETs, por sus siglas en inglés) que consisten en una red de fibras compuestas de cromatina y serina proteasas que atrapa y mata las bacterias. Los estudios sugieren que las NETs proporcionan unos focos altamente concentrados de sustancias antibacterianas que se unen y matan bacterias independientemente de la absorción fagocítica en la glándula mamaria (Lippolis et al., 2006, Grinberg et al., 2008). Las NETs también pueden servir como bar-

reras físicas que impiden una mayor propagación de las bacterias por la glándula mamaria.

2.3 Inmunidad Adaptativa. La respuesta inmune adaptativa se dispara cuando los mecanismos inmunológicos innatos fallan a la hora de eliminar un patógeno. La respuesta inmune adaptativa se caracteriza por la generación de linfocitos específicos para antígenos y células de memoria con la capacidad de reconocer los determinantes antigénicos específicos de un patógeno. Cuando las células huésped y los tejidos son re-expuestos al mismo antígeno, se produce un estado elevado de reactividad inmune como consecuencia de la memoria inmunológica y la expansión clonal de células efectoras específicas de antígeno. Una respuesta inmune de memoria sería mucho más rápida, considerablemente más fuerte, más duradera y, a menudo, más efectiva en la eliminación de patógenos invasores en comparación con una respuesta inmunitaria primaria. En contraste con la respuesta inmunitaria innata, la inmunidad adaptativa puede tardar días en desarrollarse por la expansión clonal de los linfocitos B y T específicos para el patógeno invasor. Una característica sorprendente del sistema inmunológico es la capacidad que tiene un huésped de reconocer y responder a los billones de antígenos únicos que se pueden encontrar. También es importante que no se dé una respuesta inmune específica inapropiada contra los propios antígenos del huésped. Por esta razón, el sistema inmune es capaz de distinguir los antígenos propios de los extraños y reaccionar selectivamente solo a los antígenos extraños. Genéticamente distintas, las proteínas unidas a la membrana conocidas como moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) ayudan en este reconocimiento. Una respuesta inmune específica solo se dará si los antígenos están combinados con una molécula del MHC en la superficie de ciertas células, un proceso conocido como presentación del antígeno (Sordillo y Aitken, 2011). Las características únicas de la respuesta inmune adaptativa forman la base de las estrategias de las vacunas (Tabla 1).

La generación de una inmunidad específica efectiva implica dos tipos de células, linfocitos y células de presentación del antígeno. Los linfocitos reconocen los antígenos bacterianos mediante los receptores de la membrana específicos para el patógeno invasor. Estas son las células que median los atributos que definen la inmunidad adaptativa incluyendo especificidad, diversidad, memoria y reconocimiento como propio/extraño. Los linfocitos T y B son dos subconjuntos distintos de linfocitos que se diferencian en la función y sus productos proteicos. Los linfocitos T se pueden subdividir a su vez en linfocitos T $\alpha\beta$, que incluyen linfocitos CD4+ (T colaboradores) y CD8+ (T citotóxicos); y linfocitos T $\gamma\delta$ (Tabla 3). Dependiendo de su localización en los tejidos, los porcentajes de estas células pueden variar significativamente (Sordillo y Streicher, 2002).

Las funciones efectoras de los linfocitos T incluyen la producción de citoquinas que facilitan la inmunidad mediada por células, regulando la magnitud y la duración de la respuesta inmune. Los linfocitos T colaboradores (TH1, TH2, TH17 y Treg) producen citoquinas en respuesta al reconocimiento de complejos antígeno-MHC en las células presentadoras de antígenos (linfocitos B y macrófagos). Cuando se activan, las células T colaboradoras producen una variedad de citoquinas inmunorreguladoras. A través de la capacidad de secretar determinadas citoquinas, las células T colaboradoras juegan un papel importante en la activación de los linfocitos T y B, macrófagos, neutrófilos y otras células que participan en la respuesta inmunitaria. Las diferencias en los patrones particulares de las citoquinas producidas por las células T colaboradoras activadas dan lugar a distintos tipos de respuestas inmunes. Por ejemplo, las citoquinas IFN-γ e IL2 mejoran las actividades celulares no específicas, como la fagocitosis y la muerte intracelular (Sordillo y Aitken, 2011).

Los linfocitos CD8+ pueden ejercer funciones citotóxicas cuando se activan. Los linfocitos T citotóxicos reconocen y eliminan las células propias alteradas a través de la presentación de antígenos junto a las moléculas de MHC clase I. Existen ciertas especulaciones de que los linfocitos T citotóxicos pueden actuar como carroñeros que eliminan las células secretoras viejas o dañadas en la glándula mamaria (Sordillo y Streicher, 2002). Igual que los linfocitos T colaboradores, los linfocitos CD8+ controlan y modulan la respuesta inmune a través del repertorio de citoquinas que producen.

Tabla 3. Componentes de la Inmunidad Adaptativa

Factor	Funciones principales
Complejo mayor de histocompatibilidad	Reconocer lo propio y lo extraño
Células dendríticas y macrófagos	Células presentadoras de antígenos
Linfocitos T	Células CD4+ o células T colaboradoras (Th1, Th2, Th17, Treg); producen citoquinas que regulan la inmunidad innata y adaptativa; cambiando los isotipos de las inmunoglobulinas
	Células CD8+ o T citotóxicas (Tc); atacan y matan a células que expresan antígenos extraños (infectadas por virus)
	Células T$\gamma\delta$; presentes en la superficie de las mucosas
Linfocitos B	Presentación de antígenos; se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos
Inmunoglobulinas (anticuerpos)	La IgM es la más grande y la primera que se produce; tiene un papel en la aglutinación y la activación del complemento
	La concentración de la IgG es alta en el suero y es importante en la opsonización
	La IgA se encuentra en la superficie de las mucosas y tiene una función antivírica
	La IgE está asociada con las reacciones alérgicas y con las infecciones de parásitos
	IgD molécula reguladora no secretada

Las funciones biológicas de los linfocitos T $\gamma\delta$ han sido objeto de mucha especulación. Sus funciones están asociadas principalmente a la protección de las superficies epiteliales. Hay indicaciones de que los linfocitos T $\gamma\delta$ pueden mediar la citotoxicidad con la participación variable del MHC. Estas células también pueden tener un papel en las enfermedades infecciosas y, por tanto, proporcionar una importante línea de defensa contra las enfermedades bacterianas (Sordillo y Streicher, 2002, Aitken et al., 2011).

Los linfocitos B específicos de antígenos sintetizan y secretan anticuerpos o inmunoglobulina (Ig) que reconocen y contrarrestan factores de virulencia microbianos específicos. Las inmunoglobulinas son producidas por linfocitos B activados por antígenos que seguidamente proliferan y se diferencian en células plasmáticas productoras de anticuerpos (Sordillo y Streicher, 2002, Aitken et al., 2011). Hay 4 clases de inmunoglobulinas que se sabe que influyen en la defensa del huésped contra los patógenos infecciosos, llamadas IgM, IgG, IgA e IgE, que se diferencian entre sí por sus propiedades fisicoquímicas y biológicas. Por ejemplo, varios isotipos de Ig (IgG_1, IgG_2 e IgM) pueden actuar como opsoninas para mejorar la fagocitosis por los neutrófilos y los macrófagos. Además de su papel en la opsonización, la IgM es eficiente en la fijación del complemento. Aunque la IgA no ayuda en la opsonización de las bacterias, sí sirve en la aglutinación bacteriana que puede impedir la capacidad de ciertos patógenos de expandirse a lo largo de ciertos tejidos. Otro papel importante de la IgA es su capacidad de neutralizar algunas toxinas bacterianas. Claramente, tanto la concentración como la composición de los isotipos de Ig encontrados en los tejidos pueden tener una gran influencia en el establecimiento de nuevas infecciones (Aitken et al., 2011).

3. Optimización del Sistema Inmune Mamario

Las defensas del huésped óptimas contra los patógenos infecciosos se dan cuando tanto los mecanismos inmunológicos innatos como los adaptativos están estrictamente regulados para eliminar efectivamente las invasiones perjudiciales y devolver los tejidos a la homeostasis. La rápida resolución de las infecciones eliminará el daño tisular transitorio e impedirá cualquier cambio notable en la salud general y el bienestar de las vacas lecheras. Algunos patógenos, sin embargo, tienen propiedades intrínsecas que hacen difícil su eliminación eficiente por el sistema inmune mamario, y los intentos de las defensas locales para lograr el control a menudo resultan en daños tisulares significativos y pérdidas de producción. Mientras que los antibióticos siguen siendo la base del tratamiento de la mamitis, son necesarias más opciones terapéuticas alternativas o auxiliares que dirijan las respuestas inmunes del huésped. El desafío es modular selectivamente las respuestas dañinas del huésped para disminuirlas sin afectar las respuestas beneficiosas que facilitan la eliminación de los patógenos invasores.

El desarrollo de estrategias inmunomoduladoras efectivas para controlar el establecimiento de la mamitis puede comenzar por entender aquellas condiciones que comprometen las defensas del huésped. Muchas investigaciones han establecido que el estrés fisiológico durante el periodo periparto en el ganado lechero está estrechamente asociado con la disfunción de varios componentes de la respuesta inmune innata y adaptativa (Sordillo et al., 1997). Ciertas hormonas asociadas con el parto pueden explicar algunos de estos efectos adversos sobre la inmunidad durante el periodo periparto. El estrés oxidativo, sin embargo, también puede comprometer poblaciones de células inmunológicas, sobre todo, durante las épocas de metabolismo aumentado o durante la inflamación (Sordillo y Aitken, 2009). La activación de la respuesta inmune requiere energía y el sistema inmunitario debe competir por los nutrientes esenciales que, de otro modo, se utilizarían para el crecimiento, la acreción muscular y la producción de leche. El desarrollo de respuestas inflamatorias agudas o crónicas descontroladas frente a patógenos infecciosos no solo pueden causar daños colaterales en los tejidos del huésped, sino también desviar nutrientes que ocasionan pérdidas dramáticas de producción (Aitken et al., 2011). Por lo tanto, ajustar la nutrición de las vacas y mejorar el manejo para reducir la exposición a patógenos infecciosos puede tener un impacto importante en la optimización de la inmunidad mamaria.

El desarrollo de estrategias innovadoras que puedan mejorar una respuesta inmune mamaria, que de otro modo estaría alterada, podría tener un gran impacto sobre la incidencia de la mamitis. El reto al que se enfrentan los investigadores ahora es conseguir una mejor comprensión de las complejas interacciones entre la patogénesis de las bacterias, las respuestas del huésped necesarias para eliminar los patógenos de los tejidos del huésped y los métodos para mejorar el potencial inmunológico de estos factores antes del establecimiento de la enfermedad.

Referencias

1. Aitken, S. L., C. M. Corl, and L. M. Sordillo. 2011. Immunopathology of mastitis: insights into disease recognition and resolution. J Mammary Gland Biol Neoplasia 16(4):291-304.
2. Grinberg, N., S. Elazar, I. Rosenshine, and N. Y. Shpigel. 2008. Beta-hydroxybutyrate abrogates formation of bovine neutrophil extracellular traps and bactericidal activity against mammary pathogenic Escherichia coli. Infect Immun 76(6):2802-2807.
3. Hodgkinson, A. J., E. A. Carpenter, C. S. Smith, P. C. Molan, and C. G. Prosser. 2007. Adhesion molecule expression in the bovine mammary gland. Vet Immunol Immunopathol 115(3-4):205-215.
4. Jungi, T. W., K. Farhat, I. A. Burgener, and D. Werling. 2011. Toll-like receptors in domestic animals. Cell Tissue Res 343(1):107-120.
5. Kumar, H., T. Kawai, and S. Akira. 2011. Pathogen recognition by the innate immune system. Int Rev Immunol 30(1):16-34.
6. Lippolis, J. D., T. A. Reinhardt, J. P. Goff, and R. L. Horst. 2006. Neutrophil extracellular trap formation by bovine neutrophils is not inhibited by milk. Vet Immunol Immunopathol 113(1-2):248-255.
7. Maddox, J. F., K. M. Aherne, C. C. Reddy, and L. M. Sordillo. 1999. Increased neutrophil adherence and adhesion molecule mRNA expression in endothelial cells during selenium deficiency. J Leukoc Biol 65(5):658-664.
8. Mattmiller, S. A., B. A. Carlson, and L. M. Sordillo. 2013. Regulation of inflammation by selenium and selenoproteins: impact on eicosanoid biosynthesis. J. Nutritional Sci. 2(e28):1-13.
9. Prasad, R., S. Giri, A. K. Singh, and I. Singh. 2008. 15-deoxy-delta12,14-prostaglandin J2 attenuates endothelial-monocyte interaction: implication for inflammatory diseases. J Inflamm (Lond) 5:14.
10. Rainard, P. 2003. The complement in milk and defense of the bovine mammary gland against infections. Vet Res 34(5):647-670.
11. Riollet, C., P. Rainard, and B. Poutrel. 2000. Differential induction of complement fragment C5a and inflammatory cytokines during intramammary infections with Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Clin Diagn Lab Immunol 7(2):161-167.
12. Schmitz, G. and J. Ecker. 2008. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. Progress in Lipid Research 47(2):147-155.
13. Serhan, C. N. and N. Chiang. 2008. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. Br J Pharmacol 153 Suppl 1:S200-215.
14. Serhan, C. N., N. Chiang, and T. E. Van Dyke. 2008. Resolv-

ing inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. Nat Rev Immunol 8(5):349-361.

15. Sordillo, L. M. and S. L. Aitken. 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. Vet Immunol Immunopathol 128(1-3):104-109.
16. Sordillo, L. M. and S. L. Aitken. 2011. Mammary Resistance Mechanisms - Endogenous. Pages 386-391 in Encyclopedia of Dairy Sciences. Vol. 3. Second ed. J. W. Fuguay, P. F. Fox, and P. L. H. McSweeney, ed. Academic Press, San Diego.
17. Sordillo, L. M., G. A. Contreras, and S. L. Aitken. 2009. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. Anim Health Res Rev 10(1):53-63.
18. Sordillo, L. M., K. Shafer-Weaver, and D. DeRosa. 1997. Immunobiology of the mammary gland. J Dairy Sci 80(8):1851-1865.
19. Sordillo, L. M. and K. L. Streicher. 2002. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. J Mammary Gland Biol Neoplasia 7(2):135-146.
20. Summers, C., S. M. Rankin, A. M. Condliffe, N. Singh, A. M. Peters, and E. R. Chilvers. 2010. Neutrophil kinetics in health and disease. Trends Immunol 31(8):318-324.

ENGLISH VERSION ▼

Mammary Gland Immunity and Mastitis Susceptibility

Lorraine M. Sordillo
College of Veterinary Medicine
Michigan State University
East Lansing, MI, USA

1. Introduction

The ability of cows to resist the establishment of mastitis is related, in part, to the efficiency of their immune system. However, many aspects of bovine mammary innate and acquired host defenses are suboptimal in the transition period that contributes to increased severity and duration of mastitis (Aitken et al., 2011). Health disorders occurring during this time may greatly impact the productive efficiency of dairy cattle in the ensuing lactation. Therefore, it is not surprising that considerable research efforts have focused on defining how host defenses change as a consequence of the lactation cycle and understanding those factors that may contribute to immune dysfunction during this critical period (Sordillo and Streicher, 2002, Aitken et al., 2011). The immune system consists of a variety of biological components and processes that serve to protect dairy cows from mastitis causing pathogens. The primary roles of the mammary immune system are to prevent microbial invasion of the udder, eliminate existing infections and other sources of cellular injury, and restore tissues to normal function. In cows, the immune system utilizes a multifaceted network of physical, cellular and soluble factors to facilitate defense against a diverse array of microbial challenges. This integrated system of defense mechanisms is highly regulated to maintain a delicate balance between the activation of immunity needed to prevent the establishment of disease and resolution of activity once the threat of invasion has passed. This paper will provide a brief overview of the mammary immune system, describe how suboptimal immune responses can fail to prevent mastitis, and outline current strategies to optimize immune responses in dairy cows during times of increased susceptibility to disease.

2. Immune System Overview

The mammary gland immune system utilizes a complex and dynamic network of defense mechanisms that can be conveniently separate into two distinct categories: innate immunity and adaptive or acquired immunity (Table 1). Within both innate and adaptive immunity, defense mechanisms can be classified further into physical barriers, cell-mediated immunity, and soluble or humoral immunity.

2.1 Innate Immunity. The innate immune system is the dominant host defense mechanism in the mammary gland. Innate immunity includes the nonspecific components of the immune system that can respond to infectious microbes in a generic manner. Components of innate immunity constitute the first line of defense against invading pathogens since they are already present or are activated quickly at the site of exposure. Depending on the efficiency of innate defenses, microbes may be eliminated within minutes to hours following invasion. This initial line of defense can be so rapid and efficient that there may be no noticeable changes in milk quality or quantity as a consequence of the attempted microbial invasion. Because of its nonspecific nature, however, innate immune mechanisms are not augmented by repeated exposure to the same insult. Components of the innate immune system include physical and mechanical barriers of the teat end, phagocytes, and various soluble mediators (Table 2).

Table 1. Categories of the Immune System

Innate Immunity	Adaptive Immunity
Non-specific or generic response	Antigen-specific response
Immediate following exposure (min)	Delayed following exposure (days)
Physical & mechanical barriers	No physical/mechanical barriers
Cellular and soluble factors	Cellular and soluble factors
No immune memory	Immunological memory
Inflammation	Antibody response (vaccines)

Table 2. Components of Innate Immunity

Factor	Main Functions
Physical barriers	Teat end blocks & trap microbes
Pattern Recognition Receptors	Surveillance and activation of innate immune responses
Complement	Bacteriolytic & facilitates phagocytosis
Cytokines	Pro-inflammatory & immunoregulatory
Eicosanoids	Pro-inflammatory & pro-resolving
Endothelial Cells	Regulates leukocyte migration & activation
Neutrophils	Phagocytosis and production of ROS
Macrophages	Phagocytosis; production of cytokines and eicosanoids
Dendritic Cells	Phagocytosis; links innate & adaptive immunity
Natural Killer Cells	Targets and helps to eliminate infected host cells

Since pathogens must gain entrance to the mammary gland in order to cause mastitis, the teat end is considered the first line of localized defense against invading bacteria. The teat end contains sphincter muscles that surround the teat end opening and maintain a tight closure between milkings to hinder bacterial penetration. The teat duct also is lined with keratin that is derived from the epithelial lining. Accumulation of keratin can provide a physical obstruction to bacteria, particularly during the nonlactating period when the duct can become completely occluded (Sordillo and Aitken, 2011). Lipid components of keratin also contain antibacterial factors in the form of bacteriostatic and bactericidal fatty acids. In general, gram-positive bacteria are more susceptible than gram-negative bacteria to the bacteriostatic and bactericidal effects of keratin. While the proposed mechanisms for keratin's antibacterial activity are still the subject of debate, there is evidence to suggest that the long chain fatty acids disrupt bacterial lipid membranes, resulting in bacterial cell perforation. Differences in the composition of gram-positive and gram-negative bacterial cell walls may explain the differential antibacterial effects of keratin with respect to bacterial species. Through several mechanisms, the teat end can prevent the penetration of mastitis-causing pathogens and inhibit most bacterial growth. However, increased patency of the smooth muscles in the teat end or removal of the keratin lining is related directly to increased incidence of mastitis (Sordillo and Aitken, 2011).

Once pathogens are able to breach this initial line of defense, however, the cellular and soluble components of the innate immune response must act promptly to prevent the successful establishment of mastitis. Pattern recognition receptors play a critical role in innate immunity by sensing the presence of invading pathogens that successfully breach surface barrier defenses. Pattern recognition receptors can be expressed on cell surfaces, secreted, or expressed intracellularly and function to recognize a range of microbial factors associated with infectious pathogens. Collectively, this diverse array of conserved motifs unique to specific groups of microbes are referred to as pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) and include, for example, lipopeptides of gram-positive bacteria and lipopolysaccharide of gram-negative bacteria (Jungi et al., 2011, Kumar et al., 2011). Some examples of pattern recognition receptors found in both immune and non-immune cells within cows that can differentiate a range of PAMPs are CD14, nucleotide-binding oligomerization domains (NOD), and the family of toll-like receptors (TLR) including TLR2, TLR4, TLR5, and TLR9 (Kumar et al., 2011). After binding to their ligand, pattern recognition receptors can initiate intracellular signaling cascades that result in initiation of innate immune responses or can facilitate antimicrobial activity directly (Aitken et al., 2011).

If bacteria are successful at overcoming the local defenses of the teat end, the antibacterial activities of the mammary gland microenvironment can serve to inhibit the establishment of disease. Several endogenous soluble defenses of innate immunity can confront invading microbes that successfully gain access to the udder. Some of these soluble factors can be either pre-existing or induced through signaling cascades upon recognition of microbial PAMPs by pattern recognition receptors on host cells. Complement, for example, is a component of the innate defense system that consists of a collection of proteins present in serum and other body fluids. The proteins that comprise the complement system are synthesized mainly by hepatocytes, but other cellular sources include monocytes and tissue macrophages. Activation of the complement system can result in direct bactericidal activities from the deposition of pore-forming complexes (complement factors C3 and C5a) onto the surface of bacteria (Riollet et al., 2000). Other important biological functions of complement that contribute to early microbial killing include opsonizing bacteria and priming or activating host immune cells for phagocytosis and intracellular killing. Complement also is a potent chemoattractant for neutrophils and monocytes during the early stages of infection (Rainard, 2003).

Cytokines are an excellent example of soluble innate defenses that are induced following activation of pattern recognition receptors by PAMPs. For example, TLR activation leads to the activation of the NFkB signaling pathway where enhanced cytokine expression is a major response. The cytokine network consists of a diverse group of proteins produced by both immune and non-immune cells throughout the entire body and under diverse circumstances. The physiological and immunomodulatory capacity of the cytokine network is complex. Individual cytokines can interact with other cytokines synergistically, additively, or antagonistically on multiple cell targets. Several different cytokines can affect biological processes in the same way, as there is considerable functional redundancy within the cytokine network. Most cytokines have very short half-lives, so their synthesis and function usually occurs in bursts of activity (Sordillo and Streicher, 2002). Cytokines are able to influence cellular functions through high affinity receptors for each cytokine located on host cells. Therefore, the activity of any responder cell is a function of not only the quantity and type of cytokine in the tissue microenvironment, but also the relative expression of cytokine receptors. With respect to innate immunity, cytokines exert their diverse effects by initiating the inflammatory response and facilitating the migration of leukocytes from blood into infected udders following bacterial recognition by local mammary cell populations. The pattern of cytokine expression by cells in the udder will differ depending on the type of pathogen that elicits their response. In general, however, gram-negative bacteria initiate a greater magnitude of pro-inflammatory cytokine responses (i.e., IL1, IL6, IL8, and TNFa) when compared to gram-positive bacteria that tend to express a weaker and slower cytokine response during the early stages of infection (Aitken et al., 2011).

Eicosanoids are a class of lipid mediators that contribute to innate immunity by regulating the onset, magnitude, and duration of the inflammatory response. Eicosanoids are synthesized from polyunsaturated fatty acid substrates primarily found in the cellular membrane including the omega-6 linoleic and arachidonic acids or the omega-3 eicosapentaenoic and docosahexaenoic acids (Schmitz and Ecker, 2008). These fatty acid substrates are oxidized non-enzymatically by reactive oxygen species (ROS) or through different enzymatic pathways including the cyclooxygenases (COX), lipoxygenases (LOX), and cytochrome P450 pathways to produce a variety of eicosanoids including prostaglandins (PG), thromboxanes (TX), leukotrienes (LT), and lipoxins. Depending on the timing and magnitude of expression, certain eicosanoids can either enhance or resolve the inflammatory response (Sordillo et al., 2009). Eicosanoids can enhance inflammatory processes by increasing vascular permeability, leukocyte infiltration, localized edema, and fever. In response to microbial stimuli, for example, COX2 enzyme activity increases resulting in the biosynthesis of eicosanoids with known vasoactive and proinflammatory properties such as PGE_2, PGF_{2a}, and TXA_2. Non-steroidal anti-inflammatory drugs can inhibit PG and TX biosynthesis by targeting COX activity and are used to treat a variety of inflammatory-based diseases in food-animals (Sordillo et al., 2009). However, previous assumptions that all COX metabolites are solely responsible for propagating the inflammatory response is not supported by the current literature (Serhan et al., 2008). Whereas increased COX2 expression during the onset of inflammation is typified by PGE_2 production, the presence of COX-derived PGD_2 and 15d-PGJ_2 are associated with the resolution of inflammation (Prasad et al., 2008). More recent studies have led to the discov-

ery of anti-inflammatory lipoxins (LX) that are produced from the metabolism of hydroperoxy fatty acid intermediates by the 5LOX pathway (Serhan et al., 2008). Omega-3 fatty acids also can be oxidized by COXs and LOXs to produce eicosanoids with more anti-inflammatory or resolving properties (Schmitz and Ecker, 2008). For example, EPA is metabolized by 5LOX and modified forms of COX2 to produce E-series resolvins (Rv), whereas 15LOX converts DHA to the D-series Rvs, protectins (PD1), and the macrophage-specific maresin (MaR1) (Serhan and Chiang, 2008). During uncontrolled inflammation, a combination of exacerbated production of pro-inflammatory eicosanoids and diminished production of anti-inflammatory eicosanoids prevents full resolution and restoration of homeostasis of the affected tissues. Therefore, the balance between production of pro- and anti-inflammatory oxylipids is one factor that determines the inflammatory phenotype of a cell/surrounding microenvironment (Mattmiller et al., 2013).

2.2 Inflammation. Inflammation is a critical component of the innate defense system that involves complex biological responses of both cellular and soluble factors following local tissue injury or trauma. The purpose of host inflammatory responses is to eliminate the source of tissue injury, restore immune homeostasis, and return mammary tissues to normal function. The inflammatory cascade results not only in the escalation of local antimicrobial factors, but also in the increased movement of leukocytes and plasma components from the blood into the udder. The clinical signs of inflammatory include redness, heat, swelling, and pain(Mattmiller et al., 2013). These clinical symptoms can be explained by distinct changes in vascular endothelial responses. For example, redness, heat, and pain are caused by increased blood flow as a consequence of enlarged vascular diameter. Increased vascular permeability, resulting from the separation of tightly joined endothelial cells that line the blood vessel, leads to the exit of fluids and proteins from the blood and accumulated into tissues. These events account for the swelling or edema associated with inflammation (Aitken et al., 2011).

In addition to changes in blood flow, the vascular endothelium also serves as a "gate-keeper" that regulates the movement of leukocytes from the blood vessels and into the affected tissues. Host cells express pattern molecule receptors that become activated by PAMPs and then release various inflammatory mediators such as cytokines and eicosanoids that initiate the inflammatory cascade. These inflammatory mediators act directly on vascular endothelium to cause reductions in blood velocity with a concomitant increased expression of adhesion molecules on endothelial cells. Adhesion molecules on leukocytes attach to vascular adhesion molecules to facilitate the migration of leukocytes from the blood to the site of injury (Maddox et al., 1999, Hodgkinson et al., 2007). In the milk of healthy mammary glands, total somatic cell counts (SCC) are often $<10^5$ cells/ml and the distribution of leukocytes in the milk varies as a function of lactation stage. However, total SCC can increase to $>10^6$ cells/ml of milk within just a few hours of bacterial penetration and the major leukocyte types are neutrophils. The promptness and magnitude of neutrophil migration into mammary gland tissues and milk is considered to be a major determining factor for the establishment of new intramammary infections.

Neutrophils are the predominant cell type to undergo this extravasation process during the early stages of inflammation. Neutrophils first marginate and then adhere to the local endothelium near the site of infection. Cytokines, eicosanoids, and other mediator molecules stimulate adherent neutrophils to move between endothelial cells and pass the basement membrane into the damaged tissue areas. The movement of neutrophils within the tissues is facilitated by chemotactic gradients created by inflammatory mediator molecules at the localized site of infection. Neutrophil migration can occur quickly and accumulate within affected tissues as soon as 30 to 60 minutes following injury (Summers et al., 2010).

Both newly recruited and pre-existing leukocyte populations act cooperatively to eliminate microbial pathogens. Macrophages localized within tissues respond to bacterial invasion by the release of immune-regulatory cytokines and eicosanoids. Both macrophages and the newly recruited neutrophils also function to phagocytize and kill invading microbes. The process of phagocytosis involves the internalization of bacteria within phagosomes that contain bactericidal reactive oxygen species (ROS) and hydrolytic enzymes. The ROS are formed by respiratory burst activity that involves the activation of NADPH oxidase and the subsequent production of superoxide radicals and hydrogen peroxide (Sordillo and Aitken, 2009). Myeloperoxides can further combine hydrogen peroxide with chloride to produce hypochlorite that is associated with bacterial activities. In addition to phagocytosis, neutrophils can kill bacteria through extracellular mechanisms. Activated neutrophils can form neutrophil extracellular traps (NETs) that consist of a web of fibers composed of chromatin and serine proteases that trap and kill bacteria. Studies suggest that NETs provide a highly concentrated foci of antibacterial substances that bind and kill bacteria independently of phagocytic uptake in the mammary gland (Lippolis et al., 2006, Grinberg et al., 2008). NETs also may serve as a physical barrier that prevents further spread of bacteria throughout the mammary gland.

2.3 Adaptive Immunity. The adaptive immune response is triggered when innate immune mechanisms fail to eliminate a pathogen. The adaptive immune response is characterized by the generation of antigen-specific lymphocytes and memory cells with the ability to recognize specific antigenic determinants of a pathogen. When host cells and tissues are re-exposed to the same antigen, a heightened state of immune reactivity occurs as a consequence of immunological memory and clonal expansion of antigen-specific effector cells. A memory immune response would be much faster, considerably stronger, longer lasting, and often more effective in clearing an invading pathogen when compared to a primary immune response. In contrast to the innate immune response, adaptive immunity can take days to develop because of the clonal expansion of B and T lymphocytes specific to the invading pathogen. An amazing feature of the immune system is the ability of a host to recognize and respond to billions of unique antigens that they may encounter. It also is important that an inappropriate specific immune response does not occur against the host's own antigens. For this reason, the immune system is able to distinguish self from non-self and selectively react to only foreign antigens. Genetically diverse, membrane bound proteins called major histocompatibility complex (MHC) molecules assist in this recognition. A specific immune response will only occur if antigens are combined with an MHC molecule on the surface of certain cells, a process referred to as antigen presentation (Sordillo and Aitken, 2011). The unique features of the adaptive immune response form the basis of vaccine strategies (Table 1).

Generation of effective specific immunity involves two types of cells, lymphocytes and antigen presenting cells. Lymphocytes recognize bacterial antigens through membrane receptors specific to the invading pathogen. These are the cells that mediate the defining attributes of adaptive immunity including specificity, diversity, memory, and self/non-self recognition. The T- and B-lymphocytes are two distinct subsets of lymphocytes which differ in function and protein products. The T lymphocytes can be

further subdivided into ab T-lymphocytes, which include CD4+ (T helper) and CD8+ (T cytotoxic) lymphocytes, and gd T lymphocytes (Table 3). Depending on tissue location, the percentages of these cells can vary significantly (Sordillo and Streicher, 2002).

Table 3. Components of Adaptive Immunity

Factor	Main Functions
Major Histocompatibility Complex	Recognizes self from non-self
Dendritic Cells and Macrophages	Antigen presentation cells
T Lymphocytes	CD4+ Cells or T helper Cells (Th1, Th2, Th17, Treg); produce cytokines that regulate innate and adaptive immunity; immunoglobulin isotype switching
	CD8+ Cells or T cytotoxic (Tc); attacks and kills cells that express foreign antigens (virus-infected)
	gδ T Cells; prevalent at mucosal surfaces
B Lymphocytes	Antigen presentation; differentiate into antibody-producing plasma cells
Immunoglobulin (antibodies)	IgM is the largest and first produced; role in agglutination and complement activation
	IgG concentration is high in sera and is important for opsonization
	IgA is found at mucosal surfaces and has anti-viral function
	IgE is associated with allergic reactions and parasitic infections
	IgD non-secreted regulatory molecule

Effector functions of T lymphocytes include the production of cytokines that facilitate cell-mediated immunity by regulating the magnitude and duration of the immune response. The T helper lymphocytes (TH1, TH2, TH17, and Treg) produce cytokines in response to recognition of antigen-MHC complexes on antigen presenting cells (B lymphocytes and macrophages). When activated, T helper cells produce a variety of immunoregulatory cytokines. Through the ability to secrete certain cytokines, T helper cells play an important role in activating both T and B lymphocytes, macrophages, neutrophils, and various other cells that participate in the immune response. Differences in the particular pattern of cytokines produced by activated T helper cells results in different types of immune responses. For example, the cytokines IFN-γ and IL2 are thought to enhance some nonspecific cellular activities such as phagocytosis and intracellular killing (Sordillo and Aitken, 2011).

The CD8+ lymphocytes can exert cytotoxic functions when activated. Cytotoxic T lymphocytes recognize and eliminate altered self cells via antigen presentation in conjunction with MHC class I molecules. There is some speculation that cytotoxic T lymphocytes may act as scavengers that remove old or damaged secretory cells in the mammary gland (Sordillo and Streicher, 2002). Similar to the T helper lymphocytes, CD8+ lymphocytes are thought to control or modulate the immune response by the repertoire of cytokines that they produce.

The biological functions of gδ T lymphocytes have been the subject of much speculation. Their functions are primarily associated with the protection of epithelial surfaces. There are indications that gδ T lymphocytes can mediate cytotoxicity with variable involvement of MHC. These cells also may play a role in infectious diseases and therefore provide an important line of defense against bacterial diseases (Sordillo and Streicher, 2002, Aitken et al., 2011).

Antigen-specific B lymphocytes synthesize and secrete antibodies or immunoglobulin (Ig) that recognize and counteract specific microbial virulence factors. Immunoglobulins are produced by antigen-activated B-lymphocytes that subsequently proliferate and differentiate into antibody-secreting plasma cells (Sordillo and Streicher, 2002, Aitken et al., 2011). There are 4 classes of immunoglobulins that are known to influence host defense against infectious pathogens, namely IgM, IgG, IgA and IgM, which all differ in their physiochemical and biological properties. For example, several Ig isotypes (IgG_1, IgG_2, and IgM) can act as opsonins to enhance phagocytosis by neutrophils and macrophages. In addition to its role in opsonization, IgM is efficient at complement fixation. Whereas IgA does not aid in bacterial opsonization, it does function in bacterial agglutination that can impede the ability of certain pathogens to spread throughout certain tissues. Another important role of IgA is its ability to neutralize some bacterial toxins. Clearly, both the concentration and isotype composition of Ig found in tissues can have a profound influence on the establishment of new infections (Aitken et al., 2011).

3. Optimizing the Mammary Immune System

Optimal host defenses against infectious pathogens occur when both innate and adaptive immune mechanisms are tightly regulated to effectively eliminate the injurious insults and return tissues to homeostasis. Rapid resolution of infections will eliminate bystander tissue damage and prevent any noticeable changes to the overall health and well being of dairy cows. Some pathogens, however, have intrinsic properties that make the efficient elimination by the mammary immune system difficult, and attempts by local defenses to achieve control often results in significant tissue damage and production losses. Whereas antibiotic therapy remains the mainstay for the treatment of mastitis, there is a need for alternative and adjunct therapeutic options that target host immune responses. The challenge is to selectively downmodulate harmful host responses without diminishing beneficial responses that facilitate elimination of invading pathogens.

The development of effective immunomodulatory strategies to control the establishment of mastitis can begin by understanding those conditions that compromise host defenses. Considerable research has established that the physiological stress during the periparturient period in dairy cattle is closely associated with dysfunction of several components of the innate and adaptive immune response (Sordillo et al., 1997). Certain hormones associated with parturition can explain some of the adverse effects on immunity during the periparturient period. Oxidative stress, however, can also compromise immune cells populations especially during times of enhanced metabolism or during inflammation (Sordillo and Aitken, 2009). Activation of the immune response requires energy and the immune system must compete for essential nutrients that are otherwise being used for growth, muscle accretion, and milk production. The development of uncontrolled acute or chronic inflammatory responses to infectious pathogens can not only cause bystander damage to host tissues, but also repartition nutrients resulting in dramatic production losses (Aitken et al., 2011). Therefore, adjusting the nutrition of cows and improving management to reduce exposure to infectious pathogens can have a major impact on optimizing mammary immunity.

The development of innovative strategies that can enhance an otherwise impaired mammary immune response could have a major impact on the incidence of mastitis. The challenge that

confronts researchers now is to gain a better understanding of the complex interactions between the pathogenesis of bacteria, host responses needed to eliminate the pathogens from host tissues, and methods to enhance the immune potential of these factors before disease is established.

References

1. Aitken, S. L., C. M. Corl, and L. M. Sordillo. 2011. Immunopathology of mastitis: insights into disease recognition and resolution. J Mammary Gland Biol Neoplasia 16(4):291-304.
2. Grinberg, N., S. Elazar, I. Rosenshine, and N. Y. Shpigel. 2008. Beta-hydroxybutyrate abrogates formation of bovine neutrophil extracellular traps and bactericidal activity against mammary pathogenic Escherichia coli. Infect Immun 76(6):2802-2807.
3. Hodgkinson, A. J., E. A. Carpenter, C. S. Smith, P. C. Molan, and C. G. Prosser. 2007. Adhesion molecule expression in the bovine mammary gland. Vet Immunol Immunopathol 115(3-4):205-215.
4. Jungi, T. W., K. Farhat, I. A. Burgener, and D. Werling. 2011. Toll-like receptors in domestic animals. Cell Tissue Res 343(1):107-120.
5. Kumar, H., T. Kawai, and S. Akira. 2011. Pathogen recognition by the innate immune system. Int Rev Immunol 30(1):16-34.
6. Lippolis, J. D., T. A. Reinhardt, J. P. Goff, and R. L. Horst. 2006. Neutrophil extracellular trap formation by bovine neutrophils is not inhibited by milk. Vet Immunol Immunopathol 113(1-2):248-255.
7. Maddox, J. F., K. M. Aherne, C. C. Reddy, and L. M. Sordillo. 1999. Increased neutrophil adherence and adhesion molecule mRNA expression in endothelial cells during selenium deficiency. J Leukoc Biol 65(5):658-664.
8. Mattmiller, S. A., B. A. Carlson, and L. M. Sordillo. 2013. Regulation of inflammation by selenium and selenoproteins: impact on eicosanoid biosynthesis. J. Nutritional Sci. 2(e28):1-13.
9. Prasad, R., S. Giri, A. K. Singh, and I. Singh. 2008. 15-deoxy-delta12,14-prostaglandin J2 attenuates endothelial-monocyte interaction: implication for inflammatory diseases. J Inflamm (Lond) 5:14.
10. Rainard, P. 2003. The complement in milk and defense of the bovine mammary gland against infections. Vet Res 34(5):647-670.
11. Riollet, C., P. Rainard, and B. Poutrel. 2000. Differential induction of complement fragment C5a and inflammatory cytokines during intramammary infections with Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Clin Diagn Lab Immunol 7(2):161-167.
12. Schmitz, G. and J. Ecker. 2008. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. Progress in Lipid Research 47(2):147-155.
13. Serhan, C. N. and N. Chiang. 2008. Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. Br J Pharmacol 153 Suppl 1:S200-215.
14. Serhan, C. N., N. Chiang, and T. E. Van Dyke. 2008. Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. Nat Rev Immunol 8(5):349-361.
15. Sordillo, L. M. and S. L. Aitken. 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. Vet Immunol Immunopathol 128(1-3):104-109.
16. Sordillo, L. M. and S. L. Aitken. 2011. Mammary Resistance Mechanisms - Endogenous. Pages 386-391 in Encyclopedia of Dairy Sciences. Vol. 3. Second ed. J. W. Fuguay, P. F. Fox, and P. L. H. McSweeney, ed. Academic Press, San Diego.
17. Sordillo, L. M., G. A. Contreras, and S. L. Aitken. 2009. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows. Anim Health Res Rev 10(1):53-63.
18. Sordillo, L. M., K. Shafer-Weaver, and D. DeRosa. 1997. Immunobiology of the mammary gland. J Dairy Sci 80(8):1851-1865.
19. Sordillo, L. M. and K. L. Streicher. 2002. Mammary gland immunity and mastitis susceptibility. J Mammary Gland Biol Neoplasia 7(2):135-146.
20. Summers, C., S. M. Rankin, A. M. Condliffe, N. Singh, A. M. Peters, and E. R. Chilvers. 2010. Neutrophil kinetics in health and disease. Trends Immunol 31(8):318-324.

IMPORTANCIA Y CONSECUENCIAS DE LA OXITOCINA DE LA PITUITARIA O EN JERINGA PARA EL ORDEÑO MECANIZADO

Rupert M. Bruckmaier
Veterinary Physiology, Vetsuisse Faculty University of Bern
Bern, Switzerland

La historia de la oxitocina en la endocrinología moderna

La oxitocina es una hormona neuropeptídica neurohipofisaria que está implicada en una serie de procesos relacionados con la reproducción, como el apareamiento, el parto, la conexión madre-descendencia y la eyección de leche. La oxitocina se detectó por primera vez en 1909 por Henry Dale (Reino Unido) como un extracto de la pituitaria que facilita el proceso del parto. El nombre de oxitocina deriva de este efecto (del griego: *okytokos* = nacimiento rápido). El reflejo neuroendocrino de eyección de leche y su papel crucial para la disponibilidad de leche para amamantar u ordeñar se detectó en 1941 (Ely y Peterson, 1941). En 1942, se demostró que la oxitocina es el factor que induce la contracción de las células mioepiteliales que rodean los alveolos en la glándula mamaria (Peterson y Ludwick, 1942). La oxitocina se libera desde la pituitaria posterior en respuesta a los estímulos transmitidos a través del hipotálamo. Fue la primera hormona peptídica en ser secuenciada y sintetizada artificialmente (du Vigneaud et al., 1953). Vincent du Vigneaud (Universidad de Cornell) recibió el Premio Nobel de Química por este trabajo en 1955. Desde entonces, la oxitocina está disponible como producto médico en inyección i.m. o i.v. para ayudar en el parto y en la eyección de leche en animales y humanos en caso de liberación endógena insuficiente. Dentro de la glándula mamaria la acción principal de la oxitocina es el control de la eyección de leche y, por tanto, la disponibilidad de leche para la descendencia y la maquinaria de ordeño. Su liberación adecuada en el momento oportuno es crucial para un proceso de ordeño con éxito.

Estructura macroscópica de la ubre y disponibilidad de leche antes de la eyección de leche

Las glándulas mamarias de todas las especies mamíferas, incluidas las vacas lecheras, consisten en tejido secretor y un sistema de conductos de leche y cavidades cisterna. El tejido secretor se basa en estructuras alveolares que contienen células epiteliales secretoras y células mioepiteliales que se contraen en respuesta a la oxitocina. Los alveolos están conectados mediante pequeños conductos de leche con los conductos más grandes de leche, las cavidades cisterna, los pezones y los orificios de las glándulas. Entre cada ordeño o amamantamiento la leche se acumula en la glándula y se almacena en estos compartimentos. Mientras que la leche almacenada en los alveolos y en los conductos pequeños de leche está ligada por fuerzas adhesivas (leche alveolar), sólo son los músculos lisos del canal del pezón los que impiden el drenaje de la leche de los conductos más grandes y de las cavidades (leche cisternal) de la glándula. De esta forma, la leche cisternal se puede extraer inmediatamente mediante el vacío del ordeño (presión negativa), mientras que la leche alveolar no está disponible antes de que se desplace activamente a la cisterna a través de una presión positiva en los alveolos mediante la contracción mioepitelial en respuesta a la oxitocina. La cantidad de leche cisternal difiere tremendamente entre especies, desde el 0 (por ejemplo, la cerda) hasta el 80% (la cabra). En las vacas lecheras, la fracción cisternal alcanza un máximo del 20-30 % a las 10-12 horas después del ordeño anterior (revisado por Bruckmaier & Blum, 1998). Durante las primeras horas después del ordeño, es necesario que el tejido alveolar se rellene con leche recién secretada antes de que la leche se vaya acumulando progresivamente en la cisterna (Knight et al., 1994). Como consecuencia, cuando los intervalos entre ordeños son cortos y cuando la vaca está en lactación tardía, no hay o hay muy poca leche cisternal disponible para cubrir el tiempo hasta la liberación de oxitocina y la eyección de leche alveolar (revisado por Bruckmaier & Blum, 1998).

Estimulación de la ubre, liberación de oxitocina y eyección de leche

La oxitocina neuropéptida se produce en el hipotálamo y se almacena en la pituitaria posterior hasta que se libera en la circulación sanguínea. Su concentración en sangre es extremadamente baja en comparación con otras hormonas (1-5 pg/ml (= 10^{-12} g/ml) valores basales). Durante el ordeño mecanizado, la oxitocina se libera a través de un reflejo neuroendocrino, principalmente en respuesta a la estimulación táctil de los pezones y otras áreas de la ubre. Alternativamente, una liberación de oxitocina más pronunciada se puede conseguir por estimulación táctil vaginal o cervical, potencialmente un método para ser utilizado si la respuesta a la estimulación de la ubre es insuficiente (eyección de leche alterada). Otros tipos de estimulación, como la acústica o la visual, existen obviamente en algunas especies pero nunca se han aprobado en vacas lecheras. Dependiendo del tipo y la intensidad de la estimulación, la oxitocina aumenta hasta niveles de 10-100 pg/ml en las vacas lecheras. Sin embargo, el efecto de la oxitocina respecto a la eyección de leche no está relacionado con la extensión de la liberación de oxitocina. Se ha demostrado en vacas lecheras que la superación de un umbral de aproximadamente 10 pg/ml induce una eyección máxima de leche. Como consecuencia, no existen requisitos especiales para la intensidad de la estimulación de la glándula mamaria para inducir una liberación de oxitocina suficiente para una eyección máxima de leche (Weiss et al., 2003). Una estimulación mínima, pero suficientemente intensa, podría ser, por ejemplo, una fijación clúster sin pulsación (en posición de pezonera cerrada), seguida de la estimulación manual o la estimulación por el movimiento o la vibración normal de la pezonera en posición cerrada. Más allá de eso, el ternero mamando y la estimulación vaginal induce a una liberación más pronunciada de oxitocina. Solo las concentraciones suprafisiológicamente altas de oxitocina en sangre, que solo se pueden conseguir mediante la administración exógena de oxitocina en altas dosis, puede inducir una eyección de leche todavía más eficiente para extraer también la llamada leche residual, una porción del 5-20% del total de leche que permanece en la ubre bajo condiciones fisiológicas (revisado por Bruckmaier & Blum, 1998).

Tiempo de espera para inducir la eyección de leche

En las vacas lecheras, las concentraciones elevadas de oxito-

cina en sangre en la vena yugular se pueden medir a los 30 s después del comienzo de la estimulación, independientemente de la etapa de lactación, la estación, u otros factores poencialmente influyentes. Mientras que la liberación de oxitocina en respuesta a la estimulación táctil permanece prácticamente sin variación temporal, el tiempo de espera hasta que se produce leche alveolar en la cisterna de la ubre en respuesta a la oxitocina liberada endógenamente o inyectada varía mucho. Se ha demostrado que el grado relativo del llenado de la ubre es el factor principal que afecta a este tiempo de espera, y con la disminución del grado de llenado alveolar el tiempo de espera hasta la eyección de leche aumenta. Las diferencias se deben a las distintas etapas de lactación o a los diferentes intervalos entre los ordeños, que es más relevante con más de 2 ordeños diarios (Bruckmaier & Hilger, 2001) o con ordeños robotizados (Dzidic et al., 2004a, b). La leche alveolar alcanza la cisterna aproximadamente a los 40-50 s después del comienzo de la estimulación táctil de las ubres llenas, y este tiempo de espera puede alcanzar los 3 minutos en las ubres con un muy bajo grado de llenado. Esta variación está causada probablemente por un diferente grado de contracción mioepitelial, que es necesario para que la leche se expulse fuera de los alveolos (Bruckmaier & Hilger, 2001).

Requisitos de preestimulación

Está generalmente aceptado que un ordeño transitorio en pezones vacíos con intensidad máxima de vacío y pulsación causa daños en el tejido del pezón, y puede prolongar el proceso de ordeño después de que una eyección de leche retardada haya sido inducida por la pezonera (revisado por Bruckmaier & Blum, 1998). La preestimulación inicia el proceso de eyección de leche mientras que, simultáneamente, no se extrae o solo se extrae una pequeña cantidad de leche. Debido a que no existen requisitos especiales para la intensidad de la estimulación táctil, la estimulación se puede hacer manualmente, limpiando los pezones y la ubre y extrayendo los primeros chorros de leche; o mecánicamente, mediante la pezonera mientras que el vacío de pulsación reducido mantiene la pezonera cerrada, o con un vacío reducido en el tubo de leche y una corta fase B hasta que la leche alveolar está disponible. Ordeñar con pulsación normal sin la preparación previa del pezón causa una eliminación separada de fracciones de leche cisternal y alveolar (flujo de leche bimodal) que puede provocar una tasa de flujo de leche reducida y, en algunos casos, un vaciado insuficiente de la ubre y, por tanto, el aumento del riesgo de mamitis a través de la lesión del tejido del pezón y el aumento de leche residual. La preestimulación normalmente dura entre 30 y 60 segundos y, a muy bajo llenado de la ubre, una preestimulación incluso más larga puede ser beneficiosa (Weiss & Bruckmaier, 2005). La preestimulación puede ser permanente durante 30-60 segundos (o incluso más larga a bajo grado de llenado de la ubre), pero también se puede dividir en estimulaciones táctiles cortas (mínimo de 15 s), seguidas por un periodo de latencia de hasta 45 s (Kaskous & Bruckmaier, 2011). Debido a la rápida bajada de oxitocina después del final de la estimulación, no se recomienda un periodo de latencia más largo porque la contracción mioepitelial se dará incluso a > 2 minutos del periodo de latencia.

Liberación de oxitocina y eyección de leche continuas durante la extracción de leche

La eyección de leche en las vacas lecheras continúa durante el ordeño porque la eyección de leche no implica un desplazamiento completo de la leche alveolar a la cisterna durante la preestimulación o al inicio del ordeño (revisado por Bruckmaier & Blum, 1998). Una concentración continuamente elevada de oxitocina es, por tanto, necesaria durante todo el proceso de ordeño, que es proporcionada por el efecto estimulante de la pezonera. La corta semivida de la oxitocina en la circulación sanguínea de solo 2-3 minutos causa un cese casi inmediato de la eyección de leche cuando el estímulo táctil respectivo termina. En la naturaleza, esto permite una eyección de leche acorde a las necesidades de las crías lactantes. Durante el ordeño mecanizado, el objetivo es el vaciado completo de la ubre y, por tanto, es importante que el equipo y la pezonera no causen ningún daño al animal, que podría llevar a un cese prematuro de la liberación de oxitocina y de la eyección de leche.

El carácter continuo de la eyección de leche es el responsable de los cambios continuos en la composición de la leche durante el transcurso del ordeño. Mientras que la proteína y la lactosa en leche permanecen prácticamente constantes, el contenido en grasas de la leche aumenta continuamente desde aproximadamente el 1% en la leche cisternal hasta >10% en la fracción alveolar final. El recuento de células somáticas es, en su mayoría, alto en la leche cisternal, más bajo en la primera fracción alveolar, y aumenta de forma continua durante el curso posterior del ordeño. Este hecho debe tenerse en cuenta para la recogida de muestras de leche analíticas (Sarikaya et al., 2005).

El papel del sistema nervioso simpático y la adrenalina para la extracción de la leche

Las catecolaminas, como la adrenalina y la noradrenalina, más bien estimulan que inhiben la liberación de oxitocina en respuesta a la estimulación del pezón (revisado por Bruckmaier & Blum, 1998). Experimentalmente, solo una cantidad suprafisiológica de adrenalina causa una contracción extensa de los músculos lisos de los conductos de la leche y, a pesar de la contracción alveolar, la leche alveolar no puede desplazarse a la cisterna. En la ganadería práctica, estas condiciones no se han observado nunca y el papel de la adrenalina en la inhibición de la eyección de leche es muy poco probable.

No obstante, los receptores adrenérgicos de los músculos lisos en el sistema de los conductos de la leche controlan la eficiencia del transporte de la leche a través de los conductos hasta la cisterna durante la eyección continua de leche y, por tanto, influyen en la disponibilidad de la leche cisternal y en la ordeñabilidad (Roets et al., 1989; Inderwies et al., 2003a, b). También el tono del músculo liso del esfínter del pezón está bajo control simpático (Lefcourt, 1982). Se demostró que los cambios en el tono del esfínter del pezón apenas causaban cambios en el flujo de la leche de la cisterna inducido por el vacío durante el ordeño mecanizado (Bruckmaier et al., 1997). Sin embargo, un bajo tono simpático de los músculos del esfínter del pezón aumenta la probabilidad de fugas de leche ("*incontinentia lactis*") que pueden ser particularmente altas poco después del ordeño, por ejemplo, cuando la bomba de vacío se enciende. Las fugas de leche son solo de leche cisternal y no están relacionadas con la liberación de oxitocina y la eyección de la leche (Rovai et al., 2007).

Falta de liberación de oxitocina y alteraciones en la eyección de leche

Las alteraciones en la eyección de leche se pueden producir en las vacas primíparas durante las primeras semanas después del parto, en entornos desconocidos (por ejemplo, después del cambio a un nuevo sistema de ordeño), o durante el celo (revisado por Bruckmaier & Blum, 1998). Se demostró que las alteraciones en la eyección de leche estaban reguladas a nivel del sistema nervioso central y se expresaban a través de una reducida o completamente carente liberación de oxitocina en respuesta al estímulo del ordeño. Un estudio de campo en Suiza que incluía > 67.000 vacas demostró que aproximadamente el 4% de la población de

vacas lecheras tenía una mala ordeñabilidad, en su mayoría debida a las alteraciones en la eyección de leche (Belo et al., 2009). El porcentaje de animales afectados era parecido en las razas Holstein, PardoAlpino, y Simmental x Holstein Rojo. No se encontró ninguna relación entre las alteraciones en la eyección de leche y las estirpes genéticas de los animales o las condiciones especiales de alojamiento y ordeño (Belo et al., 2009). En una muestra representativa, se demostró experimentalmente que la razón de la mala ordeñabilidad se debía a la liberación insuficiente de oxitocina en el 69% de las vacas bajo sospecha (Belo et al., 2009).

Si bien se ha demostrado que la adrenalina no es responsable de las alteraciones en la eyección de leche en la ganadería práctica, sigue sin estar claro qué factores controlan la inhibición de la liberación de oxitocina como la causa principal de las alteraciones en la eyección de leche durante el ordeño mecanizado. Algunos resultados indican que los péptidos opioides endógenos, probablemente junto al cortisol, están implicados en la inhibición (revisado por Bruckmaier & Blum, 1998). Se demostró experimentalmente que la morfina inhibe la liberación de oxitocina durante el ordeño y que el antagonista opiáceo naloxona aumenta la liberación de oxitocina relacionada con el ordeño en las vacas sin alteraciones en la eyección de leche (Tancin et al., 2000). Sin embargo, la naloxona no tuvo efectos claros sobre la liberación de oxitocina relacionada con el ordeño en las vacas con alteraciones en la eyección de leche (Macuhova et al., 2002). Las alteraciones en la eyección de leche se tratan en su mayor parte con la inyección de oxitocina exógena antes de cada ordeño (véase el siguiente párrafo para más detalles). Un método alternativo que funciona en la mayoría de los casos es la estimulación táctil vaginal o cervical inmediatamente antes del ordeño. Este método se puede utilizar en un establo trabado, pero obviamente no es adecuado para la mayoría de las salas de ordeño o los sistemas de ordeño robotizados.

Uso de oxitocina exógena

La mayoría de los animales con alteraciones en la eyección de leche son tratados con oxitocina inyectada antes de cada ordeño (Belo et al., 2009). La inyección de oxitocina antes del ordeño también se puede utilizar en el tratamiento de la mamitis (Knight et al., 2000), o para aumentar la producción de leche (Nostrand et al., 1992).

La oxitocina se inyecta por vía intramuscular (i.m.) o intravenosa (i.v.), la mayoría de las veces a una dosis que da lugar a concentraciones en plasma mucho más allá del nivel fisiológico. Mientras que los niveles de oxitocina tras el cese de la liberación desde la pituitaria bajan a valores basales en cuestión de minutos debido a su corta semivida de 2-3 minutos (Belo et al., 2010), la oxitocina se mantiene elevada durante horas especialmente después de la inyección i.m. debido a su liberación continua del tejido muscular a la circulación sanguínea (Macuhova et al., 2004). Aparte del vaciado completo de la ubre durante el ordeño, la mayoría de las veces incluyendo la leche residual, esto causa eyecciones de leche continuas durante las primeras horas después del ordeño y una acumulación temprana de leche cisternal que solo empezaría a las 4-5 horas después del ordeño bajo condiciones normales (Macuhova et al, 2004). Tanto el vaciado más eficiente de la ubre como la eyección continua de leche pueden ser la base para una inhibición de retroalimentación autocrina reducida de la secreción de leche y, por tanto, una mayor producción de leche (Collier et al., 2012).

A menudo, la oxitocina de jeringa se utiliza crónicamente por lo menos en un periodo de tiempo. Este tratamiento tiene varias consecuencias que deben tenerse en cuenta. Es muy obvio el efecto de que las vacas tienen miedo de entrar voluntariamente en la sala de ordeño porque se esperan la inyección. Así se observó en las granjas con uso frecuente de oxitocina que muchas vacas tenían que ser conducidas a la sala de ordeño y que muchos animales empezaban a defecar cuando estaban dentro de la sala de ordeño. Debido a que la eyección de leche y la extracción de la leche son sensibles a las reacciones de estrés, es obvio que el tratamiento no apoya el bienestar y la tranquilidad necesarios durante el ordeño.

Además de los cambios de comportamiento observados en los animales, también hay efectos fisiológicos del tratamiento con oxitocina crónico. Ya después de una semana de inyecciones de oxitocina i.m. (30 U.I.) a vacas con una eyección de leche normal antes del comienzo del tratamiento, éste condujo a una reducción dramática del vaciado de la ubre si no se aplicaba la inyección de oxitocina (Bruckmaier, 2003), es decir, las vacas se hacían adictas al tratamiento, y se necesitaban alrededor de 2 días hasta que la extracción de leche se normalizaba sin el uso de oxitocina (Bruckmaier & Macuhova, sin publicar). Debido a que un vaciado solo parcial transitorio de la ubre causa un aumento del riesgo de infección intramamaria y una reducción irreversible en la producción de leche, el tratamiento no se puede parar básicamente antes del secado.

Inesperadamente, el tratamiento con oxitocina exógena aumentó la liberación de oxitocina relacionada con el ordeño desde la pituitaria, obviamente basada en un mecanismo de retroalimentación positivo de la oxitocina sobre su propia liberación (Macuhova et al., 2004). A pesar de una liberación de oxitocina normal después del cese del tratamiento, hubo una parada prematura de la eyección de leche durante el ordeño que condujo al vaciado incompleto de la ubre observado (Macuhova et al., 2004). Lo más probable es que una desensibilización de los receptores de oxitocina de las células mioepiteliales sea la responsable de este efecto. Por eso, el uso crónico de altas dosis de oxitocina debe evitarse siempre que sea posible.

En un estudio reciente pudimos demostrar que la inyección i.v. de cantidades mucho más bajas de oxitocina es capaz de inducir una eyección de leche completa en los animales con alteraciones en la eyección de leche (Belo & Bruckmaier, 2010). La superación requerida del umbral de oxitocina para inducir la eyección de leche a lo largo de todo el proceso de ordeño se puede alcanzar fácilmente con dosis < 1 U.I. de oxitocina. La dosis necesaria depende del tiempo requerido para vaciar la ubre, es decir, de la producción de leche y la ordeñabilidad anatómica del animal. La fase de respuesta fue de 2-3 minutos, y 3-5 minutos con dosis de oxitocina de 0,2 U.I. and 0,5 U.I., respectivamente (Belo & Bruckmaier, 2010). Mediante estos tratamientos o incluso hasta 1 U.I., las concentraciones de oxitocina en plasma disminuyeron a valores basales en 20 minutos y el efecto de adicción al tratamiento puede que sea más evitable. Dado que los productos comerciales de oxitocina solo están disponibles en concentraciones de 10 U.I./ml o incluso de 20 U.I./ml, el producto debe diluirse en una solución salina fisiológica estéril, por ejemplo, 1:100. Haciendo esto, se puede inyectar 0,2 U.I. o 0,5 U.I. en 2 ml o 5 ml de solución estéril, respectivamente (Belo & Bruckmaier, 2010).

Como conclusión, la oxitocina en jeringa solo debe utilizarse si es absolutamente necesario, y un tratamiento alternativo por estimulación vaginal debe considerarse si es adecuado para el ganadero.

Referencias

1. Belo, C., S. Schlegel, J. Moll, E. Möstl, and R.M. Bruckmaier. 2009. Milk ejection disorders in Swiss dairy cows: a field study. J. Dairy Res. 76:222.
2. Belo, C., and R.M. Bruckmaier. 2010. Suitability of low dosage oxytocin treatment to induce milk ejection in dairy cows.

J. Dairy Sci. 93:63.

3. Bruckmaier, R. M., O. Wellnitz, and J. W. Blum. 1997. Inhibition of milk ejection in cows by oxytocin receptor blockade, a-adrenergic receptor stimulation and in unfamiliar surroundings.
4. J. Dairy Res. 64:315.
5. Bruckmaier, R.M., and J.W. Blum. 1998. Oxytocin release and milk removal in ruminants. (Review) J. Dairy Sci. 81:939.
6. Bruckmaier, R.M., and M. Hilger. 2001. Milk ejection in dairy cows at different degrees of udder filling. J. Dairy Res. 68:369.
7. Bruckmaier, R.M. 2003. Chronic oxytocin treatment causes reduced milk ejection in dairy cows. J. Dairy Res. 70:123. Collier, R.J., L.L. Hernandez, N.D. Horseman. 2012. Serotonin as a homeostatic regulator of lactation. (Review) Domest. Anim. Endocrinol. 43:161. Du Vigneaud, V., C. Ressler, J.M. Swan, C.W. Roberts, and P.G. Katsoyannis. 1954. The synthesis of oxytocin. J. Am. Chem. Soc. 76:3115. Dzidic, A., D. Weiss, and R.M. Bruckmaier. 2004a. Oxytocin release, milk ejection and milking characteristics in a single stall automatic milking system. Livest. Prod. Sci. 86:61. Dzidic, A., J. Macuhova, and R.M. Bruckmaier. 2004b. Effects of cleaning duration and water temperature on oxytocin release and milk removal in an automatic milking system. J. Dairy Sci. 87:4163.
8. Ely, F., and W.E. Petersen. 1941. Factors involved in the ejection of milk. J. Dairy Sci. 24:211.
9. Inderwies, T., J. Riedl, E. Kiossis, and R.M. Bruckmaier. 2003a. Effects of α- and β-adrenergic receptor stimulation and oxytocin receptor blockade on milking characteristics in dairy cows before and after removal of the teat sphincter. J. Dairy Res. 70:289. Inderwies, T., M.W. Pfaffl, and R.M. Bruckmaier. 2003b. Milking characteristics and their relation to adrenergic receptor mRNA expression and ligand binding in the mammary gland of dairy cows. Domest. Anim. Endocrinol. 25:275. Kaskous, S., and R.M. Bruckmaier. 2011. Best combination of pre-stimulation and latency period duration before cluster attachment for efficient oxytocin release and milk ejection in cows with low to high udder-filling levels. J. Dairy Res. 78:97. Knight, C. H., D. Hirst, and R. J. Dewhurst. 1994. Milk accumulation and distribution in the bovine udder during the interval between milkings. J. Dairy Res. 61:167. Knight, C.H., J.L. Fitzpatrick, D.N. Logue, and D.J. Platt. 2000. Efficacy of two non-antibiotic therapies, oxytocin and topical liniment, against bovine staphylococcal mastitis. Vet. Rec. 146:311 Lefcourt, A. M. 1982. Effect of teat stimulation on sympathetic tone in bovine mammary gland. J. Dairy Sci. 65:2317. Macuhova, J., V. Tancin, W.D. Kraetzl, H.H.D. Meyer, and R.M. Bruckmaier. 2002. Inhibition of oxytocin release during repeated milking in unfamiliar surroundings: importance of opioids and adrenal cortex sensitivity. J. Dairy Res. 69:63.
10. Macuhova, J., V. Tancin, and R.M. Bruckmaier. 2004. Effects of oxytocin administration on oxytocin release and milk ejection. J. Dairy Sci. 87:1236.
11. Nostrand, S.D., D.M. Galton, H.N. Erb, and D.E. Bauman. 1991. Effects of daily exogenous oxytocin on lactation milk yield and composition. J Dairy Sci. 74:2119.
12. Peterson, W.E., and T.M. Ludwick. 1942. The humoral nature of the factor causing the let-down of the milk. Fed. Proc. 1:66.
13. Roets, E., G. Vandeputte-Van Messom, C. Burvenich, and G. Peeters. 1989. Relationship between numbers of a2- and b2-adrenoceptors in teat tissue and blood cells and milkability of primiparous cows. J. Dairy Sci. 72:3304. Rovai, M., M.T. Kollmann, and R.M. Bruckmaier. 2007. Incontinentia lactis: physiology and anatomy conducive to milk leakage in dairy cows. J. Dairy Sci. 90:682. Sarikaya, H., C. Werner-Misof, M. Atzkern, and R.M. Bruckmaier. 2005. Distribution of leucocyte populations, and milk composition, in milk fractions of healthy quarters in dairy cows. J. Dairy Res. 72:486. Tancin V., W.D. Kraetzl, and D. Schams. 2000. Effects of morphine and naloxone on the release oxytocin and on milk ejection in dairy cows. J. Dairy Res. 67:13. Weiss, D., A. Dzidic, and R.M. Bruckmaier. 2003. Effect of stimulation intensity on oxytocin release before, during and after machine milking. J. Dairy Res. 70:349. Weiss, D., and R.M. Bruckmaier. 2005. Optimization of individual prestimulation in dairy cows. J. Dairy Sci. 88:137.

ENGLISH VERSION ▼

Importance and Consequences of Oxytocin from the Pituitary or from the Syringe for Machine Milking

Rupert M. Bruckmaier

Veterinary Physiology, Vetsuisse Faculty University of Bern Bern, Switzerland

The history of oxytocin in the modern endocrinology

Oxytocin is a neuropeptide hormone which is involved in a number of processes related to reproduction such as mating, delivery, mother-offspring-bonding, and milk ejection. Oxytocin was first detected in 1909 by Henry Dale (UK) as an extract from the pituitary that facilitates the process of delivery. From this effect the name of oxytocin is derived (Greek: *okytokos* = quick birth). The neuro-endocrine milk ejection reflex and its crucial role for the availability of milk for suckling or milking was detected in 1941 (Ely and Peterson, 1941). In 1942, it was shown that oxytocin is the factor which induces the contraction of the myoepithelial cells surrounding the alveoli in the mammary gland (Peterson and Ludwick, 1942). Oxytocin is released from the posterior pituitary in response to stimuli transmitted via the hypothalamus. It was the first peptide hormone to be sequenced and artificially synthesized (du Vigneaud et al., 1953). Vincent du Vigneaud (Cornell University) received the Nobel Prize of Chemistry for this work in 1955. Since then oxytocin is available as a medicinal product for i.m. or i.v. injection to support delivery and milk ejection in animals and human in case of insufficient endogenous release. Within the mammary gland the main action of oxytocin is the control of milk ejection and thus the availability of milk for the offspring or the milking machine. Its timely and adequate release is crucial for a successful milking process.

Macroscopic structure of the udder and availability of milk before milk ejection

Mammary glands of all mammalian species including dairy cows consist of secretory tissue, and a system of milk ducts and cis-

ternal cavities. The secretory tissue is based on alveolar structures containing secretory epithelial cells and myoepithelial cells which contract in response to oxytocin. The alveoli are connected via small milk ducts with the larger milk ducts, cisternal cavities, teats and the gland orifice. Between the events of milk removal by suckling or milking, milk accumulates in the gland and is stored in these compartments. While the milk stored in the alveoli and small milk ducts is fixed by adhesive forces (alveolar milk), the milk in the larger ducts and cavities (cisternal milk) is only prevented from draining off the gland by the teat canal smooth muscles. Thus the cisternal milk can immediately be removed through the milking vacuum (negative pressure) while the alveolar milk is not available before it is actively shifted into the cistern by a positive pressure on the alveoli through myoepithelial contraction in response to oxytocin. The amount of cisternal milk differs tremendously between species from 0 (e.g. sow) to up to 80 % (goat). In dairy cows the cisternal fraction reaches a maximum of 20 to 30 % at 10 to 12 hours from previous milking (reviewed by Bruckmaier & Blum, 1998). During the first hours after milking some refill of the alveolar tissue with newly secreted milk is needed before milk increasingly accumulates in the cistern (Knight et al., 1994). Consequently, at short intervals between milkings, and in late lactation there is no or only little cisternal milk available to bridge the time until oxytocin release and alveolar milk ejection (reviewed by Bruckmaier & Blum, 1998).

Udder stimulation, oxytocin release and milk ejection

The neuropeptide oxytocin is produced in the hypothalamus and stored in the posterior pituitary until released into blood circulation. Its concentration in blood is extremely low as compared to other hormones (1-5 pg/ml (= 10^{-12} g/ml) basal values). During machine milking, oxytocin is released via a neuroendocrine reflex mainly in response to tactile stimulation of the teats and other areas of the udder. Alternatively, a more pronounced oxytocin release can be achieved by tactile vaginal or cervical stimulation, potentially a method to be used if the response to udder stimulation is insufficient (disturbed milk ejection). Other types of stimulation such as acoustic or visual stimuli do obviously exist in some species but have never been approved in dairy cows. Depending on the type and intensity of stimulation oxytocin increases to levels of 10-100 pg/ml in dairy cows. However, the effect of oxytocin with respect to milk ejection is not related to the extent of oxytocin release. It has been demonstrated in dairy cows that surmounting a threshold of approx. 10 pg/ml induces a maximum milk ejection. Consequently, there are no special requirements for the intensity of stimulation of the mammary gland to induce a sufficient oxytocin release for maximum milk ejection (Weiss et al., 2003). A minimal but sufficiently intensive stimulation would be e.g. cluster attachment without pulsation (in liner-closed position), followed by manual stimulation or stimulation by the normal liner movement or vibration in liner closed position. Beyond that calf suckling and vaginal stimulation induces a more pronounced oxytocin release. Only supraphysiologically high oxytocin blood concentrations which can only be achieved by exogenous administration of oxytocin at a high dosage, can induce an even more efficient milk ejection to remove also the so-called residual milk, a portion of 5-20 % of the total milk which remains in the udder under physiological conditions (reviewed by Bruckmaier & Blum, 1998).

Lag time to induce milk ejection

In dairy cows, elevated blood concentrations of oxytocin in the jugular vein can be measured within 30 s after the start of stimulation, independent of the lactational stage, season, or other potential factors of influence. While the oxytocin release in response to tactile stimulation underlies almost no timely variation, the lag time until occurrence of alveolar milk in the udder cistern in response to endogenously released or injected oxytocin varies widely. It has been demonstrated that the relative degree of udder filling is the main factor to affect this lag time, and with decreasing degree of alveolar filling the lag time until milk ejection increases. Differences are due to different lactational stages or due to different intervals between milkings which is most relevant at more than 2 x daily milking (Bruckmaier & Hilger, 2001) or at robotic milking (Dzidic et al., 2004a, b). Alveolar milk reaches the cistern at about 40-50 s after the start of tactile stimulation in full udders, and this lag time can reach up to 3 min in udders with a very low degree of filling. This variation is most likely caused by a different degree of myoepithelial contraction which is necessary until milk is pressed out of the alveoli (Bruckmaier & Hilger, 2001).

Requirements of prestimulation

It is generally accepted that a transient milking on empty teats at the full load of vacuum and pulsation causes damage of the teat tissue, and may prolong the milking process after a delayed milk ejection has been induced by the teat cup liner (reviewed by Bruckmaier & Blum, 1998). Prestimulation starts the milk ejection process while simultaneously removing no or only small amounts of milk. Because special requirements for the intensity of a tactile stimulation do not exist, stimulation can be manually through cleaning the teats and udder and stripping the first squirts of milk, or mechanical through the liner while reduced pulsation vacuum keeps the liner closed, or at a reduced vacuum in the milk tube and short b-phase until alveolar milk is available. Milking at normal pulsation without previous teat preparation causes a separate removal of cisternal and alveolar milk fractions (bimodal milk flow) which can cause a reduced milk flow rate and in some cases insufficient udder emptying and hence an increased risk of mastitis through teat tissue damage and increased residual milk. Prestimulation usually lasts for 30 to 60 seconds, and at very low udder filling even a longer prestimulation can be beneficial (Weiss & Bruckmaier, 2005). Prestimulation can be permanent for 30 to 60 s (or even longer at low degree of udder filling), but can also be split into a short tactile stimulation (minimum 15 s), followed by a latency period up to 45 s (Kaskous & Bruckmaier, 2011). Due to the fast decline of oxytocin after the end of stimulation a longer latency period is not recommended because the myoepithelial contraction will be released at latest at > 2 min of latency period.

Continuous oxytocin release and milk ejection during milk removal

Milk ejection in dairy cows continues throughout milking because milk ejection does not imply a complete shift of alveolar milk into the cistern during prestimulation or at the start of milking (reviewed by Bruckmaier & Blum, 1998). A continuously elevated concentration of oxytocin is therefore necessary during the entire milking process which is provided by the stimulatory effect of the liner. The short halflife of oxytocin in blood circulation of only 2-3 min causes an almost immediate cessation of milk ejection when the respective tactile stimulus is terminated. In nature, this allows a milk ejection according to the needs of the suckled offspring. During machine milking the goal is a complete emptying of the udder, and it is therefore important that the cluster and liner do not cause any pain to the animal which could lead to a pre-term cessation of oxytocin release and milk ejection.

The continuous character of milk ejection is responsible for the continuous change of milk composition during the course of milking. While milk protein and lactose remain almost constant, the milk fat content increases continuously from about 1 % in cisternal milk up to >10 % in the final alveolar fraction.

Somatic cell counts are mostly high in cisternal milk, lowest in the first alveolar fraction, and increase continuously during the further course of milking. This fact must be considered for analytical milk sampling (Sarikaya et al., 2005)

The role of the sympathetic nervous system and adrenaline for milk removal

Catecholamines such as adrenaline and noradrenaline rather stimulate than inhibit the release of oxytocin in response to teat stimulation (reviewed by Bruckmaier & Blum, 1998). Experimentally, only a supraphysiological amount of adrenaline causes an extensive contraction of milk duct smooth muscles and despite alveolar contraction alveolar milk cannot be shifted to the cistern. In practical farming these conditions have never been observed, and a role of adrenaline in the inhibition of milk ejection is very unlikely.

However, adrenergic receptors of the smooth muscles in the milk duct system are controlling the efficiency of milk transport through the ducts to the cistern during the continuous milk ejection and hence influence the availability of cisternal milk and milkability (Roets et al., 1989; Inderwies et al., 2003a, b). Also the teat sphincter smooth muscle tone is under sympathetic control (Lefcourt, 1982). Changes of the teat sphincter tone were shown to barely cause changes of milk flow out of the cistern induced by the vacuum during machine milking (Bruckmaier et al., 1997). However, a low sympathetic tone of the teat sphincter muscles increases the likelihood of milk leakage ("incontinentia lactis") which can be particularly high shortly before milking, e.g. when the vacuum pump is switched on. The leaking milk is only cisternal milk and is not related to oxytocin release and milk ejection (Rovai et al., 2007).

Lack of oxytocin release and disturbed milk ejection

Disturbed milk ejection can occur in primiparous cows during the first weeks postpartum, in unfamiliar surroundings (e.g. after the changeover to a new milking system), or during estrus (reviewed by Bruckmaier & Blum, 1998). Disturbed milk ejection was shown to be regulated at the level of the central nervous system and is expressed via reduced or totally lacking release of oxytocin in response to the milking stimulus. A field study in Switzerland which included > 67,000 cows showed that about 4 % of the dairy cow population had bad milkability, mostly due to disturbed milk ejection (Belo et al., 2009). The percentage of affected animals was similar in Holstein, Brown Swiss, and Simmental x Red Holstein breeds. Any relationship of disturbed milk ejection with genetic strains of the animals, or to special housing and milking conditions was not found (Belo et al., 2009). In a representative sample the reason for the bad milkability was experimentally demonstrated to be due to insufficient oxytocin release in 69 % of the cows under suspicion (Belo et al., 2009).

While it was demonstrated that adrenaline is not responsible for disturbed milk ejection in practical farming it remains unclear which factors are controlling the inhibition of oxytocin release as the main cause of disturbed milk ejection during machine milking. Some results indicate that endogenous opioid peptides, possibly together with cortisol, are involved in the inhibition (reviewed by Bruckmaier & Blum, 1989). It was experimentally shown that morphine inhibits the release of oxytocin during milking, and the opioid antagonist naloxone increases the milking-related release of oxytocin in cows with non-disturbed milk ejection (Tancin et al., 2000). Naloxone had, however, no clear effect on the milking-related release of oxytocin in cows with disturbed milk ejection (Macuhova et al., 2002). Disturbed milk ejection is mostly treated with exogenous oxytocin injected before each milking (details see next paragraph). An alternative method which works in most cases is vaginal or cervical tactile stimulation immediately before milking. This method can be used in a tie stall but is obviously not suitable in most parlor or robotic milking systems.

Use of exogenous oxytocin

Most of the animals with disturbed milk ejection are treated with oxytocin from the syringe before each milking (Belo et al., 2009). Besides that, oxytocin injection before milking can be used in mastitis therapy (Knight et al., 2000), or to increase milk production (Nostrand et al., 1992).

Oxytocin is injected either intramuscularly (i.m.) or intravenously (i.v.), mostly at a dosage which results in plasma concentrations far beyond the physiological level. While oxytocin levels after the cessation of release from the pituitary drops to baseline within minutes due to the short halflife of 2-3 min (Belo et al., 2010) oxytocin remains elevated for hours especially after i.m. injection because of its continuous release from the muscle tissue into blood circulation (Macuhova et al., 2004). Besides a complete udder emptying at milking mostly including residual milk this causes a continuation of milk ejections during the first hours after milking, and an early accumulation of cisternal milk which would start only at 4-5 hours after milking under regular conditions (Macuhova et al, 2004). Both, more efficient emptying of the udder, and continued milk ejection may be the basis for a reduced autocrine feedback inhibition of milk secretion and thus increased milk production (Collier et al., 2012). Often oxytocin from the syringe is used chronically at least for a period of time. This treatment has several consequences which need to be considered. Very obvious is the effect that cows become afraid from voluntarily entering the parlor because they expect the injection. Thus it was observed in farms with frequent oxytocin use that many cows had to be driven into the parlor and that many animals started to defecate while present in the parlor. Because milk ejection and milk removal is sensitive to stress reactions it is obvious that the treatment does not support the required wellbeing and calmness during milking. Besides the observed behavioral changes of the animals there are also physiological effects of chronic oxytocin treatment. Already after one week of i.m. oxytocin injection (30 I.U.) to cows with normal milk ejection before the start of the treatment led to a dramatic reduction of udder emptying if oxytocin injection was not applied (Bruckmaier, 2003), i.e. cows become addicted to the treatment, and it takes about 2 days until milk removal normalizes without the use of oxytocin (Bruckmaier & Macuhova, unpublished). Because a transient only partial udder emptying causes an increased risk for intramammary infection, and irreversible decrease of milk production, the treatment can basically not be stopped before dry off. Unexpectedly the treatment with exogenous oxytocin increased the milking-related release of oxytocin from the pituitary, obviously based on a positive feedback mechanism of oxytocin on its own release (Macuhova et al., 2004). Despite a normal oxytocin release after cessation of the treatment, there was a pre-term stop of milk ejection during milking which led to the observed incomplete udder emptying (Macuhova et al., 2004). Most likely a desensitization of the oxytocin receptors of the myoepithelial cells is responsible for this effect. Thus the chronic use of oxytocin at a high dosage should be avoided whenever possible. In a recent study we could demonstrate that much lower amounts of oxytocin injected i.v. are capable to induce complete milk ejection in animals with disturbed milk ejection (Belo & Bruckmaier, 2010). The required exceedance of the oxytocin threshold to induce milk ejection throughout the entire milking process can easily be reached by dosages < 1 I.U. of oxytocin. The needed dosage

depends of the time needed to empty the udder, i.e. of the milk yield and anatomical milkability of the animal. The response phase was 2-3 min, and 3-5 min at oxytocin dosages of 0.2 I.U. and 0.5 I.U., respectively (Belo & Bruckmaier, 2010). By these treatments or even up to 1 I.U., oxytocin plasma concentrations decreased to baseline within 20 min, and an effect of addiction to the treatment is most likely avoided. Because commercial oxytocin products are only available at concentrations of 10 I.U./ml or even 20 I.U./ml, the product must be diluted in sterile physiological saline solution, e.g. 1:100. Doing so, 0.2 I.U. or 0.5 I.U. can be injected in 2 ml or 5 ml of sterile solution, respectively (Belo & Bruckmaier, 2010). In conclusion, oxytocin from the syringe should only be used if absolutely necessary, and an alternative treatment by vaginal stimulation should be considered if suitable for the farmer.

References

1. Belo, C., S. Schlegel, J. Moll, E. Möstl, and R.M. Bruckmaier. 2009. Milk ejection disorders in Swiss dairy cows: a field study. J. Dairy Res. 76:222.
2. Belo, C., and R.M. Bruckmaier. 2010. Suitability of low dosage oxytocin treatment to induce milk ejection in dairy cows. J. Dairy Sci. 93:63.
3. Bruckmaier, R. M., O. Wellnitz, and J. W. Blum. 1997. Inhibition of milk ejection in cows by oxytocin receptor blockade, a-adrenergic receptor stimulation and in unfamiliar surroundings. J. Dairy Res. 64:315.
4. Bruckmaier, R.M., and J.W. Blum. 1998. Oxytocin release and milk removal in ruminants. (Review) J. Dairy Sci. 81:939.
5. Bruckmaier, R.M., and M. Hilger. 2001. Milk ejection in dairy cows at different degrees of udder filling. J. Dairy Res. 68:369.
6. Bruckmaier, R.M. 2003. Chronic oxytocin treatment causes reduced milk ejection in dairy cows. J. Dairy Res. 70:123. Collier, R.J., L.L. Hernandez, N.D. Horseman. 2012. Serotonin as a homeostatic regulator of lactation. (Review) Domest. Anim. Endocrinol. 43:161.
7. Du Vigneaud, V., C. Ressler, J.M. Swan, C.W. Roberts, and P.G. Katsoyannis. 1954. The synthesis of oxytocin. J. Am. Chem. Soc. 76:3115.
8. Dzidic, A., D. Weiss, and R.M. Bruckmaier. 2004a. Oxytocin release, milk ejection and milking characteristics in a single stall automatic milking system. Livest. Prod. Sci. 86:61.
9. Dzidic, A., J. Macuhova, and R.M. Bruckmaier. 2004b. Effects of cleaning duration and water temperature on oxytocin release and milk removal in an automatic milking system. J. Dairy Sci. 87:4163.
10. Ely, F., and W.E. Petersen. 1941. Factors involved in the ejection of milk. J. Dairy Sci. 24:211.
11. Inderwies, T., J. Riedl, E. Kiossis, and R.M. Bruckmaier. 2003a. Effects of α- and β-adrenergic receptor stimulation and oxytocin receptor blockade on milking characteristics in dairy cows before and after removal of the teat sphincter. J. Dairy Res. 70:289.
12. Inderwies, T., M.W. Pfaffl, and R.M. Bruckmaier. 2003b. Milking characteristics and their relation to adrenergic receptor mRNA expression and ligand binding in the mammary gland of dairy cows. Domest. Anim. Endocrinol. 25:275.
13. Kaskous, S., and R.M. Bruckmaier. 2011. Best combination of pre-stimulation and latency period duration before cluster attachment for efficient oxytocin release and milk ejection in cows with low to high udder-filling levels. J. Dairy Res. 78:97.
14. Knight, C. H., D. Hirst, and R. J. Dewhurst. 1994. Milk accumulation and distribution in the bovine udder during the interval between milkings. J. Dairy Res. 61:167.
15. Knight, C.H., J.L. Fitzpatrick, D.N. Logue, and D.J. Platt. 2000. Efficacy of two non-antibiotic therapies, oxytocin and topical liniment, against bovine staphylococcal mastitis. Vet. Rec. 146:311
16. Lefcourt, A. M. 1982. Effect of teat stimulation on sympathetic tone in bovine mammary gland. J. Dairy Sci. 65:2317.
17. Macuhova, J., V. Tancin, W.D. Kraetzl, H.H.D. Meyer, and R.M. Bruckmaier. 2002. Inhibition of oxytocin release during repeated milking in unfamiliar surroundings: importance of opioids and adrenal cortex sensitivity. J. Dairy Res. 69:63.
18. Macuhova, J., V. Tancin, and R.M. Bruckmaier. 2004. Effects of oxytocin administration on oxytocin release and milk ejection. J. Dairy Sci. 87:1236.
19. Nostrand, S.D., D.M. Galton, H.N. Erb, and D.E. Bauman. 1991. Effects of daily exogenous oxytocin on lactation milk yield and composition. J Dairy Sci. 74:2119.
20. Peterson, W.E., and T.M. Ludwick. 1942. The humoral nature of the factor causing the let-down of the milk. Fed. Proc. 1:66.
21. Roets, E., G. Vandeputte-Van Messom, C. Burvenich, and G. Peeters. 1989. Relationship between numbers of a2- and b2-adrenoceptors in teat tissue and blood cells and milkability of primiparous cows. J. Dairy Sci. 72:3304.
22. Rovai, M., M.T. Kollmann, and R.M. Bruckmaier. 2007. Incontinentia lactis: physiology and anatomy conducive to milk leakage in dairy cows. J. Dairy Sci. 90:682.
23. Sarikaya, H., C. Werner-Misof, M. Atzkern, and R.M. Bruckmaier. 2005. Distribution of leucocyte populations, and milk composition, in milk fractions of healthy quarters in dairy cows. J. Dairy Res. 72:486.
24. Tancin V., W.D. Kraetzl, and D. Schams. 2000. Effects of morphine and naloxone on the release oxytocin and on milk ejection in dairy cows. J. Dairy Res. 67:13.
25. Weiss, D., A. Dzidic, and R.M. Bruckmaier. 2003. Effect of stimulation intensity on oxytocin release before, during and after machine milking. J. Dairy Res. 70:349.
26. Weiss, D., and R.M. Bruckmaier. 2005. Optimization of individual prestimulation in dairy cows. J. Dairy Sci. 88:137.

ACTUALIZACIÓN SOBRE LA MAMITIS CONTAGIOSA: *STAPHYLOCOCCUS AUREUS Y STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*

John R. Middleton, DVM, PhD, DACVIM (LAIM)
Columbia, Missouri, USA

INTRODUCCIÓN

El *Staphylococcus aureus* y el *Streptococcus agalactiae* se consideran los principales patógenos causantes de la mamitis debido a que pueden ser altamente contagiosos y pueden tener un impacto significativo sobre los ingresos de la explotación. Si bien estos patógenos comparten muchas similitudes con respecto a los principales reservorios de la infección y la transmisión vaca-a-vaca, existen algunas diferencias importantes que se tratarán más adelante. Estos patógenos causan principalmente infecciones intramamarias (IIM) subclínicas que, a menudo, se vuelven crónicas y, por tanto, el impacto económico generalmente se manifiesta a través del aumento en el recuento de células somáticas (RCS) en leche y el descenso en la producción lechera. No obstante, hay diferencias regionales y entre rebaños, y en algunos casos estos patógenos pueden estar asociados con una alta incidencia de la enfermedad clínica.

En los años 60, se publicó un cuerpo significativo de trabajos que establecían los estándares para el control de la mamitis contagiosa en las granjas lecheras (Davidson, 1961; Wilson y Davidson, 1961; Neave et al., 1966; Dodd et al., 1969; Neave et al., 1969). De estos trabajos surgió el programa de control de la mamitis de cinco puntos. La implementación del plan de cinco puntos, que después se desarrolló en el plan de control de la mamitis de 10 puntos del NMC, ha llevado a la reducción de la prevalencia de la mamitis contagiosa en muchas granjas. Sin embargo, el *S. aureus* y el *Strep. agalactiae* todavía pueden plagar explotaciones individuales y, en función de la cronicidad y transmisibilidad dentro del rebaño, pueden ser difíciles de erradicar y pueden tener un impacto importante sobre la calidad de la leche.

FUENTES DE INFECCIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA

La ubre de la vaca en lactación es considerada un reservorio principal de infección para la IIM por *S. aureus*. Si bien el *S. aureus* puede aislarse de fuentes extramamarias en las granjas, el entorno de la vaca no se considera normalmente el principal reservorio de la infección, pero hay que tener en cuenta los reservorios no bovinos cuando se intenta manejar la mamitis por *S. aureus*. En contraste, el *Strep. agalactiae* se considera un patógeno obligado de la ubre bovina y el organismo no sobrevive bien fuera del huésped (Keefe, 1997). Ambos patógenos pueden colonizar la piel del pezón, y se ha visto que el *S. aureus* es capaz de colonizar otros lugares del cuerpo incluyendo la piel en la región inguinal y sobre los corvejones (Roberson et al., 1998; Capurro et al., 2010). Para ambos patógenos, la principal forma de transmisión es vaca-a-vaca a través de fómites, como los equipos e utensilios de ordeño, en el momento del ordeño. Además, las manos del ordeñador pueden ser una fuente de transmisión de patógenos. Las estimaciones de prevalencia de los patógenos de la mamitis contagiosa varían según la región. En los países desarrollados, la prevalencia de la mamitis por *Strep. agalactiae* es normalmente baja, mientras que en los países con industrias lecheras emergentes la prevalencia estimada puede ser hasta del 60% de los rebaños (Keefe, 2012). Se ha reportado en estudios recientes llevados a cabo en EEUU y Canadá que la prevalencia de los rebaños con vacas con IIM por *S. aureus* es del 43% y el 74%, respectivamente (Keefe, 2012).

Si bien la glándula mamaria infectada de la vaca en lactación es normalmente el reservorio de la infección, en los casos de la mamitis por *S. aureus*, la novilla de reemplazo puede ser una fuente significativa de la IIM por *S. aureus*. En algunas zonas de Estados Unidos, por ejemplo, la prevalencia de la IIM por *S. aureus* en las novillas antes del parto supera el 30%. Un informe de Luisiana registró una prevalencia del 37% (Trinidad et al., 1990) y en trabajos del autor en Missouri se ha registrado un prevalencia de aproximadamente el 30% (Middleton, datos sin publicar), mientras que las novillas de zonas más al norte del país parecen tener una prevalencia más baja de IIM por *S. aureus* preparto (Fox et al., 1995). La glándula mamaria de la novilla puede infectarse ya a los seis meses de edad y puede albergar estas infecciones durante toda la primera lactación. Sin embargo, Fox et al. (1995) reportaron que las novillas son más susceptibles a la infección durante el último trimestre de gestación. Se presume que las novillas se infectan por los habitantes de la piel que se introducen en la glándula mamaria por la punta del pezón. Roberson et al. (1998) reportaron que las posibles fuentes de *S. aureus* en el calostro de las novillas en el momento del parto eran la leche del ganado en lactación (70%), los lugares del cuerpo de la novilla (39%), lugares del ambiente (28%) y fuentes no identificadas (16%). Del mismo modo, Middleton et al. (2002a) reportaron que el 71% de las cepas de *S. aureus* aisladas de las secreciones mamarias de las novillas en el parto eran las mismas que aquellas aisladas de la leche del ganado en lactación y que el 47% de las cepas de *S. aureus* aisladas del pezón y la piel de la ubre de las novillas eran las mismas que aquellas aisladas de las secreciones mamarias de las novillas en el momento del parto. Además, Owens y sus colaboradores (1998) reportaron que las moscas de los cuernos (*Haematobia irritans*) eran capaces de transmitir el *S. aureus* a las novillas, causando nuevas IIM, y que las costras en los pezones pueden ser una fuente de colonización de moscas con *S. aureus*. Los rebaños en los que se practica un control de moscas efectivo parecen tener un menor riesgo de mamitis en las novillas en lactación temprana causada por patógenos contagiosos que los rebaños sin control de moscas o con un control de moscas ineficaz (Nickerson et al., 1995; Piepers et al., 2011). Los datos también sugieren que los rebaños que compran novillas de reemplazo pueden tener una mayor prevalencia de IIM por *S. aureus* que los rebaños en expansión que compran vacas en lactación (Middleton et al., 2002a). Además, los rebaños que compran novillas de reemplazo pueden tener más cepas de *S. aureus* y entran más cepas nuevas de *S. aureus* en el rebaño que en los rebaños cerrados que crían sus propios reemplazos (Middleton et al., 2002a).

Con la llegada de técnicas robustas de caracterización de cepas basadas en el ADN, se ha reconocido que existen muchas cepas diferentes de *S. aureus* y que la mayoría de los rebaños tienden a tener una clase de cepa predominante (Middleton, et al., 2002b).

También se ha reconocido que existen diferencias entre las cepas con respecto a la transmisibilidad, la inflamación de la ubre, la persistencia de la infección y el impacto sobre la producción lechera (Barkema et al., 2006; Middleton y Fox, 2002c). Las características individuales de las cepas repercuten en la adaptabilidad al huésped y, por tanto, en la supervivencia del patógeno. Los factores específicos de la cepa, incluyendo la resistencia antimicrobiana y la capacidad de sobrevivir en biofilms o intracelularmente, también pueden influir sobre el resultado de respuesta al tratamiento antimicrobiano. La epidemiología molecular del *Strep. agalactiae* en las explotaciones lecheras no está tan bien estudiada. La mayoría de los trabajos publicados se han encaminado hacia la comprensión de la relación entre las cepas bovinas y las cepas humanas más que a entender los entresijos de la epidemiología del patógeno. Las implicaciones para la transmisión antroponótica y zoonótica del *S. aureus* y el *Strep. agalactiae* se discuten a continuación.

SIGNOS CLÍNICOS

Como se ha mencionado anteriormente, tanto el *S. aureus* como el *Strep. agalactiae* causan la mayoría de las veces una IIM subclínica. El *Staphylococcus aureus* normalmente se manifiesta mediante un aumento moderado en el RCS en leche, mientras que el *Strep. agalactiae* se asocia con un notable aumento en el RCS en leche y puede asociarse con recuentos muy altos de bacterias. El *Streptococcus agalactiae* raramente causa la enfermedad clínica; mientras que, en algunas regiones, el *S. aureus* puede ser una de las causas principales de la mamitis clínica. Además, el *S. aureus* ocasionalmente causa mamitis gangrenosa hiperaguda.

DETECCIÓN Y DIAGNÓSTICO

El diagnóstico definitivo de una IIM se basa normalmente en la detección de bacterias en la leche. El aumento en el RCS en la leche del tanque, a nivel de vaca o a nivel de cuarto mamario puede ser indicativo de una IIM subclínica, pero estas medidas no son específicas de patógenos. Por lo tanto, el RCS se puede utilizar como una herramienta de control para detectar IIM, pero son necesarias pruebas adicionales para confirmar el diagnóstico. La sensibilidad (S) y la especificidad (E) de la Prueba de Mamitis California (CMT, por sus siglas en inglés) para la detección de los cuartos mamarios infectados con *S. aureus* utilizando un umbral de traza se ha reportado previamente como 0,62 sobre la base de un único cultivo en leche y como 0,86 cuando se utilizaron dos cultivos en leche concordantes para hacer el diagnóstico (Middleton et al., 2004). Del mismo modo, la S y la E del RCS en leche de los cuartos mamarios para la detección de los cuartos mamarios infectados con *S. aureus* utilizando un umbral de 100.000 células/ml fue de 0,96 sobre la base de un único cultivo en leche y de 0,95 cuando se utilizaron dos cultivos en leche concordantes para hacer el diagnóstico (Middleton et al., 2004).

La S y la E del cultivo en leche dependerán de la cantidad de bacterias alojadas en la leche. Debido a que el *Strep. agalactiae* normalmente se aloja en grandes cantidades y es un patógeno intramamario obligado, la S y la E de los cultivos rutinarios se consideran bastante altas (0,95 y 1,00, respectivamente). En contraste, el *S. aureus* se puede alojar cíclicamente y, por tanto, la S del cultivo en leche es más baja que para el *Strep. agalactiae* (0,75). En ambos casos, la S y la E se verán impactadas por el volumen de inóculo utilizado para realizar el cultivo en leche y también por el umbral de recuento de colonias bacterianas empleado para la determinación de un diagnóstico positivo. En el caso del *S. aureus*, debido a que el patógeno se puede encontrar en lugares extramamarios y en la piel de la ubre, la recogida de muestras aséptica es fundamental para la interpretación precisa de los resultados. Los métodos de diagnóstico basados en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) se pueden emplear para detectar ambos patógenos y la S y la E son comparables con el cultivo en leche. A nivel del tanque, la detección de cualquiera de los patógenos generalmente indica la presencia de una o más vacas con una IIM. Como ocurre con los cultivos a nivel de vaca o de cuarto mamario, no obstante, hay que tener en cuenta que el *S. aureus* puede proceder de lugares extramamarios.

TRATAMIENTO

Se han adoptado muchos enfoques para el tratamiento de la mamitis por *S. aureus*, incluyendo tratamientos antimicrobianos intramamarios, terapias antimicrobianas sistémicas y la vacunación junto al tratamiento antimicrobiano. Las tasas de curación han oscilado entre el 3-74% dependiendo del producto del tratamiento, la duración del tratamiento y si el tratamiento fue administrado durante la lactación o en el periodo seco o, en el caso de las novillas, poco antes del parto (Barkema et al., 2006). Barkema et al. (2006), en su revisión, concluyeron que "la probabilidad de curación depende de la vaca, el patógeno y los factores del tratamiento". Las tasas de curación se ven afectadas por el aumento de la edad de la vaca, el incremento en el RCS, el aumento de la cronicidad de la infección, el incremento en el recuento de bacterias y el creciente número de cuartos mamarios infectados. Concluyeron que "el factor de tratamiento más importante que afecta a la curación es la duración del tratamiento". Además, sugieren que "el tratamiento de los animales jóvenes con infecciones de *S. aureus* sensible a la penicilina se justifica a menudo basándose en la curación bacteriológica y el resultado económico, mientras que el tratamiento de los animales de más edad con infecciones crónicas o cepas resistentes a la penicilina debería desaconsejarse". Del mismo modo, Roy y Keefe (2012), en una revisión sistemática de la literatura sobre el tratamiento de la mamitis por *S. aureus* durante la lactancia concluyeron que un tratamiento intramamario extendido durante 5-8 días era la mejor opción terapéutica. No obstante, esta recomendación debe ser moderada con el conocimiento de que los regímenes terapéuticos extendidos pueden asociarse con mamitis clínica con organismos secundarios como levaduras o coliformes (Roy y Keefe, 2012; Middleton y Luby, 2008). Además, las tasas de curación generales a largo plazo en algunos rebaños, incluso después de 8 dosis consecutivas de antibióticos intramamarios, puedes ser bastante malas. En un estudio, Middleton y sus colaboradores demostraron que, mientras que las tasas de curación eran bastante altas 4 días después del tratamiento (80%), a los 28 días post-tratamiento la mayoría de las infecciones se habían recrudecido, bajando la tasa de curación general al 29% (Middleton et al., 2007).

El tratamiento preparto de las novillas con antibióticos intramamarios se ha estudiado extensamente. Generalmente, las novillas son tratadas con un antibiótico intramamario entre 2 y 4 semanas antes del parto en un intento de eliminar la IIM causada principalmente por estafilococos coagulasa negativos, aunque se ha percibido alguna eficacia contra el *S. aureus*. Si bien las tasas de curación pueden ser bastante prometedoras, el impacto de una terapia de este tipo en el rendimiento de la primera lactación incluyendo la producción de leche y el RCS comparado con no tratar varía de rebaño en rebaño, con algunos rebaños mostrando ningún beneficio (Middleton et al., 2005). Como se ha señalado anteriormente, también existe un riesgo de introducir una IIM y causar una mamitis clínica. Algunos regímenes terapéuticos intramamarios extendidos, al igual que el tratamiento preparto de las novillas con antibióticos intramamarios, constituyen un fuera de registro y solo se pueden llevar a cabo bajo una válida Relación Veterinario-Cliente-Paciente.

El *Streptococcus agalactiae* normalmente es susceptible al tratamiento antimicrobiano y tanto las terapias sobre las vacas en lactación como sobre las vacas secas pueden ser muy eficaces a la hora de eliminar las IIM. La aplicación de protocolos de tratamiento de vacas secas en sábana puede jugar un papel importante en la erradicación de la mamitis por *Strep. agalactiae* en un rebaño. El tratamiento de las vacas secas tiene el beneficio económico de que requiere una retención de leche entre mínima y nula, y que las tasas de curación de las vacas secas son a menudo más altas de las tasas de curación de los tratamientos en vacas en lactación.

PREVENCIÓN Y CONTROL

El objetivo de un programa de control de mamitis contagiosa es prevenir nuevas IIM o facilitar la eliminación de las nuevas IIM lo antes posible. Debido a que el principal reservorio de la infección es la glándula mamaria de la vaca y que la transmisión se produce durante el ordeño, el principal foco para el control de la mamitis contagiosa ha sido la higiene durante el ordeño, incluyendo toallas de un solo uso para las ubres, que los ordeñadores lleven guantes y sumergir los pezones en un germicida después del ordeño para eliminar los patógenos que pueden haber colonizado la piel del pezón desde fómites contaminados como el interior de la unidad de ordeño durante el ordeño. Además, el uso rutinario de antibióticos intramamarios de acción prolongada durante el periodo seco está orientado a eliminar las IIM existentes. La decisión de tratar el ganado infectado durante la lactación se basará sobre el conocimiento histórico de la contagiosidad de la enfermedad en el rebaño y la respuesta previa a al tratamiento. Los procedimientos de control adicionales incluyen la segregación y el ordeño de las vacas infectadas después del ganado no infectado, el descarte del ganado infectado crónicamente, el mantenimiento del equipamiento de ordeño y la preselección de las novillas de reemplazo y el ganado lactante comprado antes de su inclusión en la población en lactación. Si bien la higiene a la hora de ordeñar es la medida de control principal, en algunos rebaños puede no ser suficiente durante un brote (Smith et al., 1998). En estos casos, pueden ser necesarias medidas más agresivas como el descarte acelerado del ganado infectado, la segregación estricta y el ordeño del ganado infectado en último lugar, y el secado de los cuartos mamarios infectados (Middleton et al., 2001).

Si bien se pueden hacer cultivos de *S. aureus* a partir de la leche de al menos algunas vacas en la mayoría de los rebaños, la mamitis por *S. aureus* puede no tener siempre un gran impacto sobre la calidad de la leche del tanque. Mientras que unos rebaños pueden tener una cepa predominante sugiriendo la propagación contagiosa de vaca en vaca, otros rebaños pueden tener vacas con muchos tipos de cepas diferentes y ninguna cepa consistente causando la IIM entre las vacas. En última instancia, se plantea la hipótesis de que las cepas de *S. aureus* aisladas no están adaptadas al huésped y pueden considerarse como patógenos no contagiosos esporádicos parecidos a los patógenos de la mamitis del medio ambiente. Por tanto, las decisiones de manejo sobre el ganado infectado, por ejemplo, el ordeño segregado, el tratamiento y/o el descarte, pueden ser diferentes en los rebaños con cepas no adaptadas al huésped frente a aquellos rebaños en los que se ha demostrado claramente que el *S. aureus* se transmite fácilmente de vaca en vaca.

VACUNACIÓN

La vacunación contra la mamitis por *S. aureus* se ha estudiado durante muchos años, pero ninguna de las vacunas estudiadas hasta la fecha ha prevenido de forma consistente la IIM por *S. aureus*. Al igual que el objetivo de los procedimientos de prevención y control descritos anteriormente, el objetivo de la vacuna de la mamitis por *S. aureus* sería prevenir las nuevas IIM o facilitar la eliminación de las nuevas IIM lo antes posible después de la infección, disminuyendo así el reservorio infeccioso y minimizando la transmisión vaca-a-vaca. Actualmente, existen dos bacterinas para la mamitis por *S. aureus* disponibles en el mercado para la mamitis bovina. Lysigin® (Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.) está disponible en los Estados Unidos y Startvac® (Hipra) está disponible en Europa y Canadá.

Lysigin es una bacterina de *S. aureus* cultivo lisado polivalente de células completas que contiene los serotipos más comunes de *S. aureus* causantes de la mamitis bovina en los Estados Unidos. Williams et al. (1966 y 1975) estudiaron la Lysigin tanto en estudios de campo como en estudios de inoculación experimental. El ganado vacunado tuvo puntuaciones clínicas más bajas, RCS menores, y menos casos de mamitis crónica después de la exposición intramamaria al *S. aureus* que los controles sin vacunar. En la prueba de campo, Williams et al. (1966) mostraron una reducción en la tasa de nuevas IIM entre el ganado vacunado y el no vacunado, pero todavía se daban IIM en algunos vacunados. Más recientemente, se comparó la eficacia de la Lysigin disponible en el mercado con dos formulaciones experimentales de Lysigin y controles sin vacunar en novillas primíparas en una prueba de exposición al *S. aureus* (Middleton et al., 2006). Todo el ganado se infectó con *S. aureus* después de la exposición. El ganado vacunado con la Lysigin disponible en el mercado tuvo una duración media significativamente menor de mamitis clínica y una puntuación total de mamitis más baja después de la exposición que los controles. Sin embargo, no hay evidencia de que ninguno de los grupos vacunados tuviera una media más baja en el recuento de células somáticas (RCS) que los grupos control, ni evidencia de que los vacunados tuvieran una mayor producción de leche que los controles después de la exposición. Por otra parte, los niveles de anticuerpos opsonizantes en leche no fueron diferentes de los de control. Un estudio de seguimiento de campo de un ganado lechero en lactación de múltiples paridades mostró que, en un rebaño con un 5% de prevalencia de *S. aureus* y un 40% de prevalencia de estafilococos coagulasa negativos, la vacuna no redujo la tasa de nuevas infecciones intramamarias por estafilococos y los datos sugirieron que podría haber insuficientes anticuerpos opsonizantes inducidos por la vacuna en la leche para facilitar la fagocitosis y la eliminación de los estafilococos de la glándula mamaria (Middleton et al., 2006). Por el contrario, Nickerson y sus colaboradores (1999) vacunaron novillas con la Lysigin disponible en el mercado a los 6 meses de edad seguido por una dosis de refuerzo a las 2 semanas y vacunas de recuerdo posteriores cada 6 meses hasta el parto. Las vacunadas tuvieron una reducción del 45% tanto en nuevas IIM por *S. aureus* durante la gestación como en nuevas IIM por *S. aureus* en el parto en relación con las controles. Además, las vacunadas tuvieron una reducción del 30% en nuevas IIM CNS que se volvieron crónicas y una reducción del 31% en nuevas IIM CNS en el parto en relación con las controles, proporcionando evidencia de que la Lysigin puede ser de utilidad en la reducción de la mamitis por estafilococos en novillas periparturientas vacunadas a temprana edad con vacunaciones de seguimiento frecuentes.

La vacunación con Lysigin también se ha estudiado como complemento al tratamiento antimicrobiano. En un estudio, el ganado vacunado con Lysigin y tratado con pirlimicina intramamaria de larga duración tuvo una tasa de curación más alta que los controles no tratados (Smith et al., 2006); mientras que dos estudios evaluaron la Lysigin junto al tratamiento con pirlimicina frente al tratamiento con pirlimicina por sí solo y no mostraron diferencias en las tasas de curación entre los grupos (Luby y Middleton, 2005; Middleton et al., 2007).

Startvac es una vacuna polivalente comercializada por Hipra que

contiene *Escherichia coli* inactivada (J5) y *S. aureus* (CP8) inactivado, cepa SP140, expresando el complejo antigénico asociado a biofilm (SAAC, por sus siglas en inglés). La indicación de la etiqueta dice que es para reducir la incidencia de la mamitis subclínica y disminuir la gravedad clínica de la mamitis causada por *S. aureus*, coliformes y estafilococos coagulasa negativos. De forma similar a otras bacterinas de *S. aureus*, se ha demostrado que la Startvac es inmunogénica estimulante de la producción de anticuerpos en sangre y mejoradora de la inflamación en la glándula mamaria después de la exposición intramamaria con una cepa inactivada de *S. aureus* (Piepers et al., 2012). Si bien la vacunación no evita completamente la infección intramamaria, los resultados preliminares de una prueba de campo reciente demuestran una menor duración de la IIM y una transmisibilidad reducida de la infección (Schukken et al., 2012).

Debido a que el *Strep. agalactiae* se puede erradicar con un tratamiento antimicrobiano, se han hecho pocos esfuerzos en el diseño de vacunas para este patógeno en bovinos. Mientras que la inmunogenicidad del *Strep. agalactiae* se ha estudiado en los bovinos y se han investigado vacunas en otras especies, en el conocimiento del autor no hay vacunas para el *Strep. agalactiae* disponibles actualmente para su uso en el ganado.

SALUD PÚBLICA

El *Staphylococcus aureus* y el *Strep. Agalactiae* pueden colonizar e infectar a los humanos del mismo modo que a los animales. El *Staphylococcus aureus* tiene una serie de manifestaciones en personas que van desde la colonización inaparente hasta la septicemia fulminante. En general, las cepas de *S. aureus* que colonizan e infectan la glándula mamaria bovina son diferentes a aquellas que causan la colonización y la infección en humanos, aunque se ha comprobado que las manos de los ordeñadores, en algunas instancias, han llegado a ser colonizadas con *S. aureus* durante una serie de años. El *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM) se ha asociado con infecciones adquiridas en hospitales (SARM-AH), adquiridas en la comunidad (SARM-AC) y asociadas al ganado (SARM-AG) en personas. El SARM-AG fue descubierto a principios de los años 2000 y parece que se originó en los cerdos, pero se ha asociado con la colonización e infección de humanos y ganado y, por tanto, representa una potencial zoonosis. En la glándula mamaria de la vaca, las cepas de SARM-AG no parecen comportarse de forma diferente a otras cepas de *S. aureus*, pero representan una preocupación para la salud pública porque el contacto con productos lácteos sin pasteurizar presenta un mecanismo potencial para la colonización y la infección de las personas. Cuando se produce la colonización y la infección por SARM-AG en personas, se da normalmente en personas que trabajan en granjas. Una variante del gen *mec*A (*mec*C), el gen que codifica la resistencia a la meticilina, fue descubierto recientemente en personas y en leche en tanque en Reino Unido y Dinamarca, pero la importancia general de esta cepa para la salud pública no se comprende completamente en este momento (Garcia-Alverez et al., 2011).

Los estreptococos del grupo B (*Strep. agalactiae*) normalmente colonizan el tracto urogenital de las mujeres y se han asociados con la septicemia neonatal en los niños. Por tanto, debido a que las vacas pueden albergar *Strep. agalactiae* en sus glándulas mamarias y, por tanto, pueden alojar el organismo en su leche, ha habido preocupación sobre la transmisión entre especies de este grupo de patógenos. Investigaciones epidemiológicas moleculares recientes sugieren que, en su mayor parte, las poblaciones de cepas bovinas y humanas son distintas y que el riesgo de transmisión interespecífica es mínimo (Zadoks RN et al., 2011).

CONCLUSIONES

En definitiva, las decisiones sobre cómo manejar la mamitis Gram-positiva contagiosa en un rebaño dado dependerán de la contagiosidad, la persistencia y la naturaleza inflamatoria de las cepas infectantes. El uso de los datos históricos en las tasas de las nuevas infecciones, el RCS y la respuesta al tratamiento serán herramientas valiosas para la toma de decisiones sobre el manejo. En el caso del *S. aureus*, puede ser necesario en algunos rebaños realizar cultivos de vacas y tener los aislados clasificados por cepas para entender mejor cómo de contagioso es el *S. aureus* en un rebaño determinado. Si la mayoría de las infecciones están provocadas por una única cepa de *S. aureus* que causa infecciones crónicas que son resistentes al tratamiento, el descarte acelerado puede ser el único mecanismo para mantener la calidad de la leche en el tanque. Por otra parte, los casos esporádicos de IIM por *S. aureus* causados por aislados de un tipo de cepa no consistente pueden no tener implicaciones en todo el rebaño y las estrategias de manejo pueden ser aplicadas a nivel de la vaca infectada de forma individual. Los datos sobre la vacunación contra la mamitis por *S. aureus* sugieren que las vacunas no siempre evitan la IIM, pero datos recientes que han evaluado su impacto sobre la transmisibilidad del *S. aureus* dentro de un rebaño sugieren que la vacunación puede ser un complemento útil en el control de la propagación del *S. aureus*. El *Streptococcus agalactiae* puede ser erradicado de los rebaños implementando los procedimientos de control de patógenos contagiosos descritos en el plan de 10 puntos del NMC. Tanto el *S. aureus* como el *Strep. agalactiae* tienen implicaciones para la salud pública. No obstante, actualmente, parece que las cepas bovinas de estos patógenos son generalmente distintas a las cepas que causan la infección y la colonización en humanos.

REFERENCIAS

1. 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.
2. Capurro, A., A. Aspan, H. Ericsson Unnerstad, K. Persson Waller, and K. Artursson. 2010. Identification of potential sources of *Staphylococcus aureus* in herds with mastitis problems. J. Dairy Sci. 93:180-191.
3. Davidson, I. 1961. The epidemiology of staphylococcal mastitis. Vet. Rec. 73:1015-1018.
4. Dodd, F.H., D.R. Westgarth, F.K. Neave, and R.G. Kingwill. 1969. Mastitis – the strategy of control. J. Dairy Sci. 52:689-695.
5. 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. 78:1619-1628.
6. Garcia-Alverez, L., M.T. Holden, H. Lindsay, C.R. Webb, D.F. Brown, M.D. Curran, E. Walpole, K. Brooks, D.J. Pickard, C. Teale, J. Parkhill, S.D. Bentley, G.F. Edwards, E.K. Girvan, A.M. Kearns, B. Pichon, R.L. Hill, A.R. Larsen, R.L. Skov, S.J. Peacock, D.J. Maskell, M.A. Holmes. 2011. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. Lancet Infect. Dis. 11:595-603.
7. Keefe, G.P. 1997. *Streptococcus agalactiae* mastitis: a review. Can. Vet. J. 38:429-437.
8. Keefe, G.P. 2012. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. Vet. Clin. Food Anim. 28:203-216.

9. Luby C.D. and J.R. Middleton. 2005. Efficacy of vaccination and antibiotic therapy for *Staphylococcus aureus* mastitis. *Vet Record*. 157(3):89-90.

10. Middleton, J.R., L.K. Fox, and T.H. Smith. 2001. Management strategies to decrease the prevalence of mastitis caused by one strain of *Staphylococcus aureus* in a dairy herd. J. Am. Vet. Med. Assoc. 218:1615-1618.

11. Middleton, J.R., L.K. Fox, J.M. Gay, J.W. Tyler, and T.E. Besser. 2002a. Use of pulsed-field gel electrophoresis for detecting differences in Staphylococcus aureus strain populations between dairy herds with different cattle importation practices. Epidemiol. Infect. 129:387-395.

12. Middleton, J.R., L.K Fox, J.M. Gay, J.W. Tyler, and T.E. Besser. 2002b. Influence of *Staphylococcus aureus* strain-type on mammary quarter milk somatic cell count and N-acetyl-B-D-glucosaminidase activity in cattle from eight dairies. J. Dairy Sci. 85:1133-1140.

13. Middleton, J.R. and L.K. Fox. 2002c. Influence of *Staphylococcus aureus* strain on mammary quarter milk production. *Vet Rec*. 150(13):411-413.

14. Middleton, J.R., D. Hardin, B. Steevens, R. Randle, and J.W. Tyler. 2004. Use of somatic cell counts and California mastitis test results from individual quarter milk samples to detect subclinical intramammary infection in dairy cattle from a herd with a high bulk tank somatic cell count. J. Am. Vet. Med. Assoc. 224:419-423.

15. Middleton, J.R., L.L. Timms, G.R. Bader, J. 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.

16. Middleton, J.R., G.R. Bader, and R.B. Corbett. 2007. Use of pulsed-field gel electrophoresis to evaluate the success of treatment of *Staphylococcus aureus* mastitis. Proceedings of the 46th Annual Meeting of the National Mastitis Council. San Antonio, TX. Pages 202-203.

17. Middleton, J.R. and C.D. Luby. 2008. Escherichia coli mastitis in cattle being treated for *Staphylococcus aureus* intramammary infection. Vet. Rec. 162:156-157.

18. Neave, F.K., F.H. Dodd, and R.G. Kingwill. 1966. A method of controlling udder disease. Vet. Rec. 78:521-523.

19. Neave, F.K., F.H. Dodd, R.G. Kingwill, and D.R. Westgarth. Controlling mastitis in the dairy herd by hygiene and management. J. Dairy Sci. 52:696-707.

20. Nickerson, S.C., W.E. Owens, and R.L. Boddie. 1995. Mastitis in dairy heifers: Initial studies on prevalence and control. J. Dairy Sci. 78:1607-1618.

21. Nickerson, S.C., W.E. Owens, G.M. Tomita, and P. Widel. 1999. Vaccinating dairy heifers with a *Staphylococcus aureus* bacterin reduces mastitis at calving. Large Animal Practice. 20:16-28.

22. Owens, W.E., S.P. Oliver, B.E. Gillespie, C.H. Ray, and S.C. Nickerson. 1998. Role of horn flies (*Haematobia irritans*) in *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in dairy heifers. Am. J. Vet. Res. 59:1122-1124.

23. Piepers, S., K. Peeters, G. Opsomer, H.W. Barkema, K. Frankena, and S. De Vliegher. 2011. Pathogen-specific risk factors at the herd, heifer and quarter level for intramammary infections in early lactating dairy heifers. Prev. Vet. Med. 99:91-101.

24. Piepers, S., K. Deberdt, A. DeVisscher, J. Verbeke, and S. De Vliegher. 2012. Immunological response to an experimental intramammary inoculation with a killed *Staphylococcus aureus* strain in vaccinated and non-vaccinated lactating dairy cows. World Buiatrics Congress. June 5th. Lisbon, Portugal. Pages 8-11.

25. Roberson, J.R., L.K. Fox, D.D. Hancock, J.M. Gay, and T.E. Besser. 1994. Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. J. Dairy Sci. 77:3354-3364.

26. 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.

27. Roy, J.P. and G. Keefe. 2012. Systematic Review: What is the best antibiotic treatment for Staphylococcus aureus intramammary infection of lactating cows in North America? Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 28:39-50.

28. Schukken, Y., P. Moroni, C. Locatelli, F. Testa, L. Scaccabarozzi, C. Pollera, N. Rota, A. Casula, and V. Bronzo. 2012. Estimation of efficacy of Startvac® vaccination in dairy herds. World Buiatrics Congress. June 5th. Lisbon, Portugal. Pages 12-15.

29. Smith, G.W., R.L. Lyman, and K.L. Anderson. 2006. Efficacy of vaccination and antimicrobial treatment to eliminate chronic intramammary Staphylococcus aureus infections in dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 228:422-425.

30. Smith, T., L.K. Fox, and J.R. Middleton. 1998. Outbreak of mastitis caused by one strain of *Staphylococcus aureus* in a closed dairy herd. J. Am. Vet. Med. Assoc. 212:553-556

31. Sutra, L. and B. Poutrel. 1994. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. J. Med. Microbiol. 40:79-89.

32. Trinidad, P., S.C. Nickerson, and T.K. Alley. 1990. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. J. Dairy Sci. 73:107-114.

33. Williams, J.M., H.J. Mayerhofer, and R.W. Brown. 1966. Clinical evaluation of a *Staphylococcus aureus* bacterin (polyvalent somatic antigen). Vet. Med. Small Anim. Clin. 61:789-793.

34. Williams, J.M., G.R. Shipley, G.L. Smith, and D.L. Gerber. 1975. A clinical evaluation of a Staphylococcus aureus bacterin in the control of staphylococcal mastitis in cows. Vet. Med. Small Anim. Clin. 70:587-594.

35. Wilson, C.D. and I. Davidson. 1961. The control of staphylococcal mastitis. Vet. Rec. 73:321-323.

36. Zadoks, R.N., J.R. Middleton, S. McDougall, J. Katholm, and Y.H. Schukken. 2011. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. 16:357-372.

ENGLISH VERSION ▼

UPDATE ON CONTAGIOUS MASTITIS: *STAPHYLOCOCCUS AUREUS AND STREPTOCOCCUS AGALACTIAE*

John R. Middleton, DVM, PhD, DACVIM (LAIM)
Columbia, Missouri, USA

INTRODUCTION

Staphylococcus aureus and *Streptococcus agalactiae* are considered major mastitis pathogens because they can be highly contagious and can have a significant impact on farm income. While these pathogens share many similarities with regard to major reservoirs of infection and cow-to-cow transmission there are some important differences that will be discussed below. These pathogens primarily cause subclinical intramammary infections (IMI) that often become chronic, and thus the economic impact is usually manifest through increased milk somatic cell count (SCC) and decreased milk production. However, there are regional and herd differences, and in some instances these pathogens can be associated with a high incidence of clinical disease.

In the 1960s a significant body of work was published which established standards for contagious mastitis control on dairy farms (Davidson, 1961; Wilson and Davidson, 1961; Neave et al., 1966; Dodd et al., 1969; Neave et al., 1969). From this work came the five-point mastitis control program. Implementation of the five-point plan, which was later developed into the NMC 10-point mastitis control plan, has led to a reduction in prevalence of contagious mastitis on many farms. However, *S. aureus and Strep. agalactiae* can still plague individual farms, and depending on chronicity and transmissibility within herd, they may be difficult to eradicate and can significantly impact milk quality.

SOURCES OF INFECTION AND EPIDEMIOLOGY

The lactating cow's udder is considered a major reservoir of infection for *S. aureus* IMI. While *S. aureus* can be isolated from extramammary sources on farms, the cow's environment is usually not considered the major reservoir for infection, but non-bovine reservoirs need to be considered when trying to manage *S. aureus* mastitis. In contrast, *Strep. agalactiae* is considered an obligate pathogen of the bovine udder and the organism does not survive well outside the host (Keefe, 1997). Both pathogens can colonize teat skin, and *S. aureus* has been found to colonize other body sites including the skin in the inguinal region and on the hocks (Roberson et al., 1998; Capurro et al., 2010). For both pathogens, the major mode of transmission is from cow-to-cow via fomites, such as milking equipment and utensils, at the time of milking. In addition, milkers' hands can be a source of pathogen transmission. Prevalence estimates for contagious mastitis pathogens vary by region. In well-developed countries the prevalence of *Strep. agalactiae* mastitis is generally low while in countries with emerging dairy industries prevalence estimates can be as high as 60% of herds (Keefe, 2012). Prevalence of herds with cows having *S. aureus* IMI was reported to be 43% and 74% in recent studies performed in the USA and Canada, respectively (Keefe, 2012).

While the infected mammary gland of the lactating cow is usually the reservoir of infection, in the case of *S. aureus* mastitis, the replacement heifer can be a significant source of *S. aureus* IMI. In some areas of the United States, for example, the prevalence of *S. aureus* IMI in pre-partum heifers exceeds 30%. A report from Louisiana recorded a prevalence of 37% (Trinidad et al., 1990) and work by the author in Missouri has recorded a prevalence of approximately 30% (Middleton, unpublished data), while heifers in Northern areas of the country seem to have a lower prevalence of pre-partum *S. aureus* IMI (Fox et al., 1995). The heifer's mammary gland may become infected as early as six months of age and she may harbor these infections throughout the first lactation. However, Fox et al. (1995) reported that heifers are most susceptible to infection during the last trimester of gestation. It is presumed that heifers become infected by skin inhabitants being introduced into the mammary gland via the teat end. Roberson et al. (1998) reported that possible sources for *S. aureus* in heifer colostrum at parturition were milk of lactating cattle (70%), heifer body sites (39%), environmental sites (28%), or no identified source (16%). Similarly, Middleton et al. (2002a) reported that 71% of *S. aureus* strains isolated from heifer mammary secretions at parturition were the same as those isolated from milk of lactating cattle and 47% of *S. aureus* strains isolated from heifer teat and udder skin were the same as those isolated from heifer mammary secretions at the time of parturition. Additionally, Owens and co-workers (1998) reported that horn flies (*Haematobia irritans*) were capable of transmitting *S. aureus* to heifers causing new IMIs, and that scabs on teats may be a source of fly colonization with *S. aureus*. Herds that practice effective fly control seem to be at lower risk of early lactation heifer mastitis caused by contagious pathogens than herds without fly control or ineffective fly control (Nickerson et al., 1995; Piepers et al., 2011). Data also suggests that herds that purchase replacement heifers may have a higher prevalence of *S. aureus* IMI than herds undergoing expansion with purchased lactating cattle (Middleton et al., 2002a). Furthermore, herds that purchase replacement heifers may have more strains of *S. aureus* and more new strains of *S. aureus* enter the herd than closed herds which rear their own replacements (Middleton et al., 2002a).

With the advent of robust DNA-based strain-typing techniques, it has been recognized that many different strains of *S. aureus* exist with most herds tending to have a predominant strain-type (Middleton, et al., 2002b). It has also been recognized that differences exist between strains with regard to transmissibility, udder inflammation, persistence of infection and impact on milk production (Barkema et al., 2006; Middleton and Fox, 2002c). Individual strain characteristics impact host-adaptability and thus pathogen survival. Strain-specific factors including antimicrobial resistance and ability to survive in biofilms or intracellularly may also influence the outcome of response to antimicrobial therapy. The molecular epidemiology of *Strep. agalactiae* on dairy farms is less well-studied. Most of the published work has been aimed at understanding the relationship of bovine strains to human strains rather than understanding the intricacies of pathogen epidemiology. The implications for anthroponotic and zoonotic transmission of *S. aureus* and *Strep. agalactiae* are discussed below.

CLINICAL SIGNS

As discussed above, both *S. aureus* and *Strep. agalactiae* most commonly cause a subclinical IMI. *Staphylococcus aureus* is usually manifest by a moderate increase in milk SCC, whereas *Strep. agalactiae* is associated with a marked elevation in milk SCC and can be associated with very high bacteria counts. *Streptococcus agalactiae* rarely causes clinical disease, whereas in some regions *S. aureus* can be a leading cause of clinical mastitis. In addition, *S. aureus* occasionally causes peracute gangrenous mastitis.

DETECTION AND DIAGNOSIS

A definitive diagnosis of an IMI is usually based on detection of bacteria in milk. Elevations in bulk tank, cow-level, or mammary quarter-level milk SCC can be indicative of subclinical IMI, but these measures are not pathogen-specific. Hence, SCC can be used as a screening tool to detect IMI, but further testing will be needed to confirm the diagnosis. The sensitivity (Se) and specificity (Sp) of the California Mastitis Test (CMT) for detection of mammary quarters infected with *S. aureus* using a trace threshold has been previously reported as 0.62 based on a single milk culture and 0.86 when two concordant milk cultures were used to make the diagnosis (Middleton et al., 2004). Similarly, the Se and Sp of mammary quarter milk SCC for detection of mammary quarters infected with *S. aureus* using a 100,000 cells/ml threshold was 0.96 based on a single milk culture and 0.95 when two concordant milk cultures were used to make the diagnosis (Middleton et al., 2004).

The Se and Sp of milk culture will depend on the amount of bacteria shed in the milk. Because *Strep. agalactiae* is usually shed in high numbers and is an obligate intramammary pathogen, the Se and Sp of routine culture is considered quite high (0.95 and 1.00, respectively). In contrast, *S. aureus* can be cyclically shed and hence the Se of milk culture is lower than for *Strep. agalactiae* (0.75). In both cases, Se and Sp will be impacted by the inoculum volume used to perform the milk culture and also the bacterial colony count threshold used for determination of a positive diagnosis. In the case of *S. aureus*, because the pathogen can be found in extramammary sites and on the udder skin, aseptic sample collection is critical for accurate interpretation of the results. Polymerase chain reaction (PCR) based diagnostic methods can be employed to detect both pathogens and Se and Sp are comparable with milk culture. At the bulk tank level, detection of either pathogen usually indicates presence of one or more cows with an IMI. As with cow or mammary quarter-level cultures, however, one must take into account that *S. aureus* can come from extramammary sites.

TREATMENT

Many approaches have been taken to the treatment of *S. aureus* mastitis including intramammary antimicrobial therapy, systemic antimicrobial therapy, and vaccination in conjunction with antimicrobial therapy. Cure rates have ranged from 3-74% depending treatment product, length of treatment and whether treatment was administered during lactation or during the dry period, or in the case of heifers, shortly before calving (Barkema et al., 2006). Barkema et al. (2006), in their review concluded that "the probability of cure depends on cow, pathogen, and treatment factors". Cure rates are impacted by increasing cow age, increasing SCC, increasing chronicity of infection, increasing bacteria counts, and increasing numbers of mammary quarters infected. They concluded that "the most important treatment factor affecting cure was treatment duration". Further, they suggest "treatment of young animals with penicillin-sensitive *S. aureus* infections is often justified based on bacteriological cure and economic outcome, whereas treatment of older animals, chronic infections, or penicillin-resistant isolates should be discouraged." Similarly, Roy and Keefe (2012) in a systematic review of the literature on the treatment of *S. aureus* mastitis during lactation concluded that extended intramammary therapy for 5-8 days was the best therapeutic option. However, this recommendation should be tempered with the knowledge that extended therapy regimens can be associated with clinical mastitis with secondary organisms such as yeast and coliforms (Roy and Keefe, 2012; Middleton and Luby, 2008). Furthermore, overall long-term cure rates in some herds even after 8 consecutive doses of intramammary antibiotics can be quite poor. In one study, Middleton and co-workers, showed that while cure rates were quite high 4 days after treatment (80%), by 28 days post-treatment most infections had recrudesced with the overall cure rate dropping to 29% (Middleton et al., 2007).

Pre-partum treatment of heifers with intramammary antibiotics has been extensively studied. Generally heifers are treated with an intramammary antibiotic 2-4 weeks prior to parturition in an attempt to clear IMI caused primarily by coagulase negative staphylococci, but some efficacy has been noted against *S. aureus*. While cure rates can be quite promising, the impact of such therapy on 1st lactation performance including milk production and SCC over not treating varies from herd to herd with some herds showing no benefit (Middleton et al., 2005). As illustrated above, there is also a risk of introducing an IMI and causing clinical mastitis. Some extended intramammary therapy regimens as well as pre-partum treatment of heifers with intramammary antibiotics constitute Extra-label Drug Use and can only be performed under a valid Veterinarian-Client-Patient-Relationship.

Streptococcus agalactiae is generally susceptible to antimicrobial therapy and both lactational and dry cow therapy can be highly successful at eliminating IMI. Implementation of blanket dry cow therapy protocols can play a big role in eradicating *Strep. agalactiae* mastitis from a herd. Dry cow therapy has the economic benefit of requiring minimal-to-no milk withholding, and dry cow cure rates are often higher than lactational therapy cure rates.

PREVENTION AND CONTROL

The goal of a contagious mastitis control program is to prevent new IMI or facilitate clearance of new IMIs as soon as possible. Because the primary reservoir of infection is the cow's mammary gland and transmission occurs during milking, the major focus of contagious mastitis control has been milking time hygiene including single-use udder towels, having milkers wear gloves, and dipping teats in a post-milking germicide to eliminate pathogens that may have colonized the teat skin from contaminated fomites such milking unit liners during milking. In addition, routine use of long-acting intramammary antibiotics during the dry period is advocated to eliminate existing IMI. The decision to treat infected cattle during lactation will be based on historical knowledge of the contagiousness of the disease in the herd and previous response to therapy. Additional control procedures include segregation and milking of infected cattle after non-infected cattle, culling of chronically infected cattle, maintenance of milking equipment, and prescreening of replacement heifers and purchased lactating cattle prior to inclusion in the lactating population. While milking time hygiene is the main control measure, in some herds it may not be sufficient during an outbreak (Smith et al., 1998). In such cases, more aggressive measures such as accelerated culling of infected cattle, strict segregation and milking infected cattle last, and drying-off infected mammary quarters may be needed (Middleton et al., 2001).

While *S. aureus* can be cultured from the milk of at least some cows in the majority of herds, *S. aureus* mastitis may not always have a major impact on bulk milk quality. While herds can have a predominant strain suggesting contagious spread from cow-to-cow, other herds may have cows with many different strain-types and no consistent strain causing IMI between cows. In the latter instance, it is hypothesized that the isolated *S. aureus* strains are not host-adapted and may be regarded as sporadic non-contagious pathogens similar to environmental mastitis pathogens. Therefore, management decisions on infected cattle, e.g., segregated milking, treatment, and/or culling may be different in herds with non-host-adapted strains versus those herds where *S. aureus* has been clearly demonstrated to readily transmit from cow-to-cow.

VACCINATION

Vaccination against *S. aureus* mastitis has been studied for many years, but none of the vaccines studied to date have consistently prevented *S. aureus* IMI. Similar to the goal of the prevention and control procedures outlined above, the goal of a *S. aureus* mastitis vaccine should be to prevent new IMI or facilitate clearance of new IMIs as soon as possible after infection thus decreasing the infectious reservoir and minimizing cow-to-cow transmission. Currently there are two commercially available *S. aureus* mastitis bacterins for bovine mastitis. Lysigin® (Boehringer Ingelheim Vetmedica, Inc.) is available in the United States, and Startvac® (Hipra) is available in Europe and Canada.

Lysigin is a multivalent whole cell lysed *S. aureus* bacterin that contains the most common serotypes of *S. aureus* that cause bovine mastitis in the United States. Williams et al. (1966 and 1975) studied Lysigin in both field and experimental challenge studies. Vaccinated cattle had lower clinical scores, lower SCCs, and fewer cases of chronic mastitis following intramammary challenge with *S. aureus* than unvaccinated controls. In the field trial, Williams et al. (1966) showed a reduction in new IMI rate between vaccinated and non-vaccinated cattle, but IMI still occurred in some vaccinates. More recently, the efficacy of commercially available Lysigin was compared with two experimental Lysigin formulations and unvaccinated controls in primiparous heifers in a *S. aureus* challenge trial (Middleton et al., 2006). All cattle became infected with *S. aureus* after challenge. Cattle vaccinated with commercially available Lysigin had a significantly lower mean duration of clinical mastitis and lower total mastitis score post-challenge than controls. However, there was no evidence that any of the vaccinated groups had a lower mean somatic cell count (SCC) than control, and no evidence that vaccinates had greater milk yield than controls post-challenge. Furthermore, opsonizing antibody levels in milk were no different from control. A follow-up field study in lactating dairy cattle of multiple parities showed that, in a herd with a 5% prevalence of *S. aureus* and a 40% prevalence of coagulase negative staphylococci, the vaccine did not reduce the new staphylococcal intramammary infection rate and the data suggested that there may insufficient vaccine-induced opsonizing antibody in milk to facilitate phagocytosis and clearance of staphylococci from the mammary gland (Middleton et al., 2006). In contrast, Nickerson and co-workers (1999) vaccinated heifers with commercially available Lysigin at 6-months of age followed by a booster 2-weeks later and subsequent booster vaccinations every 6-months until calving. Vaccinates had a 45% reduction in both new *S. aureus* IMI during pregnancy and new *S. aureus* IMI at calving relative to controls. In addition, vaccinates had a 30% reduction in new CNS IMIs which became chronic and a 31% reduction in new CNS IMI at calving relative to controls providing evidence that Lysigin may be of use in reducing staphylococcal mastitis in periparturient heifers vaccinated early in life with frequent follow-up vaccinations.

Vaccination with Lysigin has also been studied as an adjunct to antimicrobial therapy. In one study cattle vaccinated with Lysigin and treated with extended intramammary pirlimycin had a higher cure rate than non-treated controls (Smith et al., 2006), whereas two studies evaluated Lysigin in conjunction extended pirlimycin therapy versus extended pirlimycin therapy alone and showed no difference in cure rates between groups (Luby and Middleton, 2005; Middleton et al., 2007).

Startvac is a multivalent vaccine marketed by Hipra that contains inactivated *Escherichia coli* (J5) and inactivated *S. aureus* (CP8) SP140 strain expressing slime associated antigenic complex (SAAC). The label indication is to reduce the incidence of subclinical mastitis and decrease the clinical severity of mastitis caused by *S. aureus*, coliforms, and coagulase negative staphylococci. Similar to other *S. aureus* bacterins, Startvac has been shown to be immunogenic stimulating antibody production in blood and ameliorating inflammation in the mammary gland following intramammary challenge with an inactivated strain of *S. aureus* (Piepers et al., 2012). While vaccination does not completely prevent intramammary infection, preliminary results of a recent field trial demonstrate a decreased duration of IMI and decreased transmissibility of infection (Schukken et al., 2012).

Because *Strep. agalactiae* is eradicable with antimicrobial therapy, little effort has been expended on designing vaccines for this pathogen in the bovine. While the immunogenicity of *Strep. agalactiae* has been studied in the bovine and vaccines have been investigated in other species, to the author's knowledge there are no currently available *Strep. agalactiae* vaccines for use in cattle.

PUBLIC HEALTH

Staphylococcus aureus and *Strep. agalactiae* can colonize and infect humans as well as animals. *Staphylococcus aureus* has a number of manifestations in people that range from inapparent colonization through fulminant septicemia. In general, strains of *S. aureus* that colonize and infect the bovine mammary gland are distinct from those that cause human colonization and infection although milkers' hands have been found, in some instances, to become colonized with *S. aureus* for a period of years. Methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) has been associated with hospital-acquired (HA-MRSA), community-acquired (CA-MRSA), and livestock-associated (LA-MRSA) infections in people. LA-MRSA was discovered in the early 2000s and appears to have originated in pigs, but has been associated with colonization and infection of humans and cattle, and thus it represents a potential zoonosis. In the cow's mammary gland LA-MRSA strains do not appear to behave differently from other strains of *S. aureus*, but they present a public health concern because contact with unpasteurized dairy products presents a potential mechanism for colonization and infection of people. When LA-MRSA colonization and infection occurs in people, it is usually in people who work on farms. A *mec*A gene variant (*mec*C), the gene that codes for methicillin resistance, was recently discovered in people and bulk tank milk in the UK and Denmark, but the overall public health significance of this strain is not completely understood at this time (Garcia-Alverez et al., 2011).

Group B streptococci (*Strep. agalactiae*) commonly colonize the urogenital tract of women and have been associated with neonatal septicemia in children. Hence, because cows can harbor *Strep. agalactiae* in their mammary glands and thus shed the organism in their milk, there has been concern about the cross-species transmission of this group of pathogens. Recent molecular epidemiologic investigations suggest that, for the most part, the bovine and human strain populations are distinct and the risk of cross-species transmission is minimal (Zadoks RN et al., 2011).

CONCLUSIONS

Ultimately, decisions on how to manage contagious Gram-positive mastitis in a given herd will depend on the contagiousness, persistence and inflammatory nature of the infecting strains. Use of historical data on new infection rates, SCC, and response to therapy will be valuable tools in making management decisions. In the case of *S. aureus*, it may be necessary in some herds to culture cows and have the isolates strain-typed to better understand how contagious *S. aureus* is in a given herd. If most infections are caused by a single strain of *S. aureus* that causes chronic infections which are refractory to treatment accelerated culling may be the only mechanism to maintain milk quality in the bulk tank. Alternatively, sporadic cases of *S. aureus* IMI caused by

isolates with no consistent strain-type may not have herd-wide implications and management strategies can be applied at the level of the individually infected cow. Data on vaccination against *S. aureus* mastitis suggests that vaccines do not always prevent IMI, but recent data evaluating their impact on within herd transmissibility of *S. aureus* suggests vaccination may be a useful adjunct in controlling the spread of *S. aureus*. *Streptococcus agalactiae* can be eradicated from herds by implementing the contagious pathogen control procedures outlined in the NMC 10-point plan. Both *S. aureus* and *Strep. agalactiae* have public health implications. Currently, however, it appears that bovine strains of these pathogens are generally distinct from strains causing human infection and colonization.

REFERENCES

1. 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.
2. Capurro, A., A. Aspan, H. Ericsson Unnerstad, K. Persson Waller, and K. Artursson. 2010. Identification of potential sources of *Staphylococcus aureus* in herds with mastitis problems. J. Dairy Sci. 93:180-191.
3. Davidson, I. 1961. The epidemiology of staphylococcal mastitis. Vet. Rec. 73:1015-1018.
4. Dodd, F.H., D.R. Westgarth, F.K. Neave, and R.G. Kingwill. 1969. Mastitis – the strategy of control. J. Dairy Sci. 52:689-695.
5. 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. 78:1619-1628.
6. Garcia-Alverez, L., M.T. Holden, H. Lindsay, C.R. Webb, D.F. Brown, M.D. Curran, E. Walpole, K. Brooks, D.J. Pickard, C. Teale, J. Parkhill, S.D. Bentley, G.F. Edwards, E.K. Girvan, A.M. Kearns, B. Pichon, R.L. Hill, A.R. Larsen, R.L. Skov, S.J. Peacock, D.J. Maskell, M.A. Holmes. 2011. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel mecA homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. Lancet Infect. Dis. 11:595-603.
7. Keefe, G.P. 1997. *Streptococcus agalactiae* mastitis: a review. Can. Vet. J. 38:429-437.
8. Keefe, G.P. 2012. Update on control of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus agalactiae* for management of mastitis. Vet. Clin. Food Anim. 28:203-216.
9. Luby C.D. and J.R. Middleton. 2005. Efficacy of vaccination and antibiotic therapy for *Staphylococcus aureus* mastitis. *Vet Record*. 157(3):89-90.
10. Middleton, J.R., L.K. Fox, and T.H. Smith. 2001. Management strategies to decrease the prevalence of mastitis caused by one strain of *Staphylococcus aureus* in a dairy herd. J. Am. Vet. Med. Assoc. 218:1615-1618.
11. Middleton, J.R., L.K. Fox, J.M. Gay, J.W. Tyler, and T.E. Besser. 2002a. Use of pulsed-field gel electrophoresis for detecting differences in Staphylococcus aureus strain populations between dairy herds with different cattle importation practices. Epidemiol. Infect. 129:387-395.
12. Middleton, J.R., L.K Fox, J.M. Gay, J.W. Tyler, and T.E. Besser. 2002b. Influence of *Staphylococcus aureus* strain-type on mammary quarter milk somatic cell count and N-acetyl-B-D-glucosaminidase activity in cattle from eight dairies. J. Dairy Sci. 85:1133-1140.
13. Middleton, J.R. and L.K. Fox. 2002c. Influence of *Staphylococcus aureus* strain on mammary quarter milk production. *Vet Rec.* 150(13):411-413.
14. Middleton, J.R., D. Hardin, B. Steevens, R. Randle, and J.W. Tyler. 2004. Use of somatic cell counts and California mastitis test results from individual quarter milk samples to detect subclinical intramammary infection in dairy cattle from a herd with a high bulk tank somatic cell count. J. Am. Vet. Med. Assoc. 224:419-423.
15. Middleton, J.R., L.L. Timms, G.R. Bader, J. 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.
16. Middleton, J.R., G.R. Bader, and R.B. Corbett. 2007. Use of pulsed-field gel electrophoresis to evaluate the success of treatment of *Staphylococcus aureus* mastitis. Proceedings of the 46th Annual Meeting of the National Mastitis Council. San Antonio, TX. Pages 202-203.
17. Middleton, J.R. and C.D. Luby. 2008. Escherichia coli mastitis in cattle being treated for *Staphylococcus aureus* intramammary infection. Vet. Rec. 162:156-157.
18. Neave, F.K., F.H. Dodd, and R.G. Kingwill. 1966. A method of controlling udder disease. Vet. Rec. 78:521-523.
19. Neave, F.K., F.H. Dodd, R.G. Kingwill, and D.R. Westgarth. Controlling mastitis in the dairy herd by hygiene and management. J. Dairy Sci. 52:696-707.
20. Nickerson, S.C., W.E. Owens, and R.L. Boddie. 1995. Mastitis in dairy heifers: Initial studies on prevalence and control. J. Dairy Sci. 78:1607-1618.
21. Nickerson, S.C., W.E. Owens, G.M. Tomita, and P. Widel. 1999. Vaccinating dairy heifers with a *Staphylococcus aureus* bacterin reduces mastitis at calving. Large Animal Practice. 20:16-28.
22. Owens, W.E., S.P. Oliver, B.E. Gillespie, C.H. Ray, and S.C. Nickerson. 1998. Role of horn flies (*Haematobia irritans*) in *Staphylococcus aureus*-induced mastitis in dairy heifers. Am. J. Vet. Res. 59:1122-1124.
23. Piepers, S., K. Peeters, G. Opsomer, H.W. Barkema, K. Frankena, and S. De Vliegher. 2011. Pathogen-specific risk factors at the herd, heifer and quarter level for intramammary infections in early lactating dairy heifers. Prev. Vet. Med. 99:91-101.
24. Piepers, S., K. Deberdt, A. DeVisscher, J. Verbeke, and S. De Vliegher. 2012. Immunological response to an experimental intramammary inoculation with a killed *Staphylococcus aureus* strain in vaccinated and non-vaccinated lactating dairy cows. World Buiatrics Congress. June 5th. Lisbon, Portugal. Pages 8-11.
25. Roberson, J.R., L.K. Fox, D.D. Hancock, J.M. Gay, and T.E. Besser. 1994. Ecology of *Staphylococcus aureus* isolated from various sites on dairy farms. J. Dairy Sci. 77:3354-3364.
26. 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.
27. Roy, J.P. and G. Keefe. 2012. Systematic Review: What is the best antibiotic treatment for Staphylococcus aureus intramammary infection of lactating cows in North America? Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 28:39-50.
28. Schukken, Y., P. Moroni, C. Locatelli, F. Testa, L. Scac-

cabarozzi, C. Pollera, N. Rota, A. Casula, and V. Bronzo. 2012. Estimation of efficacy of Startvac® vaccination in dairy herds. World Buiatrics Congress. June 5th. Lisbon, Portugal. Pages 12-15.

29. Smith, G.W., R.L. Lyman, and K.L. Anderson. 2006. Efficacy of vaccination and antimicrobial treatment to eliminate chronic intramammary Staphylococcus aureus infections in dairy cattle. J. Am. Vet. Med. Assoc. 228:422-425.
30. Smith, T., L.K. Fox, and J.R. Middleton. 1998. Outbreak of mastitis caused by one strain of *Staphylococcus aureus* in a closed dairy herd. J. Am. Vet. Med. Assoc. 212:553-556
31. Sutra, L. and B. Poutrel. 1994. Virulence factors involved in the pathogenesis of bovine intramammary infections due to *Staphylococcus aureus*. J. Med. Microbiol. 40:79-89.
32. Trinidad, P., S.C. Nickerson, and T.K. Alley. 1990. Prevalence of intramammary infection and teat canal colonization in unbred and primigravid dairy heifers. J. Dairy Sci. 73:107-114.
33. Williams, J.M., H.J. Mayerhofer, and R.W. Brown. 1966. Clinical evaluation of a *Staphylococcus aureus* bacterin (polyvalent somatic antigen). Vet. Med. Small Anim. Clin. 61:789-793.
34. Williams, J.M., G.R. Shipley, G.L. Smith, and D.L. Gerber. 1975. A clinical evaluation of a Staphylococcus aureus bacterin in the control of staphylococcal mastitis in cows. Vet. Med. Small Anim. Clin. 70:587-594.
35. Wilson, C.D. and I. Davidson. 1961. The control of staphylococcal mastitis. Vet. Rec. 73:321-323.
36. Zadoks, R.N., J.R. Middleton, S. McDougall, J. Katholm, and Y.H. Schukken. 2011. Molecular epidemiology of mastitis pathogens of dairy cattle and comparative relevance to humans. J. Mammary Gland Biol. Neoplasia. 16:357-372.

DIAGNÓSTICO MOLECULAR Y MAMITIS BOVINA

John R. Middleton, DVM, PhD, DACVIM (LAIM)
Columbia, MO

INTRODUCCIÓN

Durante la última década, las pruebas de diagnóstico basadas en técnicas moleculares se han vuelto cada vez más comunes, pero ¿qué son los diagnósticos moleculares y cuál es la utilidad de los resultados? ¿Son estos métodos más sensibles y específicos, y cuáles son las ventajas e inconvenientes asociados a los métodos moleculares frente a los diagnósticos convencionales?

Por definición, las pruebas de diagnóstico molecular detectan ADN, ARN, proteínas, u otros metabolitos asociados bien al huésped, bien al agente etiológico, para ayudarnos a diferenciar la salud de la enfermedad. En el caso de la mamitis, estos métodos se emplean actualmente para definir si una vaca o cuarto mamario tiene una infección intramamaria (IIM) o no; o para estudiar la epidemiología de los grupos de patógenos. Hay que tener en cuenta que, aunque IIM y mamitis se utilizan a menudo como sinónimos, cada uno tiene una definición diferente. Una IIM se define como una infección que se da en el tejido secretor y/o los conductos o túbulos de la glándula mamaria que normalmente se diagnostica basándose en la detección de un patógeno microbiano, mientras que la mamitis se define como la inflamación de uno o más cuarterones de la glándula mamaria que casi siempre es causada por una IIM, pero que se cuantifica a través de las medidas de la inflamación, como el recuento de células somáticas o los cambios visibles en la calidad de la leche. Durante muchos años, los métodos microbiológicos tradicionales basados en la morfología y la expresión fenotípica en medios de crecimiento no-específicos y específicos se han considerado el "estándar de oro" para la detección de una IIM. Estos métodos todavía se utilizan de forma generalizada en la práctica veterinaria y son recomendados por el Consejo Nacional de Mamitis.[1] En contraste, los métodos moleculares basados en la detección de ADN, ARN, proteínas, u otros metabolitos microbianos se han utilizado históricamente en laboratorios de investigación para comprender la epidemiología patógena. No obstante, el panorama está cambiando y ahora hay disponibles en el mercado sistemas de detección basados en el ADN comercializados para el diagnóstico de IIM. Comprender cómo funcionan estas técnicas y sus limitaciones es la clave para el diagnóstico y las decisiones de manejo posteriores.

OBJETIVOS DE LAS PRUEBAS DE DIAGNÓSTICO

En términos generales, las pruebas de diagnóstico se realizan para decidir si hay alguna infección presente y/o, en el caso de que la haya, qué, concretamente, la está causando.[2] En el caso de la mamitis, el objetivo de la microbiología de la leche es definir amplios grupos de patógenos para facilitar la implementación de medidas de control y/o tratamiento de la mamitis. Los patógenos de la mamitis se pueden clasificar en función de su reservorio de infección como contagiosos o ambientales, o en función de las manifestaciones de la enfermedad como clínicos o subclínicos. La mamitis clínica puede dividirse, a su vez, en subaguda, aguda e hiperaguda. La mamitis subaguda normalmente se manifiesta como alteraciones en la leche, como flóculos y coágulos, pero raramente con hinchazón, calor, enrojecimiento y dolor en la ubre. La mamitis aguda suele presentarse como una aparición repentina de enrojecimiento, calor, hinchazón y dolor en la ubre, junto a alteraciones en la leche. La mamitis hiperaguda es similar a la mamitis aguda, pero se acompaña de signos clínicos sistémicos como shock, desequilibrio de electrolitos, sepsis, reducción de la motilidad del rumen, e hipocalcemia. La mamitis subclínica es una inflamación de la ubre sin signos clínicos manifiestos. En la enfermedad clínica, la categorización general de los patógenos en Gram-positivos y Gram-negativos puede ser útil a la hora de definir el tratamiento ya que los organismos Gram-positivos responden a la terapia más a menudo. En la mamitis subclínica, definir los patógenos como contagiosos o ambientales puede ser útil para tomar decisiones sobre dónde y cómo deben implementarse las medidas de control. Esto se ha hecho históricamente identificando los géneros y especies específicos de las bacterias y agrupándolas en las categorías de contagiosas o ambientales en función, principalmente, del fenotipo y el conocimiento empírico (Tabla 1), por ejemplo, si se identificaba *Staphylococcus aureus* en una placa de agar-sangre de una vaca con mamitis subclínica, se consideraba contagiosa y las medidas de control se habrían centrado en la higiene en el ordeño, segregación y ordeño de las vacas afectadas al final, y el sacrificio de las infectadas crónicamente; mientras que, si identificábamos una *Escherichia coli* de una vaca con mamitis clínica, la vaca se habría tratado con atención sintomática y de apoyo y las medidas de prevención se habrían centrado en el entorno de la vaca.

Tabla 1. Patógenos de la mamitis bovina Gram-positivos y Gram-negativos comunes agrupados según las definiciones clásicas de patógenos contagiosos y ambientales.

Contagiosos	**Ambientales**
Gram-positivos	Gram-positivos
Estafilococos	Estreptococos
Coagulasa negativo *Staphylococcus spp.*	*Streptococcus dysgalactiae*
Coagulasa positivo *Staphylococcus spp.*	*Streptococcus uberis*
S. aureus	*Enterococcus spp.*
S. hyicus (agnetis)	Gram-negativos
Estreptococos	Coliformes
Streptococcus agalactiae	*Escherichia coli*
Corynebacterium bovis	*Klebsiella spp.*
Arcanobacter pyogenes	*Enterobacter spp.*
Otros	*Pseudomonas spp.*
Mycoplasma spp.	*Pasteurella spp.*

Mientras que los mismos principios se pueden aplicar en el uso de métodos diagnósticos moleculares, los métodos moleculares también se pueden emplear para afinar nuestra comprensión de la epidemiología patógena de la mamitis, por ejemplo, los métodos de clasificación de las cepas se pueden utilizar para documentar si un patógeno específico se encuentra en más de una vaca dando así una indicación del reservorio contagioso, o a la inversa, si múltiples cepas se encuentran en muy pocas vacas, esto puede indicar un reservorio ambiental de la infección. El uso de métodos moleculares ha demostrado que algunos patógenos

definidos clásicamente como contagiosos o ambientales pueden presentar una o ambas características y, por tanto, los patógenos de la mamitis podrían denominarse mejor como adaptados al huésped o no adaptados al huésped.

Por último, los objetivos del científico investigador pueden diferir de los del clínico. En medicina clínica, como se expuso anteriormente, nuestro objetivo diagnóstico es normalmente la implementación de medidas de tratamiento o control. En el laboratorio de investigación, puede haber objetivos adicionales, como la especiación definitiva de los patógenos, la comprensión de la virulencia específica de los patógenos, y un conocimiento en profundidad de las interacciones huésped-patógeno.

RECOGIDA DE MUESTRAS

La leche es el medio habitual que se examina para detectar la presencia de microbios a la hora de diagnosticar la causa de la mamitis. Para hacer un diagnóstico definitivo, las muestras de leche se recogen asépticamente a nivel de la vaca o del cuarterón. Por el contrario, si el objetivo es el seguimiento a nivel de rebaño, se pueden utilizar muestras del tanque de leche o leche recogida mediante un dispositivo de toma de muestras en línea. En este último caso, el objetivo es obtener un cuadro de lo que puede estar causando la mamitis en el rebaño, pero con estas prácticas de manejo estratégicas no se puede implementar a nivel de vaca ya que las vacas afectadas no se pueden identificar definitivamente. Además, la interpretación de los resultados del tanque de leche o de los muestreos en línea tienen que tener en cuenta posibles fuentes de bacterias en una muestra de leches mezcladas no recogida de forma aséptica. Para patógenos como *S. aureus*, *Strep. agalactiae*, y *Mycoplasma spp.*, probablemente se puede asumir que hay ganado infectado en el rebaño ya que el principal reservorio para estos patógenos es la glándula mamaria de la vaca. Sin embargo, la fuente de patógenos como la *E. coli* en muestras de leche co-mezclada no aséptica está abierta a preguntas ya que estos patógenos pueden estar en la superficie de la piel de la ubre o el pezón (vacas sucias), en la glándula mamaria, o pueden entrar en la leche a través de contaminación post-recogida.

Como se ha destacado anteriormente, la clave para un diagnóstico exitoso a nivel de vaca o de cuarto, independientemente de la aplicación de métodos de diagnóstico convencionales o moleculares, es la recogida aséptica de las muestras. Los materiales necesarios son: alcohol isopropílico 70%, hisopos de algodón, guantes desechables y viales de muestras estériles. Las muestras de leche se recogen normalmente al principio del ordeño. Se aplica la higiene pre-ordeño rutinaria y los pezones se secan con una toalla de un solo uso. Después, cada uno de los pezones se desinfecta con un hisopo empapado en alcohol, utilizando una parte distinta del hisopo para cada pezón. Los pezones más alejados se limpian primero y los más cercanos, los últimos, prestando especial atención a la limpieza de la punta del pezón. Las muestras se recogen de los pezones más cercanos primero y de los más lejanos, después, con el vial de la muestra apartado del pezón para minimizar la contaminación de la muestra.

MÉTODOS MOLECULARES DE DIAGNÓSTICO

Una variedad de métodos moleculares se han aplicado en el estudio de la epidemiología de la mamitis en laboratorios de investigación desde hace unos años. Se han utilizado dos enfoques principales 1) detección de ADN microbiano utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para diagnosticar IIM y 2) uso de métodos moleculares para la identificación de géneros y especies o para la clasificación de cepas de bacterias dentro de géneros o especies específicos. En el primer caso, los métodos basados en la PCR se han aplicado directamente a las muestras de leche negando la necesidad de hacer el cultivo convencional, que consume tiempo. Estas técnicas, por tanto, tienen un atractivo particular porque, en muchos casos, son más rápidas que los métodos de cultivo bacteriano convencionales. Además, estos métodos se pueden utilizar para detectar ADN de organismos que son difíciles de cultivar bajo las condiciones de cultivo rutinarias, por ejemplo, *Mycoplasma spp.* o géneros bacterianos anaerobios. En el segundo caso, todavía es necesario el cultivo bacteriano para cultivar un aislado para su posterior manipulación. Una variedad de métodos, como la PCR, la secuenciación del ADN, o métodos proteómicos (por ejemplo, el análisis a tiempo de vuelo de desorción/ionización por láser asistida por matriz [MALDI-ToF, por sus siglas en inglés) se han empleado para la identificación de géneros y especies. El agrupamiento de patógenos dentro de los géneros y especies dados en función de la cepa se ha realizado mediante técnicas como la electroforesis en gel en campo pulsátil, la tipificación por ADN polimórfico amplificado al azar (RAPD, por sus siglas en inglés), la amplificación de cortes de fragmentos polimórficos (AFLP, por sus siglas en inglés), y el tipificado de secuencias multi-locus (MLST, por sus siglas en inglés). Con la aparición de análisis de la secuencia del ADN baratos y de alto rendimiento, los métodos basados en la secuenciación se han convertido en algo común, sobre todo, en la identificación de géneros y especies de bacterias e, incluso, genomas enteros se están estudiando para identificar los factores asociados a la virulencia del patógeno.

Hoy en día, los métodos moleculares ya no se encuentran solo en el ámbito de los laboratorios de investigación. Ahora hay kits de pruebas comerciales comercializadas para el diagnóstico de la IIM que utilizan métodos de PCR a tiempo real para detectar ADN bacteriano en la leche. Una de estas pruebas, disponible a través de Thermo-Fisher (Pathoproof™), se puede aplicar directamente en la leche sin el cultivo de rutina. Esta prueba detecta el ADN de hasta 16 patógenos diferentes comunes en la mamitis, y lanza los resultados en 4 horas con "sensibilidad y especificidad sin precedentes" y aplicabilidad a varias muestras, incluyendo muestras de leche de cuartos mamarios, muestras de la Asociación para la Información de Rebaños Lecheros (DHIA, por sus siglas en inglés), y muestras de los tanques de leche. Aunque estas afirmaciones pueden estar justificadas, como con los cultivos tradicionales, uno debe poner los resultados en el contexto de dónde y cómo se ha recogido la muestra de leche. Como se ha comentado anteriormente, las muestras recogidas de forma no aséptica de los muestreadores en línea (muestras de la DHIA) o de los tanques de leche tienen sus limitaciones. Además, como con los cultivos convencionales, la detección de múltiples géneros y especies (≥ 3 tipos) en muestras asépticamente recogidas de un cuarterón o de una mezcla de 4 cuarterones sigue indicando una muestra contaminada. También hay que tener en cuenta que esta prueba solo detecta los 16 patógenos para los cuales se incluyen los cebadores de PCR. Por lo tanto, al contrario que en los cultivos tradicionales donde, dependiendo del medio usado para el cultivo, hay posibilidades de detectar un número infinito de géneros y especies, la PCR tiene sus limitaciones en el diagnóstico. Por último, la prueba solo detecta ADN y, por tanto, no hay "prueba de vida" en la ubre que cuestione si está presente una IIM activa.

Además de los diagnósticos de mamitis basados en la PCR, los sistemas de identificación de bacterias basados en proteómicos (MALDI-ToF) están encontrando su camino hacia los laboratorios de diagnóstico veterinarios para la identificación de géneros y especies de bacterias y estos métodos de alto rendimiento de bajo coste pueden, en última instancia, reemplazar a los sistemas clásicos de identificación fenotípica basados en perfiles bioquímicos (por ejemplo, Sensititre AP90™).

VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS DIAGNÓSTICOS MOLECULARES

A la hora de evaluar una "nueva prueba", su sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP), valor predictivo negativo (VPN), y precisión se calculan mediante la comparación de los resultados de la nueva prueba con un "estándar de oro". Una de las dificultades al diagnosticar IIM bacteriana es que no tenemos una prueba "estándar de oro" perfecta. Los cultivos de leche normalmente se consideran como las pruebas "estándares de oro", pero la manipulación del tamaño del inóculo de la leche y el medio de cultivo impactaría en la S y la E. La recomendación del Consejo Nacional de Mamitis para los cultivos bacterianos rutinarios es inocular medios sólidos (normalmente un agar base de sangre) con 10 µl de leche.[1] De esta forma, el límite de detección de esta prueba es de 100 unidades formadoras de colonias (UFC)/ml. Por tanto, si un cuarto mamario individual produce < 100 CFU/ml de bacterias, se declarará como cultivo negativo. Del mismo modo, si el organismo tiene condiciones de crecimiento específicas no utilizadas en el examen de rutina, por ejemplo, *Mycoplasma spp*. o anaerobios, la muestra también se declarará negativa. Los inhibidores en leche como los tratamientos antimicrobianos también pueden conducir a resultados negativos de la prueba. Estos son ejemplos de resultados negativos falsos de la prueba que afectarán la S. Lo contrario es cierto si, por ejemplo, el pezón no ha sido preparado asépticamente antes de la recogida de muestras y las bacterias del exterior del pezón son arrastradas al interior de la muestra durante la recogida. En este caso, podrían obtenerse resultados positivos falsos que impactarían sobre la E de la prueba.

Se plantean problemas similares cuando se diagnostica una IIM utilizando métodos basados en la PCR. Como el ensayo de PCR detecta solo aquellas bacterias para las que existen cebadores en el perfil del ensayo, los organismos no incluidos en el perfil del ensayo se perderían, dando lugar a resultados negativos falsos de la prueba. Un ejemplo de esta situación fue documentada recientemente en Europa, en el uso de la PCR para la detección de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA, por sus siglas en inglés). Se encontró que una serie de aislados tenían un fenotipo resistente a la oxacilina en base a pruebas de sensibilidad antimicrobiana convencionales, pero dieron negativo para el gen *mec*A, el gen que codifica la resistencia a la meticila, durante el examen PCR. Investigaciones adicionales del genoma bacteriano han revelado que estos aislados eran una variante del *mec*A, ahora denominado *mec*C, que se perdieron porque los cebadores de la PCR originales no detectaron esta variante.[3] Se darán positivos falsos con contaminación o cuando el ensayo detecte ADN bacteriano de organismos que el sistema inmunitario de la vaca o el tratamiento antibiótico ya haya matado. Como ocurre con los cultivos convencionales, la contaminación de la muestra también conducirá a positivos falsos. Los problemas asociados a las muestras recogidas del tanque de leche y con muestreadores en línea se han comentado en la sección anterior y también son ejemplos potenciales de resultados positivos falsos. Trabajos recientes han mostrado que, si bien el traspaso de organismos bacterianos (ADN) entre las vacas en la recogida de leche de un muestreador en línea (muestra DHIA) es aparentemente bajo, este traspaso se da y puede llevar a que una vaca sea identificada erróneamente como portadora de una IIM.[4] Las tasas de positivos y negativos falsos también pueden verse influidas por el umbral de ciclo (valores Ct) utilizado para hacer el diagnóstico. Al igual que la manipulación el tamaño del inóculo en los cultivos convencionales, mover el umbral del valor Ct hacia arriba o hacia abajo impactará sobre la S y la E.[4]

Al utilizar métodos moleculares para hacer un diagnóstico de géneros y especies definitivo, uno debe considerar si las técnicas se han validado apropiadamente contra las cepas de referencia bovinas. Por ejemplo, trabajos recientes han demostrado claramente la superioridad de los métodos basados en la secuencia de ADN sobre los métodos fenotípicos para la especiación de aislados de estafilococos coagulasa negativos.[5] Dicho esto, los laboratorios están empezando a utilizar proteómicos bacterianos (MALDI-ToF) para especiar bacterias, y mientras que las nuevas tecnologías son atractivas desde el punto de vista de la velocidad y el gasto, es fundamental que los resultados se validen antes de ser de uso generalizado.

Con respecto a los métodos de clasificación de cepas, es importante entender el poder de discriminación de las pruebas utilizadas. ¿La prueba agrupa los aislados dentro de un grupo o los separa en varios grupos? ¿Cómo se utilizarán los resultados para manejar los casos de mamitis? Si estamos intentando determinar la contagiosidad de los aislados de *S. aureus* en un grupo de vacas, por ejemplo, se necesitará una prueba discriminatoria para no sacrificar innecesariamente vacas identificadas erróneamente como portadoras de la cepa contagiosa porque la prueba de clasificación de cepas fallara a la hora de diferenciar las cepas adecuadamente.

DESARROLLOS FUTUROS

Hasta ahora el discurso se ha centrado principalmente en los métodos basados en el ADN (genómicos). Existen otras modalidades que pueden aplicarse en el estudio de enfermedades infecciosas, incluyendo las microbiómicas, transcriptómicas, proteómicas y metabolómicas. Estas técnicas están siendo utilizadas por los investigadores para comprender la mamitis bovina y algunos prometen como métodos de diagnóstico en el futuro. Por ejemplo, estudios recientes que evalúan el microbioma de la leche han revelado algunos resultados interesantes para mejorar nuestra comprensión de la epidemiología de la mamitis. El microbioma de la leche se compone de todos los microorganismos presentes en el entorno de la glándula mamaria de la vaca.[2] Utilizando la extracción de ADN, la amplificación de la PCR, y la secuenciación de ADN posterior de un fragmento del gen 16S, se identifican múltiples géneros y especies de bacterias a través de bioinformáticos. A través del estudio del microbioma del ganado sano frente al infectado, se puede determinar donde yacen las diferencias en la población microbiana para entender mejor lo que puede estar causando la inflamación en la ubre.

CONCLUSIONES

Como con cualquier prueba, es fundamental que el intérprete conozca las limitaciones de la prueba y observe los resultados en el contexto de cómo y de dónde fue recogida las muestra. Mientras que las nuevas tecnologías se suman a nuestra caja de herramientas para el diagnóstico de la mamitis, y en algunos casos mejoren la S y la E del diagnóstico, es importante que el clínico o el investigador tengan una clara comprensión de las técnicas, la forma en que se validan, y sus problemas potenciales.

REFERENCIAS

[1]Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. **National Mastitis Council, Madison, WI** 1999. [2]Zadoks RN. **Proceedings of the National Mastitis Council 53rd Annual Meeting** 2014;111-122. [4]Garcia-Alverez L, et al. **Lancet Infect Dis** 2011;11:595. [5]Zadoks RN & Watts JL. **Vet Microbiol** 2009;134:20.

ENGLISH VERSION ▼

MOLECULAR DIAGNOSTICS AND BOVINE MASTITIS

John R. Middleton, DVM, PhD, DACVIM (LAIM)
Columbia, Missouri, USA

INTRODUCTION

During the last decade diagnostic tests based on molecular techniques have become increasingly more commonplace, but what are molecular diagnostics and what is the utility of the results? Are these methods more sensitive and specific, and what are the advantages and pitfalls associated with molecular methods versus conventional diagnostics?

By definition, molecular diagnostic tests detect DNA, RNA, proteins, or other metabolites associated with either the host or an inciting pathogen to help us differentiate health from disease. In the case of mastitis, these methods are currently employed to define whether or not a cow or mammary quarter has an intramammary infection (IMI) or to study the epidemiology of groups of pathogens. Note that, while IMI and mastitis are often used synonymously, each has a different definition. An IMI is defined as an infection occurring in the secretory tissue and/or the ducts and tubules of the mammary gland that is generally diagnosed based on the detection of a microbial pathogen, whereas mastitis is defined as inflammation of one or more quarters of the mammary gland that is almost always caused by an IMI, but is quantified by measures of inflammation such as somatic cell count or visible changes in milk quality. For many years, conventional microbiological methods based on morphology and phenotype expression on non-specific or specific growth media have been considered the "gold standard" for detection of an IMI. These methods are still in widespread use in veterinary practice and are recommended by the National Mastitis Council.[1] In contrast, molecular methods based on detection of microbial DNA, RNA, proteins, or other metabolites have historically been used in research laboratories to understand pathogen epidemiology. However, the landscape is changing and there are now commercially-available, DNA-based, detection systems marketed for the diagnosis of IMI. Understanding how these techniques work and their limitations is key to making a diagnosis and subsequent management decisions.

GOALS OF DIAGNOSTIC TESTING

Broadly speaking, diagnostic tests are performed to decide whether there is an infection present and/or if there is an infection present, what, specifically, is causing it.[2] In the case of mastitis, the goal of milk microbiology is to define broad groups of pathogens to facilitate the implementation of mastitis control and/or treatment measures. Mastitis pathogens can be classified based on their reservoir of infection as contagious or environmental or based on disease manifestations as clinical or subclinical. Clinical mastitis can be further divided into subacute, acute, and peracute. Subacute mastitis usually manifests as alterations in the milk such as flakes and clots, but rarely with swelling, heat, redness, and pain of the udder. Acute mastitis usually presents as a sudden onset of redness, heat, swelling and pain of the udder along with alterations in the milk. Peracute mastitis is similar to acute mastitis, but is accompanied by systemic clinical signs such as shock, electrolyte imbalances, sepsis, decreased rumen motility, and hypocalcemia. Subclinical mastitis is inflammation of the udder with no overt clinical signs. In clinical disease, broad categorization into Gram-positive and Gram-negative pathogens can be useful in defining treatment as Gram-positive organisms more often respond to therapy. With subclinical mastitis, defining pathogens as contagious or environmental can be useful in making decisions on where and how control measures need to be implemented. This has historically been done by identifying specific genera and species of bacteria and lumping them into contagious or environmental categories based primarily on phenotype and empirical knowledge (Table 1), e.g., if we identified *Staphylococcus aureus* on a blood agar plate from a cow with subclinical mastitis, it was considered contagious and control measures would have been focused on milking time hygiene, segregation and milking cows last, and culling of chronically infected cows, whereas if we identified an *Escherichia coli* from a cow with clinical mastitis, the cow would be treated with symptomatic and supportive care and prevention measures would be focused on the cow's environment.

Table 1. Common Gram-positive and Gram-negative bovine mastitis pathogens grouped according to the classical definitions of contagious and environmental pathogens.

Contagious	Environmental
Gram-positive	Gram-positive
Staphylococci	Streptococci
Coagulase negative *Staphylococcus spp.*	*Streptococcus dysgalactiae*
Coagulase positive *Staphylococcus spp.*	*Streptococcus uberis*
S. aureus	*Enterococcus spp.*
S. hyicus (agnetis)	
Streptococci	Gram-negative
Streptococcus agalactiae	Coliforms
Corynebacterium bov is	*Escherichia coli*
Arcanobacter pyogenes	*Klebsiella spp.*
	Enterobacter spp.
Other	*Pseudomonas spp.*
Mycoplasma spp.	*Pasteurella spp.*

While the same principles can be applied when using molecular diagnostic methods, molecular methods can also be employed to fine tune our understanding of mastitis pathogen epidemiology, e.g., strain-typing methods may be used to document whether a specific pathogen is found in more than one cow thus giving an indication of a contagious reservoir, or conversely if multiple strains are found in very few cows this might indicate an environmental reservoir of infection. Using molecular methods has demonstrated that some pathogens classically defined as contagious or environmental may exhibit one or both characteristics and hence mastitis pathogens may be better referred to as host-adapted or non-host-adapted.

Finally, the goals of the research scientist may differ from those of the clinician. In clinical medicine, as discussed above, our diagnostic goal is usually to facilitate the implementation of treatment or control measures. In the research laboratory, there may be additional goals including definitive speciation of pathogens, understanding pathogen specific virulence, and an in-depth understanding of host-pathogen interactions.

SAMPLE COLLECTION

Milk is the usual medium being examined for the presence of microbes when diagnosing the cause of mastitis. To make a definitive diagnosis, milk samples are harvested aseptically at the cow

or quarter-level. In contrast, if the goal is herd-level monitoring, bulk milk samples or milk collected using an in-line sampling device may be utilized. In the latter case, the goal is to get a picture of what might be causing of mastitis in a herd, but with such a strategy management practices cannot be implemented at the cow-level as the affected cows cannot be definitively identified. Further, interpretation of the results from bulk milk or in-line samplers needs to take into account possible sources for bacteria in a non-aseptically collected, comingled milk sample. For pathogens such as *S. aureus*, *Strep. agalactiae*, and *Mycoplasma spp.*, it can likely be assumed that there are infected cattle in the herd as the primary reservoir for these pathogens is the cow's mammary gland. However, the source of pathogens such as *E. coli* in non-aseptically, co-mingled milk samples is open to question as these pathogens can be on the udder or teat skin surface (dirty cows), in the mammary gland, or enter milk via post-harvest contamination.

As highlighted above, the key to a successful cow or quarter-level diagnosis, regardless of whether conventional or molecular diagnostic methods will be applied, is aseptic sample collection. Supplies needed include 70% isopropyl alcohol, cotton swabs, disposable gloves, and sterile sample vials. Milk samples are usually collected at the beginning of milking. Routine pre-milking hygiene is applied and teats are dried with a single-use towel. Each of the teats is then scrubbed with an alcohol soaked swab using a separate area of the swab for each teat. The far teats are scrubbed first and the near teats last with particular attention being paid to cleaning the teat end. Samples are collected from the near teats first and far teats last with the sample vial held away from the teat end to minimize sample contamination.

MOLECULAR DIAGNOSTIC METHODS

A variety of molecular methods have been applied to the study of mastitis epidemiology in research laboratories for a number of years. Two main approaches have been utilized 1) detection of microbial DNA using polymerase chain reaction (PCR) to diagnose IMI and 2) using molecular methods for genus and species identification or to strain-type bacteria within a specific genus and species. In the first case, PCR-based methods have been applied directly to milk samples negating the need for time-consuming conventional culture. These techniques thus have particular appeal because, in many cases, they are more rapid than conventional bacterial culture methods. In addition, these methods may be used to detect DNA from organisms that are difficult to grow under routine culture conditions, e.g., *Mycoplasma spp.* or anaerobic bacterial genera. In the second case, bacterial culture is still needed to harvest an isolate for further manipulation. A variety of methods including PCR, DNA-sequencing, or proteomic methods (e.g., matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight analysis (MALDI-ToF)) have been employed for genus and species identification. Grouping of pathogens within a given genus and species according to strain has been performed using techniques such as pulsed-field gel electrophoresis, randomly amplified polymorphic DNA typing (RAPD), amplified fragment length polymorphism (AFLP), and multi-locus sequence typing (MLST). With the advent of high throughput inexpensive DNA sequence analysis, sequence-based methods are becoming quite commonplace especially for bacterial genus and species identification and even whole genomes are being studied to identify factors associated with pathogen virulence.

Today, molecular methods are no longer only in the realm of the research laboratory. There are now commercial test kits marketed for diagnosis of IMI that utilize real-time PCR methods to detect bacterial DNA in milk. One such test available through Thermo-Fisher (Pathoproof™) can be applied directly to milk without routine culture. This test detects DNA from up to 16 different commonly occurring mastitis pathogens, and boasts results in 4 hours with "unparalleled sensitivity and specificity" and applicability to various samples including mammary quarter milk samples, Dairy Herd Information Association (DHIA) samples, and bulk tank samples. While these claims can be substantiated, as with conventional culture, one must put the results in the context of where and how the milk sample was collected. As discussed above, non-aseptically collected samples from in-line samplers (DHIA samples) or bulk milk have their limitations. Further, as with conventional culture, detection of multiple genera and species (≥ 3 types) in a mammary quarter or 4-quarter composite aseptically collected milk samples still indicates a contaminated sample. Also bear in mind that this test will only detect the 16 pathogens for which PCR primers are included. So, unlike conventional culture where, depending on the culture media used, there is the potential to detect an infinite number of genera and species, the PCR has its diagnostic limitations. Finally, the test only detects DNA and therefore there is no "proof of life" in the udder calling into question whether an active IMI is present.

In addition to PCR-based mastitis diagnostics, proteomics-based (MALDI-ToF), bacterial identification systems are finding their way into veterinary diagnostic labs for genus and species identification of bacteria and these inexpensive high throughput methods may ultimately replace classical phenotypic identification systems based on biochemical profiling (e.g., Sensititre AP90™).

ADVANTAGES AND DISADVANTAGES OF MOLECULAR DIAGNOSTICS

When evaluating a "new test", its sensitivity (Se), specificity (Sp), positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), and accuracy are calculated by comparing the results of the new test to a "gold standard". One of the difficulties in diagnosing bacterial IMI is we do not have a perfect "gold standard" test. Milk culture is often considered the "gold standard" test, but manipulation of the milk inoculum size and growth media will impact Se and Sp. The National Mastitis Council recommendation for routine bacterial culture is to inoculate solid media (usually a blood-based agar) with 10 µl of milk.[1] Therefore, the limit of detection of this test is 100 colony forming units (CFU)/ml. Hence, if an individual mammary quarter is shedding < 100 CFU/ml of bacteria, it will be declared culture negative. Similarly, if the organism has specific growth conditions not used in routine screening, e.g., *Mycoplasma spp*. or anaerobes, the sample will likewise be declared negative. Inhibitors in milk such as antimicrobial treatments can also lead to a negative test result. These are examples of false negative test results that will impact Se. The opposite is true if, for example, the teat is not aseptically prepared prior to sample collection and bacteria from the outside of the teat are washed into the sample during collection. In this instance, we may get a false positive result impacting test Sp.

Similar issues arise when diagnosing an IMI using PCR-based methods. Because the PCR assay detects only those bacteria for which there are primers in the assay profile, organisms not included in the assay profile will be missed leading to false negative test results. An example of such a situation was recently documented in Europe using PCR detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). A series of isolates were found to have an oxacillin resistant phenotype based on conventional antimicrobial susceptibility testing, but were negative for the *mec*A gene, the gene encoding methicillin resistance, during PCR screening. Further investigation of the bacterial genome revealed that these isolates were a *mec*A variant, now termed *mec*C, that were missed because the original PCR primers did not detect this vari-

ant.[3] False positives will occur with contamination or when the assay detects bacterial DNA from organisms that the cow's immune system or antimicrobial therapy has already killed. As with conventional culture, contamination of the sample will also lead to false positives. The issues associated with bulk milk and in-line sampler collected milk samples are discussed in the section above and are also potential examples of false positive results. Recent work has shown that while carryover of bacterial organism (DNA) between cows when collecting milk from an in-line sampler (DHIA sample) is apparently low, carryover nonetheless occurs and may lead to a cow being falsely identified as having an IMI.[4] The false positive and negative rates can also be influenced with the cycle threshold (Ct-values) used to make a diagnosis. Similar to manipulating the inoculum size in conventional culture moving the Ct-value threshold up or down will impact the Se and Sp.[4]

When using molecular methods to make a definitive genus and species diagnosis, one must consider whether the techniques have been appropriately validated against bovine reference strains. By example, recent work has clearly demonstrated the superiority of DNA-sequence based methods over phenotypic methods for speciation of coagulase negative staphylococcal isolates.[5] That said, labs are now beginning to use bacterial proteomics (MALDI-ToF) to speciate bacteria, and while new technologies have appeal from a speed and expense standpoint, it is critical that the results be validated before being placed in widespread use.

With regard to strain-typing methods, it is important to understand the discriminatory power of the tests being used. Does the test lump isolates into one group or split them into many groups? How will the results be used to manage mastitis cases? If we are trying to determine contagiousness of *S. aureus* isolates in a group of cows, for example, a discriminatory test will be needed so that we do not needlessly cull cows falsely identified as possessing the contagious strain because the strain-typing test failed to adequately differentiate the strains.

FUTURE DEVELOPMENTS

The discussion so far has focused primarily on DNA-based (genomic) methods. There are other modalities which can be applied to the study of infectious disease including microbiomics, transcriptomics, proteomics, and metabolomics. These techniques are being used by researchers to understand bovine mastitis and some have promise as future diagnostic methods. For example, recent studies evaluating the milk microbiome have revealed some interesting results to further our understanding of mastitis epidemiology. The milk microbiome consists of all the microorganisms in the cow's mammary gland environment.[2] Using DNA extraction, PCR amplification, and subsequent DNA sequencing of a fragment of the 16S gene, multiple genera and species of bacteria are identified using bioinformatics. By studying the microbiome of healthy versus infected cattle, it can be determined where differences in the microbial population lie to better understand what may be causing inflammation in the udder.

CONCLUSIONS

As with any test, it is critical that the interpreter know the limitations of the test and view the results in the context of how and from where the sample was collected. While new technologies add to our toolbox for mastitis diagnosis, and in some cases improve the Se and Sp of diagnosis, it is important that the clinician or researcher have a clear understanding of the techniques, how they were validated, and the potential pitfalls.

REFERENCES

[1]Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. **National Mastitis Council, Madison, WI** 1999. [2]Zadoks RN. **Proceedings of the National Mastitis Council 53rd Annual Meeting** 2014;111. [3]Garcia-Alverez L, et al. **Lancet Infect Dis** 2011;11:595. [4]Klaas IC, et al. **Proceedings of the National Mastitis Council 53rd Annual Meeting** 2014;167. [5]Zadoks RN & Watts JL. **Vet Microbiol** 2009;134:20.

EFICIENCIA ALIMENTARIA

ESTRATEGIAS DE NUTRICIÓN PARA MEJORAR LA EFICIENCIA ALIMENTARIA

Michael J. VandeHaar
Department of Animal Science, Michigan State University, East Lansing, MI, USA
Email: mikevh@msu.edu

Introducción

La eficiencia alimentaria, o la eficiencia en la conversión del alimento en leche, es importante para las granjas porque tiene una influencia decisiva en la rentabilidad de la explotación y la gestión medioambiental en la industria lechera. La eficiencia alimentaria del ganado lechero en Norte América y Europa se ha duplicado en los últimos 50 años, principalmente como consecuencia de la selección y el manejo de las vacas para aumentar la productividad. El aumento de la productividad se da porque se utiliza un mayor porcentaje de ingesta total para la producción de leche en vez de para el mantenimiento de la vaca. El ganado lechero de élite en los EEUU actualmente desvía tres veces más energía de la alimentación hacia la producción lechera que hacia el mantenimiento de la vaca. No es probable que sigamos haciendo grandes avances en la eficiencia alimentaria simplemente aumentando la cantidad de leche por vaca. En lugar de ello, también tendremos que centrarnos en cómo conseguir más leche de cada unidad de pienso.

¿Cómo deberíamos definir la eficiencia alimentaria?

La manera más simple de definir la eficiencia alimentaria es leche por unidad de alimento, pero esto no le da la debida consideración a la densidad de energía de los diferentes alimentos de la dieta y a la composición de la leche, ni a las ganancias o pérdidas de energía corporal. Por tanto, prefiero hablar de la eficiencia de convertir la energía de los alimentos en la energía en leche y tejidos corporales.

La energía bruta (**EB**) es la energía química total de un alimento y es independiente de la eficiencia con que la vaca la utiliza. No toda la EB es útil porque parte de la misma no es digerida y se pierde como energía fecal. Parte de la energía digerida se pierde como energía gaseosa, principalmente metano producido durante la fermentación, y como energía urinaria, principalmente urea producida para eliminar el nitrógeno (N) sobrante del cuerpo. La energía digerida también se pierde en forma de calor asociado al trabajo metabólico de la fermentación, digestión y procesamiento de los nutrientes. La energía restante se conoce como energía neta (EN). Parte de la EN se utiliza para soportar las funciones de mantenimiento y se pierde por completo como calor. Parte de la EN es la energía química de la leche secretada y la acreción de los tejidos corporales y el embrión. La eficiencia energética es la energía capturada en los productos divididos por la energía consumida por una vaca a lo largo de su vida.

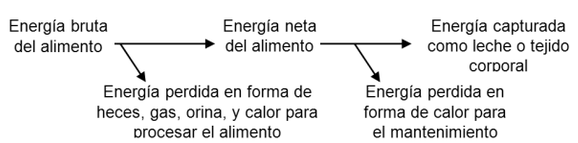


Figura 1. Flujo de energía en una vaca.

A nivel de granja, en la eficiencia también se debería tener en cuenta el desperdicio de alimento y las posibilidades de venta de los productos, así como el valor económico de los componentes del pienso y de la leche. Para definir la eficiencia a escala global, deberíamos considerar las entradas y salidas de los combustibles y los gases de efecto invernadero, el uso de la tierra, los efectos sobre los ecosistemas nativos, y si los alimentos pueden ser consumidos directamente por humanos. Para este trabajo, sin embargo, hablaré principalmente de la eficiencia energética.

Nivel de Producción y Eficiencia Alimentaria

Los factores principales que afectan a la eficiencia alimentaria en las granjas son: a) el rendimiento energético de la leche en relación con el peso corporal (PC) de la vaca, b) el porcentaje de tiempo de vida que la vaca pasa en lactación, c) la precisión nutricional en la alimentación, y d) la eficiencia al convertir la EB del alimento en EN.

Las necesidades de mantenimiento de una vaca se consideran constantes y en relación a su PC. La vaca Holstein típica tiene unas necesidades de mantenimiento de ~10 Mcal de EN/día (lo que equivale a ~25 Mcal de EB y 14 kg de ración). Si una vaca come para mantenerse y no produce leche, su eficiencia alimentaria es de 0%. Cualquier alimentación adicional se puede convertir en leche o tejidos corporales. Si la vaca come dos veces esta cantidad–20 Mcal de EN o mantenimiento x2, solamente la mitad de su alimentación se utilizaría para el mantenimiento y la mitad restante para la leche. A medida que come más pienso, la porción utilizada para el mantenimiento se convierte en una fracción menor de la ingesta total de alimento; esta "***dilución del mantenimiento***" aumenta la eficiencia. Sin embargo, a medida que aumenta la ingesta, el aumento marginal de la eficiencia por la dilución del mantenimiento disminuye con cada aumento sucesivo en la ingesta de alimento. Por ejemplo, el aumento de la eficiencia es menor al pasar de la ración de mantenimiento x3 a x4, que de x2 a x3 (línea continua, Figura 2). Además, a medida que las vacas comen más, el porcentaje de alimento que se digiere es menor. En ingestas elevadas, la disminución en la digestibilidad puede incluso superar la dilución del mantenimiento y la eficiencia puede reducirse con el aumento de la ingesta. De hecho, de acuerdo con las ecuaciones utilizadas en la NRC (2001), la eficiencia tiene un pico en la ~ingesta de mantenimiento x4 (línea discontinua, Figura 2), que es ~45 kg de leche con 3,5% de grasa al día para una vaca de 680kg.

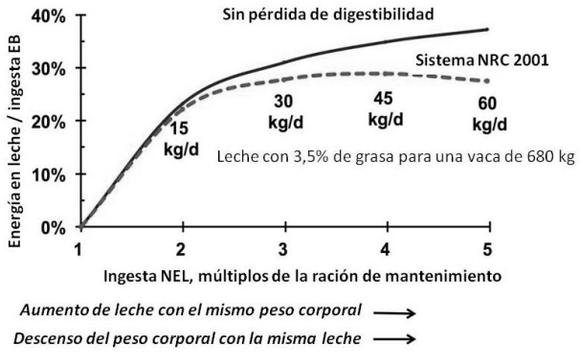


Figura 2. Eficiencia (suponiendo que no hay cambios en el PC) en respuesta a la ingesta de una vaca en lactación sin cambios en la digestibilidad (línea continua) o con una disminución en la digestibilidad como en el sistema NRC 2001 (línea discontinua). La productividad para cada múltiplo de la ración de mantenimiento es aproximadamente 33, 66, 99 y 130 libras de leche para x2, x3, x4 y x5, respectivamente.

La disminución en la digestibilidad no está bien cuantificada para las vacas con un consumo >x4 al de mantenimiento (VandeHaar, 1998), y probablemente la NRC 2001 reduce la digestibilidad demasiado. Datos actuales de nuestro proyecto sobre eficiencia alimentaria del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés) respaldan la idea de que el verdadero cambio en la eficiencia se encuentra en algún lugar entre las dos líneas de la Figura 2. En cualquier caso, alrededor de una ingesta x4, la eficiencia alimentaria está próxima a su máximo. Las vacas de élite (>x4 o 13.000 kg/305 días en lactación) ya están cerca o posiblemente por encima del múltiplo óptimo de mantenimiento para la eficiencia máxima.

La eficiencia alimentaria a nivel del rebaño requiere tener en cuenta la ganancia de tejido corporal y el alimento consumido por las novillas y las vacas secas, que es entre el 15-30% del alimento que una vaca come durante toda su vida. Por lo tanto, las vacas que tienen ingestas x4 de media durante la lactación, rondan el x3 en el conjunto de su vida. La vaca Holstein promedio en Norte América produce actualmente ~10.000 kg de leche/año y capta ~21% de su ingesta de EB de su vida en forma de leche y tejidos corporales. Muchos de los mejores rebaños de EEUU producen >30.000 libras/año y, por tanto, se están acercando a la eficiencia biológica máxima basándose en múltiplos de mantenimiento. Teniendo en cuenta que 2/3 de las Holstein norteamericanas vienen de toros de inseminación artificial (IA), la limitación para conseguir una mayor eficiencia y producción en la mayoría de las vacas es probablemente la alimentación y el manejo. Por lo tanto, no es probable que sigamos haciendo grandes avances en la eficiencia alimentaria simplemente a través de la cría para un mayor rendimiento en leche en relación con el PC. Tenemos que hacer un mejor trabajo de manejo de las vacas, tenemos que aumentar la producción y la eficiencia, y tenemos que empezar a centrarnos más en la eficiencia en la cría.

Es importante destacar que el impacto de los múltiplos de mantenimiento sobre la eficiencia es probablemente el mismo, ya se consiga más leche en un PC determinado, o la misma leche con un PC menor. Criar vacas más pequeñas probablemente no vaya a ayudar demasiado, esto se tratará más adelante.

El nivel de producción también influye en la rentabilidad y la eficiencia de utilizar alimentos consumibles por los humanos, en el uso de la tierra, y en las emisiones de gases de efecto invernadero.

Rentabilidad. Debido a que un mayor rendimiento lechero por vaca aumenta la eficiencia alimentaria y, que el alimento es uno de los gastos principales de las granjas, una mayor producción por vaca normalmente aumenta el beneficio por vaca. Datos de explotaciones comerciales confirman este hecho (Rodriguez et al., 2012). No obstante, la eficiencia alimentaria solo es un factor que influye en la rentabilidad. Una mayor producción por vaca reduce la proporción de los gastos fijos totales de la granja; de modo que, incluso cuando alcanzamos la producción óptima por vaca para maximizar la eficiencia biológica, la economía sigue favoreciendo una mayor producción por vaca para diluir los costes fijos de la granja. Y lo que es más importante, ¡el coste del alimento importa! Utilizar alimentos caros para conseguir una producción alta o una eficiencia alimentaria alta, a veces, reducirá la rentabilidad.

Uso de alimentos consumibles por los humanos. Aunque la eficiencia del uso de la alimentación total en la industria lechera norteamericana es de un 20-25% para energía y 20-30% para proteína, los retornos en insumos digeribles por los humanos oscila entre el 60 y el 130% para la energía y entre 100 y 280% para la proteína (Oltjen y Beckett, 1996). Esto ocurre porque las vacas comen muchos alimentos que los humanos no consumen; por ejemplo, semillas de algodón, vainas de soja, y granos de destilería. No obstante, estos alimentos de subproductos fibrosos normalmente son menos digeribles que los granos y pueden limitar la capacidad de las vacas de producir los niveles más altos de leche. Por tanto, maximizar la eficiencia alimentaria total no será posible a la vez que se maximiza la eficiencia respecto a los alimentos consumibles por los humanos. Como la competencia por los granos de alimento aumentará en el futuro, la capacidad de las vacas de convertir alimentos no consumibles por los humanos en leche y carne para la gente será más importante, y el nivel óptimo de producción podría ser menor en el futuro de lo que es hoy. En la actualidad, sin embargo, el uso de pienso de subproductos de forma extensiva para las novillas, las vacas secas, y las vacas al final de la lactación y, con mesura, para las vacas en lactación temprana debería aumentar la eficiencia del alimento total y los alimentos consumibles por los humanos.

Uso de la tierra. El uso de la tierra para producir granos y semillas de leguminosas para el consumo humano directo sería la manera más eficiente de alimentar a las personas. Utilizar la tierra para cultivar alimentos para el ganado lechero que produce 10.000 kg/año resulta en solo la mitad del alimento para las personas (VandeHaar y St-Pierre, 2006). Sin embargo, la producción de leche por superficie aumenta con una mayor producción de leche por vaca. Y lo que es más importante, si los piensos de subproductos constituyen un tercio de los alimentos utilizados por un rebaño lechero que produce 15.000 kg/año, entonces utilizar la tierra para producir leche rinde el 90% de lo que rendiría produciendo grano y legumbres para consumo humano. En mi opinión, una industria lechera eficiente seguirá siendo parte de nuestro sistema de producción de alimentos durante mucho tiempo.

Gestión medioambiental. Para considerar adecuadamente el impacto medioambiental, uno debe tener en cuenta todas las entradas y salidas de la industria lechera, incluyendo incluso el combustible utilizado para labrar la tierra para cultivar las cosechas. Esto se conoce como Análisis de Ciclo de Vida y, aunque está repleto de posibles inexactitudes, no hay ninguna otra manera de considerar el panorama completo. Dos estudios recientes destacan el valor del aumento de la productividad para mejorar la gestión medioambiental. Thomassen et al (2008) compararon granjas lecheras holandesas convencionales y ecológicas. El rendimiento lechero por vaca fue de 8000kg/año en las granjas convencionales; y de 6100 kg/año en las granjas ecológicas. A la hora de considerar todas las entradas (que incluyen alimentos traídos desde fuera del país), las explotaciones convencionales utilizaban un 60% más de energía y causaban un 50% más

de eutrofización por unidad de leche producida, pero las granjas ecológicas necesitaban un 40% más de tierra. La acidificación y el cambio climático no fueron diferentes para los dos sistemas. En mi opinión, la menor necesidad de tierra da la ventaja al sistema convencional ya que la tierra que no se necesita podría utilizarse para producir biocombustibles o disponerse como hábitats nativos. Esto concuerda con un estudio de Capper et al. (2009) que muestra que en los últimos 60 años, la industria lechera estadounidense ha reducido las emisiones de gases de efecto invernadero en un 60% por unidad de leche producida, principalmente por la mejora en la eficiencia alimentaria causada por la mayor productividad. Así, el incremento de la productividad (hasta 4 veces) aumenta la eficiencia, y la mayor eficiencia normalmente es buena para el medio ambiente – podemos alimentar a más personas con menos recursos y menos impacto negativo sobre el medio ambiente. Mejorar la eficiencia en la producción lechera a través del uso de las nuevas tecnologías parece ser lo más responsable que se puede hacer por el medio ambiente, por lo menos en el futuro inmediato, hasta que la producción media de leche supere los 15.000 kg/año.

Manejo para Mejorar la Eficiencia Alimentaria

La vaca Holstein promedio en las granjas de Norte América produce actualmente ~10.000 kg de leche/año y capta ~21% de su ingesta de EB de toda su vida como leche y tejidos corporales. La eficiencia alimentaria se estanca probablemente a los ~15.000 kg de leche en las vacas con un PC maduro de 700 kg, por lo que los aumentos en la productividad seguirán mejorando la eficiencia en la mayor parte de las explotaciones lecheras en Norte América. Utilizando un modelo descrito en VandeHaar (1998), se previeron los impactos de varios cambios en el manejo sobre la eficiencia. Incrementar la producción lechera diaria media en un 10%, aumenta la eficiencia energética de por vida un 0,7%. Aumentar la longevidad de la vaca de 3 a 4 lactaciones, reducir la edad del primer parto de 26 a 22 meses, o disminuir el intervalo entre partos de 14 a 12,5 meses, podría conseguir mejoras parecidas en la eficiencia vital. Por lo tanto, el cómo se alimentan y se manejan las vacas en cada etapa de la vida puede aumentar el rendimiento lechero por día de vida, diluyendo así el mantenimiento y aumentando la eficiencia. Estos cambios en el manejo promueven mejoras similares en la eficiencia en la conversión de la proteína en pienso en proteína corporal o en leche. No obstante, el mayor impacto que las granjas podrían hacer sobre la eficiencia en el uso de proteínas es, simplemente, dejar de sobrealimentar con proteínas, como se hace a menudo al final de la lactación. Alimentar a las vacas pasados 150 días postparto con una dieta con un 2% menos de proteínas (15 vs 17 % PB) incrementaría la eficiencia en el uso de proteínas en un 1,3%.

Un aspecto de la gestión de la eficiencia alimentaria a menudo pasado por alto es el manejo del alimento. La cantidad de comida desperdiciada en algunas granjas es considerable. Para minimizar el desperdicio de alimento es necesaria una evaluación anual de los procedimientos para la cosecha, el transporte y el almacenamiento de los alimentos, la mezcla de raciones y el manejo de los comederos. Sin embargo, a la hora de manejar los comederos, es importante recordar que maximizar la ingesta de alimento de las vacas en lactación aumenta la eficiencia de leche por vaca y del total de la granja. La mayor ingesta de alimento se da cuando las vacas están cómodas y tienen a su disposición mucha agua y alimento fresco y equilibrado durante la mayor parte del día. Este tema se ha discutido mucho en los últimos 20 años, con un acuerdo general y no hay necesidad de continuar el debate aquí. Incluso si hay que desechar parte de la alimentación adicional, las estrategias para mejorar la ingesta por vaca en general producirán una mejora en la eficiencia, la rentabilidad y la administración.

Alimentar las Vacas para una Mayor Eficiencia Alimentaria

Las necesidades nutricionales varían según progresa la lactación, y la dieta óptima para maximizar la eficiencia y la rentabilidad cambia también. La mayoría de las explotaciones utiliza raciones mixtas totales (RMT) en vez de alimentar con grano a cada vaca de forma separada e individual. El uso de RMT en la alimentación mejora la productividad y la eficiencia porque las vacas, teóricamente, comen lo mismo en cada bocado y el pH del rumen es más estable. No obstante, con una alimentación basada en RMT, es menos probable que las vacas reciban una dieta que se ajuste a sus necesidades individuales; esto es especialmente cierto si todas las vacas en lactación (salvo, tal vez las recién paridas) son alimentadas con la misma RMT. La aportación de una sola RMT durante toda la lactación nunca podrá maximizar la producción y la eficiencia. Una sola RMT se formula normalmente para las vacas de mayor producción y es más densa en nutrientes que lo óptimo para las vacas al final de la lactación, de forma que se hace un uso ineficiente de la mayoría de los nutrientes (por ejemplo, proteína). Además, aunque la única RMT se formule para las vacas más productoras, es probable que no maximice la cantidad de leche para el rebaño. Las dietas bajas en fibra y ricas en almidón digestible optimizan la producción y la reproducción en los picos de lactación, pero este tipo de dieta tendría fibra inadecuada para las vacas recién paridas y promovería un exceso de engrasamiento en las vacas al final de la lactación. Si se sigue alimentando a las vacas al final de la lactancia con la dieta diseñada para la producción óptima de leche al principio de la lactación, muchas vacas entrarán en el periodo seco con una condición corporal excesiva. Las vacas con sobrepeso son más susceptibles de tener problemas de salud en el siguiente parto, lo que resulta en menos leche vendible, seguida de una mayor movilización de la grasa corporal, descenso en la fertilidad, e intervalos más largos entre lactaciones. Como consecuencia, las vacas desechadas en situaciones de una sola RMT pueden ser aquellas que no pueden adaptarse al manejo subóptimo, más que aquellas que son menos eficientes, productivas, y rentables. Además, los sistemas con una TMR no permiten el máximo retorno de los alimentos caros que pueden aumentar de forma rentable la producción en las vacas recién paridas o de alta producción pero tener un retorno negativo en vacas de menor producción. Esto es relativamente obvio para los suplementos diseñados para mejorar la salud de las vacas recién paridas o para los suplementos de proteínas ricos en proteína no degradable en rumen que beneficia el principio de la lactación pero no el final. Esto es menos obvio pero igual de importante en la selección de alimentos con carbohidratos. No todas las vacas en lactación se benefician de la misma forma del almidón fermentable y de la fibra de fácilmente digerible; una sola RMT impide una óptima asignación de los forrajes, cereales y alimentos de subproductos. Los piensos de subproductos baratos son especialmente útiles al final de la lactancia para mejorar la rentabilidad y la eficiencia general de la industria lechera. Uno de los argumentos utilizados por las granjas en contra de la creación de múltiples grupos de raciones es que la producción lechera disminuye cuando las vacas son cambiadas a otro grupo con una ración diferente. Sin embargo, muchos factores afectan a la producción lechera durante un cambio de grupo (los ejemplo incluyen días en leche, densidad de población e interacciones sociales de la vaca), y somos rápidos a la hora de notar bajadas temporales en la producción.

Las dietas para el final de la lactación se pueden formular para minimizar las caídas en la producción de leche mientras que también se minimiza el exceso de ganancia de peso. Varios estudios han mostrado que alimentar con menos almidón, especialmente almidón de rápida fermentación, y más fibra, sobre todo fibra altamente digerible, en realidad resulta en un desvío de la energía

del alimento a la leche en vez de a la ganancia de peso. Un buen ejemplo de esto es un estudio realizado por Oba y Allen (1998), en el que las vacas que estaban a la mitad de su lactación fueron alimentadas con dietas ricas en almidón (29% FDN [fibra detergente neutra]) o bajas en almidón (38% FDN) y con ensilado de maíz con fibra de alta o baja digestibilidad. La alimentación rica en almidón permitía una máxima producción de leche, independientemente de la calidad del forraje, pero también promovía ganancias en el PC de casi 1kg/d. Sin embargo, si el almidón se sustituía con una fuente de fibra digerible, las vacas producían el máximo de leche pero no tenían ganancia de PC. Ipharraguerre et al. (2002) mostraron de forma similar que sustituir los granos de maíz con hasta un 30% de vainas de soja no daba lugar a ninguna caída en la producción de energía en leche, pero disminuía la ganancia de PC de 1,0 kg/d a ninguno. Trabajos posteriores han mostrado que las vacas de mayor producción (con la mayor demanda metabólica de nutrientes) son las que responden de forma más favorable a las dietas altas en almidón; cuando se alimentan con menos almidón, normalmente su producción lechera disminuye. En contraste, las vacas con rendimientos lecheros más bajos (menos demanda de nutrientes) generalmente mantienen su producción lechera cuando son alimentadas con dietas con menos almidón y más fibra digerible (en comparación con las dietas altas en almidón) y, no menos importante, ganan consistentemente menos peso y condición corporal. Esto ha sido demostrado consistentemente en la Universidad Estatal de Míchigan (MSU, por sus siglas en inglés) (más recientemente por Ploetz et al., 2013), siendo la cantidad óptima de almidón de ~15% para las vacas al final de la lactación, dependiendo de la calidad del forraje en la dieta y los tipos de alimentos utilizados para sustituir el almidón. Por tanto, una vez que las vacas a mediados o finales de la lactación consigan una puntuación de condición corporal de 3,0; recomendamos que sean alimentadas con una dieta con menos almidón y más fibra digerible, para que tengan una condición corporal óptima al principio de la siguiente lactación.

El número de raciones en cualquier explotación depende de muchos factores, pero recomiendo al menos tres basados en los objetivos de la alimentación (Figura 3). Las vacas recién paridas deberían ser alimentadas para una óptima salud y se garantizan suplementos caros. Las vacas en el pico de la lactación deberían ser alimentadas para la máxima producción lechera con dietas con mínimos de fibra y mucho almidón digerible para maximizar la toma de energía; debido a que su ingesta está limitada por la capacidad del rumen. Las vacas al final de la lactación deberían ser alimentadas para optimizar la condición corporal y de la leche; deberían ser alimentadas con menos almidón fermentable y más fibra fermentable para promover que los nutrientes se desvíen hacia la leche en vez de hacia los tejidos corporales y así minimizar el engorde. La decisión de cuándo cambiar a las vacas de una dieta para el principio de la lactación a un para el final debería basarse en la condición corporal, paridad, rendimiento lechero, y estado reproductivo. De todos estos, probablemente el criterio más importante para sustituir la ración baja en almidón es si una vaca ha alcanzado una puntuación en la condición corporal de 3. Además, las vacas al final de la lactación deberían recibir dietas más bajas en proteínas para maximizar la eficiencia en el uso de las proteínas. Los suplementos caros son más útiles en la lactación temprana. Los piensos baratos se usan mejor al final de la lactación.

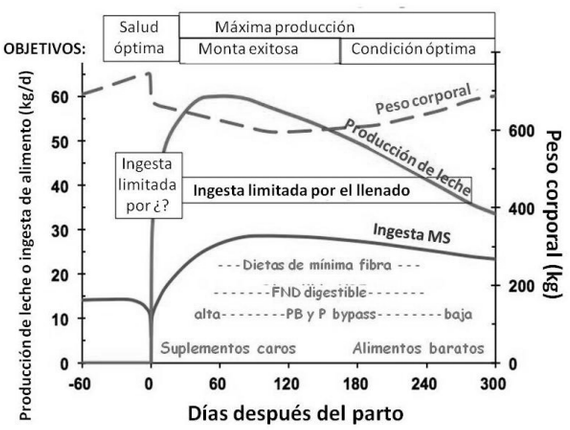


Figura 3. Consideraciones en el agrupamiento nutricional.

El agrupamiento nutricional y el uso de múltiples RMT, sin duda, hacen aumentar los costes de capital, manejo y de trabajo; sin embargo, los retornos económicos pueden ser significativos tanto a corto como a largo plazo. Además, alimentar a las vacas en función de sus necesidades permite la asignación de alimentos para maximizar la producción y la rentabilidad, mejora la eficiencia en el uso de proteínas, reduce la excreción de N y P, y mejora las sostenibilidad de la industria. A aquellas granjas que actualmente utilizan una sola RMT, les animo a que consideren seriamente cómo hacer funcionar múltiples RMT. Incluso las granjas más pequeñas pueden idear formas creativas de alimentar a las vacas en función de sus necesidades. Un enfoque podría ser aportar suplementos a las vacas de forma individualizada utilizando un sistema de alimentación computerizado que reconozca las vacas y dispense mezclas específicas a intervalos programados a lo largo del día.

Aunque una eficiencia alimentaria pobre normalmente disminuye la rentabilidad, el aumento de la eficiencia no maximizará necesariamente la rentabilidad - ¡los costes del alimento importan! Las fuentes de energía caras como las grasas normalmente mejoran la eficiencia alimentaria pero a veces disminuyen la rentabilidad. Alimentos voluminosos baratos pueden reducir la eficiencia pero aumentar la rentabilidad (sobre todo al final de la lactación). Aportar proteína adicional normalmente disminuye la eficiencia en el uso de proteínas pero, a veces, incluso si la proteína es cara, podría mejorar la rentabilidad si aumenta la producción. Algunos programas nutricionales intentan formular dietas utilizando un modelo matemático para maximizar el beneficio. Sin embargo, en la vida real, es virtualmente imposible predecir con precisión cómo afectará una dieta al apetito, a la partición de nutrientes, y al rendimiento y componentes de la leche. Por lo tanto, el seguimiento de la respuesta actual es esencial para la gestión óptima de la granja. Una alta producción es casi siempre más importante para una mayor rentabilidad que un bajo coste del alimento, pero gestionar los costes de la alimentación sigue siendo prudente.

Resumen.

Podemos mejorar la eficiencia alimentaria mejorando la manera en que se alimenta y se maneja a las vacas. La mejora en la eficiencia alimentaria se da porque, cuando las vacas producen más leche en relación a su peso corporal, el porcentaje de alimento utilizado para el mantenimiento disminuye. Este efecto de "dilución del mantenimiento" es especialmente importante para las vacas que producen por debajo de 3 veces sus necesidades de mantenimiento a lo largo de toda su vida. La eficiencia alimen-

taria solo es un componente de la rentabilidad de la granja; la alta producción es y seguirá siendo otro factor importante. Del mismo modo, cuando alimentamos y manejamos a las vacas, la alta producción es la clave para mejorar los beneficios. Centrarse demasiado en la leche/alimento sería un error. En lugar de ello, deberíamos centrarnos en maximizar los ingresos de la leche después de restar el coste del alimento. El agrupamiento de las vacas en función de sus necesidades nutricionales puede ayudarnos a optimizar la eficiencia y la rentabilidad al permitir que las vacas en lactancia temprana tengan dietas que maximicen los ingresos por leche y las vacas al final de lactación tengan dietas que optimicen los ingresos por leche mientras minimizan la ganancia excesiva de condición corporal. La alimentación óptima de estos grupos requiere que las respuestas de las vacas hacia los cambios de dieta sean controladas y registradas cuidadosamente.

Conclusión.

Hemos hecho grandes avances en la eficiencia alimentaria en los últimos 50 años como consecuencia de seleccionar, alimentar y manejar a las vacas en vistas de una mayor productividad. Las mejoras en el manejo y la alimentación que aumentan el rendimiento lechero hasta ~15.000 kg/año probablemente seguirán mejorando la eficiencia. Una mayor eficiencia mejorará la rentabilidad y la sostenibilidad medioambiental, pero una atención continuada de la producción, la salud y la fertilidad seguirá siendo importante para la rentabilidad de la granja.

Referencias.

1. Capper, J.L., R.A. Cady, and D.E. Bauman. 2009. The environmental impact of dairy production: 1944 compared with 2007. J Animal Sci. 87:2160-2167.
2. Ipharraguerre, I. R., R. R. Ipharraguerre, and J. H. Clark. 2002. Performance of lactating dairy cows fed varying amounts of soyhulls as a replacement for corn grain. J. Dairy Sci. 85:2905–2912.
3. National Research Council. 2001 Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th revised edition. National Academy Press, Washington, D.C.
4. Oba, M., and M.S. Allen. 2000. Effects of brown midrib 3 mutation in corn silage on productivity of dairy cows fed two concentrations of dietary neutral detergent fiber: 1. feeding behavior and nutrient utilization. J. Dairy Sci. 83:1333-1341.
5. Oltjen, J. W., and J. L. Beckett. 1996. Role of ruminant livestock in sustainable agricultural systems. J. Anim. Sci. 74:1406–1409.
6. Ploetz, J.C., S. E. Burczynski, M. J. VandeHaar, M. S. Allen, and A. L. Lock. 2013. Milk production responses to a change in dietary starch concentration vary by production level in dairy cattle. J. Dairy Sci. 96(E-Suppl.):452. Abstr 471 at Fed Anim Sci Soc.
7. Rodriguez, L.A., G. Bethard, D. Tomlinson, and M. McGilliard. 2012. Impact of milk yield, herd size, and feed efficiency on economic change between and within California dairies from 2006 through 2010. Abstract. J. Animal Sci. 90(E-Suppl.1).
8. Thomassen, M.A., R. Dalgaard, R. Heijungs, and I. de Boer. 2008. Attributional and consequential LCA of milk production. Internatl. J. Life Cycle Assessment 13:339-349.
9. VandeHaar, M. J. 1998. Efficiency of nutrient use and relationship to profitability on dairy farms. J. Dairy Sci. 81: 272-282.
10. VandeHaar, M. J. and N. St-Pierre. 2006. Major advances in nutrition: relevance to the sustainability of the dairy industry. J Dairy Sci 89:1280-1291.

ENGLISH VERSION ▼

Dietary strategies to improve feed efficiency

Michael J. VandeHaar

Department of Animal Science, Michigan State University, East Lansing, MI, USA

Email: mikevh@msu.edu

Introduction

Feed efficiency, or the efficiency of converting feed to milk, matters on farms because it has a major influence on farm profitability and environmental stewardship in the dairy industry. The feed efficiency of dairy cattle in North America and Europe has doubled in the past 50 years, largely as a byproduct of selecting and managing cows for increased productivity. Increasing productivity results in a greater percentage of total feed intake being used for milk instead of cow maintenance. Elite dairy cattle in the US currently partition three times more feed energy toward milk than toward maintenance. We are not likely to continue to make major advances in feed efficiency simply by increasing milk per cow. Instead, we also must focus on how to get more milk from each unit of feed.

How should we define feed efficiency?

The simplest way to define feed efficiency is milk per unit feed, but this does not give adequate consideration to energy density of different feeds in a diet and the composition of milk, nor to gains or losses in body energy. Thus, I prefer to discuss the efficiency of converting feed energy to the energy of milk and body tissues.

Gross energy (**GE**) is the total chemical energy of a feed and is independent of how efficiently the cow uses it. Not all GE is useful because some of it is not digested but rather is lost as fecal energy. Some digested energy is lost as gaseous energy, primarily methane produced during fermentation, and as urinary energy, primarily urea produced to remove extra N from the body. Digested energy also is lost as heat associated with the metabolic work of fermenting, digesting, and processing nutrients. The remaining energy is known as net energy (**NE**). Some NE is used to support maintenance functions and is all lost as heat. Some NE is the chemical energy of secreted milk and accreted body tissue and conceptus. Energetic efficiency is the energy captured in products divided by the energy consumed by a cow in her lifetime.

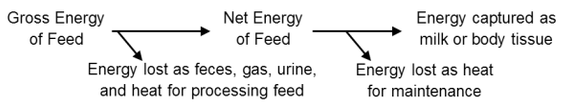


Figure 1. Energy flow in a cow.

At the farm level, efficiency also should account for feed wastage and the saleability of products, as well as the economic value of feed and milk components. To define efficiency on a global scale, we should consider inputs and outputs of fuels and greenhouse gasses, land use, effects on native ecosystems, and whether foods could be consumed directly by humans. For this paper, however, I will discuss mostly energetic efficiency.

Level of Production and Feed Efficiency

The major factors that affect feed efficiency on farms include a) milk energy yield relative to cow body weight (BW), b) the percentage of lifetime a cow spends in lactation, c) nutritional accuracy in feeding, and d) the efficiency of converting feed GE to NE.

A cow's maintenance requirement is considered to be constant and related to its BW. The typical Holstein cow has a maintenance requirement of ~10 Mcal of NE/day (equivalent to ~25 Mcal of GE and 14 kg of feed). If a cow eats at maintenance and produces no milk, her feed efficiency is 0%. Any extra feed can be converted to milk or body tissues. If the cow eats twice as much feed–20 Mcal NE or 2X maintenance, only half of her feed would be used for maintenance with the remaining half used for milk. As she eats more feed, the portion used for maintenance becomes a smaller fraction of total feed intake; this "***dilution of maintenance***" increases efficiency. However, as intake increases, the marginal increase in efficiency from diluting maintenance diminishes with each successive increase in feed intake. For example, the increase in efficiency is less going from 3X to 4X maintenance than from 2X to 3X (solid line, Figure 2). Furthermore, as cows eat more, the percentage of feed that is digested is depressed. At high intakes, the digestibility depression may even outweigh the dilution of maintenance and efficiency may decline with increased intake. In fact, according to the equations used in the NRC (2001), efficiency peaks at ~4X maintenance intake (dotted line, Figure 2), which is ~45 kg of milk at 3.5% fat per day for a 680-kg cow.

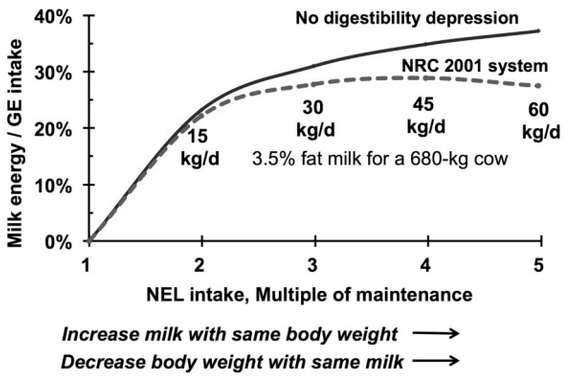


Figure 2. Efficiency (assuming no change in BW) in response to intake for a lactating cow with no change in digestibility (solid line) or with digestibility depressed as per the NRC 2001 system (dashed line). Productivity for each multiple of maintenance is approximately 33, 66, 99, and 130 lb of milk for 2X, 3X, 4X, and 5X, respectively.

The digestibility depression is not well quantified for cows consuming >4X maintenance (VandeHaar, 1998), and NRC 2001 likely depresses digestibility too much. Current data from our USDA feed efficiency project support the idea that the true change in efficiency is somewhere between the two lines of Figure 2. In any case, at about 4X intake, feed efficieny is close to maximum. Elite cows (>4X, or 13,000 kg/305-d lactation) are already near, at, or possibly above the optimal multiple of maintenance for maximal efficiency.

Feed efficiency at the herd level requires accounting for body tissue gain and the feed consumed by heifers and dry cows, which is 15-30% of the feed a cow eats during her lifetime. Thus, cows that average 4X intake during lactation are about 3X on a lifetime basis. The average Holstein in North America currently produces ~10,000 kg milk/year and captures ~21% of her lifetime GE intake as milk and body tissues. Many top US herds produce >30,000 lb/yr and therefore are getting close to maximum biological efficiency based on multiples of maintenance. Given that 2/3 of North American Holsteins are from AI sires, the limitation

to greater production and efficiency for most cows is probably feeding and management. Therefore, we are not likely to continue to make major advances in feed efficiency by simply breeding for increased milk yield relative to BW. We must do a better job of managing the cows we have to increase production and efficiency, and we must begin focusing more on efficiency in breeding.

Importantly, the impact of multiples of maintenance on efficiency is likely the same whether we achieve more milk at a specific BW, or the same milk with smaller BW. Breeding for smaller cows is probably not going to help much, which will be discussed later.

Level of production also alters profitability and the efficiency of using human-consumable foods, on land use, and on greenhouse gas emissions.

*Profitability***.** Because greater milk yield per cow increases feed efficiency, and because feed is a major farm expense, greater production per cow generally increases profit per cow. Data from commercial farms bears this out (Rodriguez et al., 2012). However, feed efficiency is only one factor that influences profitability. Greater production per cow decreases the proportion of total farm expenses that are fixed; thus, even if we reach the optimal production per cow to maximize biological efficiency, economics still favors higher production per cow to dilute out farm fixed costs. More importantly, the cost of feed does matter! Using expensive feeds to achieve high production or high feed efficiency will sometimes decrease profitability.

Use of human-consumable foods. Although the efficiency of total feed use in the US dairy industry is 20-25% for energy and 20-30% for protein, the returns on human-digestible inputs ranges from 60 to 130% for energy and 100 to 280% for protein (Oltjen and Beckett, 1996). This is because cows eat many feeds that humans do not consume; examples include cottonseeds, soyhulls, and distillers grains. However, these fibrous by-product feeds are generally less digestible than grains and may limit the ability of cows to produce the highest levels of milk. Thus, maximizing total feed efficiency will not be possible at the same time as maximizing efficiency of human-consumable foods. As competition for food grains increases in the future, the ability of cows to convert non-human-consumable foods into milk and meat for people will become more important, and the optimal level of production might be less in the future than it is today. At present, however, using byproduct feeds extensively for heifers, dry cows, and late lactation cows and thoughtfully for cows in early lactation should enhance efficiency of total feed and human-consumable foods.

Land use. Using land to produce grains and legume seeds for direct human consumption would be the most efficient way to feed people. Using land to grow feeds for dairy cattle producing 10,000 kg/yr results in only half as much food for people (VandeHaar and St-Pierre, 2006). However, milk output per acre increases with greater milk production per cow. More importantly, if byproduct feeds make up one-third of the feed used by a dairy herd producing 15,000 kg/yr, then using land for milk production yields 90% as much food for humans as do grains and legumes. In my opinion, an efficient dairy industry will be part of our food production system long into the future.

Environmental stewardship. To properly consider environmental impact, one must consider all inputs and outputs for the dairy industry, including even the fuel used to till the land to grow the crops. This is called a Life Cycle Analysis and, although it is fraught with potential inaccuracies, there is no other way to consider the big picture. Two recent studies highlight the value of increased productivity to enhance environmental stewardship. Thomassen et al (2008) compared conventional and organic Dutch dairy farms. Milk yield per cow was 8000 kg/yr for the conventional farms and 6100 kg/yr for the organic farms. When considering all inputs (which included feeds being shipped in from outside the country), conventional farms used 60% more energy and caused 50% more eutrophication per unit of milk produced, but the organic farms required 40% more land. Acidification and climate change were not different for the two systems. In my view, the decreased need for land gives the advantage to the conventional system as the unneeded land could be used to produce biofuels or put into native habitats. This is consistent with a study by Capper et al. (2009) showing that in the last 60 years, the US dairy industry has decreased greenhouse gas emissions by 60% per unit of milk produced, mostly because of the enhanced feed efficiency from higher productivity. Thus, increased productivity (up to 4X) increases efficiency, and increased efficiency generally is good for the environment–we can feed more people with less resources and less negative environmental impact. Improving efficiency of milk production by using new technologies seems the responsible thing to do for the environment, at least in the foreseeable future, until average milk production exceeds 15,000 kg/year.

Management To Improve Feed Efficiency

The average Holstein on North American farms currently produces ~10,000 kg milk/year and captures ~21% of her lifetime GE intake as milk and body tissues. Feed efficiency likely plateaus at ~15,000 kg milk for cows with mature BW of 700 kg, so increases in productivity will continue to improve efficiency for most North American dairy farms. Using a model described in VandeHaar (1998), the impacts of various management changes on efficiency were predicted. Increasing average daily milk production by 10% increases lifetime energetic efficiency 0.7%. Increasing cow longevity from 3 to 4 lactations, reducing the age at first calving from 26 to 22 months, or reducing calving interval from 14 to 12.5 months could achieve similar improvements in lifetime efficiency. Thus, how we feed and manage cows at each stage of life can increase milk yield per day of life, thereby diluting maintenance, and increasing efficiency. These management changes promote similar improvements in the efficiency of converting feed protein to milk or body protein. However, the single biggest impact farms could make on efficiency of protein use is to simply quit overfeeding protein, as is often done in late lactation. Feeding cows past 150 days postpartum a diet with 2 percent less protein (15 vs 17% CP) would increase efficiency of protein use by 1.3%.

One often-overlooked management aspect of feed efficiency is feed management. The amount of feed wasted on some farms is considerable. To minimize feed wastage requires an annual evaluation of procedures for harvesting, transporting, and storing feeds, mixing diets, and managing bunks. However, when managing bunks, it is important to remember that maximizing feed intake for lactating cows increases milk per cow and farm-wide efficiency. Maximum feed intake occurs when cows are comfortable and have plenty of water and fresh, well-balanced feed available most of the day. This topic has been discussed considerably in the past 20 years, with general agreement and no need for continued discussion here. Even if some extra feed must be discarded, strategies to improve intake per cow overall will yield improved efficiency, profitability, and stewardship.

Feeding Cows for Greater Feed Efficiency.

Nutrient requirements vary as lactation progresses, and the optimal diet for maximum efficiency and profitability changes as well. Most farms feed totally mixed rations (**TMR**) instead of feeding grain to each cow separately and individually. Use of TMR feeding improves productivity and efficiency because cows theoretically eat the same thing in every bite and rumen pH is more consistent.

However, with TMR feeding, cows are less likely to receive a diet that matches their individual requirements; this is especially true if all lactating cows (other than perhaps the fresh cows) are fed the same TMR. Feeding a single TMR across lactation can never maximize production and efficiency. A single TMR is usually formulated for the higher producing cows and is more nutrient-dense than optimal for cows in later lactation, resulting in inefficient use of most nutrients (for example, protein). In addition, although a single TMR is formulated for the high producers, it likely will not maximize milk for the herd. Diets low in fiber and high in digestible starch optimize production and reproduction in peak lactation, but this type of diet would have inadequate fiber for fresh cows and would promote over-fattening in late lactation cows. If late lactation cows continue to be fed the diet designed for optimal milk production in early lactation, many cows will enter the dry period with excessive body condition. Fat cows are more susceptible to health problems at next calving, resulting in less saleable milk and followed by increased body fat mobilization, impaired fertility, and extended lactation interval. Consequently, cows culled in single TMR situations may be those that cannot adapt to suboptimal management, rather than those that are least efficient, productive, and profitable. Moreover, single TMR systems do not allow maximum returns from expensive feeds that may profitably increase production in fresh or high producing cows but have negative return in lower producers. This is relatively obvious for supplements designed to improve fresh cow health or for protein supplements high in rumen-undegraded protein that benefit early lactation but not late lactation. This is less obvious but equally important in selection of carbohydrate feeds. Not all lactating cows benefit equally from fermentable starch and from highly digestible fiber; a single TMR prevents optimal allocation of forages, grains, and byproduct feeds. Cheap byproduct feeds are especially useful in late lactation to improve profitability and overall efficiency of the dairy industry. One argument used by farms against multiple ration groups is that milk production decreases when cows are switched to a different group with a different ration. However, many factors affect milk production during a grouping change (examples include days in milk, stocking density, and cow social interactions), and we are quick to notice temporary drops in production.

Late lactation diets can be formulated to minimize drops in milk production while also minimizing excess body gain. Several studies have shown that feeding less starch, especially starch that is fermented rapidly, and more fiber, especially highly digestible fiber, actually results in partition of feed energy to milk instead of body gain. A good example of this is a study by Oba and Allen (1998), in which mid-lactation cows were fed diets high in starch (29% NDF) or low in starch (38% NDF) and with corn silage of high or low fiber digestibility. Feeding high starch enabled maximal milk production, regardless of forage quality, but high starch also promoted BW gains of almost 1 kg/d. However, if the starch was replaced by a digestible fiber source, the cows produced maximal milk and had no BW gain. Ipharraguerre et al. (2002) showed similarly that substituting corn grain with up to 30% soyhulls resulted in no drop in milk energy output, but decreased BW gain from 1.0 kg/d to no gain. Subsequent work showed that the highest producing cows (with the greatest metabolic demand for nutrients) are the ones that respond most favorably to high starch; when they are fed less starch, milk production usually drops. In contrast, the cows with lower milk yields (less nutrient demands) typically maintain milk production when fed diets with less starch and more digestible fiber (compared to high starch diets) and, just as importantly, they consistently gain less body weight and condition. This has been demonstrated consistently at MSU (most recently by Ploetz et al., 2013), with the optimal starch being ~15% for late lactation cows, depending on the quality of the forage in the diet and the types of feeds used to replace the starch. Thus, once cows in mid to late lactation achieve a body condition score of 3.0, we recommend that they be fed a diet with less starch and more digestible fiber, so that they are in optimal body condition at the start of the next lactation.

The number of rations on any farm depends on many factors, but I recommend at least three based on feeding goals (Figure 3). Fresh cows should be fed for optimal health and expensive supplements are warranted. Cows in peak lactation should be fed for maximum milk; because their intake is limited by rumen fill, they should be fed minimum fiber diets with plenty of digestible starch to maximize energy intake. Cows in later lactation should be fed to optimize milk and body condition; they should be fed less fermentable starch and more fermentable fiber to promote partitioning of nutrients toward milk instead of body tissues and thus minimize fattening. The decision on when to switch cows from the early to late lactation diet should be based on body conditin, parity, milk yield, and reproductive status. Of these, perhaps the most important criteria for swiching to the lower starch ration is whether a cow has achieved a body condition score of 3. In addition, late lactation cows should be fed lower protein diets to maximize efficiency of protein use. Expensive supplements are most useful in early lactation. Cheap feeds are best used in late lactation.

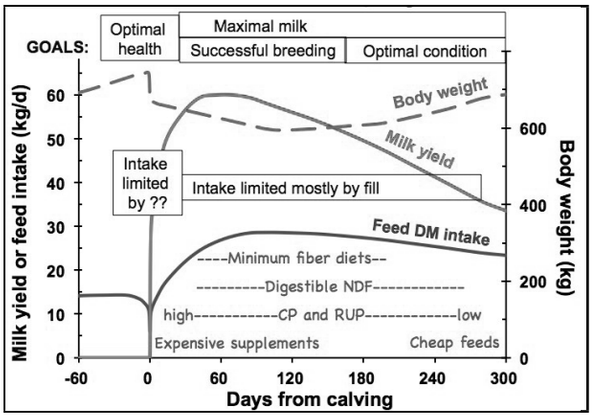


Figure 3. Considerations in nutritional grouping.

Nutritional grouping and multiple TMR undoubtedly do increase capital, management, and labor costs; however, the economic returns can be significant in both the short and long term. Moreover, feeding cows according to requirements enables feed allocation to maximize production and profitability, improves efficiency of protein use, decreases N and P excretion, and improves sustainability of the industry. For farms that currently feed a single TMR, I encourage serious consideration on how to make multiple TMR work. Even small farms can devise creative ways to feed cows according to requirements. One approach might be to feed cows supplements individually using a computerized feeding system that recognizes cows and dispenses specific mixes at timed intervals throughout the day.

Although poor feed efficiency usually decreases profitability, maximizing efficiency will not necessarily maximize profitability–feed costs do matter! Expensive energy sources like fats usually improve feed efficiency but sometimes decrease profitability. Cheap bulky feeds may decrease efficiency but improve profitability (especially in late lactation). Feeding extra protein usually decreases efficiency of protein use but sometimes, even if the protein is expensive, it might improve profitability if it enhances

production. Some nutrition programs attempt to formulate diets using a mathematical model for profit maximization. However, in real life, it is virtually impossible to accurately predict how a diet will affect appetite, nutrient partitioning, and milk yield and components. Thus, monitoring the actual response is essential for optimal farm management. High production is almost always more important for high profitability than is low feed cost, but managing feed costs is still prudent.

Summary.

We can improve feed efficiency by improving how we feed and manage cows. Improved feed efficiency occurs because as cows produce more milk relative to their body weight, the percentage of feed used for maintenance decreases. This "dilution of maintenance" effect is especially important for cows that produce at less than 3 times their maintenance requirement on a lifetime basis. Feed efficiency is only one contributor to farm profitability; high productivity is and will remain a major factor. Likewise, when we feed and manage cows, high production is key to improving profits. Focusing too much on milk/feed will be a mistake. Instead we should focus on maximizing milk income after subtracting the cost of feed. Grouping cows according to their nutritional needs can help us optimize efficiency and profitability by enabling cows in early lactation to be fed diets that maximize milk income and cows in later lactation to be fed diets that optimize milk income while minimizing excess body condition gain. Feeding these groups of cows optimally requires that cow responses to diet changes be carefully monitored and recorded.

Conclusion.

We have made major gains in feed efficiency in the past 50 years as a byproduct of selecting, feeding, and managing cows for increased productivity. Improvements in management and feeding that increase milk yield to ~15,000 kg/yr will likely continue to improve efficiency. Greater efficiency will improve profitability and environmental sustainability, but continued focus on production, health, and fertility will still be important for farm profitability.

References.

1. Capper, J.L., R.A. Cady, and D.E. Bauman. 2009. The environmental impact of dairy production: 1944 compared with 2007. J Animal Sci. 87:2160-2167.
2. Ipharraguerre, I. R., R. R. Ipharraguerre, and J. H. Clark. 2002. Performance of lactating dairy cows fed varying amounts of soyhulls as a replacement for corn grain. J. Dairy Sci. 85:2905–2912.
3. National Research Council. 2001 Nutrient Requirements of Dairy Cattle. 7th revised edition. National Academy Press, Washington, D.C.
4. Oba, M., and M.S. Allen. 2000. Effects of brown midrib 3 mutation in corn silage on productivity of dairy cows fed two concentrations of dietary neutral detergent fiber: 1. feeding behavior and nutrient utilization. J. Dairy Sci. 83:1333-1341.
5. Oltjen, J. W., and J. L. Beckett. 1996. Role of ruminant livestock in sustainable agricultural systems. J. Anim. Sci. 74:1406–1409.
6. Ploetz, J.C., S. E. Burczynski, M. J. VandeHaar, M. S. Allen, and A. L. Lock. 2013. Milk production responses to a change in dietary starch concentration vary by production level in dairy cattle. J. Dairy Sci. 96(E-Suppl.):452. Abstr 471 at Fed Anim Sci Soc.
7. Rodriguez, L.A., G. Bethard, D. Tomlinson, and M. McGilliard. 2012. Impact of milk yield, herd size, and feed efficiency on economic change between and within California dairies from 2006 through 2010. Abstract. J. Animal Sci. 90(E-Suppl.1).
8. Thomassen, M.A., R. Dalgaard, R. Heijungs, and I. de Boer. 2008. Attributional and consequential LCA of milk production. Internatl. J. Life Cycle Assessment 13:339-349.
9. VandeHaar, M. J. 1998. Efficiency of nutrient use and relationship to profitability on dairy farms. J. Dairy Sci. 81: 272-282.
10. VandeHaar, M. J. and N. St-Pierre. 2006. Major advances in nutrition: relevance to the sustainability of the dairy industry. J Dairy Sci 89:1280-1291.

OPORTUNIDADES PARA CREAR UNA VACA MÁS EFICIENTE A TRAVÉS DE LA SELECCIÓN GENÉTICA

Michael J. VandeHaar
Department of Animal Science, Michigan State University, East Lansing, MI, USA
Email: mikevh@msu.edu

Introducción

La eficiencia alimentaria, o la eficiencia en la conversión del alimento en leche, es importante para las granjas porque tiene una gran influencia en la rentabilidad de la explotación y la gestión medioambiental en la industria lechera. La eficiencia alimentaria del ganado lechero en Norte América y Europa se ha duplicado en los últimos 50 años, principalmente como consecuencia de la selección y el manejo de las vacas para aumentar la productividad. El aumento de la productividad se da porque se utiliza un mayor porcentaje de la ingesta total para la producción de leche en vez de para el mantenimiento de la vaca. El ganado lechero de élite en los EEUU utiliza, actualmente, tres veces más energía de la alimentación hacia la producción lechera que hacia el mantenimiento de la vaca. No es probable que sigamos haciendo grandes avances en la eficiencia alimentaria simplemente aumentando la cantidad de leche por vaca. En lugar de ello, también tendremos que centrarnos en cómo conseguir más leche de cada unidad de alimento.

Este trabajo sigue al anterior en esta conferencia, titulado "Estrategias de nutrición para mejorar la eficiencia alimentaria"; gran parte de la introducción a mis puntos de vista sobre la eficiencia se da en ese trabajo, y por lo tanto debe verse como una introducción al tema. Como hemos ido seleccionando las vacas para conseguir una mayor productividad en los últimos 50 años, hemos aumentado la eficiencia para capturar la Energía Neta (EN) del alimento en leche porque las vacas que producen más requieren una menor fracción de su ingesta de EN para su mantenimiento (Figura 1). Por lo que, emplean una mayor proporción de su ingesta de EN hacia la leche que hacia el mantenimiento. Sin embargo, la selección para más leche probablemente no haya tenido, ni se habría esperado que tuviera, ningún efecto sobre la eficiencia de convertir la Energía Bruta del alimento en EN.

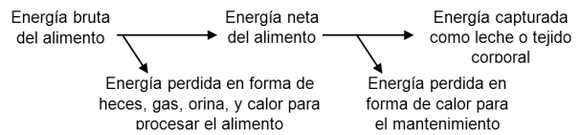


Figura 1. Flujo de energía en una vaca.

Selección de las Vacas para una Mayor Eficiencia Alimentaria

En el pasado, la selección genética para los rasgos de la producción lechera se ha basado en gran medida en la cuantificación del fenotipo de las hijas de sementales jóvenes; los sementales con hijas sobresalientes se consideran genéticamente superiores. Aunque los índices de la producción lechera se miden rutinariamente en muchas granjas comerciales, las ingestas individuales de alimento de las vacas no se conocen. Por lo tanto, no hemos sido capaces de seleccionar directamente a las vacas por su eficiencia alimentaria. La genómica puede permitir la selección para la eficiencia alimentaria en el futuro.

La selección genética ya ha sido adoptada por la industria lechera como un medio para encontrar de forma precisa a los toros superiores a edades más tempranas. La idea principal de la selección genética para la eficiencia alimentaria es que hay algo inherente al ADN de la vaca que la hace más o menos eficiente a la hora de convertir el alimento en leche. Un polimorfismo de un solo nucleótido (SNP, por sus siglas en inglés) es una sola base que varía con frecuencia en la población y cada SNP representa un segmento completo de ADN. SNPs específicos pueden estar asociados con la eficiencia mejorada y por tanto pueden servir como marcadores para la eficiencia. Cada SNP por su cuenta puede no tener una fuerte relación con la eficiencia alimentaria, pero la combinación de la información de miles de SNPs de todo el genoma puede ser útil, como ya se ha demostrado para otros rasgos en el ganado.

A través de una subvención del Instituto Nacional de Alimentación y Agricultura del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés), estamos determinando actualmente si los genotipos SNP se pueden utilizar para mejorar la eficiencia alimentaria. Estamos midiendo las ingestas individuales de alimento, el peso corporal (PC) y los datos de producción en 8000 vacas en rebaños lecheros de investigación de varios países. Nuestro objetivo es caracterizar la relación entre el genotipo SNP y la eficiencia alimentaria en nuestra población de referencia de 8000 vacas y después utilizar genotipos SNP para identificar los sementales potenciales que deberían conferir una alta eficiencia alimentaria a su descendencia. Se puede encontrar algo de información sobre nuestro proyecto en www.dairy-efficiency.org/, o se puede buscar en la página web del USDA.

Lo ideal sería medir la eficiencia alimentaria de miles (>20.000) de animales a lo largo de sus vidas, empleando métodos para medir todas las pérdidas de energía química en forma de heces, emisiones de gas y orina, así como toda la pérdida de calor, en combinación con los datos metabólicos y diversas dietas y entornos, para entender por qué unas vacas son más eficientes que otras y cómo interactúa la genética con la dieta y otros factores ambientales; sin embargo, esto tiene un coste prohibitivo y no es práctico. En lugar de ello, estamos evaluando la eficiencia alimentaria en vacas durante >30 días (normalmente 56 días) entre los 50 y los 200 días después del parto, siendo algunas vacas observadas durante más de una lactación y en múltiples dietas. Como se ha mencionado anteriormente, ya sabemos que un mayor rendimiento lechero por día diluye el mantenimiento y mejora la eficiencia hasta la ingesta x4. Nuestro objetivo en este proyecto es encontrar vacas con una mayor capacidad de digerir alimento o de convertir el alimento digerido en energía neta o con unas necesidades de mantenimiento inferiores a las esperadas. Para evaluar la eficiencia alimentaria independientemente del nivel de producción, utilizaremos el **consumo de alimento residual** (**CAR**), que es una medida de la ingesta real frente a la esperada de un individuo (Figura 4). La ingesta esperada se de-

termina estadísticamente como la desviación de la ingesta media de otras vacas que se alimentan y se manejan de la misma forma en base al peso corporal, la producción lechera y los cambios en el PC de una vaca.

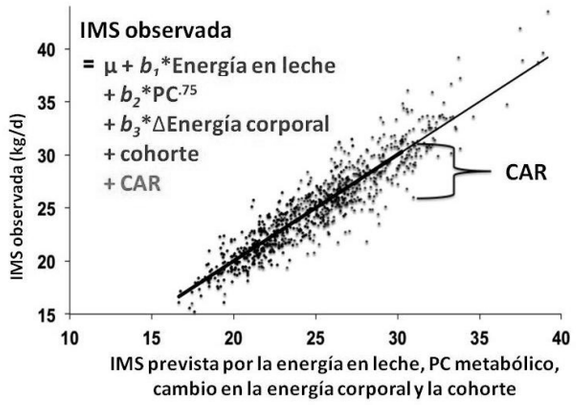


Figura 2. Consumo de alimento residual como medida de la eficiencia alimentaria.

Nuestros análisis iniciales sobre la eficiencia alimentaria lechera se basan en 4300 vacas Holstein de EEUU, Escocia y los Países Bajos. La ingesta de materia seca (IMS) semanal se ajustaba como una función de la producción de energía en leche, el peso corporal elevado a 0,75, la puntuación de condición corporal, los cambios en el peso corporal, la paridad, y la interacción entre la paridad y los días en leche. Los resultados de estos análisis nos proporcionan una medida de CAR para cada vaca con el término CAR representando el error de medición, la variación asociada a la genética del pedigrí, y otras variaciones. En función de estos datos, la heredabilidad del CAP en las vacas en lactación es ~0,16 (Tempelman et al., 2013). Estudios anteriores, utilizando un menor número de vacas, reportaron valores de 0,01 a 0,40 para la heredabilidad del CAP en las vacas en lactación (Berry y Crowley, 2013; Connor et al., 2013).

Si se va a realizar una selección para la eficiencia, es importante que el CAP sea un rasgo repetible. Nuestro proyecto examinará este aspecto por completo, pero los resultados preliminares de nuestro laboratorio y otros son prometedores. Hemos alimentado a 109 vacas con dietas con ~14 o 30% de almidón en un diseño cruzado y hemos encontrado que la correlación entre el CAP de una vaca alimentada con una dieta rica en almidón y el CAP con una dieta pobre en almidón es 0,7. Basándonos en nuestros datos preliminares y otros, parece que el CAP también se repite a lo largo de las lactancias, las etapas de las lactaciones y las etapas de la vida (Burczynski et al., 2013; Connor et al., 2013; MacDonald et al., 2013).

La selección genética para la eficiencia probablemente sea posible en 2 o 3 años. La prueba de que el concepto puede funcionar se demostró recientemente en Davis et al. (2014), donde las predicciones genéticas para el CAP basadas en estudios de novillas en crecimiento fueron capaces de discriminar diferencias en el CAP de un grupo independiente de vacas en lactación. No se ha decidido todavía qué medida de eficiencia se utilizará para representar la cantidad de alimento consumido en un índice de cría, pero es importante señalar que el CAP es solo una parte de la eficiencia alimentaria. La selección para conseguir unos niveles óptimos de producción de leche en relación con el peso corporal de manera que el porcentaje de alimento utilizado para el mantenimiento disminuya es también clave en la eficiencia general de la granja. Además, las mejoras en la eficiencia alimentaria no deben darse a expensas de la salud y la fertilidad de las vacas lecheras. Por tanto, vamos a considerar con cuidado las relaciones entre las medidas de eficiencia alimentaria, balance energético, producción, e índices de salud; y a desarrollar unos objetivos de selección que incluyan todos los rasgos importantes.

Hasta que la selección directa para la eficiencia sea posible, algunos han sugerido que criemos vacas más pequeñas para minimizar el mantenimiento. Seleccionar para conseguir más leche y menor tamaño corporal debería aumentar el rendimiento vital de leche por unidad de alimento y, por tanto, reducir el porcentaje de alimento utilizado para el mantenimiento. Un problema de este enfoque es que, una vez que la vaca supera la ingesta de mantenimiento x4, no podemos predecir cómo cambia la eficiencia según disminuye el tamaño de la vaca (ver Figura 2). Sin embargo, y más importante, criar para conseguir menores tamaños disminuye nuestra capacidad de seleccionar rasgos que sabemos que son rentables, como la producción de leche, la salud y la fertilidad. En la Tabla 1 se muestra un ejemplo de los posibles resultados de criar para lograr un menor tamaño o más leche en un rebaño que actualmente tiene vacas grandes (800 kg de PC maduro) y una producción lechera de 13.070 kg/año en la madurez. La magnitud del cambio para cada escenario de cría se ha elegido para dar el mismo efecto en la eficiencia que los múltiplos del mantenimiento de por vida. Hay que tener en cuenta que, en este ejemplo, conseguir un 15% menos de PC aumenta los ingresos sobre el coste del alimento de toda la vida en 310 USD cada año, debido a las menores necesidades de mantenimiento; pero conseguir aumentar el rendimiento lechero en un 11% incrementa los ingresos sobre el coste del alimento de toda la vida en 1230 USD, debido a los mayores ingresos por la leche. Por lo tanto, en cualquier caso, aumentar la producción de leche en relación con el PC da lugar a una mayor eficiencia y rentabilidad. No obstante, mientras que la mejora en la eficiencia fue la misma (~10%), la mejora en los ingresos sobre el coste del alimento de toda la vida por vaca fue 4 veces mayor si el aumento de la eficiencia se conseguía a través de un incremento de leche en vez de una disminución del PC (15% frente a 4% de aumento de los ingresos tras restar los costes de alimentación). Si la granja está limitada por la cantidad de recursos alimentarios o la producción de estiércol, entonces la diferencia entre las dos no será tan importante.

Tabla 1. Posibles resultados de criar por tamaño en vez de por leche.

	PC en la madurez kg	Múltiplo de mantenimiento de por vida	Rendimiento lechero en la madurez kg/año	Ingreso sobre el coste del alimento de por vida USD
Vacas actuales	800	2,8	13.070	$8460
Seleccionadas por tamaño	680	3,0	13.070	$8770
Seleccionadas por leche	800	3,0	14.530	$9690

[1] Se supone que la leche tiene un 3,5% de grasa.

[2] Se supone que la leche está a 0,40$/kg, las vacas de descarte a 1,80$/kg, y el alimento a 15¢/Mcal EN (~25¢/kg) para las vacas en lactación y a 12¢/Mcal EN para las novillas y las vacas secas.

En nuestros datos de 4500 vacas en lactación comiendo de me-

dia 4 veces la ración de mantenimiento, encontramos muy poca relación fenotípica o genética entre el peso corporal y la eficiencia alimentaria bruta. Sobre la base de las correlaciones genéticas, las vacas más grandes comen más (r=0,40), producen un poco más de leche (r=0,07), y como consecuencia tienen una ligeramente menor eficiencia alimentaria bruta (r=-0,14). No obstante, una mayor cantidad de leche estaba fuertemente correlacionada con una mayor eficiencia alimentaria (r=0,61). Por tanto, criar para conseguir más leche parece más importante para lograr una mayor eficiencia alimentaria que la cría para obtener menores PC. Además, más leche significa un mayor ingreso por leche, que es más importante que un menor coste de alimentación. Las vacas más grandes que produjeran más leche serían las más rentables, a no ser que tuvieran una salud o fertilidad más pobres o ¡no cupieran en los establos! En mi opinión, deberíamos dejar de utilizar el tamaño (grande o pequeño) como un criterio en la selección de los sementales, a no ser que el objetivo sea tener vacas de un tamaño uniforme para encajar en los establos; y en su lugar, elegir los sementales para producir vacas sanas y fértiles ¡que dan más ingresos por leche!

Resumen.

Podemos mejorar la eficiencia alimentaria mejorando la manera en que se alimenta, se cría y se maneja a las vacas. La mejora en la eficiencia alimentaria se da porque, cuando las vacas producen más leche en relación a su peso corporal, el porcentaje de alimento utilizado para el mantenimiento disminuye. Este efecto de "dilución del mantenimiento" es especialmente importante para las vacas que producen por debajo de 3 veces sus necesidades de mantenimiento a lo largo de toda su vida. En las vacas de alta producción, el mantenimiento ya está prácticamente diluido y deberíamos considerar el centrarnos más directamente en la eficiencia alimentaria en la selección de los animales; la genética probablemente nos ayudará a llevar esto a cabo. Una medida de eficiencia alimentaria que se podría utilizar para la selección de animales es el CAP, pero el CAP solo es una parte de la eficiencia alimentaria. También queremos animales que operen en múltiplos altos de la ración de mantenimiento, para producir mucha leche en relación a su peso corporal. Además, la eficiencia alimentaria solo es un factor de la rentabilidad de la granja; la alta producción es y seguirá siendo un factor importante.

Conclusión.

Hemos hecho grandes avances en la eficiencia alimentaria en los últimos 50 años como consecuencia de seleccionar, alimentar y manejar a las vacas en vistas de una mayor productividad. Las mejoras en el manejo y la alimentación que aumentan el rendimiento lechero hasta ~15.000 kg/año probablemente seguirán mejorando la eficiencia. No obstante, la mayoría de las vacas ya tienen la genética para una alta producción; las herramientas genéticas deberían permitirnos seleccionar directamente para la eficiencia alimentaria en el futuro. Una mayor eficiencia mejorará la rentabilidad y la sostenibilidad medioambiental, pero prestar una atención continuada a la producción, la salud y la fertilidad seguirá siendo importante para la rentabilidad de la granja.

Referencias.

1. Berry, D.P., and J.J. Crowley. 2013. Genetics of feed efficiency in dairy and beef cattle. J. Animal Sci. 91:1594-1613.
2. Burczynski, S.E., J.S. Liesman, R.J. Tempelman, J.C. Ploetz, M.S. Allen, A.L. Lock, and M.J. VandeHaar. 2013. Residual feed intake is repeatable when high and low starch diets are fed to lactating Holstein dairy cows. J. Dairy Sci. 96(E-Suppl.):397.
3. Connor, E.E., J.L. Hutchison, H.D. Norman, K.M. Olson, C.P. Van Tassell, J.M. Leith, and R.L. Baldwin VI. 2013. Using residual feed intake in Holsteins during early lactation shows potential to improve feed efficiency through genetic selection. J. Animal Sci. 90:1687-1694.
4. Davis, S. R., K. A. Macdonald, G. C. Waghorn, and R. J. Spelman. 2014. Residual feed intake of lactating Holstein-Friesian cows predicted from high-density genotypes and phenotyping of growing heifers. J. Dairy Sci. 97:1436–1445.
5. MacDonald, K.A., J.E. Pryce, R.J. Spelman, S.R. Davis, W.J. Wales, G.C. Waghorn, Y.J. Williams, L.C. Marett, and B.J. Hayes. 2014. Holstein-Friesian calves selected for divergence in residual feed intake during growth exhibited significant but reduced residual feed intake divergence in their first lactation. J. Dairy Sci. 97:1427-1435.
6. Tempelman, R., R. Veerkamp, M. Coffey, D. Spurlock, L.. Armentano, K. Weigel, Y. de Haas, C. Staples, M. Hanigan, and M. VandeHaar. 2013. Heterogeneity across research stations in genetic variation and energy sink relationships for feed efficiency in lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 96(E-Suppl.):389.

ENGLISH VERSION ▼

Opportunities to create a more efficient cow through genomic selection

Michael J. VandeHaar

Department of Animal Science, Michigan State University, East Lansing, MI, USA

Email: mikevh@msu.edu

Introduction

Feed efficiency, or the efficiency of converting feed to milk, matters on farms because it has a major influence on farm profitability and environmental stewardship in the dairy industry. The feed efficiency of dairy cattle in North America and Europe has doubled in the past 50 years, largely as a byproduct of selecting and managing cows for increased productivity. Increasing productivity results in a greater percentage of total feed intake being used for milk instead of cow maintenance. Elite dairy cattle in the US currently partition three times more feed energy toward milk than toward maintenance. We are not likely to continue to make major advances in feed efficiency simply by increasing milk per cow. Instead, we also must focus on how to get more milk from each unit of feed.

This paper follows the previous one in this conference entitled, "Dietary strategies to improve feed efficiency"; much of the introduction to my views on feed efficiency are given in that paper, and thus it should be viewed as an introduction to the topic. As we have selected cows for greater productivity in the past 50 years, we have increased the efficiency of capturing the Net Energy (NE) of feed in milk because cows that produce more require a smaller fraction of their NE intake for maintenance (Figure 1). Thus, they partition a greater share of their NE intake toward milk instead of toward maintenance. However, selection for more milk likely has had, nor would it be expected to have, any effect on the efficiency of converting the Gross Energy of feed to NE.

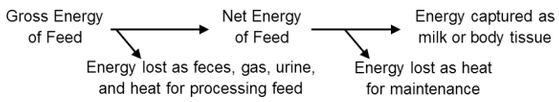


Figure 1. Energy flow in a cow.

Selecting Cows For Greater Feed Efficiency.

In the past, genetic selection for milk production traits has relied heavily on quantification of the phenotype in daughters of young sires; sires with outstanding daughters are deemed genetically superior. Although milk production traits are routinely measured on many commercial farms, feed intakes of individual cows are not known. Thus, we have not been able to directly select cows for feed efficiency. Genomics may enable selection for feed efficiency in the future.

Genomic selection has already been embraced by the dairy industry as a means to more accurately find superior bulls at an earlier age. The basic idea of genomic selection for feed efficiency is that there is something inherent in a cow's DNA that makes her more or less efficient at converting feed to milk. A single nucleotide polymorphism (SNP) is a single base that varies frequently in the population and each SNP represents a whole segment of DNA. Specific SNPs might be associated with improved efficiency and thus serve as markers for efficiency. Each SNP by itself may not have a strong relationship to feed efficiency, but combining information from thousands of SNPs across the genome might be useful, as has already been proven for other traits in cattle.

Through a grant from the National Institute of Food and Agriculture of USDA, we currently are determining if SNP genotypes can be used to improve feed efficiency. We are measuring individual feed intakes, BW, and production data on 8000 cows in research dairy herds from several countries. Our goal is to characterize the relationship of SNP genotype to feed efficiency in our reference population of 8000 cows and then to use SNP genotyping to identify potential sires that should confer higher feed efficiency to their offspring. Some information on our project can be found at www.dairy-efficiency.org/ or you can search the USDA web site.

Ideally, we would measure feed efficiency on thousands (>20,000) of animals over their lifetimes, and we would employ methods to measure all losses of chemical energy in feces, gas emissions, and urine as well as all heat lost, combined with metabolic data, and diverse diets and environments, to understand why some cows are more efficient than others and how genetics interacts with diet and other environmental factors; however, that is cost-prohibitive and impractical. Instead, we are assessing feed efficiency in cows for >30 days (usually 56 days) between 50 and 200 days postpartum, with some cows observed for more than one lactation and on multiple diets. As mentioned earlier, we already know that higher milk yield per day dilutes maintenance and improves efficiency up to 4X intake. Our goal in this project is to find cows with a better ability to digest feed or convert digested feed to net energy or with a lower than expected maintenance requirement. To assess feed efficiency independent of production level, we will use **residual feed intake** (**RFI),** which is a measure of actual versus predicted intake for an individual (Figure 4). Predicted intake is determined statistically as the deviation from the average intake of other cows that are fed and managed the same based on a cow's body weight, milk production, and BW change.

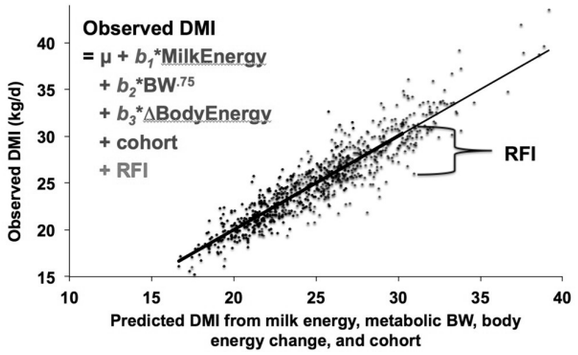


Figure 1. Residual feed intake as a measure of feed efficiency.

Our initial analyses for dairy feed efficiency are based on 4300 Holstein cows in the US, Scotland, and the Netherlands. Weekly DMI was fitted as a function of milk energy output, body weight to the 0.75 power, body condition score, change in body weight, parity, and the interaction of parity with days in milk. The residuals from this analysis provide us with a measure of RFI for each cow with the RFI term representing measurement error, variation associated with pedigree-based genetics, and other variation. Based on this data, the heritability of RFI in lactating cows is ~0.16 (Tempelman et al., 2013). Previous studies, using small numbers of cows, reported values of 0.01 to 0.40 for the heritability of RFI in lactating cows (Berry and Crowley, 2013; Connor et al., 2013).

If selection for efficiency is to be realized, it is important that RFI is a repeatable trait. Our project will examine this more fully, but preliminary results from our lab and others are promising. We fed 109 cows diets with ~14 or 30% starch in a cross-over design and found the correlation for RFI of a cow when fed a high starch diet with RFI when fed a low starch diet to be 0.7. Based on our preliminary data and others, RFI also seems to be repeatable across lactations, stages within a lactation, and stages of life (Burczynski et al., 2013; Connor et al., 2013; MacDonald et al., 2013).

Genomic selection for efficiency likely will be possible within 2 to 3 years. Proof that the concept can work was recently demonstrated in Davis et al. (2014), where genomic predictions for RFI based on studies of growing heifers were able to discriminate for differences in RFI of an independent group of lactating cows. What measure of efficiency will be used to represent the amount of feed consumed in a breeding index is not yet decided, but it is important to note that RFI is only part of feed efficiency. Selection for optimal levels of milk production relative to body weight so that the percent of feed used for maintenance is also a key to overall farm efficiency. Moreover, improvements in feed efficiency must not occur at the expense of health and fertility of dairy cows. Thus, we will carefully consider relationships among measures of feed efficiency, energy balance, production, and fitness traits, and develop selection goals that include all important traits.

Until direct selection for efficiency is possible, some have suggested we breed for smaller cows to minimize maintenance. Selecting for both high milk and small body size should enhance lifetime milk per unit feed and therefore decrease the percentage of feed used for maintenance. One problem with this approach is that once a cow is above 4X maintenance intake, we cannot predict how efficiency changes as cow size decreases (see Figure 2). More importantly, however, breeding for smaller size lessens our ability to select for traits we know to be profitable, such as milk income, health, and fertility. Table 1 shows an example of possible results of breeding for smaller size or for more milk in a herd that currently has large cows (800 kg mature BW) and milk production at 13,070 kg/yr at maturity. The magnitude of change for each breeding scenario was chosen to give the same effect

on efficiency as lifetime multiple of maintenance. Note that, in this example, achieving a 15% smaller BW increases lifetime income over feed cost by USD310 per year, because of lower maintenance requirements, but achieving 11% greater milk yield increases lifetime income over feed cost by USD1230, because of greater milk income. Thus, either way, increasing milk output relative to BW resulted in greater efficiency and profitability. However, whereas the improvement in efficiency was equal (~10%), the improvement in income over feed costs on a lifetime basis per cow was 4 times greater if the enhanced efficiency was achieved by increased milk instead of by decreased BW (15% compared to 4% increase in income after subtracting feed costs). If the farm is limited by amount of feed resources or manure output, then the difference between the two will not matter as much.

Table 1. Possible results from breeding for size instead of milk.

	BW at maturity kg	Lifetime multiple of maintenance	Milk yield at maturity kg/ year	Lifetime income over feed cost USD
Current cows	800	2.8	13,070	$8460
Select for size	680	3.0	13,070	$8770
Select for milk	800	3.0	14,530	$9690

[1] Assumes milk is 3.5% fat.

[2] Assumes milk at $0.40/kg, cull cows at $1.80/kg, and feed at 15¢/Mcal NE (~25¢/kg) for lactating cows and 12¢/Mcal NE for heifers and dry cows.

In our data of 4500 lactating cows eating on average at almost 4X maintenance, we find very little phenotypic or genetic relationship between body weight and gross feed efficiency. Based on genetic correlations, bigger cows eat more (r=0.40), produce slightly more milk (r=0.07), and consequently have a slightly lower gross feed efficiency (r=-0.14). However, more milk was strongly correlated with greater feed efficiency (r=0.61). Thus, breeding for more milk seems more important for greater feed efficiency than does breeding for smaller BW. Moreover, more milk means greater milk income, which is more important than lower feed costs. The bigger cows producing more milk would be more profitable, unless they had poorer health or fertility or did not fit in the stalls! In my opinion, we should stop using size (big or small) as a criterion in sire selection, unless the goal is to have cows of a uniform size to fit stalls; instead, choose sires to produce healthy, fertile cows that give more milk income!

Summary.

We can improve feed efficiency by improving how we feed, breed, and manage cows. Improved feed efficiency occurs because as cows produce more milk relative to their body weight, the percentage of feed used for maintenance decreases. This "dilution of maintenance" effect is especially important for cows that produce at less than 3 times their maintenance requirement on a lifetime basis. For higher producing cows, maintenance is already mostly diluted out and we should consider focusing more directly on feed efficiency in animal selection; genomics will likely help do this. A measure of feed efficiency that might be used for animal selection is RFI, but RFI is only part of feed efficiency. We also want animals that operate at a high multiple of maintenance, so produce lots of milk relative to their body weight. Moreover, feed efficiency is only one contributor to farm profitability; high productivity is and will remain a major factor.

Conclusion.

We have made major gains in feed efficiency in the past 50 years as a byproduct of selecting, feeding, and managing cows for increased productivity. Improvements in management and feeding that increase milk yield to ~15,000 kg/yr will likely continue to improve efficiency. However, most cows have the genetics for high production already; genomic tools should enable us to directly select for feed efficiency in the future. Greater efficiency will improve profitability and environmental sustainability, but continued focus on production, health, and fertility will still be important for farm profitability.

References.

1. Berry, D.P., and J.J. Crowley. 2013. Genetics of feed efficiency in dairy and beef cattle. J. Animal Sci. 91:1594-1613.
2. Burczynski, S.E., J.S. Liesman, R.J. Tempelman, J.C. Ploetz, M.S. Allen, A.L. Lock, and M.J. VandeHaar. 2013. Residual feed intake is repeatable when high and low starch diets are fed to lactating Holstein dairy cows. J. Dairy Sci. 96(E-Suppl.):397.
3. Connor, E.E., J.L. Hutchison, H.D. Norman, K.M. Olson, C.P. Van Tassell, J.M. Leith, and R.L. Baldwin VI. 2013. Using residual feed intake in Holsteins during early lactation shows potential to improve feed efficiency through genetic selection. J. Animal Sci. 90:1687-1694.
4. Davis, S. R., K. A. Macdonald, G. C. Waghorn, and R. J. Spelman. 2014. Residual feed intake of lactating Holstein-Friesian cows predicted from high-density genotypes and phenotyping of growing heifers. J. Dairy Sci. 97:1436–1445.
5. MacDonald, K.A., J.E. Pryce, R.J. Spelman, S.R. Davis, W.J. Wales, G.C. Waghorn, Y.J. Williams, L.C. Marett, and B.J. Hayes. 2014. Holstein-Friesian calves selected for divergence in residual feed intake during growth exhibited significant but reduced residual feed intake divergence in their first lactation. J. Dairy Sci. 97:1427-1435.
6. Tempelman, R., R. Veerkamp, M. Coffey, D. Spurlock, L.. Armentano, K. Weigel, Y. de Haas, C. Staples, M. Hanigan, and M. VandeHaar. 2013. Heterogeneity across research stations in genetic variation and energy sink relationships for feed efficiency in lactating dairy cattle. J. Dairy Sci. 96(E-Suppl.):389.

ESTRATEGIAS DE AGRUPAMIENTO SEGÚN LA DIETA PARA MEJORAR LA RENTABILIDAD EN EXPLOTACIONES LECHERAS

Víctor E. Cabrera y Afshin Kalantari
1675 Observatory Dr., Madison, WI 53706, vcabrera@wisc.edu
University of Wisconsin – Madison, Department of Dairy Science

Introducción

La agrupación de vacas es una práctica común que los ganaderos utilizan para manejar su rebaño de manera más eficiente. Los ganaderos utilizan esta estrategia para separar las vacas secas, cercanas al parto, enfermas, recién paridas y preñadas. El agrupamiento aborda las necesidades específicas de las vacas. No obstante, el hecho de agrupar a las vacas en lactación por motivos nutricionales y proporcionar a los grupos dietas más precisas no se ha adoptado tan ampliamente como se podría, a pesar del hecho de que muchos estudios demuestran sus beneficios económicos (McGilliard et al., 1983; St-Pierre y Thraen, 1999; Cabrera et al., 2012). Las razones de los productores de leche que no favorecen las agrupaciones nutricionales se pueden atribuir a las limitaciones físicas de las explotaciones (como la maquinaria o las instalaciones), los costes laborales, la dificultad de manejar múltiples dietas, y la presunción de que la producción lechera disminuiría debido a los cambios en el corral o en el grupo.

Las raciones mixtas totales (RMT) se han convertido en un estándar de la industria y un gran número de granjas utiliza una sola RMT para todas las vacas en lactación. La aplicación de una sola RMT a todas las vacas en lactación da lugar a más vacas con sobrepeso y una mayor excreción de nutrientes. Solo estas podrían ser razones suficientes para considerar una agrupación nutricional adicional como una opción válida de manejo del rebaño lechero.

Además, la adopción de estrategias de alimentación nutricionales adicionales puede reducir sustancialmente los costes de la alimentación, que representan el gasto individual más grande en la producción lechera y determinan en gran medida la rentabilidad del rebaño. Las estrategias de agrupamiento nutricional adicionales aumentarán, por tanto, los ingresos del rebaño sobre los costes de alimentación y contribuirá en gran medida a mejorar la rentabilidad y la eficiencia económica.

Este estudio de simulación pretende evaluar y demostrar los beneficios económicos y medioambientales de las estrategias de agrupamiento nutricional en el ganado lechero en lactación. Además, este trabajo también incluye una descripción de una herramienta de apoyo a las decisiones simplificada y online que podría utilizarse para evaluar *las estrategias de agrupamiento para alimentar el ganado lechero en lactación* específicas de la granja.

Materiales y métodos

Marco de la simulación

Se desarrolló un modelo dinámico y estocástico Monte Carlo para simular cada vaca de un rebaño para estudiar diferentes estrategias de agrupamiento nutricional. El modelo imitaba los acontecimientos de la vida de la vaca dentro de los ciclos reproductivos. El ciclo reproductivo de una vaca comenzaba con el parto y terminaba con el sacrificio involuntario, la muerte, o el comienzo de una nueva lactación. El modelo utilizaba el enfoque del siguiente evento listado (De Vries, 2001). Estos acontecimientos incluyen: sacrificio involuntario (y las razones para el sacrificio), muerte, preñez, aborto, secado, y parto. Para cada acontecimiento, se siguió un enfoque de dos pasos: 1) determinar el resultado binario del evento (ocurre o no) y, si sucede, 2) el día en que tiene lugar.

Después de programar todos los eventos, se actualizó el estado de cada vaca del rebaño a diario en función de los acontecimientos programados. Por ejemplo, si estaba programado que una vaca estuviera preñada a los 90 días en leche (DEL), entonces la información de la vaca se actualizaba como preñada a los 90 DEL. Cuando el acontecimiento tenía que ver con el sacrificio o la mortalidad, se asumía que el reemplazo ocurriría al día siguiente para mantener constante el tamaño del rebaño (Cabrera, 2012). El reemplazo se hacía con una novilla próxima al parto.

Después, el modelo se utilizaba para evaluar los impactos económicos y medioambientales de las estrategias de agrupación nutricional. Bajo este marco, se consideró que las diferencias en los resultados entre las estrategias de agrupamiento de dietas eran más importantes y relevantes que los valores absolutos previstos.

Datos de entrada

El modelo comienza con la información real de un rebaño lechero comercial. Primero lee un archivo de entrada que contiene la información sobre las vacas de un rebaño. Después, hace una proyección de cada vaca y de todo el rebaño para un año. Los parámetros incluidos en el archivo de entrada son: identificación de la vaca, días en leche (DEL), días en gestación, porcentaje de grasa, porcentaje de proteínas, 305 madurez equivalente (ME305 en kg/vaca), peso corporal (si está disponible), y capacidad de producción prevista (CPP) -capacidad de producción de la vaca en futuras lactaciones- (si está disponible).

Atributos de la vaca

Las siguientes secciones describen los métodos utilizados para calcular los atributos de una vaca individual sobre una lactación y DEL dados. Algunos de estos atributos se mantuvieron constantes durante toda la vida de la vaca (por ejemplo, la CPP), y otros variaban en función de la lactación y los DEL (por ejemplo, las curvas de lactación).

Producción de leche, grasa y proteínas

Las vacas del rebaño fueron clasificadas según su CPP o, en su ausencia, en función de su producción láctea equivalente en madurez a 305 días (ME305). Por tanto, cada vaca fue clasificada en base a su capacidad de producción futura en relación a su categorización, escalando hacia arriba o hacia abajo su producción. Después, se utilizaba una función gamma incompleta (Wood, 1967) para calcular la producción de leche diaria de una vaca.

Sacrificio involuntario y muerte

Los datos de Pinedo et al. (2010) se utilizaron para determinar los riesgos de sacrificio y muerte y, también, las razones del sacrificio. Las vacas no preñadas con DEL > 300 fueron marcadas

como de-no-cría y fueron sacrificadas (fallo reproductivo) en el momento en que su producción lechera era < 24 kg/d (Kalantari y Cabrera, 2012).

Reproducción

El periodo de espera voluntario (PEV) se estableció en 50 d. En las vacas con DEL ≥ PEV se buscaba el celo y se asignaba un riesgo para la cría y la concepción. Las vacas en celo e inseminadas fueron marcadas como preñadas. Se consideró un riesgo del 8% de pérdida de preñez desde 30 días a término con una distribución empírica determinando el día del suceso. La duración de la gestación de una vaca fue modelada utilizando una distribución entre 266 y 290 días (Oltenacu et al., 1980).

Peso corporal

El peso corporal (PC) inicial de cada vaca vino de los registros de explotaciones lecheras o, si no estaba disponibles, se tomaron muestras de un distribución triangular con un mínimo de 550 kg, un máximo de 1.000 kg, y un valor más probable de 700 kg. Una función Korver (Korver et al., 1985) fue utilizada para simular los cambios en el PC durante la lactación.

Parámetros deterministas

Ingesta de materia seca

La ingesta de materia seca (IMS) diaria fue calculada utilizando una ecuación NRC (2001), una función de mantenimiento y producción de leche, ajustada para un descenso en la IMS durante el periodo de lactación temprana.

Necesidades nutricionales de la vaca

Energía neta

Las necesidades totales de energía neta (EN) de una vaca fueron calculadas mediante la suma de los requisitos para el mantenimiento (EN_m) y la producción lechera (EN_L) sobre la base de ecuaciones NRC (2001).

Proteína bruta

Las necesidades totales de proteína bruta (PB) también fueron calculadas mediante la suma de la PB para el mantenimiento (PB_m) y la producción de leche (PB_L) sobre la base de las ecuaciones presentadas en McGilliard et al. (1983).

Parámetros económicos

El precio de la leche se estableció en 0,35$/kg de leche. Los costes de los nutrientes se establecieron en 0,116$/Mcal de EN y en 0,747$/kg de PB sobre la base de Cabrera et al. (2012).

Estrategias de agrupamiento nutricional

Las vacas fueron asignadas a 2 tipos de grupos: 1) grupos obligados y 2) grupos opcionales. Los grupos obligados incluían vacas secas y vacas recién paridas (de 1 a 21 DEL). Los grupos opcionales se utilizaron para probar la eficacia del agrupamiento nutricional sobre el ingreso general sobre los costes de alimentación (ISCA), la excreción de nutrientes, y la eficiencia de los nutrientes usados por las vacas.

Las vacas se clasificaron y se agruparon en función de sus necesidades de PB y EN_L reales (agrupación en clúster, McGilliard et al., 1983). Cada mes, las vacas eran reagrupadas y reasignadas al mismo grupo o a uno diferente en función de su nivel. La asignación de las vacas a los grupos opcionales fue diseñada para maximizar el ISCA (Cabrera et al., 2012). Fue incluido un efecto de disminución de leche de 1,82 kg/d durante 5 días para las vacas que eran trasladadas a un grupo nuevo.

Las fórmulas de las dietas se basaron en las necesidades de EN_L y PB de los grupos de vacas y se establecieron en el percentil 83 (Stallings y McGilliard, 1984), pero en base a las necesidades nutricionales reales del grupo y no en la producción lechera del grupo.

Análisis realizados con el modelo dinámico y estocástico

Se estudiaron cinco rebaños lecheros (Tabla 1) en función de estrategias de agrupamiento de dietas. Los análisis incluían los cálculos para la eficiencia económica y la eficiencia del uso de la energía y el nitrógeno (N) por el agrupamiento nutricional. Los análisis incluían el efecto de la disminución en la producción de leche en la eficiencia económica y de uso de nutrientes.

Tabla 1. Rebaños lecheros analizados utilizando el modelo dinámico estocástico.

Nº de vacas en lactación	570	7 8 7	
727	331	1.460	
ME305, kg/año	16.140	1 2 . 8 8 4	
13.897	13.348	14.188	
1ª Lactación, %	43	3 9	
39	38	45	
DEL	187	1 7 8	
201	208	189	
Tasa de preñez 21-d, %	18	1 9	
19	17	18	
Sacrificio, %/año	32	3 7	
36	35	40	
Aborto, %/gestación	7	1 1	
11	16	7	
PC de la vaca disponible	no	no	sí
sí	no		

Herramienta simplificada de apoyo a las decisiones

Herramienta: Grouping strategies for feeding lactating dairy cattle

Se ha desarrollado una herramienta de apoyo a las decisiones online simplificada, *grouping strategies for feeding lactating dairy* cattle, basada en los principios mencionados anteriormente, que está abiertamente disponible en la página web sobre la Gestión de Explotaciones Lecheras de la Universidad de Wisconsin (http://DairyMGT.info: *Tools*). Brevemente, los usuarios pueden realizar análisis específicos para el rebaño tras introducir los registros de las vacas. Los usuarios tienen que introducir los registros de las vacas, definir las características nutricionales actuales del rebaño, y describir los cambios posibles relacionados con el agrupamiento por dietas. La herramienta calcula la diferencia económica entre la situación actual y la propuesta (Cabrera et al., 2012).

Diferencias de la herramienta respecto a la definición anterior

Existen 2 diferencias estructurales principales entre la herramienta de apoyo a las decisiones online y la metodología de investigación descrita anteriormente. La primera tiene que ver con la estocasticidad. La herramienta de apoyo a las decisiones no contiene elementos estocásticos en los cálculos. La segunda diferencia principal tiene que ver con la dinámica. Mientras que la metodología descrita simula cada vaca del rebaño día a día, la herramienta de apoyo a las decisiones realiza el análisis en un momento específico del tiempo (en función de los registros introducidos por el usuario). Como consecuencia, la herramienta de apoyo a las decisiones no realiza proyecciones y debe usarse frecuentemente (es decir, cada mes). La herramienta de apoyo a las decisiones demuestra el valor económico del agrupamiento nutricional y es más adecuado para los mensajes de extensión iniciales aproximados. Las ventajas de la herramienta de apoyo a las decisiones son su fácil uso y la interactividad de los análisis

del tipo "qué pasaría si". Además, la herramienta de apoyo a las decisiones cuenta con un módulo adicional que puede evaluar costes y ahorros adicionales más allá de los ingresos por la leche y los costes de alimentación a la hora de llevar a cabo la gestión de las estrategias de agrupamiento nutricional.

Análisis realizado con la herramienta de apoyo a las decisiones online

Se analizaron los registros de las vacas de 30 rebaños lecheros de Wisconsin, utilizando la herramienta. Sin saber sus estrategias reales de agrupamiento nutricional, se aplicó el mismo procedimiento en cada uno de los rebaños: 1) las comparaciones se hacían siempre entre 1 grupo y 3 grupos del mismo tamaño; 2) los precios se establecieron en leche (0,35$/kg), PB (0,3158$/kg) y EN_L (0,1174$/Mcal) en todas las granjas; 3) las necesidades de PB y EN_L estaban en el percentil 83 tanto para 1 como 3 grupos; y 4) el PC medio se estableció en 500kg para las vacas primíparas y en 590kg para las multíparas.

Resultados y discusión

Modelo estocástico

Eficiencia económica

La eficiencia económica, medida como ISCA, aumentó consistentemente con los grupos nutricionales adicionales (Fig. 1). De media y en comparación con 1 grupo nutricional, la ganancia de ISCA ($/vaca por año) fue de 21, 46, 57, 65, y 70 para 2, 3, 4, 5, y 6 grupos nutricionales, respectivamente. Las curvas en la Fig. 1 siguen una tendencia de incremento decreciente (ley de rendimientos decrecientes) después de 3 grupos nutricionales, lo que indica que todavía hay una ganancia para más de 3 grupos nutricionales, pero estas ganancias disminuyen progresivamente. También es importante resaltar que existe relación entre el número de grupos y el tamaño del rebaño, lo que indica una mayor posibilidad de agrupar en rebaños más grandes. En todos los casos, más de 4 o 5 grupos nutricionales pueden ser poco prácticos, pero todavía se proporcionan con propósitos de análisis. En rebaños pequeños (por ejemplo, 331), hacer más de 3 grupos no sería práctico.

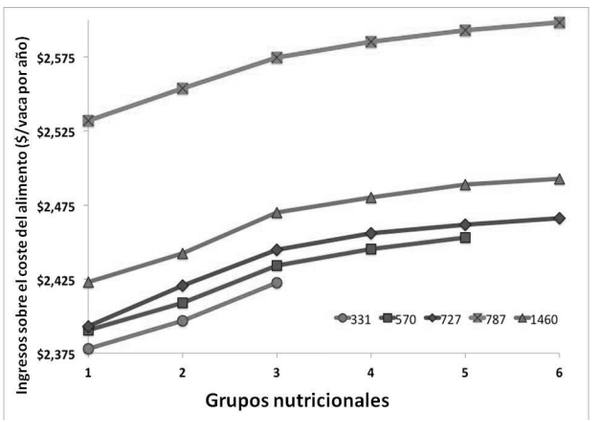


Figura 1. Eficiencia económica de las estrategias de agrupamiento nutricional en 5 rebaños lecheros de Wisconsin (Tabla 1). Las etiquetas indican el número de vacas en lactación en el rebaño.

Eficiencia energética

La utilización de la energía, medida como el porcentaje de energía en leche (Mcal en leche) sobre la energía consumida en el pienso (Mcal consumidas), aumentó consistentemente con los grupos nutricionales adicionales hasta 4 grupos (Fig. 2). Continuó aumentando hasta 6 grupos en el rebaño más grande (1460) y para el rebaño de 727, hasta 5 grupos. Esto indica claramente que las estrategias de agrupamiento son específicas de cada rebaño y dependen del tamaño del mismo. De media y en comparación con 1 grupo nutricional, la eficiencia del uso de energía aumentó (%) un 0,18; 0,59; 0,81; 0,82; y 0,87 para 2, 3, 4, 5, y 6 grupos nutricionales, respectivamente (Fig.2). Es interesante señalar que, en el rebaño más grande (1460), no hubo una ganancia aparente entre 1 y 2 grupos y que la ganancia entre 2 y 3 grupos fue menor que en otros rebaños. Sin embargo, este rebaño mostró ganancias mayores con más grupos nutricionales que otros rebaños.

Eficiencia en el aprovechamiento del Nitrógeno (N)

La utilización del N, medida como el porcentaje de N en leche (kg) sobre el N consumido en el pienso (kg) también aumentó consistentemente con grupos adicionales (Fig. 3).

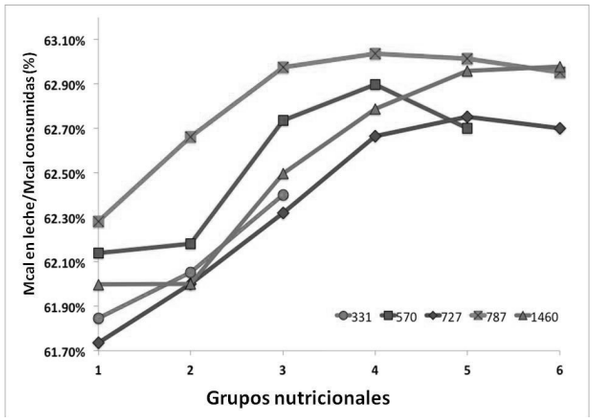


Figura 2. Eficiencia en el uso de la energía de las estrategias de agrupamiento nutricional en 5 rebaños lecheros de Wisconsin (Tabla 1). Las etiquetas indican el número de vacas en lactación.

De forma distinta a lo que ocurre con la energía, con la excepción del rebaño de 570 vacas, la eficiencia en el aprovechamiento del N continuó aumentando hasta los 6 grupos (a un rendimiento decreciente). De media y en comparación con 1 grupo nutricional, la mejora en la eficiencia en el aprovechamiento del N (%) fue 0,36; 0,31; 0,17; 0,07 y 0,06 para 2, 3, 4, 5, y 6 grupos nutricionales, respectivamente.

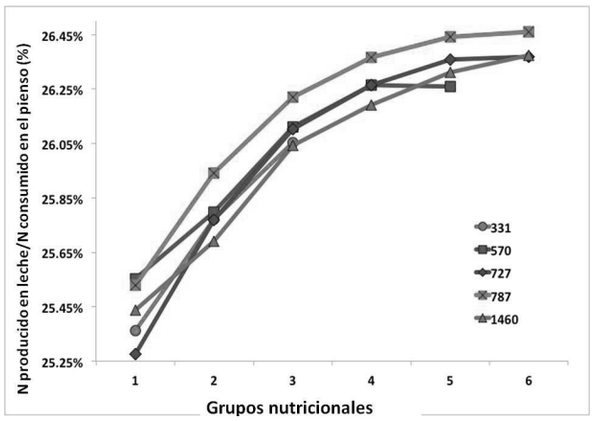


Figura 3. Eficiencia en el uso del nitrógeno de las estrategias de agrupamiento nutricional en 5 rebaños lecheros de Wisconsin (Tabla 1). Las etiquetas indican el número de vacas.

Impacto de la disminución de la producción de leche

La disminución de la producción lechera debido a la reubicación de las vacas en grupos diferentes, como se define en este estudio (una pérdida de leche de 1,82 kg/día durante 4 días = 9,1 kg

de leche), tuvo un impacto económico global que redujo el ISCA entre 16$ (2 grupos nutricionales) y 23$ (6 grupos de dietas) en rebaños con 787 vacas en lactación (Fig. 4, diferencia entre las barras). Esta estrategia también tuvo un impacto global en la eficiencia del aprovechamiento del N que bajó la ratio N en leche producido/N consumido en el pienso entre un 0,05% (2 grupos nutricionales) y 0,13% (6 grupos de dietas) (Fig. 4, diferencia entre las curvas).

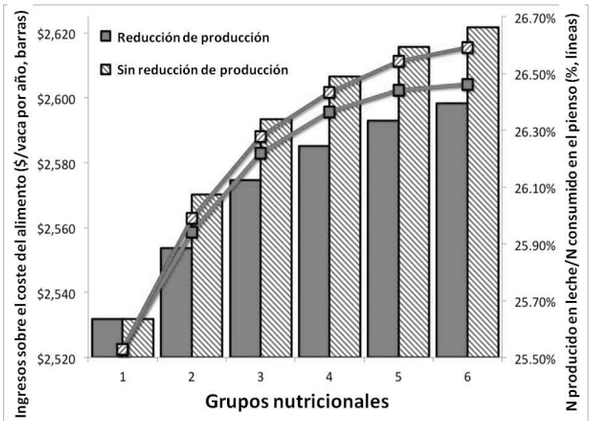


Figura 4. Eficiencia económica y de aprovechamiento del N considerando o no considerando la disminución de la producción de leche en el rebaño 787 (787 vacas en lactación).

Teniendo en cuenta que la ganancia ISCA para 2 grupos nutricionales sin disminución en la producción de leche hubiese sido de 33$, el impacto de la disminución en la producción lechera representa una reducción del 48% en la ganancia solo por la disminución en la producción de leche, un gran impacto. El impacto de la disminución en la producción de leche sobre el ISCA fue menor a medida que había más grupos nutricionales en el lugar. Este fue aproximadamente del 30% para 3 grupos de dietas. Además, considerando que la ganancia ISCA para 6 grupos nutricionales habría sido 90$, la disminución en la producción de leche representa una disminución del 25% en la ganancia, que sigue siendo un impacto importante.

Resultados de la herramienta de apoyo a las decisiones simplificada

Las evaluaciones de 30 explotaciones lecheras de Wisconsin con la herramienta de apoyo a la toma de decisiones online (http://DairyMGT.info: Tools: *Grouping strategies for feeding lactating dairy* cattle) demostraron de forma consistente en los 30 rebaños que el ISCA era mayor para la estrategia de agrupamiento nutricional que incluía 3 grupos de dietas en comparación con la estrategia de tener solo 1 grupo nutricional (Tabla 2).

Tabla 2. Evaluación económica del agrupamiento por dietas de 30 granjas lecheras de Wisconsin utilizando la herramienta online *Grouping strategies for feeding lactating dairy cattle*.

	Número de vacas en lactación	1 grupo nutricional	3 grupos nutricionales del mismo tamaño	Diferencia entre 3 y 1 grupos nutricionales
	(n = 30)	ISCA, $/vaca por año		
Media	788	2.311	2.707	396
Mín.	<200	697	1,059	161
Máx.	>1.000	2.967	3,285	580

El análisis indicó que las granjas podían conseguir entre 161$ y 580$/vaca por año (media = 396$) de ISCA adicional mediante el cambio entre ninguna agrupación y 3 grupos de dietas del mismo tamaño utilizando el criterio clúster para los agrupamientos. Estos valores representaron un incremento de entre un 7 y un 52% del ISCA calculado para las granjas.

Realizar grupos y alimentar con distintas raciones a los grupos podría tener costes adicionales y posibles pérdidas económicas. Tras asumir costes razonables de manejo, trabajo y maquinaria, y una disminución esperada en la producción lechera razonable (1,82 kg/día durante 5 días) para estas vacas, afectadas por los cambios de grupo, el retorno neto del agrupamiento era todavía mucho mayor que la opción de no agrupar. El ISCA adicional estimado en la Tabla 1 disminuyó entre un 9 y un 25% para estos escenarios. Por tanto, tener 3 grupos de dietas del mismo tamaño era mucho más rentable en los 30 rebaños que la opción de tener solamente 1 grupo nutricional.

Conclusiones

Se concluye que el agrupamiento nutricional adicional del ganado lechero en lactación tiene un impacto positivo sobre la eficiencia económica y medioambiental de la explotación lechera. Los beneficios variarán mucho en función de las condiciones de la granja y del mercado, pero nuestros análisis de proyección conservadores indican que una granja puede esperar sobre 45$/vaca más de ISCA cada año, un aumento del 0,59% en la eficiencia en el uso de la energía, y un aumento del 0,31% en la eficiencia en el aprovechamiento del N, cuando un productor decide manejar 3 grupos nutricionales considerando que actualmente está manejando solo 1 grupo nutricional para todas las vacas en lactación. Una herramienta de apoyo a las decisiones online y fácil de usar está disponible abierta y gratuitamente en la página web sobre la Gestión de Explotaciones Lecheras de la Universidad de Wisconsin (htttp://DairyMGT.info) y podría ser una herramienta efectiva para una demostración inicial y una motivación para promover el agrupamiento nutricional en el ganado lechero en lactación.

Mensajes para llevar a casa

- Existe una oportunidad de aumentar la eficiencia económica de una granja lechera si se considera la agrupación nutricional adicional de las vacas en lactación.
- Un agrupamiento nutricional que ajusta las dietas del rebaño a las necesidades de las vacas ahorra costes de alimentación y aumenta los ingresos del rebaño sobre los costes de la alimentación.
- Las ganancias de los ingresos sobre los costes de la alimentación generados con la agrupación nutricional adicional supera con creces los posibles gastos adicionales de manejo, trabajo o maquinaria, y las posibles pérdidas en la producción lechera debido a las interacciones sociales de las vacas en los reagrupamientos.
- Los beneficios adicionales del agrupamiento nutricional incluyen: disminución de los problemas ambientales gracias a unos balances de nutrientes más ajustados y una mejora de la salud del rebaño al disminuir el número de vacas con sobrepeso.

Agradecimientos

Este es un trabajo actualizado presentado en el Western Canadian Dairy Seminar, Red Deer, Alberta, los días 11-14 de marzo de 2014.

La financiación para este proyecto ha sido proporcionada por Agriculture and Food Research Initiative Competitive Grant no. 2011-68004-30340 del USDA National Institute of Food and Agriculture.

Referencias

1. Cabrera, V. E. 2012. A simple formulation and solution to the replacement problem: A practical tool to assess the economic cow value, the value of a new pregnancy, and the cost of a pregnancy loss. Journal of Dairy Science 95:4683-4698.
2. Cabrera, V. E., F. Contreras, R. D. Shaver, L. E. Armentano. 2012. Grouping strategies for feeding lactating dairy cattle. Pp. 40-44 in Proceedings Four-State Dairy Nutrition and Management Conference. Dubuque, IA, 13-14 June 2012.
3. De Vries, A. 2001. Statistical process control charts applied to dairy herd reproduction. PhD Thesis. University of Minnesota. Minnesota.
4. Kalantari, A. S., and V. E. Cabrera. 2012. The effect of reproductive performance on the dairy cattle herd value assessed by integrating a daily dynamic programming with a daily Markov chain model. Journal of Dairy Science 95:6160–6170.
5. Korver, S., J. A. M. van Arendonk, and W. J. Koops. 1985. A function for live-weight change between two calvings in dairy cattle. Animal Production 40:233-241.
6. McGilliard, M. L., J. M. Swisher, and R. E. James. 1983. Grouping lactating cows by nutritional requirements for feeding. Journal of Dairy Science 663:1084-1093.
7. NRC. 2001. Nutrient requirement of dairy cattle. 7th rev. ed. National Research Council, Washington, DC.: National Academy Press.
8. Oltenacu, P. A., R. A. Milligan, T. R. Rounsaville, and R. H. Foote, 1980. Modelling reproduction in a herd of dairy cattle. Agricultural Systems 5: 193-205.
9. Pinedo, P. J., A. De Vries, and D. W. Web. 2010. Dynammics of culling risk with disposal codes reported by dairy herd improvement dairy herds. Journal of Dairy Science 93:2250-2261.
10. St-Pierre, N. R., C. S. Thraen. 1999. Animal grouping strategies, sources of variation, and economic factors affecting nutrient balance on dairy farms. Journal of Animal Science 77:72-83.
11. Stallings, C. C., and M. L. McGilliard. 1984. Leading factors for total mized ration formulation. Journal of Dairy Science 67:902-907.
12. Wood, P. D. P. 1967. Algebraic model of the lactation curve in cattle. Nature 216: 164-165.

ENGLISH VERSION ▼

Dietary grouping strategies to improve profitability on dairy farms

Victor E. Cabrera and Afshin Kalantari
1675 Observatory Dr., Madison, WI 53706, vcabrera@wisc.edu
University of Wisconsin – Madison, Department of Dairy Science

Introduction

Grouping cows is a common practice farmers use to manage their herd more efficiently. Farmers use this strategy to separate far-off, close-up, sick, fresh, and pregnant cows. Grouping addresses cows' specific needs. However, grouping lactating cows for nutritional purposes and providing groups with more precise diets has not been adopted as widely as it could be, despite the fact that many studies demonstrate its economic benefits (McGilliard et al., 1983; St-Pierre and Thraen, 1999; Cabrera et al., 2012). Reasons of farmers not favoring nutritional grouping can be attributed to farm physical limitations (such as machinery and facilities), labor cost, difficulty in managing multiple diets, and the presumption that milk production will be depressed due to pen or group changes.

Total mixed rations (TMR) have become an industry standard and a large number of dairy farms are using just one TMR for all lactating cows. Applying just one TMR to all lactating cows results in more over conditioned cows and higher nutrient excretion. These alone could be enough reasons to consider additional nutritional grouping as a valid dairy herd management option.

Moreover, adopting additional nutritional feeding strategies could substantially decrease feed costs that represent the single largest expense for dairy production and determine largely herd profitability. Additional nutritional grouping strategies will therefore increase the herd income over feed costs and contribute largely to improved profitability and economic efficiency.

This simulation study aims to evaluate and demonstrate the economic and environmental benefits of nutritional grouping strategies on lactating dairy cattle. Furthermore, this paper also includes a description of a simplified online decision support tool that could be used to evaluate farm-specific *grouping strategies for feeding lactating dairy cattle*.

Materials and methods

Simulation framework

A Monte Carlo stochastic and dynamic model was developed to simulate each individual cow of a herd to study different nutritional grouping strategies. The model mimicked cows' life events within reproductive cycles. An individual cow reproductive cycle started by calving and ended by involuntary culling, death, or entering a next lactation. The model used the next event scheduling approach (De Vries, 2001). These events included: involuntary culling (and reasons for culling), death, pregnancy, abortion, dry-off, and parturition. For each event, a two-step approach was followed: 1) determining the binary outcome of the event (it happens or not) and if it happens 2) the day of the occurrence.

After scheduling all the events, the status of every cow in the herd was updated on a daily basis according to scheduled events. For example, if a cow was scheduled to be pregnant at 90 DIM, then the cow information was updated as pregnant when 90 DIM. When the event involved culling or mortality, replacement was assumed to occur the next day to maintain the herd size constant (Cabrera, 2012). Replacement occurred with a springer heifer at the time of first calving.

The model was then used to evaluate the economic and environmental impacts of nutritional grouping strategies. Under this framework, differences in outcomes between dietary grouping strategies were deemed to be more important and relevant than the absolute predicted values.

Input data

The model starts with actual data from a commercial dairy herd. It first reads an input file containing cow-level information of a herd. Then, it performs a projection of each cow and of the whole herd over a year. Parameters included in the input file are: Cow id, parity, DIM, days in pregnancy, fat percentage, protein percentage, 305 mature equivalent (ME305 in kg/cow), body weight (if available), and predicted producing ability (PPA) -producing ability of cow in future lactation- (if available).

Cow attributes

The following sections describe the methods used for calculating the attributes of an individual cow on a given lactation and DIM. Some of these attributes were held constant for the lifetime of cow (e.g., PPA), and some varied based on lactation and DIM (e.g., lactation curves).

Milk, fat and protein production

Cows in the herd were categorized based on their PPA or, in its absence, on their milk mature equivalents at 305 days (ME305). Therefore, every cow was classified based on their future capability of production relatively to categorization by scaling up or down their production. Then, an incomplete gamma function (Wood, 1967) was used to calculate daily milk production of a cow.

Involuntary culling and death

Data from Pinedo et al. (2010) were used to determine risks of culling and death and also the reasons for culling. Non-pregnant cows with DIM > 300 were marked as do-not-breed and they were culled (reproductive failure) whenever their milk production reached < 24 kg/d (Kalantari and Cabrera, 2012).

Reproduction

Voluntary waiting period (VWP) was set to 50 d. Cows with DIM ≥ VWP were observed for estrus and had a risk for breeding and conception. Cows detected in estrus and conceiving were marked as pregnant. An 8% risk of pregnancy loss was considered from 30 days to term with an empirical distribution determining the day of occurrence. Gestation length of a cow was modeled using a distribution between 266 and 290 days (Oltenacu et al., 1980).

Body weight

Cow-specific initial body weight (BW) came from dairy farm records or, if not available, was sampled from a triangular distribution with a minimum of 550 kg, a maximum of 1,000 kg, and a most likely value of 700 kg. An underline Korver function (Korver et al., 1985) was used to simulate BW changes through lactation.

Deterministic parameters

Dry matter intake

Daily dry matter intake (DMI) was calculated using NRC (2001) equation, a function of maintenance and milk production, adjusted for decreased DMI during the early lactation period.

Cow nutrient requirements

Net energy

Total net energy (NE) requirement of a cow was calculated by aggregating the requirements for maintenance (NE_m) and milk production (NE_L) based on NRC (2001) equations.

Crude protein

Total crude protein (CP) requirements were also calculated by summing up the CP for maintenance (CP_m) and for milk production (CP_L) based on equations presented in McGilliard et al. (1983).

Economic parameters

Milk price was set to $0.35/kg of milk. The nutrients costs were set to $0.116/Mcal of NE and to $0.747/kg of CP based on Cabrera et al. (2012).

Nutritional grouping strategies

Cows were assigned to 2 types of groups: 1) obligated groups and 2) optional groups. Obligated groups included dry cows and fresh cows (1 to 21 DIM). Optional groups were used to test the effect of nutritional grouping on the overall income over feed costs (IOFC), nutrient excretion, and efficiency of the nutrient used by cows.

Cows were ranked and grouped based on actual CP and NE_L requirements (cluster grouping, McGilliard et al., 1983). Every month, cows were regrouped and reassigned to the same or different group based on their rank. Allocation of cows to optional groups was designed to maximize the IOFC (Cabrera et al., 2012). An effect of milk depression of 1.82 kg/day for 5 days for cows moving to a new group was included.

Diet formulations were based on group of cows' requirements of NE_L and CP and were set at the 83rd percentile (Stallings and McGilliard, 1984), but based on actual group nutrient requirements and not on group milk production.

Analysis performed with stochastic and dynamic model

Five dairy herds were studied (Table 1) according to nutritional grouping strategies. Analyses included calculations of economic efficiency and energy and N use efficiencies because of nutritional grouping. Analyses included the effect of milk depression on the economic and nutrient use efficiency.

Simplified decision support tool

Grouping strategies for feeding lactating dairy cattle tool

Based on principles above described, a simplified online decision support tool has been developed, *grouping strategies for feeding lactating dairy cattle*, and it is openly available at the University of Wisconsin-Madison Dairy Management Website (http://DairyMGT.info: Tools). Briefly, users can perform herd-specific analyses after entering cow-level records. Users need to enter cow-level records, define current herd nutritional characteristics, and describe potential changes related to nutritional grouping. The tool calculates the economic difference between current and proposed situations (Cabrera et al., 2012).

Table 1. Dairy herds analyzed using the stochastic dynamic model

Lactating cows, n	570	787	
727	331	1,460	
Herd ME305, kg/year	16,140	12,884	
13,897	13,348	14,188	
1st Lactation, %	43	39	39
38	45		
DIM	187	178	
201	208	189	
21-d PR, %	18	19	19
17	18		
Culling, %/year	32	37	36
35	40		
Abortion, %/gestation	7	11	
11	16	7	
Cow BW available	no	no	
yes	yes	no	

Differences of tool with above description

There are 2 main structural differences between the online decision support tool and the research methodology described above. The first one is related to the stochasticity. The decision support tool does not contain stochastic elements in the calculations. The second major difference is related to dynamics. Whereas the methodology described above simulates day-by-day every cow on the herd, the decision support tool performs the analysis at one specific point in time (based on records entered by user). In consequence, the decision support tool does not perform projections and therefore should be used frequently (i.e., every month). The decision support tool demonstrates the economic value of nutritional grouping and it is better suited for initial approximated extension messages. Advantage of the decision support is its user-friendliness and the opportunity of interactivity for "what if" analyses. Also, the decision support tool counts with an additional module that can evaluate additional costs or savings beyond milk income and feed costs when performing nutritional grouping management strategies.

Analysis performed with online decision support tool

Cow-level records of 30 Wisconsin dairy herds were analyzed using the tool. Without knowing their actual nutritional grouping strategies, same procedure was applied at each one of the herds: 1) comparisons were always between 1 group and 3 same-size groups; 2) prices were set at milk ($0.35/kg), CP ($0.3158/kg), and NE_L ($0.1174/Mcal) for all farms; 3) requirements of CP and NE_L were at the 83rd percentile for both 1 or 3 groups; and 4) average BW was set at 500 kg for primiparous and at 590 for multiparous.

Results and discussion

Stochastic model

Economic efficiency

Economic efficiency measured as IOFC increased consistently with additional nutritional groups (Fig. 1). On average and compared to 1 nutritional group, the IOFC gain ($/cow per year) was 21, 46, 57, 65, and 70 for 2, 3, 4, 5, and 6 nutritional groups, respectively. Curves in Fig. 1 follow a decreasing increasing trend (law of diminishing returns) after 3 nutritional groups, indicating that there is still a gain for more than 3 nutritional groups, but the gains decrease. It is also important to notice that there is a relationship between number of groups and herd size, indicating a higher opportunity of grouping in larger herds. In all cases, more

than 4 or 5 nutritional groups might be impractical, but are still provided for analyses purposes. In small herds (e.g., 331), more than 3 groups might be impractical.

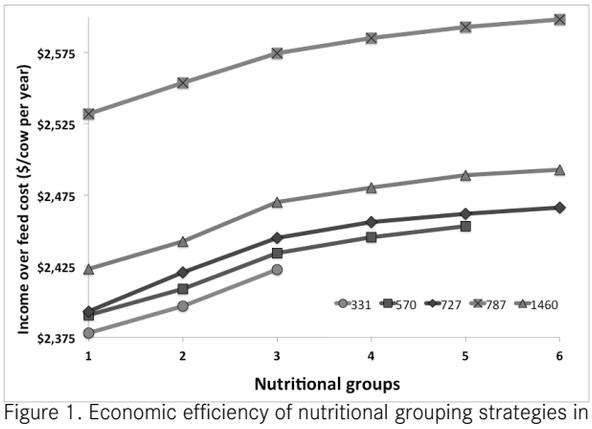


Figure 1. Economic efficiency of nutritional grouping strategies in 5 Wisconsin dairy herds (Table 1). Labels indicate the number of lactating cows on herd

Energy efficiency

Utilization of energy measured as the percentage of energy in milk (Mcal milk) over the energy consumed in feed (Mcal consumed) increased consistently with additional nutritional groups until 4 groups (Fig. 2). It continued increasing for the largest herd (1460) until 6 groups and for the 727 herd until 5 groups. This indicates clearly that grouping strategies are herd specific and depend on herd size. On average and compared to 1 nutritional group, the efficiency of energy use increased (%) 0.18, 0.59, 0.81, 0.82, and 0.87 for 2, 3, 4, 5, and 6 nutritional groups, respectively (Fig. 2). It is interesting to notice that in the largest herd (1460) there was no apparent gain from 1 to 2 groups and the gain from 2 to 3 groups was smaller than other herds. Nonetheless, this herd showed greater gains than other herds with more nutritional groups.

Nitrogen efficiency

Utilization of N measured as percentage of N in milk (kg) over the N consumed in feed (kg) also increased consistently with additional groups (Fig. 3).

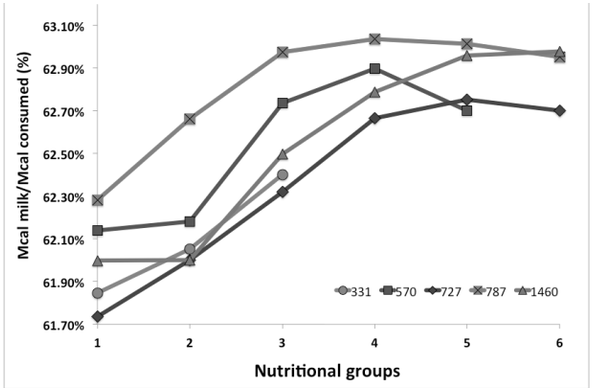


Figure 2. Energy use efficiency of nutritional grouping strategies in 5 Wisconsin dairy herds (Table 1). Labels indicate the number of lactating cows

Differently than energy, with exception of herd 570, N efficiency continued to increase up to 6 groups (at a diminishing return). On average and compared to 1 nutritional group, N efficiency (%) was 0.36, 0.31, 0.17, 0.07, and 0.06, for 2, 3, 4, 5, and 6 nutritional groups, respectively.

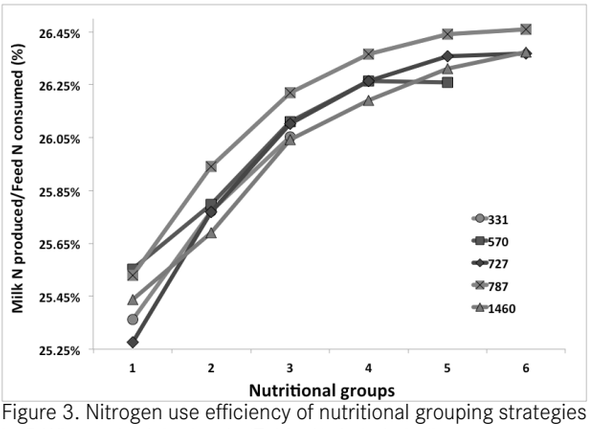


Figure 3. Nitrogen use efficiency of nutritional grouping strategies in 5 Wisconsin dairy herds (Table 1). Labels indicate the number of cows

Impact of milk depression

Milk depression because of cows being relocated to different groups, as defined in this study (1.82 kg/day milk loss for 5 days = 9.1 kg milk), had an overall economic impact that decreased IOFC between $16 (2 nutritional groups) and $23 (6 nutritional groups) on herd having 787 lactating cows (Fig. 4, difference between bars). This strategy also had an overall N efficiency use impact that decreased the ratio milk N produced/feed N consumed between 0.05% (2 nutritional groups) and 0.13% (6 nutritional groups) (Fig. 4, difference between curves).

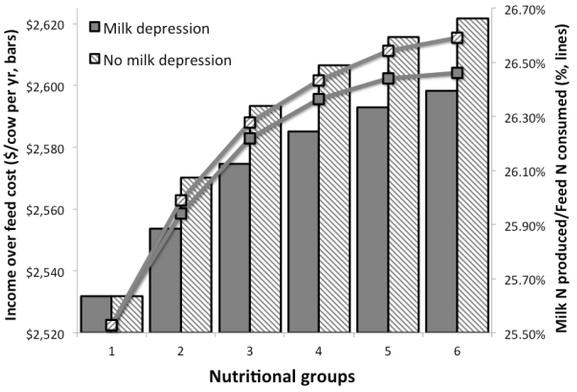


Figure 4. Economic and N use efficiency with and without considering milk depression on the herd 787 (787 lactating cows).

Considering that the IOFC gain for 2 nutritional groups without milk depression would have been $33, the impact of milk depression represents a 48% decrease in the gain just because of milk depression, a large impact. The impact of milk depression on IOFC decreased as more nutritional groups were in place. This was about 30% for 3 nutritional groups. Also, considering that the IOFC gain for 6 nutritional groups would have been $90, milk depression represents a 25% decrease in the gain, still an important impact.

Simplified decision support tool results

Evaluations of 30 Wisconsin dairy farms with online decision support tool (http://DairyMGT.info: Tools: *Grouping strategies for feeding lactating dairy* cattle) consistently demonstrated in all 30 herds that IOFC was greater for the nutritional grouping strategy that included 3 nutritional groups compared with the strategy of only 1 nutritional group (Table 2).

Table 2. Economic nutritional grouping evaluation of 30 Wisconsin dairy farms using the online tool *Grouping strategies for feeding lactating dairy cattle*

	Number lactating cows	1 nutritional group	3 same-size nutritional groups	Difference between 3 and 1 nutritional groups
	(n = 30)	IOFC, $/cow per year		
Mean	788	2,311	2,707	396
Min	<200	697	1,059	161
Max	>1,000	2,967	3,285	580

The analysis indicated that farms could realize between $161 and $580/cow per year (mean = $396) of additional IOFC by switching from no grouping to 3 same-size feeding groups using the cluster criterion for grouping. These values represented an increase of between 7 and 52% of farm calculated IOFC.

Performing grouping and feeding different rations to the groups could have additional costs and possible economic losses. After assuming reasonable costs of management, labor, and machinery and reasonable expected milk depression (1.82 kg/day for 5 days) on those cows affected by the grouping changes, the net return of grouping was still much greater than the no groping option. The additional IOFC estimated in Table 1 decreased between 9 and 25% for these scenarios. Therefore, 3 same-size feeding groups was still much more profitable in all 30 herds than the sole 1 feeding group option.

Conclusions

We conclude that additional nutritional grouping on lactating dairy cattle has a positive impact on the economic and environmental efficiency of a dairy farm. Benefits will vary largely depending on farm and market conditions, but our conservative projection analyses indicate that a farm could expect about $45/cow more IOFC per year, 0.59% increased energy efficiency use, and 0.31% increased N efficiency use when a farmer would decide to manage 3 nutritional groups considering that currently is managing only 1 nutritional group for all lactating cows. A user-friendly online decision support tool is openly and freely available at the University of Wisconsin Dairy Management Website (htttp://DairyMGT.info) and could be an effective tool for initial demonstration and motivation to promote nutritional grouping on lactating dairy cattle.

Take home messages

- An opportunity to increase dairy farm economic efficiency exists by considering additional nutritional grouping for lactating cows
- Nutritional grouping that supports herd diets closer to cow's requirements saves feed costs and increases herd income over feed costs
- Gains on income over feed costs with additional nutritional grouping far exceeds possible additional expenses of management, labor, or machinery and potential milk losses due to cows' social interaction at regroupings
- Additional benefits of nutritional grouping include: decreased environmental concerns because of tighter nutrient balances and improved herd health because of less over conditioned cows

Acknowledgements

This is an updated paper presented at the Western Canadian Dairy Seminar, Red Deer, Alberta, 11-14 March 2014.

Funding for this project was provided by Agriculture and Food Research Initiative Competitive Grant no. 2011-68004-30340 from the USDA National Institute of Food and Agriculture.

References

1. Cabrera, V. E. 2012. A simple formulation and solution to the replacement problem: A practical tool to assess the economic cow value, the value of a new pregnancy, and the cost of a pregnancy loss. Journal of Dairy Science 95:4683-4698.
2. Cabrera, V. E., F. Contreras, R. D. Shaver, L. E. Armentano. 2012. Grouping strategies for feeding lactating dairy cattle. Pp. 40-44 in Proceedings Four-State Dairy Nutrition and Management Conference. Dubuque, IA, 13-14 June 2012.
3. De Vries, A. 2001. Statistical process control charts applied to dairy herd reproduction. PhD Thesis. University of Minnesota. Minnesota.
4. Kalantari, A. S., and V. E. Cabrera. 2012. The effect of reproductive performance on the dairy cattle herd value assessed by integrating a daily dynamic programming with a daily Markov chain model. Journal of Dairy Science 95:6160–6170.
5. Korver, S., J. A. M. van Arendonk, and W. J. Koops. 1985. A function for live-weight change between two calvings in dairy cattle. Animal Production 40:233-241.
6. McGilliard, M. L., J. M. Swisher, and R. E. James. 1983. Grouping lactating cows by nutritional requirements for feeding. Journal of Dairy Science 663:1084-1093.
7. NRC. 2001. Nutrient requirement of dairy cattle. 7th rev. ed. National Research Council, Washington, DC.: National Academy Press.
8. Oltenacu, P. A., R. A. Milligan, T. R. Rounsaville, and R. H. Foote, 1980. Modelling reproduction in a herd of dairy cattle. Agricultural Systems 5: 193-205.
9. Pinedo, P. J., A. De Vries, and D. W. Web. 2010. Dynammics of culling risk with disposal codes reported by dairy herd improvement dairy herds. Journal of Dairy Science 93:2250-2261.
10. St-Pierre, N. R., C. S. Thraen. 1999. Animal grouping strategies, sources of variation, and economic factors affecting nutrient balance on dairy farms. Journal of Animal Science 77:72-83.
11. Stallings, C. C., and M. L. McGilliard. 1984. Leading factors for total mized ration formulation. Journal of Dairy Science 67:902-907.
12. Wood, P. D. P. 1967. Algebraic model of the lactation curve in cattle. Nature 216: 164-165.

EL USO DE SIMULADORES PARA MEJORAR LA RENTABILIDAD EN EXPLOTACIONES LECHERAS

Victor E. Cabrera
Department of Dairy Science, University of Wisconsin-Madison, U.S.A.
vcabrera@wisc.edu

Introducción

La ganadería lechera es un sistema de producción integrado y muy dinámico que requiere una toma de decisiones intensa y continua para mejorar la rentabilidad. Varios componentes de la granja lechera, entre los que se incluyen 1) el ganado, 2) las cosechas, 3) las tierras, 4) el clima, 5) el manejo, 6) la economía, y 7) el medio ambiente, están muy interrelacionados [1]. Estos componentes y sus subcomponentes se afectan entre sí de forma dinámica. Sus impactos económicos agregados e individuales son difíciles de evaluar sin un enfoque de simulación sistemático y riguroso. Por lo que los simuladores de apoyo para la toma de decisiones son fundamentales para el éxito en la gestión de la explotación lechera y en la toma de decisiones de cara a la eficiencia económica y la gestión medioambiental [2-5].

En este trabajo se muestra el gran número de simuladores disponibles en la página web sobre la Gestión de Explotaciones Lecheras de la Universidad de Wisconsin, cuyo objetivo es ayudar a los administradores y los asesores de las granjas lecheras a mejorar su toma de decisiones continua y sus habilidades en la resolución de problemas de cara a mejorar la sostenibilidad económica y medioambiental. Este trabajo también muestra la aplicación práctica y real de un determinado número de estos simuladores, que demuestran una evaluación del sistema satisfactoria, una previsibilidad futura aceptable, una evaluación adecuada del escenario y, como consecuencia, una toma de decisiones satisfactoria para mejorar la rentabilidad.

Estos simuladores surgieron como respuesta a las necesidades de los administradores de las granjas lecheras y se formaron con sus aportaciones y retroalimentación [6-7]. No se utilizó de forma consistente ninguna metodología especial o única para desarrollarlos todos, sino una combinación y adaptación de métodos y técnicas empíricas con el objetivo general de que estos siempre fueran: 1) muy fáciles de usar, 2) específicos para la granja y el usuario, 3) basados en la mejor información científica disponible, 4) relevantes a lo largo del tiempo, 5) capaces de proporcionar una respuesta rápida, concreta y simple a las preguntas complejas del ganadero [2, 8-11]. Después de todo, estos simuladores se convierten en herramientas innovadoras para convertir información experta en decisiones de gestión útiles y específicas para la granja, aprovechando las últimas tecnologías informáticas y de software.

Todos los simuladores objeto de este capítulo están disponibles abierta y gratuitamente en http://DairyMGT.info (Figura 1) en la sección de Herramientas (*Tools*) y están clasificados según las siguientes áreas de gestión de granjas y toma de decisiones: 1) nutrición y alimentación, 2) eficiencia reproductiva, 3) manejo de novillas y reemplazo de vacas, 4) producción y productividad, 5) gestión de riesgos de precio y evaluación financiera, y 6) gestión medioambiental (Tabla 1). En función de la complejidad, el propósito específico, y las necesidades de los responsables de la toma de decisiones de la granja lechera, algunos son aplicaciones completamente online, otros son hojas de cálculo independientes, y otros son programas para descargarse e instalar.

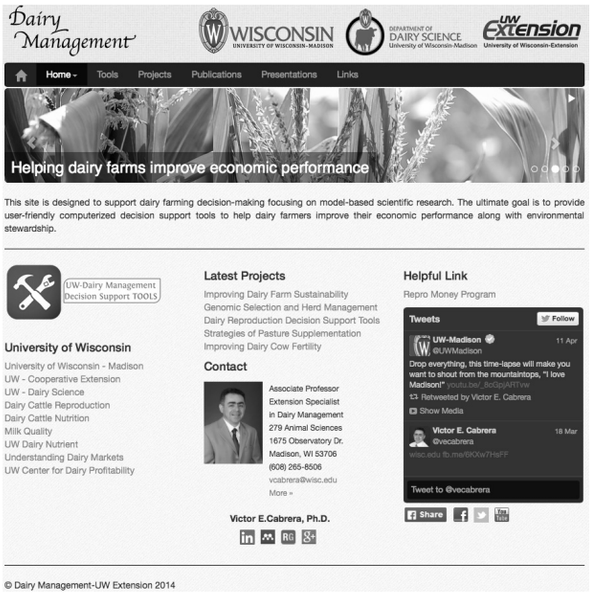


Figura 1. Captura de pantalla del inicio de la página web sobre la Gestión de Explotaciones Lecheras de la Universidad de Wisconsin; http:DairyMGT.info.

Tabla 1. Lista de los simuladores de toma de decisiones para la explotación lechera disponibles abierta y gratuitamente (abril 2014) en la página web sobre la Gestión de Explotaciones Lecheras de la Universidad de Wisconsin (DairyMGT.info/Tools).

Alimentación y nutrición

1. ***FeedVal 2012*** – Calcula el valor de mercado justo de los ingredientes de la ración de las vacas lecheras.
2. ***Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle***. Evalúa las estrategias de agrupamiento nutricional para alimentar al ganado lechero en lactación.
3. ***Optigen ® Evaluator.*** Calcula el valor económico de utilizar Optigen® (aditivo de urea de liberación lenta) en vacas en lactación.
4. ***Income Over Feed Supplement Cost.*** Maximiza los ingresos sobre el coste del suplemento alimentario para una cantidad determinada de forraje utilizado en la dieta y traza una gráfica con el intercambio de dos suplementos alimentarios seleccionados.
5. ***Dairy Extension Feed Cost Evaluator.*** Compara los costes e ingresos de la alimentación sobre los costes de la alimentación en un grupo de rebaños participantes.
6. ***Corn Feeding Strategies.*** Calcula los ingresos sobre el coste del alimento, el valor marginal de la leche para el maíz,

y el nivel óptimo de uso del maíz para precios de la leche, costes de alimentación y fases de lactación definidos.

7. ***Dairy Ration Feed Additive Break-Even Analysis.*** Estima el punto de equilibrio de la producción lechera necesario para pagar un ingrediente aditivo alimentario a la ración.

1. Manejo y reemplazo de novillas

8. ***Heifer Pregnancy Rate.*** Calcula la tasa real de preñez de las novillas de un rebaño.
9. ***Cost-Benefit of Accelerated Liquid Feeding Program for Dairy Calves.*** Evalúa el uso de los programas de alimentación acelerada de terneras.
10. ***Economic Value of Sexed Semen Programs for Dairy Heifers.*** Estima la diferencia entre el valor presente neto de varios programas reproductivos de semen sexado y un programa reproductivo de semen convencional para novillas lecheras.
11. ***Heifer Replacement.*** Calcula el número necesario de novillas de reemplazo para mantener constante el tamaño del rebaño.
12. ***Heifer Break-Even.*** Calcula el coste total de criar novillas a los 12 meses, 24 meses, y después de 24 meses.

Eficiencia reproductiva

13. ***Wisconsin-Cornell Dairy Repro: A Reproductive Programs Economics Analysis Tool.*** Simula todas las vacas del rebaño y su economía diaria, y calcula el rendimiento neto asociado a los parámetros de desempeño reproductivo.
14. ***Exploring Timing of Pregnancy Impact on Income Over Feed Cost.*** Combina las definiciones de las curvas de lactación nuevas con las figuras económicas claves para ayudar a los productores de leche a explorar el impacto del momento de la concepción sobre los ingresos de la leche sobre el costo de alimentación.
15. ***Dairy Reproductive Economic Analysis.*** Simula un rebaño lechero y sus reemplazos durante 9 lactaciones: desde el momento del primer parto hasta el noveno.

Producción y productividad

16. ***Milk Curve Fitter.*** Ajusta las curvas de lactación a los datos del rebaño observados por el usuario.
17. ***Decision Support System Program for Dairy Production and Expansion.*** Ayuda a explorar las situaciones de "qué pasaría si" mediante la predicción de los flujos de caja. Predice los cambios en la estructura del rebaño para los terneros, las novillas, y las vacas y su rentabilidad.
18. ***Economic Analysis of Switching from 2X to 3X Milking***. Estima el beneficio (o pérdida) económico de un cambio en la frecuencia de ordeño de 2 veces al día (2X) a 3 veces al día (3X) en función de los parámetros definidos por el usuario.
19. ***Lactation Benchmark Curves for Wisconsin.*** Compara las curvas de lactación de referencia de Wisconsin con los datos del usuario.
20. ***Economic Evaluation of using rbST.*** Evalúa el coste/beneficio del uso de la somatotropina bovina recombiante.
21. ***Alfalfa Yield Predictor: Using a Computer Application to Predict Irrigated Alfalfa Yield.*** Predice el rendimiento de la alfalfa de acuerdo con los parámetros del ususario para el letargo otoñal, corte, altura, crecimiento días-grado, y lluvia.

Reemplazo del rebaño adulto

22. ***The Economic Value of a Dairy Cow***. Calcula el retorno neto proyectado de una vaca o del rebaño entero. También calcula el retorno neto de una vaca promedio del rebaño.
23. ***Value of a Springer.*** Calcula el valor de una novilla de reemplazo bajo las condiciones específicas de la granja.
24. ***Herd Structure Simulation.*** Simula las dinámicas de una población de vacas lecheras sobre una base mensual y pronostica el rendimiento futuro del rebaño.
25. ***Retention Pay-Off (RPO) Calculator.*** Calcula el valor económico de mantener a una vaca en el rebaño.

Salud

26. ***Economic Evaluation of CholiPEARL.*** Calcula el retorno sobre la inversión de una tecnología dada que afirma ser eficaz en la prevención de la cetosis subclínica.

Gestión de riesgos de precio y evaluación financiera

27. ***Livestock Gross Margin Insurance for Dairy***. Calcula y minimiza el precio premium de un contrato de seguros en función de los parámetros específicos de la granja y el nivel de protección seleccionado.
28. ***Working Capital Decision Support System.*** Ayuda a los productores de leche en la identificación de los balances de flujos de caja anuales para los últimos 2 años.
29. ***The Wisconsin Dairy Farm Ratio Benchmarking Tool.*** Compara el estado financiero de la granja lechera con más de 500 explotaciones lecheras del Estado de Wisconsin.
30. ***Milk Component Price Analysis.*** Calcula el valor de cada componente de la leche y la prima/deducción en función del nivel de RCS (recuento de células somáticas). Realiza análisis de sensibilidad de acuerdo a distintos niveles de grasa butírica, proteínas, otros componentes, y RCS.

Gestión medioambiental

31. ***Dairy Nutrient Manager***. Equilibra los nutrientes en función de los cultivos plantados, los análisis de la tierra, las aguas residuales de irrigación, el abono seco aplicado, y los fertilizantes químicos suplementados definidos por el productor.
32. ***Grazing-N.*** Estima el balance de nitrógeno (N) para la actividad de pastoreo de novillas lecheras y vacas secas.
33. ***Seasonal Manure Excretion.*** Predice la excreción de estiércol de temporada de las vacas en lactación.
34. ***Dynamic Dairy Farm Model.*** Realiza balances dinámicos de N de granjas lecheras completas.

Ilustración de los simuladores seleccionados y la toma práctica de decisiones

Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle

Hay pruebas de que los productores de leche pueden estar sobrealimentando a una gran proporción de vacas en lactación cuando alimentan con la misma ración a un grupo grande de animales (por ejemplo, la misma RMT [ración mixta total] para todas las vacas en lactación). Las dietas normalmente se formulan para proporcionar nutrientes suficientes a los animales más productivos, lo que a su vez da nutrientes extra a los animales menos productivos. Por lo tanto, separar a las vacas en lactación en grupos más pequeños y ofrecerles raciones de comida específicas para su grupo proporciona unos requisitos de nutrientes más precisos, un aumento de los ingresos del rebaño sobre el coste del alimento, y una disminución de la excreción de nutrientes [12]. El simulador "***Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle***" calcula de forma dinámica los requisitos nutricionales individuales de cada vaca y optimiza las estrategias de alimentación de los grupos de vacas dentro de las limitaciones particulares de la granja.

Se analizó el valor de las estrategias de alimentación de los grupos aplicando la herramienta de agrupamiento en 30 explotaciones

lecheras en Wisconsin. Los registros de la prueba se recogieron y se ajustaron a conjuntos de datos consistentes en identificación de la vaca, lactación, días después del parto, producción lechera, y grasa butírica en leche para cada vaca en cada granja. El objetivo de este análisis era demostrar el valor de agrupar frente a no agrupar sin saber las estrategias de alimentación reales de las granjas estudiadas. Por tanto, se siguieron los mismos procedimientos e hipótesis en cada granja analizada: 1) comparación de no agrupar frente a formar 3 grupos del mismo tamaño, 2) precios a 15,89$/45,4 kg de leche; 0,14337$/0,454 kg de proteína bruta (PB) y 0,1174$/4,19 mega julios (MJ) de energía neta, 3) peso corporal medio de 500 kg para las vacas en su primera lactación y de 590 kg para las vacas en su segunda lactación o posteriores, 4) requerimientos de PB y energía neta en el nivel del percentil 83 del grupo (media + 1 desviación típica), y 5) un criterio de agrupación clúster (agrupar a las vacas en función de sus requerimientos de PB y energía neta para su mantenimiento y producción lechera).

Las evaluaciones demostraron de forma clara y consistente que los ingresos sobre el coste del alimento (ISCA) fueron mayores para las estrategias de alimentación en 3 grupos que la estrategia de no agrupar, en todas las granjas analizadas (Tabla 2).

Tabla 2. Comparación del ingreso sobre el coste del alimento (ISCA) de no agrupar frente a 3 grupos de alimentación del mismo tamaño para explotaciones lecheras de Wisconsin evaluadas por la herramienta: ***Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle***.

	Número de vacas en lactación en las granjas analizadas (n = 30)	ISCA de no agrupar	ISCA de los 3 grupos de alimentación del mismo tamaño	ISCA adicional de hacer 3 grupos de alimentación del mismo tamaño
		$/vaca por año		
Media	788	2.311	2.707	396
Mínimo	<200	697	1.059	161
Máximo	>1.000	2.967	3.285	580

El análisis indicó que las granjas podrían conseguir entre 161$ y 580$ cada año (media = 396$) de ISCA adicional cambiando de no hacer agrupaciones a formar 3 grupos de alimentación del mismo tamaño utilizando el criterio de agrupamiento clúster. Estos valores representan un incremento de entre un 7 y un 52% del ISCA calculado por la granja. Se concluyó entonces que el agrupamiento podía tener implicaciones económicas importantes en la rentabilidad de la granja y que deberían hacerse análisis posteriores a nivel específico de granja y en una base permanente a través del uso del simulador ***Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle***.

Economic Value of Sexed Semen for Dairy Heifers

El semen sexado que aumenta las posibilidades de criar hembras es una tecnología relativamente nueva que se está adoptando ampliamente en la industria lechera. El valor económico del semen sexado específico de la granja y, sobre todo, cuándo y cómo usarlo, es fundamental. La herramienta "***Economic Value of Sexed Semen for Dairy Heifers***" halla interactivamente la ganancia (o pérdida) de distintas estrategias de gestión de programas reproductivos que incluyen el semen sexado en comparación con el uso de semen convencional solamente [13].

La herramienta ***Economic Value of Sexed Semen for Dairy Heifers*** se utilizó para las condiciones generales de las explotaciones lecheras de Wisconsin con base en los datos de una muestra de 309 granjas lecheras y 38 productores de novillas por encargo, una encuesta realizada por agentes de extensión del condado [14]. En el momento del análisis, utilizando los datos agregados de las 347 operaciones, el beneficio económico medio de utilizar semen sexado, calculado por la herramienta, era de 30$ por novilla. Los resultados confirmaron que la mayoría de estos productores estaban utilizando de manera óptima esta nueva tecnología. La estaban utilizando solo para el primer y el segundo servicio, que era la misma estrategia óptima encontrada por la herramienta [14]. Una conclusión principal de este análisis es que la tecnología del semen sexado tiene un beneficio económico, pero sería recomendado sobre todo cuando la tasa de concepción del semen sexado fuera por lo menos el 80% del semen convencional, el valor de la novilla fuera alto, y cuando el precio del semen sexado fuera el doble o menos que el del semen convencional. Dado que la tasa de concepción tanto del semen convencional como del semen sexado y los precios de mercado son parámetros determinantes importantes, una recomendación principal es que el análisis debería llevarse a cabo de forma específica para cada granja y de forma permanente, por lo que la herramienta de apoyo para las decisiones juega un papel importante.

Dairy Reproductive Economic Analysis

Tan importante como averiguar el valor de los programas reproductivos específicamente definidos - que se puede hacer a través de la herramienta ***Wisconsin-Cornell Dairy Repro: A Reproductive Programs Economics Analysis Tool*** – es buscar el valor de mejorar la eficiencia reproductiva general. La herramienta "***Dairy Reproductive Economic Analysis***" es un modelo dinámico estocástico basado en la cadena de Markov incluido en una aplicación online fácil de utilizar. Este simulador integra parámetros detallados de preñez, aborto, y riesgos de triado para realizar iteraciones durante 9 lactaciones hasta que un rebaño alcance una tasa estable [15]. Entonces, el valor económico de un programa reproductivo se determina utilizando las curvas de producción de leche previstas, el valor de la ternera, el coste de reemplazo, y otras figura económicas. El resultado final es un retorno neto ligado al desempeño reproductivo.

Se recogieron y se resumieron los datos publicados junto a los registros de las explotaciones lecheras para crear una granja representativa para evaluar el valor de mejorar la eficiencia reproductiva medida como la mejora de la tasa de preñez de 21 días utilizando la herramienta ***Dairy Reproductive Economic Analysis***. Los datos consistían de información detallada en matrices de probabilidades de transición de reemplazos y riesgos de aborto; la definición de las curvas de lactación, y varios parámetros económicos. Entonces, el simulador se utilizó múltiples veces para representar las ganancias incrementales en la eficiencia reproductiva.

Una tendencia ligeramente decreciente de la ganancia económica con respecto a la tasa de preñez de 21 días se muestra en la Figura 2: cuanto mayor es la tasa de preñez de 21 días original, menor es la ganancia. No obstante, la herramienta muestra claramente que incluso en una tasa de preñez de 21 días del 30%, una tasa de preñez realmente buena, todavía existe una oportunidad de obtener ganancias adicionales debido a la mejora de la eficiencia reproductiva. La herramienta, además, presenta los factores principales de los que viene el valor adicional (en orden): mayor ingreso por leche sobre el coste del alimento, costes de triado más bajos, mayores ingresos de las terneras, y menores

costes reproductivos. Estos resultados se están utilizando en un gran programa de extensión (*repro money*, http://fyi.uwex.edu/repromoney/) para promover la mejora en la eficiencia reproductiva en cientos de explotaciones lecheras, pero siempre con la recomendación final de que los datos específicos de la granja y la información de las condiciones actuales de mercado se deberían utilizar con el simulador para tener evaluaciones más precisas.



Figura 2. Ganancia económica neta proyectada de mejorar la tasa de preñez de 21 días a partir de una línea de base del 10% evaluada por la herramienta ***Dairy Reproductive Economic Analysis***.

Decision Support System for Dairy Production and Expansion

Algunos productores de leche también están interesados en la posibilidad de expandir o modernizar las instalaciones de su granja o aumentar el tamaño de su rebaño. Por tanto, necesitan ayuda para tomar importantes decisiones que conducirán el futuro de las operaciones de su explotación lechera. La herramienta "***Decision Support System for Dairy Production and Expansion***" es una aplicación en forma de hoja de cálculo que permite a los productores de leche delinear las condiciones actuales de su explotación en materia de estructura del rebaño y condiciones de mercado, definir un posible plan de expansión o modernización incluyendo los préstamos requeridos (para instalaciones y animales), y proyectar los flujos de caja de toda la explotación hasta un periodo de 54 meses hacia el futuro.

Trescientas explotaciones lecheras completaron un cuestionario por correo sobre sus deseos y necesidades de expansión o modernización [16]. Setenta y ocho explotaciones (26% de los que respondieron) indicaron que estaban pensando en expandirse o modernizar sus instalaciones y señalaron como la razón más importante para hacerlo el incremento esperado del retorno neto de la granja. Es importante que, reconocieran en gran medida la incertidumbre del proceso de expansión como un gran obstáculo y, por tanto, pidieran herramientas de apoyo de decisiones que les permitiesen proyectar de forma sistemática sus opciones y analizar escenarios. Entonces se contactó con más de 20 de estos productores y se les ofreció la posibilidad de realizar esas proyecciones a través de la herramienta ***Decision Support System Program for Dairy Production and Expansion***. El resultado general fue que todos los productores admitieron que la herramienta representaba razonablemente bien sus explotaciones y, por tanto, confiarían en sus proyecciones de futuro. Se utilizaron análisis adicionales para confirmar o rechazar sus evaluaciones preconcebidas y para ayudar a los productores a tomar decisiones más fundamentadas durante todo el proceso de expansión o modernización. Por lo menos 10 productores hicieron algunos ajustes en su proceso de expansión o modernización gracias a la herramienta y todos ellos indicaron que seguirían utilizando el simulador durante toda su operación de expansión o modernización.

The Economic Value of a Dairy Cow

Los productores de leche necesitan tomar importantes decisiones en cuanto a mantener o reemplazar vacas en el rebaño. La decisión óptima dependerá de qué alternativa traería un mayor retorno neto en el futuro. La herramienta "***The Economic Value of a Dairy Cow***" es un modelo complejo de simulación que emplea la cadena de Markov, pero su aplicación es fácil de usar y calcula de forma interactiva el valor económico de una vaca (o el valor de cada una de las vacas del rebaño) en comparación con su reemplazo [17]. Los productores utilizan este valor para tomar decisiones más fundamentadas sobre mantener o reemplazar las vacas. Esta herramienta, además, calcula la demografía esperada del rebaño y el retorno neto medio del rebaño para una mejor y adicional gestión de la granja lechera y toma de decisiones.

Se recogieron datos representativos sobre las granjas de Wisconsin de fuentes oficiales, registros de las explotaciones, e informes de mercado para hacer un escenario de referencia [17] del que los usuarios podrían seleccionar modificaciones en función de sus propias condiciones. Los resultados de estos datos, incluidos en la herramienta ***Economic Value of a Dairy Cow***, indicaban que la producción esperada de leche de la vaca era el único y más importante factor para las decisiones de reemplazo. Los impactos de aumentar o disminuir hasta un 20% la producción media de leche de una vaca se presentan en la Tabla 3. Es evidente que las expectativas de producción de leche de las lactaciones siguientes es un factor mucho más importante para las vacas preñadas mientras que el impacto de la esperanza de producción de leche de esta lactación y lactaciones futuras son factores de importancia similar para las vacas no preñadas.

Aunque estos números son buenos indicadores para la toma de decisiones en la explotación, no se puede subestimar la necesidad de utilizar la herramienta con las condiciones específicas de la granja y bajo las condiciones actuales de mercado.

Esta herramienta, ***Economic Value of a Dairy Cow***, también se ha utilizado para valorar los activos animales de la granja. La herramienta se configuró primero con todos los parámetros correspondientes a la granja específica y con las variables económicas que representaban las condiciones de mercado. Después, el productor creaba una lista de todas las vacas en la explotación, incluyendo su estado actual (lactación, meses después del parto, estado de gestación) y, muy importante, su producción proyectada de leche. Entonces, se calculaba un valor para cada una de las vacas del rebaño. Finalmente, el valor residual calculado se añadía al valor de la vaca. El productor era entonces capaz de utilizar estos datos para conseguir un apoyo monetario continuado de una institución financiera.

Desarrollos Futuros: Mantenerse al Día con la Tecnología y las Necesidades

Ahora más que nunca, los productores de leche tienen a su disposición una serie de tecnologías emergentes y en desarrollo. Estas incluyen el uso de smart phones, tablets y dispositivos de hardware similares; recursos de software más eficientes; y redes de datos mejoradas. No hay duda de que la tendencia de rápida mejora tecnológica en el área de la informática, el software y el desarrollo de aparatos continuará, incluso a mayor ritmo. Los productores progresistas y una proporción en aumento de agentes de extensión y asesores de las explotaciones lecheras ya están utilizando estas tecnologías. Las nuevas tecnologías traen consigo desafíos para mantener los sistemas de información actualizados, pero al mismo tiempo aportan grandes oportunidades para el desarrollo mejorado de simuladores.

Una ventaja importante de los smart phones y las tablets es su portabilidad, junto a su conectividad. Hoy en día, a los productores les gusta la voz y, sobre todo, las redes de datos y, por tanto,

la capacidad de guardar y recuperar datos desde cualquier lugar en cualquier momento. Por ejemplo, un ganadero puede tener la información completa de una vaca (por ejemplo, edad, lactación, estado de preñez, historial productivo, la producción del día, el trasfondo genético, incidentes sanitarios, etc.) en la punta de sus dedos en cualquier momento. El productor puede saber si la vaca está en ese momento en un corral, en la zona de ordeño, o en el campo pastando. Esto brinda la oportunidad al productor de tomar decisiones críticas y urgentes directamente. Este puede ser uno de los mayores beneficios de las aplicaciones de los smart phones y las tablets. Los simuladores tienen que integrarse en estas nuevas tecnologías y tienen que aprovecharse de estas ventajas importantes.

No obstante, un inconveniente de las aplicaciones para smart phones y tablets es su reducido tamaño en la pantalla y algunas limitaciones del hardware y el software. Las aplicaciones tienen que ser diseñadas especialmente para los smart phones y las tablets. Normalmente, la información introducida y recuperada necesitará ser resumida o precisará capas adicionales de navegación. Detalles de diseño adicionales pueden, sin embargo, conducir a simuladores más compactos, más intuitivos y, en general, más eficientes.

Hay una compensación de funcionalidad y retorno. La industria parece favorecer a los dos tipos: aplicaciones para ordenadores convencionales y portátiles añadidas a las aplicaciones para smart phones y tablets. El que tome las decisiones seleccionará qué tipo de herramienta utilizar en cada situación particular. Desde el punto de vista del desarrollo, este es un desafío adicional que requiere más trabajo y experiencia.

Consideraciones importantes con respecto a las tecnologías inminentes y en desarrollo son la creciente necesidad para la integración de los simuladores con los sistemas de información utilizados actualmente en las granjas. La mayoría de los productores ya están utilizando algún tipo de software o sistema de información para la gestión de operaciones, como la alimentación, el mantenimiento del registro general, los programas de sincronización reproductiva, identificación, dispositivos de calor, u otros. Los simuladores reflejados en este trabajo y otros similares tienen la oportunidad de convertirse en el puente entre estos sistemas de información. Los simuladores pueden utilizar la información en vivo de los registros de las granjas y proporcionar predicciones que van más allá de los simples resúmenes de mantenimiento de registros. La experiencia del productor combinada con las proyecciones a tiempo real utilizando sistemas de mantenimiento de registros de la granja es una poderosa combinación para una toma de decisiones eficiente y efectiva en la gestión de la explotación lechera de cara a la eficiencia económica y medioambiental y la mejora de la rentabilidad.

Conclusión

Se han desarrollado más de 30 simuladores computerizados para ayudar a los productores de leche en sus necesidades continuas de toma de decisiones. Todas estas herramientas están disponibles abierta y gratuitamente en la página web de Gestión de Explotaciones Lecheras de la Universidad de Wisconsin, http://DairyMGT.info, en la sección de *Herramientas*. Los simuladores están agrupados según las principales áreas de gestión de la ganadería lechera, como alimentación y nutrición, eficiencia reproductiva, manejo y reemplazo de novillas, producción y productividad, gestión de riesgos de precio y evaluación financiera, y gestión medioambiental. El objetivo final siempre ha sido proporcionar herramientas de gestión sólidas, pero fáciles de usar, para la toma de decisiones prácticas en las explotaciones lecheras. Los simuladores han demostrado ser herramientas efectivas de toma de decisiones para mejorar el funcionamiento y la rentabilidad en la ganadería lechera.

Agradecimientos

Este trabajo es un extracto modificado y actualizado del capítulo: Cabrera, V. E. 2012. DairyMGT: A suite of decision support systems in dairy farm management. IN Decision Support Systems. Jao C. (Ed.), INTECH, Rijeka, Croacia.

El desarrollo y mantenimiento de los simuladores de DairyMGT.info ha sido posible gracias al apoyo parcial de varias subven-

Tabla 3. Impacto de la producción de leche esperada sobre el valor de las vacas con 2 meses de gestación a los 8 meses después del parto y las vacas no preñadas a los 7 meses después del parto, evaluado con la herramienta ***Economic Value of a Dairy Cow***. Los valores en negrita representan la vaca con una producción media en el rebaño (100%).

Producción de leche esperada (% de la vaca promedio)		**Valor de la vaca con 2 meses de gestación a los 8 meses después del parto, $**			**Valor de la vaca no preñada a los 7 meses después del parto, $**		
Resto de la Lactación[1]	**Lactaciones sucesivas[2]**	**1ª Lactación**	**2ª Lactación**	**3ª Lactación**	**1ª Lactación**	**2ª Lactación**	**3ª Lactación**
120	120	2.458	2.038	2.002	1.973	1.485	1.462
120	100	1.045	877	829	1.109	857	814
120	80	-380	-284	-345	244	230	165
100	120	1.891	1.499	1.477	1.184	796	809
100	**100**	**479**	**338**	**304**	**320**	**168**	**161**
100	80	-934	-823	-870	-545	-460	-487
80	120	1.325	961	952	395	106	157
80	100	-88	-200	-221	-469	-521	-491
80	80	-1.501	-1.361	-1.395	1.344	1.149	-1.139

[1]Producción esperada de leche de la vaca (% de la vaca promedio) desde el estado actual hasta el final de la presente lactación. [2] Producción esperada de leche de la vaca (% de la vaca promedio) en todas las lactaciones sucesivas.

ciones: Agriculture and Food Research Initiative from the USDA National Institute of Food and Agriculture Competitive Grants No.: 2010-51300-20534, 2010-85122-20612, 2011-68004-30340 y algunas becas Hatch al V.E.C del College of Agriculture and Life Sciences at the University of Wisconsin-Madison.

Referencias

[1] Rotz CA, Corson MS, Chianese DS, Montes F, Hafner SD, Coiner CU. The Integrated Farm System Model: Reference Manual Version 3.5. USDA Agricultural Research Service; 2011. http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/19020000/ifsmreference.pdf (accessed 5 May 2012).

[2] Cabrera VE, Hildebrand PE, Jones JW, Letson D, de Vries A. An Integrated North Florida Dairy Farm Model to Reduce Environmental Impacts under Seasonal Climate Variability. Agriculture Ecosystems & Environment 2006;113 82-97.

[3] Groenendaal H, Galligan DT, Mulder HA. An Economic Spreadsheet Model to Determine Optimal Breeding and Replacement Decisions for Dairy Cattle. Journal of Dairy Science 2004:87 2146-2157.

[4] Meadows C, Rajala Schultz PJ, Frazer GS. A Spreadsheet-Based Model Demonstrating the Nonuniform Economic Effects of Varying Reproductive Performance in Ohio Dairy Herds. Journal of Dairy Science 2005:88(3) 1244-1254.

[5] Giordano JO, Fricke PM, Wiltbank MC, Cabrera VE. An Economic Decision-Making Support System for Selection of Reproductive Management Programs on Dairy Farms. Journal of Dairy Science 2011:94 6216-6232.

[6] Cabrera VE, Breuer NE, Hildebrand PE. Participatory Modeling in Dairy Farm Systems: A Method for Building Consensual Environmental Sustainability Using Seasonal Climate Forecasts. Climatic Change 2008:89 395-409.

[7] Breuer NE, Cabrera VE, Ingram KT, Broad K, Hildebrand PE. AgClimate: A Case Study in Participatory Decision Support System Development. Climate Change 2008:87 385-403.

[8] Cabrera VE, Breuer NE, Hildebrand PE, Letson D. The Dynamic North Florida Dairy Farm Model: A User-Friendly Computerized Tool for Increasing Profits while Minimizing Environmental Impacts. Computer and Electronics in Agriculture 2005:86 207-222.

[9] Fraisse CW, Bellow JG, Breuer NE, Cabrera VE, Hatch L, Hogenboom G, Ingram K, O'Brien JW, Paz JJ, Zierden D. AgClimate: A Climate Forecast Information System for Agricultural Risk Management in the Southeastern USA. Computer and Electronics in Agriculture 2006:53 13-27.

[10] Cabrera VE, de Vries A, Hildebrand PE. Manure Nitrogen Production in North Florida Dairy Farms: A Comparison of Three Models. Journal of Dairy Science 2006:89 1830-1841.

[11] Cabrera VE, Jagtap S, Hildebrand PE. Strategies to Limit (Minimize) Nitrogen Leaching on Dairy Farms Driven by Seasonal Climate Forecasts. Agriculture Ecosystems & Environment 2007:122 479-489.

[12] Cabrera VE, Contreras F, Shaver RD, Armentano L. Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle. Four-State Dairy Nutrition and Management Conference. Dubuque, IA; 2012.

[13] Cabrera VE. When to Use Gender Biased Semen: Economics. Dairy Cattle Reproductive Council Annual Convention. Boise, ID and St. Paul, MN; 2009.

[14] Sterry R, Brusveen D, Cabrera VE, Weigel K, Fricke P. Why They Use Sexed Semen. Hoard's Dairyman Magazine: 25 March 2009: 25.

[15] Giordano JO, Kalantari A, Fricke, PM, Wiltbank, MC, Cabrera, VE. A Daily Herd Markov-Chain Model to Study the Reproductive and Economic Impact of Reproductive Programs Combining Timed Artificial Insemination and Estrous Detection. Journal of Dairy Science 2012:*in press*.

[16] Cabrera VE, Janowski JM. Wisconsin Dairy Business and Production Survey: Comparison between Farms Planning to Expand and Farms not Planning to Expand. Journal of Extension 2011:3RIB1. http://www.joe.org/joe/2011june/rb1.php (accessed 10 May 2012).

[17] Cabrera, VE. A Simple Formulation of the Replacement Problem: A Practical Tool to Assess the Economic Value of a Cow, the Value of a New Pregnancy, and the Cost of a Pregnancy Loss. Journal of Dairy Science 2012: *in press*.

ENGLISH VERSION ▼

Using simulators to improve profitability on dairy farms

Victor E. Cabrera
Department of Dairy Science, University of Wisconsin-Madison, U.S.A.
vcabrera@wisc.edu

Introduction

Dairy farming is a highly dynamic and integrated production system that requires continuous and intense decision-making for improved profitability. Several dairy farm components that include 1) cattle, 2) crops, 3) soils, 4) weather, 5) management, 6) economics, and 7) environment are extremely interrelated [1]. These components and their sub-components dynamically affect and are affected among them. Their individual and aggregated economic impacts are difficult to assess without a systematic and rigorous simulation approach. Therefore, decision support system simulators are critical for successful dairy farming management and decision-making towards economic efficiency and environmental stewardship [2-5].

This paper lists the large number of available simulators at the University of Wisconsin Dairy Management Website aimed to assist dairy farm managers and dairy farm advisors to improve their continuous decision-making and problem solving abilities towards improved economic and environmental sustainability. This paper also demonstrates the practical and real-life application of a selected number of these simulators demonstrating satisfactory system assessment, acceptable future predictability, adequate scenario evaluation, and, consequently, satisfactory decision-making for improved profitability.

These simulators emerged in response of dairy farm managers' needs and were shaped with their input and feedback [6-7]. No single or special methodology was used consistently to develop all of them, but instead a combination and adaptation of methods and empirical techniques with the overarching goal that these always were: 1) highly user-friendly, 2) farm and user specific, 3) grounded on the best scientific information available, 4) remaining relevant throughout time, and 5) providing fast, concrete, and simple answer to complex farmers' questions [2, 8-11]. After all, these simulators become innovative tools converting expert information into useful and farm-specific management decisions taking advantage of latest software and computer technologies.

All the simulators object of this chapter are openly and freely available at http://DairyMGT.info (Figure 1) at the *Tools* section and are categorized within dairy farming management and decision making areas of: 1) nutrition and feeding, 2) reproductive efficiency, 3) heifer management and cow replacement, 4) production and productivity, 5) price risk management and financial assessment, and 6) environmental stewardship (Table 1). Depending on the complexity, the specific purpose, and the requirements of dairy farm decision makers, some are completely online applications, others are self-contained Spreadsheets, and others are self-extractable and installable programs.

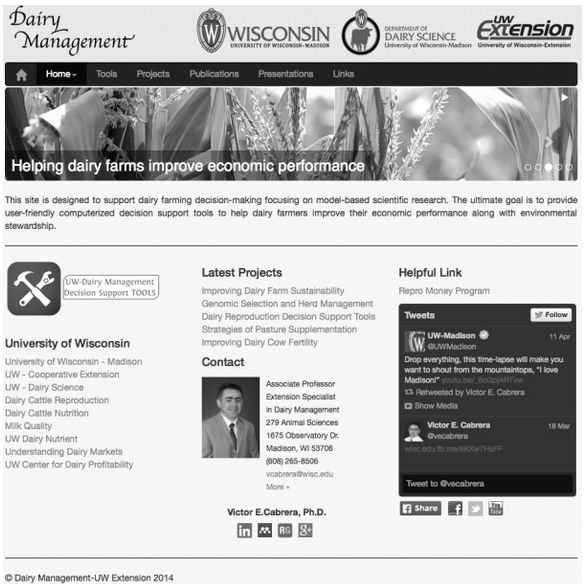


Figure 1. Screenshot of the University of Wisconsin Dairy Management home Website; http:DairyMGT.info.

Table 1. List of dairy farm decision-making simulators openly and freely available (April 2014) at the University of Wisconsin Dairy Management Website (DairyMGT.info/Tools).

Feeding and nutrition

1. ***FeedVal 2012*** – Estimates the fair market value of dairy feed ingredients.
2. ***Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle***. Evaluates nutritional grouping strategies for feeding lactating dairy cattle.
3. ***Optigen ® Evaluator.*** Calculates the economic value of using Optigen® (a slow-release urea additive) to lactating cows.
4. ***Income Over Feed Supplement Cost.*** Maximizes the income over feed supplement cost for a fixed amount of forage used in the diet and graphs it to a substitution of two selected feed supplements.
5. ***Dairy Extension Feed Cost Evaluator.*** Benchmarks feed costs and income over feed cost for a group of participating herds.
6. ***Corn Feeding Strategies.*** Calculates the income over feed cost, the marginal value of milk to corn, and the optimal level of corn usage for defined milk price, feed costs, and stage of lactation.
7. ***Dairy Ration Feed Additive Break-Even Analysis.*** Estimates the break-even milk production needed to pay for a ration feed additive ingredient.

Heifer management and replacement

8. ***Heifer Pregnancy Rate.*** Calculates the true heifer pregnancy rate of a herd.
9. ***Cost-Benefit of Accelerated Liquid Feeding Program for Dairy Calves.*** Evaluates the use of accelerated heifer feeding programs.
10. ***Economic Value of Sexed Semen Programs for Dairy Heifers.*** Estimates the difference of the net present value of various sexed semen reproductive programs and a conventional semen reproductive program for dairy heifers.

11. ***Heifer Replacement.*** Calculates the number of heifers needed as replacement to maintain constant the herd size.

12. ***Heifer Break-Even.*** Calculates the total cost of raising heifers at 12 months, 24 months, and after 24 months.

Reproductive efficiency

13. ***Wisconsin-Cornell Dairy Repro: A Reproductive Programs Economics Analysis Tool.*** Simulates all cows in a herd and their economics daily, and computes the net return associated to reproductive performance parameters.
14. ***Exploring Timing of Pregnancy Impact on Income Over Feed Cost.*** Combines novel lactation curve definitions with key economic figures to help dairy producers explore the impact of pregnancy timing on milk Income Over Feed Cost.
15. ***Dairy Reproductive Economic Analysis.*** Simulates a dairy herd and their replacements for 9 lactations: from the moment of the first calving to the 9th parturition.

Production and productivity

16. ***Milk Curve Fitter.*** Fits milk curves to user-input observed herd data.
17. ***Decision Support System Program for Dairy Production and Expansion.*** Helps explore "what-if" situations by predicting cash flows. Forecast changes in herd structure for calves, heifers, and cows and their economics.
18. ***Economic Analysis of Switching from 2X to 3X Milking***. Estimates the economic benefit (or loss) of a change in the milking frequency from 2 times a day (2X) to 3 times a day (3X) based on user-defined parameters.
19. ***Lactation Benchmark Curves for Wisconsin.*** Compares Wisconsin benchmark lactation curves with user data.
20. ***Economic Evaluation of using rbST.*** Evaluates the cost/benefit of using recombinant bovine Somatotropin.
21. ***Alfalfa Yield Predictor: Using a Computer Application to Predict Irrigated Alfalfa Yield.*** Predicts the yield of alfalfa according to user-defined fall dormancy, cutting, height, growing degree-days, and rainfall.

Replacement of adult herd

22. ***The Economic Value of a Dairy Cow***. Calculates the projected net return of a cow or the entire herd. It also computes the net return of an average cow in the herd.
23. ***Value of a Springer.*** Calculates the value of a replacement heifer under specific farm conditions.
24. ***Herd Structure Simulation.*** Simulates the dynamics of a dairy herd population on a monthly basis and forecast the future make-up of a herd.
25. ***Retention Pay-Off (RPO) Calculator.*** Calculates the economic value of maintain a cow on the herd.

1. Health

26. ***Economic Evaluation of CholiPEARL.*** Calculates the return over investment of a given technology that claims to be effective preventing subclinical ketosis.

Price risk management and financial assessment

27. ***Livestock Gross Margin Insurance for Dairy***. Calculates and minimizes the premium price of an insurance contract under farm-specific parameters and selected protection level.
28. ***Working Capital Decision Support System.*** Assists dairy producers in identifying annual cash flow balances for the past 2 years.
29. ***The Wisconsin Dairy Farm Ratio Benchmarking Tool.*** It compares dairy farm's financial status with +500 dairy farms in the State of Wisconsin.
30. ***Milk Component Price Analysis.*** Calculates the value of each milk component and the premium/deduction according to the level of SCC. Performs sensitivity analysis according to different levels of butterfat, protein, other components, and SCC.

Environmental stewardship

31. ***Dairy Nutrient Manager***. Balances nutrients according to user-defined crops planted, soil analyses, effluent irrigated, dry manure applied, and chemical fertilizers supplemented.
32. ***Grazing-N.*** Estimates the N balance for grazing activity of dairy heifers and dry cows.
33. ***Seasonal Manure Excretion.*** Predicts seasonal manure excretion of lactating cows.
34. ***Dynamic Dairy Farm Model.*** Performa dynamic N balances of entire dairy farm systems.

Illustration of Selected Simulators and Practical Decision-Making

Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle

There is evidence that dairy farmers might be over-feeding a large proportion of lactating cows when they feed the same diet ration to a large group of animals (e.g., same TMR to all lactating cows). Diets are normally formulated to provide enough nutrients to the most productive animals, which in turn gives extra nutrients to the less productive animals. Therefore, splitting lactating cows in smaller groups and offering group-specific feeding rations provide more precise nutrient requirements, increase herd's income over feed cost, and decrease nutrient excretion [12]. The simulator "***Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle***" calculates dynamically individual cow nutrient requirements and optimizes cow grouping feeding strategies within particular farm constraints.

The value grouping feeding strategies was analyzed by applying the grouping tool to 30 dairy farms in Wisconsin. Test records were collected and adjusted to datasets consisting of cow identification, lactation, days after calving, milk production, and milk butterfat for each cow in each farm. The aim of this analysis was to demonstrate the value of grouping compared to no grouping without knowing studied farms' actual feeding strategies. Therefore, same procedure and assumptions were followed on each analyzed farm: 1) comparison of no grouping versus 3 same-size groups, 2) prices at $15.89/45.4 kg milk, $0.14337/0.454 kg CP, and $0.1174/4.19 mega joules (MJ) net energy, 3) average body weight of 500 kg for first lactation cows and 590 kg for cows in second and later lactations, 4) requirements of CP and net energy at the 83rd percentile level of the group (mean + 1 standard deviation), and 5) a cluster grouping criterion (grouping cows depending on their CP and net energy requirements for maintenance and milk production).

Evaluations clearly and consistently demonstrated that the income over feed cost (IOFC) in all analyzed farms was greater for the 3 feeding groups strategy than the no groping strategy (Table 2).

Table 2. Comparison of income over feed cost (IOFC) of no grouping versus 3 same-size feeding groups for Wisconsin dairy farms assessed by the tool: ***Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle***.

	Number of lactating cows on analyzed farms (n = 30)	No grouping IOFC	3 same-size feeding groups IOFC	Additional IOFC of doing 3 same-size feeding groups
		$/cow per year		
Mean	788	2,311	2,707	396
Minimum	<200	697	1,059	161
Maximum	>1,000	2,967	3,285	580

The analysis indicated that farms could realize between $161 and $580/cow per year (mean = $396) of additional IOFC by switching from no grouping to 3 same-size feeding groups using the cluster criterion for grouping. These values represented an increase of between 7 and 52% of farm calculated IOFC. It was concluded then that grouping would have important economic implications in farm profitability and that further analysis should be done at farm-specific level and in a permanent basis by using the ***Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle*** simulator.

Economic Value of Sexed Semen for Dairy Heifers

Sex-sorted semen that increases the chance of female offspring is a relatively new technology being widely adopted in the dairy industry. Farm-specific sexed semen's economic value and, moreover, when and how to use it, are critical. The tool "***Economic Value of Sexed Semen for Dairy Heifers***" finds interactively the gain (or loss) of different reproductive program management strategies that include sexed semen compared with solely using conventional semen [13].

The ***Economic Value of Sexed Semen for Dairy Heifers*** tool was used for general conditions of Wisconsin dairy farms based on data of a sample of 309 dairy farms and 38 custom heifer growers, a survey performed by county extension agents [14]. At the time of the analysis, using the aggregated data of the 347 operations, the average economic benefit of using sexed semen, as calculated by the tool, was $30 per heifer. Results confirmed that most of these farmers were using optimally this new technology. They were using it for first and second service only, which was the same optimal strategy found by the tool [14]. A main conclusion of this analysis was that the sexed semen technology has an economic benefit, but it would be mostly recommended when the conception rate of the sexed semen is at least 80% of the conventional semen, the value of the heifer calf is high, and when the price of the sexed semen is twice or less than that of the conventional semen. Due that the conception rate of both the conventional and sexed semen and the market prices are important determinant parameters, a main recommendation was that the analysis should be performed on a farm-specific basis and on a permanent basis, for which the decision support tool plays an important role.

Dairy Reproductive Economic Analysis

As important as to find out the value of specific-defined reproductive programs -which can be performed using the ***Wisconsin-Cornell Dairy Repro: A Reproductive Programs Economics Analysis Tool-*** is to explore the value of improving the overall reproductive efficiency. The tool "***Dairy Reproductive Economic Analysis***" is a Markov-chain stochastic dynamic model packed in a simple-to-use online application. This simulator integrates detailed parameters of pregnancy, abortion, and culling risks to perform iterations during 9 lactations until a herd reaches a steady state [15]. Then, the economic value of a reproductive program is determined by using predicted milk production curves, calve value, replacement costs, and other economic figures. The end result is a net return tied to a reproductive performance.

Published data along with dairy farm records were collected and summarized to create a representative farm to assess the value of improving reproductive efficiency measured as improving the 21-day pregnancy rate using the tool ***Dairy Reproductive Economic Analysis***. Data consisted of detailed information on transition probabilities arrays of replacement and abortion risks; definition of lactation curves, and several economic parameters. Then, the simulator was used multiple times to represent incremental gains in reproductive efficiency.

A marginally decreasing trend of economic gain with respect to 21-day pregnancy rate is seen in Figure 2: the higher the original 21-d pregnancy rate, the lower the gain. Nonetheless the tool shows clearly that even at 30% 21-day pregnancy rate, an extremely good pregnancy rate, there is still an opportunity of additional gains because of improved reproductive efficiency. The tool, furthermore presents the main factors from which the additional value comes (in order): higher milk income over feed cost, lower culling costs, higher calf revenues, and lower reproductive costs. These results are being used in a large extension program (*repro money*, http://fyi.uwex.edu/repromoney/) to promote improved reproductive efficiency in hundreds of dairy farms, but always with the final recommendation that specific farm data and information from current market conditions should be used with the simulator to have a more precise assessments.

Figure 2. Projected net economic gain of improving 21-day pregnancy rate from a baseline of 10% assessed by the tool ***Dairy Reproductive Economic Analysis***.

Decision Support System for Dairy Production and Expansion

Some dairy farmers are also interested in the possibility of either expand or modernize their farm facilities or increase their herd size. Therefore, they require support on important decisions that will drive the future of the dairy farm operation. The tool "***Decision Support System for Dairy Production and Expansion***" is a Spreadsheet application that allows dairy farmers to outline their current farm conditions regarding herd structure and market conditions, define a possible plan of expansion or modernization including required loans (for facilities and animals), and project the cash flow of the entire farm up to a period of 54 months in the future.

Three hundred dairy farms completed a mailed questionnaire regarding their desires and needs of expansion or modernization [16]. Seventy eight percent of farms (26% of respondents) indicated that were planning to expand or modernize their installations and listed as the most important reason of doing that the expected increase on farm net return. Importantly, they acknowledge largely the uncertainty of the process of expansion as a large hindrance and therefore they asked for decision support tools that would allow them project systematically their options and analyze scenarios. More than 20 of these farmers were then contacted and offered to perform those projections by using the tool ***Decision Support System Program for Dairy Production and Expansion***. The overall outcome was that all farmers agreed that the tool represented reasonably well their farms and therefore they would trust its future projections. Further analyses were used to confirm or reject their pre-conceived evaluations and to

assist farmers make more informed decisions throughout the process of expansion or modernization. At least 10 farmers did some adjustments in their expansion or modernization process because of the tool and all of them indicated will continue using the simulator throughout their expansion or modernization operation.

The Economic Value of a Dairy Cow

Dairy farmers need to make critical decisions if to keep or replace cows from the herd. The optimal decision will depend on which alternative would bring a greater net return in the future. The tool "***The Economic Value of a Dairy Cow***" is a complex Markov-chain simulation model, still a user-friendly application that calculates interactively the economic value of a cow (or the value of each single cow in a herd) compared with its replacement [17]. Farmers use this value to make more informed decisions if to keep or replace cows. This tool, in addition, calculates the expected herd demographics and the average herd net return for better and additional dairy farm management and decision-making.

Representative data from Wisconsin farms were collected from official sources, farm records, and market reports to become a baseline scenario [17] from which users could select modifications according to their own conditions. Results of these data contained in the tool ***Economic Value of a Dairy Cow*** indicated that the expected milk production of the cow was the single most important factor for replacement decisions. The impacts of increasing or decreasing up to 20% the average milk production of a cow are portrayed in Table 3. It is evident that the milk production expectancy of following lactations is a much more important factor for pregnant cows whereas the impact of milk production expectancy of this lactation and future lactations are similarly important factors for non-pregnant cows.

Although these numbers are good indicators for farm decision-making, the need of using the tool with specific farm conditions and under current market condition cannot be over emphasized.

This tool ***Economic Value of a Dairy Cow*** was also used to value the animal farm assets in a farm. The tool was first set with all parameters concerning to the specific farm and with economic variables representing the market conditions. Followed, the farmer created a list of all cows in the farm including their current state (lactation, month after calving, and pregnancy status) and, importantly, their projected milk production. Then, a cow value was calculated for every single cow in the herd. Finally, the calculated salvage value was added to the cow value. The farmer was then able to use these data for continued monetary support from a financial institution.

Future Developments: Keep Up with Technology and Needs

A number of emerging and evolving technologies are available to dairy farmers today more than ever. These include the use of smart phones, tablets and similar hardware devices; more efficient software resources; and improved data networks. There is no doubt the trend of fast technological improvement in the area of computer, software, and gadget development will continue even at a faster pace. Progressive farmers and an increasing proportion of extension agents and dairy farm consultants are already using these technologies. New technologies bring challenges to keep information systems up-to-date, but at the same time bring great opportunities for improved development of simulators.

One important advantage of smart phones and tablets is their portability along with connectivity. Nowadays farmers enjoy voice and, importantly, data network and therefore the capability to save and retrieve data eventually from anywhere at anytime. For example, a farmer can have complete information of a cow (e.g., age, lactation, pregnancy status, production history, today's production, genetic background, health incidence, etc.) at the fingertips at any time. Farmer can know if the cow currently is in a corral, in the milking parlor, or out in the field grazing. This gives the farmer the opportunity to make critical and time-sensitive decisions right away. This could be one of the major benefits of smart phones and tablets applications. Simulators have to be integrated with these new technologies and need to take advantage of these important advantages.

One drawback, however, of smart phones and tablet applications is their restricted screen size and some hardware and software limitations. Applications need to be especially designed for smart phones and tablets. Normally, the information entered and retrieved would need to be summarized or would require additional layers of navigation. Extra design details could, though, lead to more compact, more intuitive, and overall more efficient simulators.

There is a trade-off of functionality and payback. The industry seems to favor both types: applications for conventional computers and laptops in addition to those applications for smart phones and tablets. The decision-maker selects what type of tool to use

Table 3. Impact of expected milk production on the cow value of a 2-month pregnant, 8-month after calving cow and a non-pregnant, 7-month after calving cow assessed by the tool ***Economic Value of a Dairy Cow***. Bolded values represent the cow with average production in the herd (100%).

Expected Milk Production (% of the average cow)		Cow Value of a 2-month pregnant, 8-month after calving cow, $			Cow Value of a non-pregnant, 7-month after calving cow, $		
Rest of Lactation[1]	Successive Lactations[2]	1st Lactation	2nd Lactation	3rd Lactation	1st Lactation	2nd Lactation	3rd Lactation
120	120	2,458	2,038	2,002	1,973	1,485	1,462
120	100	1,045	877	829	1,109	857	814
120	80	-380	-284	-345	244	230	165
100	120	1,891	1,499	1,477	1,184	796	809
100	**100**	**479**	**338**	**304**	**320**	**168**	**161**
100	80	-934	-823	-870	-545	-460	-487
80	120	1,325	961	952	395	106	157
80	100	-88	-200	-221	-469	-521	-491
80	80	-1,501	-1,361	-1,395	1,344	1,149	-1,139

[1]Cow's expected milk production (% of the average cow) from the current state to the end of the present lactation. [2]Cow's expected milk production (% of the average cow) in all successive lactations.

for a particular situation. From the developmental standpoint, this is an additional challenge that requires additional work and expertise.

Important considerations regarding upcoming and developmental technologies are the increasing need for integration of simulators with information systems currently used in a farm. Most of the farmers are already using some type of software or informational systems for operational management such as feeding, general record keeping, reproductive synchronization programs, identification, heat devices, or others. The simulators portrayed in this paper and similar have the opportunity of becoming a bridge among these information systems. Simulators can use live information from farm records and provide predictions that go beyond the simple record keeping summaries. Farmer expertise combined with real-time projections using farm record keeping systems is a powerful combination for efficient and effective decision-making in dairy farm management towards economic and environmental efficiency and improved profitability.

Conclusion

More than 30 computerized simulators have been developed to assist dairy farmers in their continuous decision-making needs. All these tools are openly and freely available at the University of Wisconsin Dairy Management Website, http://DairyMGT.info, under the *Tools* section. Simulators are grouped in major management areas of dairy farming such as feeding and nutrition, reproductive efficiency, heifer management and replacement, production and productivity, price risk management and financial assessment, and environmental stewardship. The ultimate goal has always been to provide solid, but still user-friendly management tools for dairy practical farm decision-making. Simulators have proven to be effective decision-making tools for improved dairy farming operation and profitability.

Acknowledgements

This paper is a modified and updated excerpt from Chapter: Cabrera, V. E. 2012. DairyMGT: A suite of decision support systems in dairy farm management. IN Decision Support Systems. Jao C. (Ed.), INTECH, Rijeka, Croatia.

The development and maintenance of the DairyMGT.info simulators has been possible by the partial support of several extra-mural grants: Agriculture and Food Research Initiative from the USDA National Institute of Food and Agriculture Competitive Grants No.: 2010-51300-20534, 2010-85122-20612, 2011-68004-30340 and several Hatch grants to V.E.C from the College of Agriculture and Life Sciences at the University of Wisconsin-Madison.

References

1. Rotz CA, Corson MS, Chianese DS, Montes F, Hafner SD, Coiner CU. The Integrated Farm System Model: Reference Manual Version 3.5. USDA Agricultural Research Service; 2011. http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/19020000/ifsmreference.pdf (accessed 5 May 2012).
2. Cabrera VE, Hildebrand PE, Jones JW, Letson D, de Vries A. An Integrated North Florida Dairy Farm Model to Reduce Environmental Impacts under Seasonal Climate Variability. Agriculture Ecosystems & Environment 2006;113 82-97.
3. Groenendaal H, Galligan DT, Mulder HA. An Economic Spreadsheet Model to Determine Optimal Breeding and Replacement Decisions for Dairy Cattle. Journal of Dairy Science 2004:87 2146-2157.
4. Meadows C, Rajala Schultz PJ, Frazer GS. A Spreadsheet-Based Model Demonstrating the Nonuniform Economic Effects of Varying Reproductive Performance in Ohio Dairy Herds. Journal of Dairy Science 2005:88(3) 1244-1254.
5. Giordano JO, Fricke PM, Wiltbank MC, Cabrera VE. An Economic Decision-Making Support System for Selection of Reproductive Management Programs on Dairy Farms. Journal of Dairy Science 2011:94 6216-6232.
6. Cabrera VE, Breuer NE, Hildebrand PE. Participatory Modeling in Dairy Farm Systems: A Method for Building Consensual Environmental Sustainability Using Seasonal Climate Forecasts. Climatic Change 2008:89 395-409.
7. Breuer NE, Cabrera VE, Ingram KT, Broad K, Hildebrand PE. AgClimate: A Case Study in Participatory Decision Support System Development. Climate Change 2008:87 385-403.
8. Cabrera VE, Breuer NE, Hildebrand PE, Letson D. The Dynamic North Florida Dairy Farm Model: A User-Friendly Computerized Tool for Increasing Profits while Minimizing Environmental Impacts. Computer and Electronics in Agriculture 2005:86 207-222.
9. Fraisse CW, Bellow JG, Breuer NE, Cabrera VE, Hatch L, Hogenboom G, Ingram K, O'Brien JW, Paz JJ, Zierden D. AgClimate: A Climate Forecast Information System for Agricultural Risk Management in the Southeastern USA. Computer and Electronics in Agriculture 2006:53 13-27.
10. Cabrera VE, de Vries A, Hildebrand PE. Manure Nitrogen Production in North Florida Dairy Farms: A Comparison of Three Models. Journal of Dairy Science 2006:89 1830-1841.
11. Cabrera VE, Jagtap S, Hildebrand PE. Strategies to Limit (Minimize) Nitrogen Leaching on Dairy Farms Driven by Seasonal Climate Forecasts. Agriculture Ecosystems & Environment 2007:122 479-489.
12. Cabrera VE, Contreras F, Shaver RD, Armentano L. Grouping Strategies for Feeding Lactating Dairy Cattle. Four-State Dairy Nutrition and Management Conference. Dubuque, IA; 2012.
13. Cabrera VE. When to Use Gender Biased Semen: Economics. Dairy Cattle Reproductive Council Annual Convention. Boise, ID and St. Paul, MN; 2009.
14. Sterry R, Brusveen D, Cabrera VE, Weigel K, Fricke P. Why They Use Sexed Semen. Hoard's Dairyman Magazine: 25 March 2009: 25.
15. Giordano JO, Kalantari A, Fricke, PM, Wiltbank, MC, Cabrera, VE. A Daily Herd Markov-Chain Model to Study the Reproductive and Economic Impact of Reproductive Programs Combining Timed Artificial Insemination and Estrous Detection. Journal of Dairy Science 2012:*in press*.
16. Cabrera VE, Janowski JM. Wisconsin Dairy Business and Production Survey: Comparison between Farms Planning to Expand and Farms not Planning to Expand. Journal of Extension 2011:3RIB1. http://www.joe.org/joe/2011june/rb1.php (accessed 10 May 2012).
17. Cabrera, VE. A Simple Formulation of the Replacement Problem: A Practical Tool to Assess the Economic Value of a Cow, the Value of a New Pregnancy, and the Cost of a Pregnancy Loss. Journal of Dairy Science 2012: *in press*.

CEBO DE TERNEROS CON RACIONES UNIFEED
ALGUNAS CONSIDERACIONES

Francisco Moro González

Las dos crisis sufridas en los costes de las materias en los últimos 5 años, la del 2007 al 2008 y la del 2012 al 2013, ha traído como consecuencia un descenso del 10% de la producción de terneros, en el caso de la crisis del 2007 al 2008, de la cual no nos hemos recuperado y un descenso de otro 3% en la crisis del 2012 al 2013.

La reducción del censo de vacas nodrizas que nos ha llevado a un menor número de terneros pasteros y con ello un precio de compra más elevado y un precio de venta de los animales cebados aún insuficiente, sobre todo para los animales que estamos cebando ahora.

Todo ello ha supuesto que la viabilidad económica de las explotaciones de cebo de terneros pasteros esté en peligro.

El precio de venta del kilo de canal está influido por el bajo consumo de carne y por la sobre oferta por parte de la producción hace que los precios se mantengan aún bajos. Últimamente la exportación de animales vivos a los países árabes del Mediterráneo ha logrado que mejoren los precios de venta.

A partir del 2007 se observó una tendencia más marcada hacia el abandono de la práctica del cebo en muchas explotaciones de tamaño pequeño y mediano y se observa de una manera clara la reducción del número de animales cebados que se puede cuantificar en más de 350.000 cabezas/año.

Los costes de producción del cebo de terneros pasteros, a groso modo, está repartido de la siguiente manera:

- El ternero es el 50%.
- La alimentación el 40%.
- Los gastos generales el 10%.

El modelo de alimentación unifeed con reparto diario es habitual en vacas lecheras desde hace décadas. En vacas se han sustituido parte de los concentrados por forrajes y subproductos, entre otras razones, por costes y cada vez se le da más importancia al soporte agrícola.

En otros países con tradición cebadora, como es el caso de Italia, realizan el cebo de terneros sustituyendo una parte de concentrados por forrajes y/o subproductos. Otros países utilizan el pastoreo hasta pesos elevados de los animales y un acabado, otros con ensilajes a libre disposición y concentrados limitados y algunos utilizando las mezclas únicas (unifeed).

Al modelo de alimentación unifeed hay que exigirle además de la viabilidad económica el que no exista ningún obstáculo para que la calidad de la canal y de la carne fuese al menos igual que la de los animales criados con el sistema tradicional de paja y pienso.

Existe la opinión, equivocada, de que la carne de animales cebados con forrajes tiene los siguientes problemas:

Peor rendimiento de vivo a canal.

Mala conformación de la canal.

Canales con grasa de cobertura amarilla.

Carne oscura, dura y con mal sabor.

Motivos que animan a seguir este sistema.

Los rumiantes efectivos, en este caso los terneros de más de 200 kg de peso vivo una vez adaptados, utilizan de manera eficaz los forrajes en su proceso de cría y cebo.

Superada la fase de adaptación, siempre que se haga correctamente, desaparecen los problemas ruminales.

Al reducirse drásticamente los problemas de acidosis los animales presentan mejor inmunidad y con ello se defienden mejor de las enfermedades infecciosas.

La ausencia de acidosis propicia que el color de la carne sea más claro.

Este modelo de alimentación hace que la grasa de la canal contenga menos grasos saturados, una mejor relación omega6/omega3 y un contenido en CLA más elevado.

La alimentación con raciones unifeed en base a forrajes produce canales menos grasas.

En cuanto al sabor y terneza de la carne no empeora sobre el modelo de paja y pienso.

Los costes de alimentación se reducen siempre que tengamos alternativas adecuadas con forrajes y coproductos.

Es imprescindible que se cumplan dos objetivos en este sistema:

1. La adecuada calidad comercial de la canal y de la carne de los animales cebados con este sistema.
2. Que sea económicamente más barato y que compense por el sobre coste que supone este modelo de alimentación.

Dificultades que presenta este sistema.

No todas las explotaciones de cebo pueden adaptarse a este sistema. Los motivos son los siguientes:

El reparto diario es incómodo para el ganadero. Con paja y pienso no se necesita.

Es necesario adquirir un TMR (mezclador unifeed) para realizar la mezcla y su posterior reparto.

El mezclador consume energía y mano de obra.

Muchas instalaciones no están concebidas para utilizar sistemas de reparto diario y su transformación resulta cara.

Aquellos ganaderos que no poseen soporte agrario y están lejos de las zonas de producción de forrajes les puede resultar no rentable este sistema de alimentación.

La adquisición del ternero pastero y la del ensilaje puede resultar incompatible, desde el punto de vista financiero, para algunas explotaciones.

El sistema de alimentación.

La alimentación está basada en el sistema **INRA** y dentro de este sistema en el ratio de la proteína metabolizable con la energía (**Ratio Pdi/Ufc**).

Este ratio está definido en este sistema de alimentación por:

Tipo de animal (Ternero, buey, vaca...)

Raza y cruces.

Peso vivo.

Ganancia media diaria.

Para no derrochar nitrógeno el siguiente paso es equilibrar el **Pdie con el PdIn**, donde el Pdie tiene que ser igual o un poco superior al PDIn y para ello es necesario establecer una adecuada planificación del aprovisionamiento de materias primas que propicien este equilibrio.

Los motivos por los cuales se utiliza el INRA 2007 en el cebo de terneros son los siguientes:

1) El sistema del INRA es un modelo diseñado para maximizar el empleo del soporte agrícola en la alimentación de los animales.
2) Estamos en España que es un país con dependencia exterior en materias primas pienso y con ello afectados por movimientos especulativos en precios y a veces con dificultades de suministro como puede suceder con el suministro de soja.
3) Las razas con las que trabajamos suelen ser francesas en pureza o cruces con nodrizas autóctonas.
4) El tipo de carne que aprecia nuestro consumidor es la procedente de canales de animales no excesivamente grasos.

El método de mezcla y reparto de la alimentación

Recomendamos utilizar el sistema **UNIFEED CON REPARTO DIARÍO** por los siguientes motivos:

- Por ser, a nivel ruminal, el método más seguro.
- Aunque las cantidades a emplear de forrajes propios suele ser fija, dependiendo de las existencias anuales en granja, podemos formular el complementario de forma y manera que busquemos el coste para hacer el kilo de peso vivo más barato.
- A veces formular dietas con concentrados menos energéticos, sobre todo si los forrajes no tienen una digestibilidad adecuada, puede traer como consecuencia una menor ganancia diaria.
- El sistema unifeed de mezcla de forrajes y concentrados permite utilizar materias primas poco convencionales en la fabricación de piensos (Semilla entera de algodón, levadura de cerveza líquida, suero de quesería líquido, etc.) con el consiguiente ahorro.
- Siendo el ensilaje de maíz planta entera el forraje más utilizado se emplean también otros forrajes.

Forrajes y coproductos utilizados habitualmente.

El forraje más habitual es el **ensilaje de maíz planta entera** en el que se busca un 35% de materia seca, que contenga un 30% de almidón, que se acerque al 9% de proteína bruta y no pase del 40% de FND.

De la planta de maíz se pueden obtener otras materias primas, con valor como forraje o sin él, que son muy útiles para mantener el equilibrio Pdie/Pdin y con costes de la Ufc muy favorables

Estas materias primas son:

a) Ensilaje de maíz cortado alto.

b) Ensilaje de espigas de maíz.

c) Ensilaje de grano de maíz húmedo (Pastone).

El ensilaje de espigas de maíz es uno de los productos más rentables en este modelo de alimentación. Utilizando la cosechadora de forrajes que se emplea para recolectar el forraje de maíz planta entera, cambiando el cabezal de corte, permite en una sola operación recoger, picar y aplastar las espigas de maíz para ser ensiladas.

Coste de la Ufc

PRODUCTO	M. SECA %	COSTE MF	UFC/MS	UFC/MF	COSTE
Maíz	86,50	222	1,26	1,09	0,204
Cebada 2 c	90,20	198	1,13	1,02	0,194
Cebada 6 c	90,20	198	1,11	1,01	0,196
Trigo blando	88,60	210	1,20	1,07	0,196
S.E.A.	87,80	220	1,33	1,17	0,188
Maíz copos	86,80	240	1,31	1,14	0,210
Espigas maíz	60,00	100	1,05	0,63	0,158
Maíz grano húmedo	65,00	120	1.23	0,78	0,154
Silo maíz	35,00	50	0,83	0,29	0,172

Otros forrajes producidos en el regadío como alternativa de cultivo al maíz son los cultivos de invierno producidos en la misma superficie. Suelen ser cultivos de proteaginosas (Veza, guisantes, yeros, titarros...) sembradas con un pequeño porcentaje de cereal de invierno que sirve de tutor para que la proteaginosa no se tumbe. Esta práctica de cultivo mejora el terreno mediante la inoculación de nitrógeno que a su vez mejora la producción del siguiente cultivo.

Otros forrajes habituales (ensilados o henificados):

- Veza con avena o con otro cereal.
- Otras proteaginosas (Veza, guisantes, yeros ...)
- Cereal de invierno planta entera.
- Ensilaje de Girasol Forrajero.
- Ensilaje de Sorgo Forrajero.
- Ensilaje de Ray-Grass.

Al igual que se ensila el grano húmedo de maíz comienza a utilizarse el ensilaje de grano húmedo aplastado de cereal de invierno, de cebada principalmente y en países como Argentina ensilan otros cereales húmedos como el sorgo y granos húmedos de otras semillas. Los granos húmedos ensilados, molidos o aplastados, carecen de valor como forraje pero son una alternativa a las harinas de cereal seco molido

Coproductos húmedos con valor forraje.

Son subproductos procedentes de la alimentación humana y que habitualmente se han utilizado donde se generan debido a su alto contenido en agua lo cual hace que su trasporte económicamente no sea recomendable.

Los más habituales son:

Coproductos de azucarera.

Pulpa de remolacha fresca (15% MS) y prensada (30% MS).

Rabillos de remolacha azucarera.

Coproductos de cítricos. Pulpas de cítricos del 15% MS y del 25% MS.

Coproductos de conserveras, almazaras y congeladoras.

- Semillas y pieles del tomate (22% MS).
- Hojas de alcachofa (cocidas y frescas).
- Vainas de guisantes.
- Pulpa de aceituna deshuesada.
- Destrío de maíz dulce.

Coproductos de invernadero.

- Destrío de tomate.
- Destrío de calabacín.
- Destrío de zanahorias.
- Destrío de brócoli, coliflor, etc.

Coproductos húmedos sin valor forraje.

Coproductos de cervecería.

- Bagazo de cervecería (2% MS).
- Levadura de cerveza líquida (10-15% MS).

Coproductos de quesería.

- Suero de leche líquido (12% ms).

Coproductos de azucareras.

- Melazas de remolacha y de caña.

Coproductos del maíz.

- Gluten feed húmedo.

Coproductos secos sin valor forraje.

Son todos los utilizados, en harina o en pellet, por la industria de piensos compuestos. Todos ellos se pueden emplear directamente en los mezcladores unifeed y alguno de ellos, de difícil empleo en la fabricación de piensos, son de uso sencillo en los TMR (Semilla entera de algodón).

DDGs en pellet de maíz, cebada y trigo.

Hna. Zootécnica de maíz.

Raicillas de cebada.

Hna. De galletas.

Salvados de trigo y maíz

Pulpas secas de remolacha y cítricos...

El plan de alimentación (ejemplo de raciones).

El plan de alimentación más habitual consiste en realizar una ración para cada 100 kg de peso vivo. La primera ración, también llamada de Adaptación, es la más importante del sistema por la adaptación del rumen al modelo de alimentación.

En ganaderías con menor dimensión se hacen dos raciones y en otras con menos posibilidades llega a hacerse todo el ciclo de cebo con una sola ración, pero no es lo más adecuado.

En este ejemplo tanto los concentrados complementarios como los forrajes de la ración van en la misma proporción, pero no con la misma composición, al ir los forrajes en la misma proporción.

EJEMPLO DE RACIONES
(Pastero cruzado importado)

Materias primas (% MF)	Adaptación (250-350)	Crecimiento (350-450)	Acabado (450-550)
Silo de maíz (35MS/31 Alm.)	27,30	27,26	27,20
Silo espigas maíz (60MS/556Alm.)	27,19	27,26	27,30
Silo Veza-Avena (35MS/13PB)	21,81	21,81	21,80
Complementarios	23,70	23,68	23,70
Nutrientes			
M. Seca (Kg)	**1**	**1**	**1**
Humedad (% MF)	45,46	45,48	45,47
Ufc (MS)	0,96	0,98	1,00
Proteína (MS)	15,20	14,74	14,24
Pdie (MS)	10,40	10,00	9,60
Pdin (MS)	10,40	10,00	9,60
PDIN/Ufc	**10,83**	**10,20**	**9,60**
Almidón (MS)	35,00	36,64	38,50
FNDF (MS)	21,75	21,70	21,75
COSTE (Euros/Tm MF)	**113,58**	**115,82**	**117,75**
COSTE (Euros/Tm MS)	**208,28**	**212,44**	**215,95**

Las materias primas que intervienen en la ración se expresan cómo % de la materia fresca en vez de cantidades por animal y día. Cada semana el ternero crece en peso vivo y con el crecimiento aumenta la ingesta.

La composición de los complementarios cambia.

Los nutrientes están referidos al kilo de materia seca. La proteína bruta no interviene en la optimización, quien define la alimentación nitrogenada es el ratio Pdin/Ufc y el equilibrio entre Pdie y Pdin.

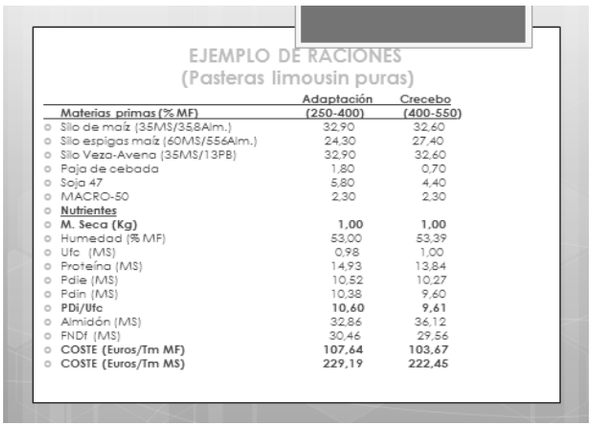
FORMULACIÓN DE LOS COMPLEMENTARIOS

MATERIAS PRIMAS (% MF)	ADAPTACION	CRECEBO	ACABADO
DDG MAÍZ	55,57	47,30	52,55
NHA. MAÍZ	36,80	44,05	35,50
COLZA 00	4,00	-	-
UREA	1,70	2,10	2,40
JABÓN CÁLCICO	-	2,82	5,50
MINERALES	1,93	3,73	4,05
NUTRIENTES (% MF)			
UF carne	0,96	1,00	1,05
Proteína	22,30	21,25	20,07
PDIe	11,72	10,80	9,87
PDIn	15,18	14,30	13,38
Almidón	29,42	33,20	37,40
Grasa	5,82	7,62	9,13

EL INDICE DE CONVERSIÓN Y EL COSTE DEL PESO VIVO

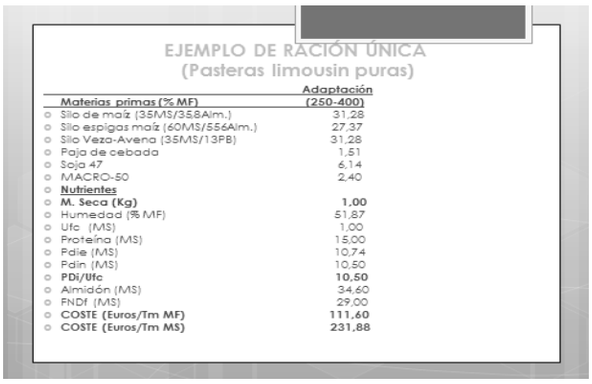
	GMD	I.C (MS)	COSTE
ADAPTACION 250-350	1,800-1,600	4,5	0,93
CRECEBO 350-450	1,600-1,400	5,0	1,06
ACABADO 450-550	1,400-1,200	5,5	1,18
MEDIA	**1,600-1,400**	**5,0**	**1,05**

Son datos conseguibles trabajando con profesionalidad.
Las ganancias medias de 1,600 es para pasteros importados y la de 1,400 para ganado nacional.
Los costes para hacer un kilo de peso vivo son bajos y pueden mejorarse. Lo habitual es que sean mas elevados.



EJEMPLO DE RACIONES
(Pasteras limousin puras)

Materias primas (% MF)	Adaptación (250-400)	Crecebo (400-550)
Silo de maíz (35MS/358Alm.)	32,90	32,60
Silo espigas maíz (60MS/556Alm.)	24,30	27,40
Silo Veza-Avena (35MS/13PB)	32,90	32,60
Paja de cebada	1,80	0,70
Soja 47	5,80	4,40
MACRO-50	2,30	2,30
Nutrientes		
M. Seca (Kg)	**1,00**	**1,00**
Humedad (% MF)	53,00	53,39
Ufc (MS)	0,98	1,00
Proteína (MS)	14,93	13,84
Pdie (MS)	10,52	10,27
Pdin (MS)	10,38	9,60
PDi/Ufc	**10,60**	**9,61**
Almidón (MS)	32,86	36,12
FNDf (MS)	30,46	29,56
COSTE (Euros/Tm MF)	**107,64**	**103,67**
COSTE (Euros/Tm MS)	**229,19**	**222,45**



EJEMPLO DE RACIÓN ÚNICA
(Pasteras limousin puras)

Materias primas (% MF)	Adaptación (250-400)
Silo de maíz (35MS/358Alm.)	31,28
Silo espigas maíz (60MS/556Alm.)	27,37
Silo Veza-Avena (35MS/13PB)	31,28
Paja de cebada	1,51
Soja 47	6,14
MACRO-50	2,40
Nutrientes	
M. Seca (Kg)	**1,00**
Humedad (% MF)	51,87
Ufc (MS)	1,00
Proteína (MS)	15,00
Pdie (MS)	10,74
Pdin (MS)	10,50
PDi/Ufc	**10,50**
Almidón (MS)	34,60
FNDf (MS)	29,00
COSTE (Euros/Tm MF)	**111,60**
COSTE (Euros/Tm MS)	**231,88**

La adaptación.

Es la fase más importante del cebo y donde se gesta lo que a ser todo el proceso de cebo. En esta fase suceden varias adaptaciones

Adaptación sanitaria: En este lote tenemos que dejar adaptados sanitariamente a los terneros y para que exista respuesta inmunitaria eficaz en todos los animales estos tienen que ingerir suficiente ración. Si esto no se hace adecuadamente tendremos algunos animales, los más débiles, con peor respuesta a las vacunas y a las medicaciones.

Adaptación alimenticia: Los animales tienen que adaptar su Rumen (en tamaño, musculatura, mucosa y flora ruminal) a los alimentos que van a consumir durante todo su periodo de cebo. También se establecen los horarios y rutinas de consumo de las raciones, buscando la mayor ingesta posible en esta etapa donde el animal consume menos materia seca (menos del 1,5 % sobre peso vivo las cuatro primeras semanas) que lo que va a consumir posteriormente. Es fundamental que no estén sin comida en ningún momento.

Jerarquización social: Los animales establecen un orden social dentro del lote que normalmente es imperceptible en situaciones de normalidad. Cuando falta comida, espacio de comedero o metros cuadrados para el descanso los terneros se jerarquizan de una manera mucho más clara y penalizan a los animales enfermos o más débiles del lote. Este comportamiento animal se denomina **Alelomimético** y consiste en imitar el comportamiento de los lideres (comen juntos, rumian juntos).

Adaptación a la instalación: Los animales llegan de las fincas y tienen que familiarizarse con la instalación, las personas y las actividades propias del cebadero. Ante cualquier actividad que sucede en horario de trabajo lo primero que hacen los animales es dejar de comer. Por este motivo los animales crecen un 10% más cuando el reparto de comida es en horario de tarde (consumen más del 60% de la ración por la noche y de madrugada). En épocas calurosas esto es aún mucho más evidente teniendo una segunda ventaja añadida que es que la ración se calienta menos al final de la tarde, noche y madrugada.

Factores que condicionan la ingesta y la ganancia media diaria.

El control de puntos críticos y el análisis de riesgos son fundamentales para evitar problemas sanitarios y malos resultados zootécnicos.

Factores que condicionan a la GMD (desde la perspectiva del manejo de la alimentación):

1. **Comedero con más de una hora sin comida al día**. Supone una merma del 4% en la GMD por hora que están los animales sin comida.
2. **Horario de reparto de mañana**. Supone un 10% menos de GMD que si realizamos el reparto por la tarde, la lectura del comedero se facilita muchísimo cuando el reparto es por la tarde. Muchas veces llegamos a la explotación de mañana y estas los animales sin comida y no sabemos desde que hora sucede.
3. **Lectura y limpieza del comedero**.

En cuanto a la lectura de comedero recuerdo los niveles:

- NIVEL 0: Comedero limpio. **Esto supone siempre falta de comida**.
- NIVEL 1: Comedero con poca comida (menos del 5% de sobrante). ¡**Óptimo!**
- NIVEL 2: Comedero con sobrante moderado (más del 5%). **Atención.**
- NIVEL 3: Mucho sobrante (más del 10%). **¡Desastre!**

No deben ser los terneros los que limpien el comedero, tiene que ser el personal que realiza la observación de la lectura del comedero el que lo haga y retire el sobrante y quien proporcione la información para confeccionar el orden de suministro de la comida.

El problema de falta de comida es más adquiere más importancia cuando sucede en la Adaptación y el problema es mayor cuando los corrales soportan más animales que el espacio de comedero permite. En estos casos es donde se suelen presentarse timpanismos y bajas.

Otros factores que condicionan la ingesta y por tanto la GMD:

El manejo de los alimentos húmedos. Es imprescindible ensilar adecuadamente y vaciar los silos con un frente del silo atacado correctamente. Las mezclas calientes por un vaciado del silo poco adecuado reducen la ingesta.

Camas en mal estado con barro y heces en exceso.

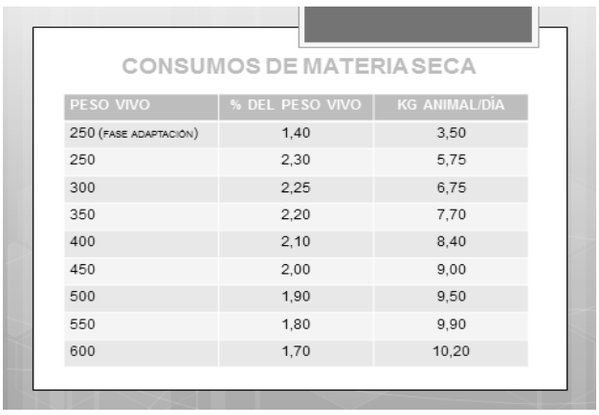
Instalaciones con espacios inadecuados de comedero, metros cuadrados para el descanso y metros cúbicos y ventilación deficiente.

Una mala adaptación sanitaria suele traer consecuencias en todo en periodo de cebo.

El control de los alimentos. El contenido en materia seca es el dato más importante a tener en cuenta y luego la composición de la materia seca.

La formulación de las raciones.

La calidad y el acceso al agua.



CONSUMOS DE MATERIA SECA

PESO VIVO	% DEL PESO VIVO	KG ANIMAL/DÍA
250 (FASE ADAPTACIÓN)	1,40	3,50
250	2,30	5,75
300	2,25	6,75
350	2,20	7,70
400	2,10	8,40
450	2,00	9,00
500	1,90	9,50
550	1,80	9,90
600	1,70	10,20

Las cuatro primeras semanas de la adaptación (fase de adaptación ruminal) los animales consumen un 1,4% sobre su peso vivo para pasar a consumir un 60% más en las semanas posteriores.

Otros modelos de utilización del ensilaje.

No todas las ganaderías se adaptan al modelo UNIFEED CON REPARTO DIARIO. Algunas ganaderías, por sus instalaciones, no lo permiten, otras por tener un número de animales pequeño y mezcladores grandes, como puede ser en ganaderías de producción de leche y otras por carecer de mezclador unifeed.

Los sistemas que se están utilizando:

Con el ensilaje ad libitum y el concentrado racionado.

Con el ensilaje y el concentrado a libre disposición.

Conclusiones finales.

Este sistema de alimentación exige más atención en cuanto a la formulación, fabricación de las mezclas, tratamiento de las materias primas húmedas, etc.

La ganancia media diaria se ve afectada por el manejo de la alimentación. El control de puntos críticos y el análisis de riesgos son fundamentales para este modelo de alimentación.

Instalaciones adecuadas mejoran los resultados zootécnicos al tener los animales mejor confort.

Este método puede abaratar el coste de alimentación hasta un 25%.

En el cebo de frisones, donde el coste de alimentación es el porcentaje más elevado, el sistema adquiere una importancia decisiva.

Este sistema estabiliza el coste de alimentación y protege de las fluctuaciones de mercados exteriores sobre los que no tenemos ningún control. Se da la circunstancia que los ensilajes de forrajes energéticos (silo de maíz y silo de espigas de maíz) suele hacerse en los momentos anteriores a la cosecha del maíz para grano y suele ser el momento de menor coste y a veces esto no es bien aprovechado por los ganaderos que adquieren ensilajes.

BIBLIOGRAFIA.

1. **Alimentación de bovinos, ovinos y caprinos**. Besoins des animaux. Valeurs des aliments. Tables INRA 2007.
2. **Utilización de sistemas de cebo basados en ensilados y forrajes unifeed como alternativa al sistema de cebo a pienso; efecto en los parámetros productivos y en la calidad de la carne**. CITA DE ARAGÓN (Pere Alberti, Guillermo Ripoll, Begoña Panea, Isabel Casasús, Margalida Joy), CENTRO DE TRANSFERENCIA AGROALIMENTARÍA. GOBIERNO DE ARAGÓN (Salvador Congost, Marta Vallés).
3. **El cebo de terneros con ensilados de forrajes**. CENTRO DE INVESTIGACIONES AGRARIAS DE MABEGONDO (Jaime Zea Salgueiro).
4. **Efectos del espacio de comedero sobre la producción**. Gunter u col., 1994 Clayton, New México.
5. **Efecto del número de animales por espacio de comedero sobre varios parámetros**. González y col., Albéitar, Mayo 2009.
6. **Efecto de alimentar por la mañana o por la tarde en terneros Holstein**. Reinhardt y Brandt. 1994.

ESTRÉS

ESTRATEGIAS PARA REDUCIR EL IMPACTO DEL ESTRÉS POR CALOR EN LA FERTILIDAD DE LAS VACAS LECHERAS

Peter J. Hansen
Department of Animal Sciences, University of Florida

El Problema de la Infertilidad en el Ganado Lechero Causado por el Estrés por Calor

El estrés por calor tiene dos consecuencias principales para la fisiología de la vaca que reducen la probabilidad de que se quede preñada. En primer lugar, los cambios en el comportamiento de la vaca (por ejemplo, reducción del tiempo de caminar; López-Gatius et al., 2005) y la disminución de las concentraciones de estradiol-17β circulante (Gilad et al., 1993) causados por el estrés por calor reducen la capacidad de detectar el celo. En una vaquería en Florida, los vaqueros solo detectaron alrededor del 18-24% de los celos en los meses calurosos, mientras que se detectaron el 45-56% de los periodos de celo en los meses fríos (Thatcher y Collier, 1986). En segundo lugar, hay una gran reducción en la fertilidad. En las vacas lecheras en lactación, las tasas de preñez por inseminación en el verano pueden ser tan bajas como del 10-20% (Hansen y Aréchiga, 1999). La fertilidad se reduce porque el estrés por calor puede dañar tanto al ovocito como al embrión temprano (Hansen, 2013). El ovocito puede verse ya comprometido por el estrés de calor en los 105 días anteriores a la ovulación (Torres-Júnior et al., 2008) y hasta el periodo periovulatorio (Putney et al., 1989). El embrión temprano también es sensible al estrés por calor al principio, pero se hace resistente rápidamente de forma que el estrés por calor en el día 1 después del celo redujo el desarrollo embrionario mientras que el estrés de calor en el día 3 no tuvo ningún efecto (Ealy et al., 1993).

El estrés por calor es en gran medida un problema de la vaca lechera en lactación. En Florida, las tasas de concepción en Holsteins disminuyeron en el verano en las vacas en lactación, pero no en las novillas no lactantes (Badinga et al., 1985). La vaca en lactación es muy susceptible al estrés por calor porque el aumento de la cantidad de calor producido como consecuencia de la lactación hace difícil regular la temperatura corporal durante el estrés por calor. La hipertermia en las vacas en lactación se puede dar a temperaturas del aire tan bajas como 25-29 °C (Berman et al., 1985; Dikmen y Hansen, 2009). El ganado de carne también puede verse afectado por el estrés por calor, sobre todo en situaciones de cebadero (Mitlöhner et al., 2002), pero varios factores mitigan la posibilidad de que se produzcan efectos graves sobre la reproducción en el ganado de carne. Estos factores incluyen la existencia de razas de carne que son genéticamente resistentes al estrés por calor (Gaughan et al., 2010) y los patrones de cría estacional que aseguran que las vacas no vayan a cubrirse en la época más calurosa del año.

El enfoque más común para reducir los efectos del estrés por calor en el ganado lechero es el de proporcionar un alojamiento que minimice el estrés por calor. La incorporación de elementos como estructuras para dar sombra, ventiladores, y aspersores, rociadores o nebulizadores, puede verse en muchas explotaciones lecheras en las regiones cálidas del mundo. Si bien es muy importante, la refrigeración de las vacas no previene en su totalidad la reducción de la función reproductiva durante el estrés de calor. En Florida, por ejemplo, la variación estacional en la tasa de preñez se mantuvo en un rebaño cuyas vacas fueron enfriadas con aspersores y ventiladores (Hansen y Aréchiga, 1999). En Israel, la tasa de preñez por inseminación en rebaños enfriados intensivamente fue del 19% en el verano frente al 39% en el invierno para rebaños de alta producción; y del 25% en el verano frente al 40% en el invierno para rebaños de baja producción (Flamenbaum y Ezra, 2006).

En este trabajo, se discutirán algunos otros enfoques para reducir los efectos del estrés por calor en la función reproductiva. Estos enfoques se basan en el incremento de la resistencia genética al estrés por calor, la alteración del estado de los antioxidantes de la vaca, el uso de hormonas para manipular los procesos reproductivos, y la incorporación de la transferencia de embriones para evitar los efectos del estrés por calor en el ovocito y el embrión.

Mejora de la Resistencia Genética al Estrés por Calor

Si bien hay algunas razas lecheras, como la Gir, y cruces lecheros, como la Girolando, que se utilizan en los trópicos, las razas predominantes en el ganado lechero en gran parte del mundo surgieron en el norte de Europa y no están adaptadas a climas cálidos. Sin embargo, hay algunos genes en el ganado lechero del norte de Europa que confieren a los animales cierta resistencia al estrés por calor. Recientemente, Dikmen et al. (2012) estimaron la heredabilidad de la temperatura rectal bajo condiciones de estrés por calor en 0,17. Esto significa que aproximadamente el 17% de la variación entre las vacas en la temperatura rectal durante el estrés por calor resulta de una variación en la genética. Este valor es lo suficientemente alto como para permitir la selección por temperatura rectal. Se han utilizado datos sobre la variación genética en la temperatura rectal para identificar marcadores genéticos que predicen la termotolerancia en el Illumina Bovine SNP50 BeadChip (Dikmen et al., 2013). Podría ser posible, por tanto, utilizar la información genética obtenida a partir de una sola muestra de sangre o pelo para calcular el valor genético en la regulación de la temperatura corporal.

También podría ser posible mejorar la resistencia genética al estrés por calor introduciendo genes termotolerantes específicos de otras razas en razas con bajos niveles de resistencia al estrés por calor. Uno de estos genes se conoce como el gen *slick*. Descrito por primera vez en la raza Senepol del ganado de carne originario de las Islas Vírgenes, el gen *slick* es un gen dominante que provoca el crecimiento de pelo muy corto. El gen *slick* se ha introducido de forma natural en algunas vacas Holstein en Puerto Rico y en una raza lechera de Venezuela llamada Carora. Además, Tim Olson de la Universidad de Florida ha utilizado cruces con Senepol y retrocruzamientos para introducir el gen *slick* en las vacas Holstein de Florida. Las Holsteins con el *slick* son más capaces de regular la temperatura corporal durante el estrés por calor que las vacas con pelo normal (Dikmen et al., 2008). En Venezuela, Olson

et al. (2003) descubrieron que los cruces Carora-Holstein con el gen *slick* tenían temperaturas rectales más bajas y mayor rendimiento lechero que los cruces Carora-Holstein con una longitud del pelo normal (Tabla 1).

Tabla 1. Diferencias en la temperatura rectal y el rendimiento lechero entre las vacas Carora-Holstein con *slick* y las de pelo normal en Venezuela.[a]

Tipo de raza	Número de vacas	Tipo de pelo	Temperatura rectal, °C	Rendimiento lechero a los 305-d, kg
Carora	9	*Slick*	38,4 ± 0,16^{bc}	4.560 ± 460^{b}
Holstein x Carora	288	*Slick*	38,4 ± 0,03^{b}	5.527 ± 87^{c}
Holstein x Carora	75	Normal	38,9 ± 0,06^{d}	5.115 ± 165^{bd}
75% Holstein: 25% Carora	30	*Slick*	38,6 ± 0,09^{c}	6.389 ± 250^{e}
75% Holstein: 25% Carora	39	Normal	39,3 ± 0,08^{e}	5.579 ± 225^{cdf}
Holstein	93	Normal	39,1 ± 0,06^{de}	6.104 ± 159^{ef}

[a] De Olson et al. (2003)

^{bcdef} Las medias con diferentes superíndices difieren significativamente (P<0,05).

Administración de Antioxidantes para Proteger a los Embriones de los Radicales Libres Introducidos por el Shock por Calor

Una de las razones por las que el estrés por calor daña los ovocitos y embriones puede residir en el aumento de la producción de moléculas de radicales libres a temperaturas corporales elevadas. La exposición de ovocitos en maduración (Nabenishi et al., 2012) y de embriones en etapa de escisión temprana a temperaturas elevadas (Sakatani et al., 2004) aumenta la producción de radicales libres. En cultivos, algunos antioxidantes [antocianina (Sakatani et al., 2007) y ditiotreitol (de Castro e Paula et al., 2008)], pero no todos [vitamina E (Paula-Lopes et al., 2003a), glutatión (Ealy et al., 1995) y éster de glutatión (Ealy et al., 1995)], reducen los efectos de la temperatura elevada en el desarrollo de los embriones. La posible implicación de los radicales libres en los efectos del estrés por calor en los ovocitos y el embrión sugiere que podría ser posible mejorar la fertilidad a través del aumento de las concentraciones de antioxidantes en las células o la sangre. Hay dos trabajos que sugieren que esto podría ser posible.

En el primer documento, Aréchiga et al. (1998) descubrieron que alimentar a las vacas con un suplemento de β-caroteno a razón de 400 mg/d durante al menos 90 días desde aproximadamente el día 15 después del parto aumentaba la probabilidad de que las vacas estuvieran preñadas a los 90 días después del parto durante el verano, pero no durante el invierno (Tabla 2). El tratamiento no produjo ningún efecto en la tasa de preñez de la primera inseminación por lo que el suplemento de β-caroteno mejoraba bien la fertilidad después de la primera inseminación, o la tasa de detección del celo.

Tabla 2. Efecto de aportar un suplemento de β-caroteno en el periodo de postparto sobre la función reproductiva de las vacas Holstein en lactación en Florida.[a]

Experimento	Época del año	Tratamiento	Nº de vacas	Tasa de preñez tras la primera inseminación	Tasa de preñez, 90-d postparto
1	Cálida	Control	128	9,4%	21,1%
		β-caroteno	48	12,9%	35,4%*
2	Fría	Control	55	17,6%	33,3%
		β-caroteno	52	12,9%	26,2%

[a] De Aréchiga et al. (1998) * P<0,05.

Más recientemente, Garcia-Ispierto et al. (2013) probaron si la administración de 18 mg de implantes de melatonina (9-12 implantes por vaca) comenzando en el día 220 de gestación a las vacas durante el verano afectaría a la reproducción postparto. La melatonina tiene propiedades antioxidantes en el folículo (Tamura et al., 2013). Las vacas tratadas con melatonina tuvieron intervalos reducidos entre concepciones y una menor incidencia de vacas con > 3 inseminaciones por concepción (Tabla 3). No está claro si el efecto de la melatonina de debe a los efectos de bloqueo del estrés por calor sobre el ovocito y el embrión o si actúa a través de algún efecto independiente del estrés por calor. Los resultados son prometedores pero los experimentos deberían repetirse tanto en las estaciones cálidas como en las frías.

Tabla 3. Efecto de la administración de implantes de melatonina a los 220d de gestación sobre la reproducción postparto en el verano en España.[a]

Tratamiento	Nº de vacas	Vacas con > 3 IA/ concepción	Intervalo entre el parto y la concepción, días
Control	67	28,4%	123
Melatonina	72	12,5%**	103*

[a] De Garcia-Ispierto et al., 2013

* P<0,05

** P< 0,01

Uso de Hormonas para Evitar los Efectos del Estrés por Calor en la Reproducción

Los protocolos de la inseminación artificial (IA) programada pueden evitar completamente los problemas asociados a la detección del celo durante el estrés por calor porque el momento de la ovulación está sincronizado y la inseminación puede realizarse en un momento fijo sin necesidad de detectar el celo. Lo que no hace la IA programada es invertir los daños en el ovocito o embrión causados por el estrés por calor. La implementación de programas de IA durante el estrés por calor puede aumentar la tasa a la que las vacas se quedan preñadas después del parto porque incrementa el número elegible de vacas que son inseminadas. Esto ocurre a pesar del hecho de que las tasas de concepción reales no se han mejorado.

La efectividad de la IA programada durante el estrés por calor se puede examinar observando los resultados de dos experimentos llevados a cabo en el verano (Tabla 4). El primer experimento, de Aréchiga et al. (1998), se realizó en el sur de Florida, donde la magnitud del estrés por calor es muy alta. Las vacas fueron asignadas a ser inseminadas en el primer celo detectado tras el periodo de espera voluntario de 70 días o fueron sometidas al procedimiento Ovsynch de IA programada para ser inseminadas el día 70 después del parto. La implementación de la IA programada redujo el intervalo desde el parto para la primera inseminación en 10 días. No hubo ninguna diferencia en la proporción de vacas que quedaron preñadas tras la primera inseminación entre los tratamientos. Por otra parte, pocos animales quedaron preñados, sin duda por el alto grado de estrés por calor. Sin embargo, hubo más vacas preñadas en el 90d postparto en el grupo con IA programada, probablemente porque se había inseminado a un mayor número de vacas.

Se obtuvieron resultados similares en Kansas por Cartmill et al. (2001). En este experimento, un grupo de vacas estuvo sujeto a un régimen de sincronización de celo (Select Synch) mientras que el otro grupo fue inseminado utilizando el protocolo Ovsynch. El nivel general de fertilidad fue más alto que en el estudio de Florida. Como en el experimento de Florida, la IA programada no aumentó el porcentaje de vacas preñadas en la primera inseminación después del parto. No obstante, se inseminaron más vacas

en los 7d después del tratamiento de IA programada que tras el tratamiento de sincronización de celo, por lo que el porcentaje de vacas preñadas a los 90d postparto fue casi el doble de alto para el grupo con IA programada (Tabla 4).

Tabla 4. Efectividad de los protocolos de inseminación programada para aumentar las tasas de preñez de Holsteins en lactación cuando se implementan durante los periodos de estrés por calor en Florida (Experimento 1) y Kansas (Experimento 2).

Experimento[a]	Tratamiento[b]	Nº de vacas	Intervalo, del parto a la primera inseminación, días	Vacas inseminadas en los 7 d después PGF	Tasa de preñez en la primera inseminación	Tasa de preñez a los 90-d postparto
1	Celo	184	82,4	–	12,5%	9,8%
	IAP	169	72,4***	–	13,6%	16,6%*
2	SS	128	–	57%	32,0%	17,9%
	IAP	207	—	100%	33,3%	33,3%**

[a] Experimento 1: Aréchiga et al. (1998); Experimento 2, Cartmill et al. (2001).

[b] Celo = inseminar en cada celo observado comenzando en el día 70 postparto; IAP = inseminación artificial programada seguida de una inseminación en todos los periodos de celo observados a partir de ese momento; SS = Select Synch; GnRH seguido de prostaglandina F-2α (PGF) 7 d después e inseminación en los celos detectados en los siguientes 21 d.

* P<0,05 **P<0,01 *** P<0,001

Aunque la IA programada puede aumentar el número de vacas inseminadas, no puede incrementar la fertilidad en el verano. Desgraciadamente, no se ha identificado ningún tratamiento farmacológico que pueda aumentar de forma consistente la tasa de preñez para la IA durante el estrés por calor (ver Hansen, 2011 para una revisión). Entre los tratamientos que se han examinado se encuentran el tratamiento con gonadotropina coriónica humana en el día 5 del ciclo estral para aumentar las concentraciones de progesterona circulante, el tratamiento con somatotropina bovina para incrementar la secreción de la molécula embrioprotectora: factor de crecimiento insulínico tipo-1 y el tratamiento con la hormona liberadora de gonadotropina para extender la vida útil del cuerpo lúteo. La inefectividad de los tratamientos hormonales probablemente está relacionada al amplio periodo de tiempo en el que el ovocito y el embrión temprano son susceptibles de alteración por shock por calor. Los tratamientos que podrían revertir los efectos del estrés por calor en un aspecto fisiológico no pueden invertir los efectos en otros. Consideremos, por ejemplo, el uso de la gonadotropina coriónica para aumentar la producción de progesterona por el cuerpo lúteo. Dicho tratamiento puede ser efectivo a la hora de revertir el efecto del estrés por calor sobre las concentraciones de progesterona circulante tras la ovulación (Wolfenson et al., 2000) pero este efecto no mejorará la fertilidad en una vaca cuyos ovocitos ya estén dañados por un estrés por calor producido en algún momento previo a la ovulación.

Transferencia de embriones para evitar la muerte de ovocitos y embriones causada por estrés por calor

La transferencia de embriones fue desarrollada como una herramienta para aumentar el número de descendientes de las hembras genéticamente superiores. Esta tecnología también puede utilizarse para mejorar la fertilidad durante el estrés por calor. De hecho, sigue siendo el mejor método disponible para elevar la tasa de preñez de las vacas en lactación expuestas a estrés por calor. En efecto, se ha demostrado en repetidas ocasiones que la transferencia de embriones puede aliviar la reducción en la fertilidad causada por el estrés por calor (Figura 1).

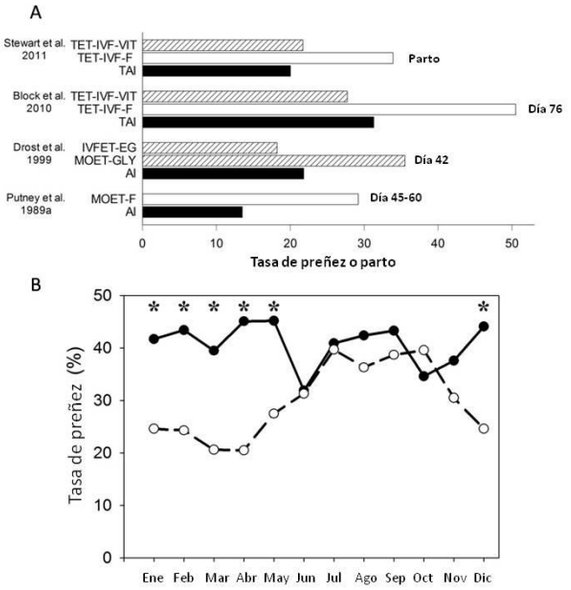


Figura 1. Aumento de las tasas de preñez durante el estrés por calor utilizando la transferencia de embriones. Los datos del panel A representan los resultados de varios experimentos realizados en verano en Florida. Las abreviaturas son como sigue: AI: inseminación artificial; EG, congelado en glicol de etileno; F, fresco; Gly, congelado en glicerol; IVFET, transferencia de embrión con un embrión producido in vitro; MOET, transferencia de embriones de múltiples ovulaciones; TAI, inseminación artificial programada; TET-IVF, transferencia de embriones programada con un embrión producido in vitro; VIT, vitrificado. Los números de la gráfica representan el día de gestación en el que se llevó a cabo el diagnóstico de preñez. El panel B representa los datos de una granja lechera comercial en Brasil en la que las vacas han sido inseminadas, o bien han recibido un embrión producido por superovulación (Rodriques et al., 2004). Los asteriscos representan los meses en los que la tasa de preñez fue distinta entre la AI y la ET. La figura se extrae de Hansen (2013).

La fertilidad es baja en verano principalmente por los daños en el crecimiento del folículo, el ovocito y el embrión causado por la exposición a la hipertermia (temperatura corporal elevada) maternal. El ovocito se puede dañar por el estrés de calor hasta 105 días antes de la ovulación (Torres-Júnior et al., 2008) y sigue siendo sensible al estrés por calor el día de la ovulación (Putney et al., 1989b). El embrión temprano también puede verse dañado por el estrés por calor, pero adquiere pronto mecanismos bioquímicos que lo protegen de la temperatura elevada (Hansen, 2013). Por tanto, el estrés por calor en el día 1 después del celo redujo el desarrollo embrionario, pero el estrés por calor en los días 3, 5 y 7 no tuvo ningún efecto (Ealy et al., 1993).

En los protocolos de transferencia de embriones, los únicos embriones que se transfieren normalmente son aquellos que han mostrado desarrollo. Por lo tanto, el embrión que se transfiere a un receptor estresado por calor, por una razón o por otra, ha escapado de los efectos del estrés por calor. Además, los embriones ya se han hecho resistentes al estrés por calor en el momento en que llegan a la etapa de desarrollo en la que están listos para ser transferidos a un receptor (mórula o blástula). Por tanto, es menos probable que la hipertermia maternal mate a un embrión después del día 7 de gestación que a un embrión en su primer o segundo día de vida.

Los embriones se pueden producir ya sea por superovulación o por fertilización in vitro. Para la superovulación, se inyecta a las vacas la hormona estimuladora del folículo para provocar el creci-

miento y la ovulación de múltiples folículos. Para la fertilización in vitro, los ovocitos se pueden recoger de folículos en crecimiento utilizando la aspiración guiada por ecografía transvaginal (conocida como recogida de ovocitos u OPU) o de los ovarios recuperados del matadero o de ovariotomías. Después, los ovocitos son fertilizados con el esperma y los embriones resultantes se pueden desarrollar en el laboratorio hasta que se transfieren a sus receptoras. Los embriones producidos por superovulación son superiores a aquellos producidos in vitro en términos de capacidad de establecer la gestación después de la transferencia y de sobrevivir a la criopreservación para un almacenamiento a largo plazo. Como se muestra en la Figura 1, la transferencia de embriones superovulados mejora la fertilidad durante el estrés de calor, independientemente de que los embriones hayan sido criopreservados o transferidos frescos. Sin embargo, la baja supervivencia de los embriones producidos in vitro a la criopreservación significa que la transferencia de embriones producidos in vitro mejora la fertilidad solo cuando los embriones se transfieren sin criopreservación.

A pesar de los problemas causados por la baja congelabilidad de los embriones, los sistemas de producción in vitro son superiores a la superovulación en cuanto al máximo número de embriones que se pueden producir a partir de una vaca cada año. Además, el semen sexado pude utilizarse de manera muy eficiente en la fertilización in vitro ya que una pajilla puede utilizarse para inseminar docenas de ovocitos. La producción de embriones producidos in vitro utilizando ovocitos recogidos del matadero es mucho menos costosa que la producción de embriones por superovulación o por fertilización in vitro de ovocitos recogidos por OPU.

La decisión sobre si utilizar la transferencia de embriones durante el verano depende de la magnitud de la reducción de la fertilidad causada por el estrés por calor, el grado de la mejora en fertilidad causada por la transferencia de embriones y el coste de los embriones disponibles para las transferencias. Ribeiro et al. (2012) calcularon el coste de producir la gestación de una ternera en vacas en lactación como una función de la tasa de preñez para la IA o la transferencia de embriones. Como ejemplo, considere el caso en el que la tasa de preñez en el verano sea del 15% para la IA utilizando semen convencional y del 25% usando la transferencia de embriones con semen sexado. En este escenario, la transferencia de embriones sería rentable. Costaría 1.157$ producir la gestación de una ternera utilizando la IA programada, 1.042$ producir un embrión utilizando un ovocito recogido por ecografía, y 820$ producir un embrión utilizando un ovocito recuperado de un ovario del matadero.

La transferencia de embriones será más rentable durante el estrés por calor según las mejoras en el proceso aumenten la capacidad del embrión de establecer la gestación y sobrevivir a la criopreservación. Además, las ventajas en costes de utilizar embriones obtenidos de ovocitos recuperados del matadero no se deben pasar por alto. Los embriones de alto valor genético se pueden producir utilizando toros de élite porque una pajilla de semen puede producir docenas de embriones. Las mejoras en criopreservación también harán las biopsias de los embriones para el genotipado más prácticas.

Referencias

1. Aréchiga CF, Staples CR, McDowell LR, Hansen PJ. Effects of timed insemination and supplemental β-carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. J Dairy Sci 1998; 81:390-402.
2. Badinga L, Collier RJ, Thatcher WW, Wilcox CJ. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment. J Dairy Sci 1985; 68:78-85.
3. Berman, A., Folman, Y., Kaim, M., Mamen, M., Herz, Z., Wolfenson, D., Arieli, A., & Graber, Y. (1985) Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. J Dairy Sci 1985; 68:1488-1495.
4. Cartmill JA, El-Zarkouny SZ, Hensley BA, Rozell TG, Smith JF, Stevenson JS. An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. J Dairy Sci 2001; 84:799-806.
5. de Castro e Paula LA, Hansen PJ. Modification of actions of heat shock on development and apoptosis of cultured preimplantation bovine embryos by oxygen concentration and dithiothreitol. Mol Reprod Dev 2008; 75:1338-1350.
6. Dikmen S, Alava E, Pontes E, Fear JM, Dikmen BY, Olson TA, Hansen PJ. Differences in thermoregulatory ability between slick-haired and wild-type lactating Holstein cows in response to acute heat stress. J Dairy Sci 2008; 91:3395-3402.
7. Dikmen S, Hansen PJ. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? J Dairy Sci 2009; 92: 109-116.
8. Dikmen S, Cole JB, Null DJ, Hansen PJ. Heritability of rectal temperature and genetic correlations with production and reproduction traits in dairy cattle. J Dairy Sci 2012; 95:3401-3405.
9. Dikmen S, Cole JB, Null DJ, Hansen PJ. Genome-wide association mapping for identification of quantitative trait loci for rectal temperature during heat stress in Holstein cattle. PLoS One 2013; 8:e69202.
10. Drost, M, Ambrose JD, Thatcher M-J, Cantrell CK, Wolfsdorf KE, Hasler JF, Thatcher WW. Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in Florida. Theriogenology 1999; 52:1161-1167.
11. Ealy AD, Drost M, Hansen PJ. 1993. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. J Dairy Sci 1993; 76:2899-2905.
12. Ealy AD, Howell JL, Monterroso VH, Aréchiga CF, Hansen PJ. Developmental changes in sensitivity of bovine embryos to heat shock and use of antioxidants as thermoprotectants. J Anim Sci 1995; 73:1401-1407.
13. Flamenbaum I, Ezra E. Cooling cows in summer almost eliminates seasonality in milk production and fertility. In: *The Dairy Industry in Israel 2006.* (ed. D Hojman, Malul Y, Avrech T), Israel Cattle Breeders Assn and Israel Dairy Board, Israel, 2006, pp 23-25.
14. Garcia-Ispierto I, Abdelfatah A, López-Gatius F. Melatonin treatment at dry-off improves reproductive performance postpartum in high-producing dairy cows under heat stress conditions. Reprod Domest Anim 2013; 48:577-583.
15. Gaughan JB, Mader TL, Holt SM, Sullivan ML, Hahn GL. Assessing the heat tolerance of 17 beef cattle genotypes. Int J Biometeorol 2010; 54:617-627.
16. Gilad E, Meidan R, Berman A, Graber Y, Wolfenson D. Effect of tonic and GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. J Reprod Fertil 1993; 99: 315-321.
17. Hansen PJ. Managing reproduction during heat stress in dairy cows. In: Risco CA, Melendez Retamel P, *Dairy Production Medicine*, Wiley-Blackwell, Chicester, United Kingdom,2011, pp. 153-163.
18. Hansen PJ. 2013. Cellular and molecular basis of therapies to ameliorate effects of heat stress on embryonic development in cattle. Anim Reprod 2013; 10: 322-333.
19. Hansen PJ, Aréchiga CF. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. J Anim Sci 1999; 77 Suppl 2:36-50.
20. López-Gatius, F, Santolaria P, Mundet I, Yániz JL. Walking

activity at estrus and subsequent fertility in dairy cows. Theriogenology 2005; 63:1419-1429.

21. Mitlöhner FM, Galyean ML, McGlone JJ. Shade effects on performance, carcass traits, physiology, and behavior of heat-stressed feedlot heifers. J Anim Sci 2002; 80:2043-2050.
22. Nabenishi H, Takagi S, Kamata H, Nishimoto T, Morita T, Ashizawa K, Tsuzuki Y. The role of mitochondrial transition pores on bovine oocyte competence after heat stress, as determined by effects of cyclosporin A. Mol Reprod Dev 2012; 79:31-40.
23. Olson TA, Lucena C, Chase CC Jr, Hammond AC. Evidence of a major gene influencing hair length and heat tolerance in Bos taurus cattle. J Anim Sci. 2003;81:80-90.
24. Paula-Lopes FF, Al-Katanani YM, Majewski AC, McDowell LR, Hansen PJ. Manipulation of antioxidant status fails to improve fertility of lactating cows or survival of heat-shocked embryos. J Dairy Sci 2003; 86:2343-2351.
25. Putney DJ, Drost M, Thatcher WW. Influence of summer heat stress on pregnancy rates of lactating dairy cattle following embryo transfer or artificial insemination. Theriogenology 1989a; 31:765-778.
26. Putney DJ, Mullins S, Thatcher WW, Drost M, Gross TS. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. Anim Reprod Sci, 1989b; 19:37-51.
27. Ribeiro ES, Galvão KN, Thatcher WW, Santos JEP. Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. Anim. Reprod 2012; 9:370-387.
28. Rodrigues CA, Ayres H, Reis EL, Nichi M, Bo GA, Baruselli PS. Artificial insemination and embryo transfer pregnancy rates in high production Holstein breedings under tropical conditions. Proc 15th Int Congr Anim Reprod 2004; 2: 396 (abstr).
29. Sakatani M, Kobayashi S, Takahashi M. Effects of heat shock on in vitro development and intracellular oxidative state of bovine preimplantation embryos. Mol Reprod Dev 2004; 67:77-82.
30. Sakatani M, Suda I, Oki T, Kobayashi S, Kobayashi S, Takahashi M. Effects of purple sweet potato anthocyanins on development and intracellular redox status of bovine preimplantation embryos exposed to heat shock. J Reprod Dev 2007; 53:605-614.
31. Stewart BM, Block J, Morelli P, Navarette AE, Amstalden M, Bonilla L, Hansen PJ, Bilby TR. Efficacy of embryo transfer in lactating dairy cows during summer using fresh or vitrified embryos produced in vitro with sex-sorted semen. J Dairy Sci 2011; 94:3437-3445.
32. Tamura H, Takasaki A, Taketani T, Tanabe M, Kizuka F, Lee L, Tamura I, Maekawa R, Asada H, Yamagata Y, Sugino N. Melatonin as a free radical scavenger in the ovarian follicle. Endocrine J 2013; 60:1-13.
33. Thatcher WW, Collier RJ. Effects of climate on bovine reproduction. In: *Current Therapy in Theriogenology 2*. (Morrow DA, ed), 1986; pp. 301-309. W. B. Saunders, Philadelphia.
34. Torres-Júnior JR de S, Pires M de FA Pires, de Sá WF, Ferreira A de M, Viana JH, Camargo LS, Ramos AA, Folhadella IM, Polisseni J, de Freitas C, Clemente CA, de Sá Filho MF, Paula-Lopes FF, Baruselli PS. Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. Theriogenology, 2008; 69:155-166.
35. Wolfenson D, Roth Z, Meidan R. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. Anim Reprod Sci 2000; 60-61:535-547.

ENGLISH VERSION ▼

Strategies to reduce the impact of heat stress on fertility of dairy cows

Peter J. Hansen

Department of Animal Sciences, University of Florida

The Problem of Infertility in Dairy Cattle Caused by Heat Stress

Heat stress has two major consequences for the physiology of the cow that reduce its probability of becoming pregnant. First, changes in cow behavior (for example, reduced walking time; López-Gatius et al., 2005) and reduced circulating concentrations of estradiol-17β (Gilad et al., 1993) caused by heat stress reduce ability to detect estrus. On one dairy in Florida, only about 18-24% of estruses in hot months were detected by herdsmen while 45-56% of estrus periods were detected in cool months (Thatcher and Collier, 1986). Secondly, there is a large reduction in fertility. In lactating dairy cows, pregnancy rates per insemination in the summer can be as low as 10-20% (Hansen and Aréchiga, 1999). Fertility is reduced because heat stress can damage both the oocyte and early embryo (Hansen, 2013). The oocyte can be compromised by heat stress as early as 105 days before ovulation (Torres-Júnior et al., 2008) and as late as the peri-ovulatory period (Putney et al., 1989). The early embryo is also initially sensitive to heat stress but quickly becomes resistant so that heat stress on day 1 after estrus reduced embryonic development whereas heat stress at day 3 had no effect (Ealy et al., 1993).

Heat stress is largely a problem of the lactating dairy cow. In Florida, conception rates in Holsteins declined in the summer for lactating cows but not for non-lactating heifers (Badinga et al., 1985). The lactating cow is very susceptible to heat stress because the increased amounts of heat produced as a result of lactation makes it difficult to regulate body temperature during heat stress. Hyperthermia in lactating cows can occur at air temperatures as low as 25-29°C (Berman et al., 1985; Dikmen and Hansen, 2009). Beef cattle can also be affected by heat stress, particularly in feedlot situations (Mitlöhner et al., 2002), but several factors mitigate against large effects on reproduction in beef cattle. These factors include the existence of beef breeds that are genetically resistant to heat stress (Gaughan et al., 2010) and seasonal breeding patterns that ensure that cows are not bred at the warmest time of year.

The most common approach to reduce effects of heat stress on dairy cattle is to provide housing that minimizes heat stress. Incorporation of features such as shade structures, fans, and sprinklers, misters or foggers can be seen in many dairies in hot regions of the world. While very important, cooling cows does not totally prevent reduced reproductive function during heat stress. In Florida, for example, seasonal variation in pregnancy rate persisted in a herd where cows were cooled with sprinklers and fans (Hansen and Aréchiga, 1999). In Israel, pregnancy rate per insemination in intensively-cooled herds was 19% in summer vs 39% in winter for high-producing herds and 25% in summer vs 40% in winter for low-producing herds (Flamenbaum and Ezra, 2006).

In this paper, some other approaches for reducing effects of

heat stress on reproductive function will be discussed. These approaches are based on increasing genetic resistance to heat stress, altering the antioxidant status of the cow, use of hormones to manipulate reproductive processes, and incorporation of embryo transfer to bypass effects of heat stress on the oocyte and embryo.

Enhancing Genetic Resistance to Heat Stress

While there are some dairy breeds like the Gir and dairy crosses like the Girolando that are used in the tropics, the predominant breeds of dairy cattle in much of the world arose in Northern Europe and are not adapted to hot climates. Nonetheless, there are some genes in Northern European dairy cattle that confer animals with some resistance to heat stress. Recently, Dikmen et al. (2012) estimated the heritability of rectal temperature under heat stress conditions as 0.17. This means that about 17% of the variation among cows in rectal temperature during heat stress is the result of variation in genetics. This value is high enough to allow selection for rectal temperature. Data on genetic variation in rectal temperature has been used to identify genetic markers that predict thermotolerance on the Illumina Bovine SNP50 BeadChip (Dikmen et al., 2013). It may be possible, therefore, to use genetic information obtained from analysis of a single sample of blood or hair to estimate genetic merit for regulation of body temperature.

It might also be possible to improve genetic resistance to heat stress by introducing specific thermotolerance genes from other breeds into breeds with low levels of resistance to heat stress. One such gene is called the slick gene. First described in the Senepol breed of beef cattle that originated in the Virgin Islands, the slick gene is a dominant gene that causes very short hair growth. The slick gene has been introduced naturally into some Holstein cows in Puerto Rico and into a dairy breed in Venezuela called the Carora. In addition, Tim Olson of the University of Florida used crossbreeding with Senepol and backcrossing to introduce the slick gene into Holstein cows in Florida. Slick Holsteins are better able to regulate body temperature during heat stress than cows with normal hair (Dikmen et al., 2008). In Venezuela, Olson et al. (2003) found that Carora-Holstein crossbreds with the slick gene had lower rectal temperatures and higher milk yield than Carora-Holstein crossbreds with normal hair length (Table 1).

Table 1. Differences in rectal temperature and milk yield between slick and normal-haired Carora x Holstein cows in Venezuela.[a]

Breed type	Number of cows	Hair coat type	Rectal temperature, °C	305-d milk yield, kg
Carora	9	Slick	38.4 ± 0.16^{bc}	4,560 ± 460^{b}
Holstein x Carora	288	Slick	38.4 ± 0.03^{b}	5,527 ± 87^{c}
Holstein x Carora	75	Normal	38.9 ± 0.06^{d}	5,115 ± 165^{bd}
75% Holstein: 25% Carora	30	Slick	38.6 ± 0.09^{c}	6,389 ± 250^{e}
75% Holstein: 25% Carora	39	Normal	39.3 ± 0.08^{e}	5,579 ± 225^{cdf}
Holstein	93	Normal	39.1 ± 0.06^{de}	6,104 ± 159^{ef}

[a] From Olson et al. (2003)

^{bcdef} Means with different superscripts differ (P<0.05).

Administration of Antioxidants to Protect Embryos from Free Radicals Induced by Heat Shock

One of the reasons why heat stress damages the oocyte and embryo may reside in an increase in production of free radical molecules at elevated body temperature. Exposure of maturating oocytes (Nabenishi et al., 2012) and early cleavage-stage embryos to elevated temperature (Sakatani et al., 2004) increases the production of free radicals. In culture, some antioxidants [anthocyananin (Sakatani et al., 2007) and dithiothreitol (de Castro e Paula et al., 2008)] but not all [vitamin E (Paula-Lopes et al., 2003a), glutathione (Ealy et al., 1995), and glutathione ester (Ealy et al., 1995)] reduced the effects of elevated temperature on development of embryos. The possible involvement of free radicals in effects of heat stress on the oocyte and embryo suggests it might be possible to improve fertility by increasing antioxidant concentrations in cells or the blood. There are two papers that suggest that this might be possible.

In the first paper, Aréchiga et al. (1998) found that feeding cows supplemental β-carotene at a rate of 400 mg/d for at least 90 days from about Day 15 after calving increased the proportion of cows that were pregnant at 90 d postpartum during the summer but not during the winter (Table 2). There was no effect of treatment on pregnancy rate at first service so the supplemental β-carotene either improved fertility after first service or estrus detection rate.

Table 2. Effect of supplemental feeding of β-carotene in the postpartum period on reproductive function of lactating Holstein cows in Florida.[a]

Experiment	Time of year	Treatment	No. of cows	Pregnancy rate at first insemination	Pregnancy rate, 90-d postpartum
1	Hot	Control	128	9.4%	21.1%
		β-carotene	48	12.9%	35.4%*
2	Cool	Control	55	17.6%	33.3%
		β-carotene	52	12.9%	26.2%

[a] From Aréchiga et al. (1998)

* P<0.05.

More recently, Garcia-Ispierto et al. (2013) tested whether administration of 18 mg melatonin implants (9-12 implants per cow) beginning at 220 d of gestation to cows during the summer would affect postpartum reproduction. Melatonin has antioxidant properties in the follicle (Tamura et al., 2013). Cows treated with melatonin had reduced interval to conception and decreased incidence of cows experiencing > 3 breedings per conception (Table 3). It is not clear whether the effect of melatonin is due to blocking effects of heat stress on the oocyte and embryo or whether it acts through some effect independent of heat stress. Results are promising but experiments should be repeated in both hot and cool seasons.

Table 3. Effect of administration of melatonin implants at 220 d of gestation on postpartum reproduction in the summer in Spain.[a]

Treatment	No. of cows	Cows with > 3 AI/conception	Interval from calving to conception, days
Control	67	28.4%	123
Melatonin	72	12.5%**	103*

[a] From Garcia-Ispierto et al., 2013

* P<0.05

** P< 0.01

Use of Hormones to Bypass Effects of Heat Stress on Reproduction

Protocols for timed artificial insemination (AI) can completely bypass problems associated with detecting estrus during heat stress

because timing of ovulation is synchronized and insemination can be implemented at a fixed time without the need for estrus detection. What timed AI does not do is reverse damage to the oocyte or embryo caused by heat stress. Implementation of timed AI programs during heat stress can increase the rate at which at which cows get pregnant after calving because it increases the number of eligible cows that are inseminated. This is despite the fact that actual conception rates are not improved.

The effectiveness of timed AI during heat stress can be examined by looking at results from two experiments conducted in the summer (Table 4). The first experiment, that of Aréchiga et al. (1998), was conducted in south Florida, where the magnitude of heat stress is very high. Cows were assigned to either be bred at first detected estrus after the voluntary waiting period of 70 days or were subjected to the Ovsynch timed AI procedure to be inseminated at 70 d after calving. Implementation of timed AI reduced the interval from calving for first service by 10 d. There was no difference in the proportion of cows that became pregnant after first insemination between treatments. Moreover, few animals became pregnant, undoubtedly because of the high degree of heat stress. Nonetheless, more cows were pregnant by 90 d postpartum in the timed AI group, presumably because more cows had been inseminated.

Similar results were obtained in Kansas by Cartmill et al. (2001). In this experiment, one group of cows were subjected to an estrous synchronization regimen (Select Synch) whereas another group was inseminated using the Ovsynch protocol. The overall level of fertility was higher than for the Florida study. Like for the Florida experiment, timed AI did not increase the percent of cows pregnant at first insemination after calving. However, more cows were inseminated within 7 d after the TAI treatment than after the estrous synchronization treatment so the percent of cows pregnant at 90 d postpartum was almost twice as high for the timed AI group (Table 4).

Table 4. Effectiveness of timed insemination protocols for increasing pregnancy rates of lactating Holsteins when implemented during periods of heat stress in Florida (Experiment 1) and Kansas (Experiment 2).

Experiment[a]	Treatment[b]	No. of cows	Interval, calving to first service, days	Cows bred within 7 d after PGF	Pregnancy rate at first service	Pregnancy rate at 90-d postpartum
1	Estrus	184	82.4	—	12.5%	9.8%
	TAI	169	72.4***	—	13.6%	16.6%*
2	SS	128	—	57%	32.0%	17.9%
	TAI	207	—	100%	33.3%	33.3%**

[a] Experiment 1: Aréchiga et al. (1998); Experiment 2, Cartmill et al. (2001).

[b] Estrus = breeding at each observed estrus beginning at Day 70 postpartum; TAI = timed artificial insemination followed by breeding at all observed estrous periods thereafter; SS=Select Synch; GnRH followed by prostaglandin F-2α (PGF) 7 d later and breeding at detected estrus for the next 21 d .

* P<0.05 **P<0.01 *** P<0.001

While timed AI can increase the number of cows inseminated, it cannot increase fertility during the summer. Unfortunately, no pharmacological treatment has been identified that can consistently increase pregnancy rate per AI during heat stress (see Hansen, 2011 for review). Among the treatments that have been examined are treatment with human chorionic gonadotropin at Day 5 of the estrous cycle to increase circulating progesterone concentrations, treatment with bovine somatotropin to increase secretion of the embryoprotective molecule insulin-like growth factor-1 and treatment with gonadotropin releasing hormone to extend lifespan of the corpus luteum. The ineffectiveness of hormonal treatments is probably related to the broad period of time in which the oocyte and early embryo are susceptible to disruption by heat shock. Treatments that might reverse effects of heat stress at one physiological window cannot reverse effects at others. Consider, for example, use of chorionic gonadotropin to increase output of progesterone by the corpus luteum. Such a treatment might be effective at reversing effect of heat stress on circulating progesterone concentrations after ovulation (Wolfenson et al., 2000) but this effect would not improve fertility in a cow whose oocyte was already damaged by heat stress occurring at some time before ovulation.

Embryo transfer to bypass death of oocytes and embryos caused by heat stress

Embryo transfer was developed as a tool to increase the number of offspring from genetically-superior females. This technology can also be used for improving fertility during heat stress. In fact, it remains the best method available for increasing pregnancy rate in lactating cows exposed to heat stress. Indeed, it has been shown repeatedly that embryo transfer can alleviate the reduction in fertility caused by heat stress (Figure 1).

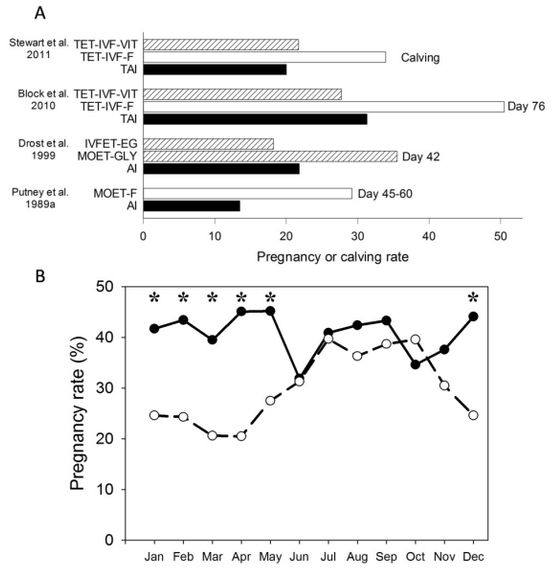


Figure 1. Enhancement of pregnancy rates during heat stress using embryo transfer. Data in Panel A represent results from various experiments in the summer in Florida. Abbreviations are as follows: AI: artificial insemination; EG, frozen in ethylene glycol; F, fresh; Gly, frozen in glycerol; IVFET, embryo transfer with an in vitro produced embryo; MOET, multiple ovulation embryo transfer; TAI, timed artificial insemination; TET-IVF, timed embryo transfer with an in vitro produced embryo; VIT, vitrified. The numbers in the graph represent the day of gestation at which pregnancy diagnosis was carried out. Panel B represents data from a commercial dairy in Brazil in which cows were either inseminated or received an embryo produced by superovulation (Rodriques et al., 2004). Asterisks represent months in which pregnancy rate was different between AI and ET. The figure is reproduced from Hansen (2013).

Fertility is low in the summer largely because of damage to the growing follicle, oocyte and embryo caused by exposure to maternal hyperthermia (elevated body temperature). The oocyte can be damaged by heat stress as early as 105 days before ovulation (Torres-Júnior et al., 2008) and remains sensitive to heat stress on

the day of ovulation (Putney et al., 1989b). The early embryo, too, can be damaged by heat stress but soon acquires biochemical mechanisms that protect it elevated temperature (Hansen, 2013). Thus, heat stress at Day 1 after estrus reduced embryonic development but heat stress at Days 3, 5, and 7 had no effect (Ealy et al., 1993).

In embryo transfer protocols, the only embryos typically transferred are those that have developed develop. Thus, the embryo that is transferred into a heat-stressed recipient has, for one reason or another, escaped effects of heat stress. In addition, embryos have become resistant to heat stress by the time they reach the stage of development where they are ready to be transferred into a recipient (the morula or blastocyst stage). Thus, it is unlikely that maternal hyperthermia will kill an embryo after Day 7 of pregnancy than an embryo in the first day or two of life.

Embryos can be produced using either superovulation or in vitro fertilization. For superovulation, cows are injected with follicle stimulating hormone to cause the growth and ovulation of multiple follicles. For in vitro fertilization, oocytes are harvested either from growing follicles using transvaginal, ultrasound guided aspiration (called oocyte pickup or OPU) or from ovaries recovered at slaughter or ovariectomy. Oocytes are then fertilized with sperm and the resultant embryos allowed to develop in the laboratory until transferred into recipients. Embryos produced by superovulation are superior to those produced in vitro in terms of ability to establish pregnancy after transfer and survive cryopreservation for long-term storage. As shown in Figure 1, transfer of superovoulated embryos improves fertility during heat stress regardless of whether embryos are cryopreserved or transferred fresh. However, the poor survival of in vitro produced embryos to cryopreservation means that transfer of in vitro produced embryos improved fertility only when embryos were transferred without cryopreservation.

Despite the problems caused by poor embryo freezability, in vitro production systems are superior to superovulation in terms of the maximum number of embryos that can be produced from a cow per year. In addition, sexed semen can be used very efficiently for in vitro fertilization since one straw can be used to inseminate dozens of oocytes. Production of in vitro produced embryos using oocytes collected at a slaughterhouse is much less expensive that production of embryos by superovulation or by in vitro fertilization of oocytes harvested using OPU.

The decision as to whether to use embryo transfer during the summer depends on the magnitude of the reduction in fertility caused by heat stress, the degree of improvement in fertility caused by embryo transfer and the cost of the embryo available for transfer. Ribeiro et al. (2012) estimated the cost to produce a female pregnancy in lactating cows as a function of the pregnancy rate per AI or embryo transfer. As an example, consider the case where pregnancy rate in the summer is 15% to AI using conventional semen and 25% using embryo transfer with sexed semen. In this scenario, embryo transfer would be profitable. It would cost $1157 to produce a female pregnancy using timed AI, $1042 to produce an embryo using an oocyte harvested by ultrasound, and $820 to produce an embryo using an oocyte recovered from a slaughterhouse ovary.

Embryo transfer will become more profitable during heat stress as improvements in the process increase the competence of the embryo to establish pregnancy and survive cryopreservation. In addition, cost advantages of using embryos derived from oocytes recovered from the slaughterhouse should not be overlooked. Embryos of high genetic merit can be produced by using elite bulls because one straw of semen can produce dozens of embryos. Improvements in cryopreservation will also make embryo biopsy for genotyping more practical.

References

1. Aréchiga CF, Staples CR, McDowell LR, Hansen PJ. Effects of timed insemination and supplemental β-carotene on reproduction and milk yield of dairy cows under heat stress. J Dairy Sci 1998; 81:390-402.
2. Badinga L, Collier RJ, Thatcher WW, Wilcox CJ. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment. J Dairy Sci 1985; 68:78-85.
3. Berman, A., Folman, Y., Kaim, M., Mamen, M., Herz, Z., Wolfenson, D., Arieli, A., & Graber, Y. (1985) Upper critical temperatures and forced ventilation effects for high-yielding dairy cows in a subtropical climate. J Dairy Sci 1985; 68:1488-1495.
4. Cartmill JA, El-Zarkouny SZ, Hensley BA, Rozell TG, Smith JF, Stevenson JS. An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. J Dairy Sci 2001; 84:799-806.
5. de Castro e Paula LA, Hansen PJ. Modification of actions of heat shock on development and apoptosis of cultured preimplantation bovine embryos by oxygen concentration and dithiothreitol. Mol Reprod Dev 2008; 75:1338-1350.
6. Dikmen S, Alava E, Pontes E, Fear JM, Dikmen BY, Olson TA, Hansen PJ. Differences in thermoregulatory ability between slick-haired and wild-type lactating Holstein cows in response to acute heat stress. J Dairy Sci 2008; 91:3395-3402.
7. Dikmen S, Hansen PJ. Is the temperature-humidity index the best indicator of heat stress in lactating dairy cows in a subtropical environment? J Dairy Sci 2009; 92: 109-116.
8. Dikmen S, Cole JB, Null DJ, Hansen PJ. Heritability of rectal temperature and genetic correlations with production and reproduction traits in dairy cattle. J Dairy Sci 2012; 95:3401-3405.
9. Dikmen S, Cole JB, Null DJ, Hansen PJ. Genome-wide association mapping for identification of quantitative trait loci for rectal temperature during heat stress in Holstein cattle. PLoS One 2013; 8:e69202.
10. Drost, M, Ambrose JD, Thatcher M-J, Cantrell CK, Wolfsdorf KE, Hasler JF, Thatcher WW. Conception rates after artificial insemination or embryo transfer in lactating dairy cows during summer in Florida. Theriogenology 1999; 52:1161-1167.
11. Ealy AD, Drost M, Hansen PJ. 1993. Developmental changes in embryonic resistance to adverse effects of maternal heat stress in cows. J Dairy Sci 1993; 76:2899-2905.
12. Ealy AD, Howell JL, Monterroso VH, Aréchiga CF, Hansen PJ. Developmental changes in sensitivity of bovine embryos to heat shock and use of antioxidants as thermoprotectants. J Anim Sci 1995; 73:1401-1407.
13. Flamenbaum I, Ezra E. Cooling cows in summer almost eliminates seasonality in milk production and fertility. In: *The Dairy Industry in Israel 2006.* (ed. D Hojman, Malul Y, Avrech T), Israel Cattle Breeders Assn and Israel Dairy Board, Israel, 2006, pp 23-25.
14. Garcia-Ispierto I, Abdelfatah A, López-Gatius F. Melatonin treatment at dry-off improves reproductive performance postpartum in high-producing dairy cows under heat stress conditions. Reprod Domest Anim 2013; 48:577-583.
15. Gaughan JB, Mader TL, Holt SM, Sullivan ML, Hahn GL. Assessing the heat tolerance of 17 beef cattle genotypes. Int J Biometeorol 2010; 54:617-627.

16. Gilad E, Meidan R, Berman A, Graber Y, Wolfenson D. Effect of tonic and GnRH-induced gonadotrophin secretion in relation to concentration of oestradiol in plasma of cyclic cows. J Reprod Fertil 1993; 99: 315-321.
17. Hansen PJ. Managing reproduction during heat stress in dairy cows. In: Risco CA, Melendez Retamel P, *Dairy Production Medicine*, Wiley-Blackwell, Chicester, United Kingdom,2011, pp. 153-163.
18. Hansen PJ. 2013. Cellular and molecular basis of therapies to ameliorate effects of heat stress on embryonic development in cattle. Anim Reprod 2013; 10: 322-333.
19. Hansen PJ, Aréchiga CF. Strategies for managing reproduction in the heat-stressed dairy cow. J Anim Sci 1999; 77 Suppl 2:36-50.
20. López-Gatius, F, Santolaria P, Mundet I, Yániz JL. Walking activity at estrus and subsequent fertility in dairy cows. Theriogenology 2005; 63:1419-1429.
21. Mitlöhner FM, Galyean ML, McGlone JJ. Shade effects on performance, carcass traits, physiology, and behavior of heat-stressed feedlot heifers. J Anim Sci 2002; 80:2043-2050.
22. Nabenishi H, Takagi S, Kamata H, Nishimoto T, Morita T, Ashizawa K, Tsuzuki Y. The role of mitochondrial transition pores on bovine oocyte competence after heat stress, as determined by effects of cyclosporin A. Mol Reprod Dev 2012; 79:31-40.
23. Olson TA, Lucena C, Chase CC Jr, Hammond AC. Evidence of a major gene influencing hair length and heat tolerance in Bos taurus cattle. J Anim Sci. 2003;81:80-90.
24. Paula-Lopes FF, Al-Katanani YM, Majewski AC, McDowell LR, Hansen PJ. Manipulation of antioxidant status fails to improve fertility of lactating cows or survival of heat-shocked embryos. J Dairy Sci 2003; 86:2343-2351.
25. Putney DJ, Drost M, Thatcher WW. Influence of summer heat stress on pregnancy rates of lactating dairy cattle following embryo transfer or artificial insemination. Theriogenology 1989a; 31:765-778.
26. Putney DJ, Mullins S, Thatcher WW, Drost M, Gross TS. Embryonic development in superovulated dairy cattle exposed to elevated ambient temperatures between the onset of estrus and insemination. Anim Reprod Sci, 1989b; 19:37-51.
27. Ribeiro ES, Galvão KN, Thatcher WW, Santos JEP. Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. Anim. Reprod 2012; 9:370-387.
28. Rodrigues CA, Ayres H, Reis EL, Nichi M, Bo GA, Baruselli PS. Artificial insemination and embryo transfer pregnancy rates in high production Holstein breedings under tropical conditions. Proc 15th Int Congr Anim Reprod 2004; 2: 396 (abstr).
29. Sakatani M, Kobayashi S, Takahashi M. Effects of heat shock on in vitro development and intracellular oxidative state of bovine preimplantation embryos. Mol Reprod Dev 2004; 67:77-82.
30. Sakatani M, Suda I, Oki T, Kobayashi S, Kobayashi S, Takahashi M. Effects of purple sweet potato anthocyanins on development and intracellular redox status of bovine preimplantation embryos exposed to heat shock. J Reprod Dev 2007; 53:605-614.
31. Stewart BM, Block J, Morelli P, Navarette AE, Amstalden M, Bonilla L, Hansen PJ, Bilby TR. Efficacy of embryo transfer in lactating dairy cows during summer using fresh or vitrified embryos produced in vitro with sex-sorted semen. J Dairy Sci 2011; 94:3437-3445.
32. Tamura H, Takasaki A, Taketani T, Tanabe M, Kizuka F, Lee L, Tamura I, Maekawa R, Asada H, Yamagata Y, Sugino N. Melatonin as a free radical scavenger in the ovarian follicle. Endocrine J 2013; 60:1-13.
33. Thatcher WW, Collier RJ. Effects of climate on bovine reproduction. In: *Current Therapy in Theriogenology 2*. (Morrow DA, ed), 1986; pp. 301-309. W. B. Saunders, Philadelphia.
34. Torres-Júnior JR de S, Pires M de FA Pires, de Sá WF, Ferreira A de M, Viana JH, Camargo LS, Ramos AA, Folhadella IM, Polisseni J, de Freitas C, Clemente CA, de Sá Filho MF, Paula-Lopes FF, Baruselli PS. Effect of maternal heat-stress on follicular growth and oocyte competence in *Bos indicus* cattle. Theriogenology, 2008; 69:155-166.
35. Wolfenson D, Roth Z, Meidan R. Impaired reproduction in heat-stressed cattle: basic and applied aspects. Anim Reprod Sci 2000; 60-61:535-547.

REFRESCAR LAS VACAS EN VERANO MEJORA SU FERTILIDAD Y SU BIENESTAR EL CASO DE ISRAEL

Israel Flamenbaum, Ph. D

Dr. Flamenbaum (Cow Cooling Solutions) LTD, Israel

Israel se encuentra al este del Mar Mediterráneo. El clima de Israel se considera subtropical y seco. Se caracteriza por inviernos moderadamente fríos y lluviosos (noviembre/marzo) y veranos calurosos (junio/octubre), que se corresponden con la estación seca, sin lluvias. El verano se caracteriza por sus altas temperaturas (incluyendo la noche) en combinación con la alta humedad relativa en la región costera (las temperaturas medias oscilan entre 26ºC y 32ºC y la humedad relativa oscila entre el 50% y el 90%). En los valles interiores cálidos y secos y en el desierto al sur, las temperaturas oscilan entre 38ºC y 45ºC y la humedad relativa es relativamente baja, oscilando entre el 20% y el 40%.

El sector lechero israelí consta de casi 120.000 vacas de la raza *Holstein-Israelí* en casi 900 granjas lecheras, la mayoría ubicadas en la costa y los valles cálidos. Según los datos del Registro Lechero de Israel (RLI), donde se incluye casi el 90% de las vacas lecheras de Israel, la producción media de leche anual por vaca en el 2013 se acercó a los 12.000 kg, con 3,7% de grasa y 3,2% de proteína.

El constante aumento en el rendimiento lechero y el calentamiento global están impulsando la disminución de los índices productivos y reproductivos de las vacas. Durante las tres últimas décadas, se han llevado a cabo algunas investigaciones en Israel, con el fin de desarrollar un sistema de refrigeración eficiente y permitir reducir la disminución en el rendimiento de las vacas en verano. Las tecnologías desarrolladas para la refrigeración de las vacas han sido rápidamente adoptadas por los granjeros israelitas. Los incentivos, proporcionados por un sistema de precios adecuado para la leche, han animado a los productores de leche a instalar y utilizar estos sistemas ampliamente. Para conseguir unos resultados positivos, es necesaria una correcta instalación y un manejo preciso del sistema de enfriamiento.

El sistema de enfriamiento más utilizado en Israel se basa en la combinación de mojar por aspersión a las vacas y hacer correr el aire sobre ellas mediante ventilación forzada. Este sistema se desarrolló y se implementó por primera vez en Israel a través de la cooperación entre el Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Hebrea de Jerusalén y el servicio de Extensión del Ministerio de Agricultura de Israel. El sistema fue descrito por primera vez hace casi 30 años (1). Refrescar a las vacas 5 veces al día, 30 minutos cada vez, permitió a las vacas, que producían 25 -30 kg de leche al día, mantener su temperatura corporal por debajo de 39ºC durante todo el día, en un día típico de verano israelí.

Se estudió la tasa de concepción de la primera y todas las inseminaciones en las vacas, enfriadas por el mismo procedimiento, 7 veces al día (2). La refrigeración intensiva permitió a las vacas, que producían 30kg de leche al día, mantener una temperatura corporal normal (por debajo de 39ºC) durante todo el día; mientras que, en el mismo tiempo, las vacas no enfriadas mostraron temperaturas corporales altas (por encima de 39,5ºC), durante la mayor parte del día, y recuperaron una temperatura corporal normal (por debajo de 39ºC) solo por unas horas, durante la noche. La tasa de concepción de las vacas enfriadas intensivamente fue significativamente mayor que la de las vacas no enfriadas (59% vs. 17%, y 57% vs. 17%), en la primera y en todas las inseminaciones, respectivamente. La tasa de preñez calculada a los 90, 120 y 150 días después del parto difiere de forma significativa entre los grupos (44%, 59% y 73% Vs 5%, 11% y 11%), en las vacas enfriadas y no enfriadas, respectivamente. Las tasas de concepción y de preñez obtenidas en las vacas enfriadas intensivamente en este experimento fueron similares a las obtenidas en el invierno de ese mismo año, en explotaciones lecheras comerciales en Israel.

En otro estudio desarrollado por nuestro grupo (3), un enfriamiento intensivo de las vacas en verano, durante el periodo desde 2 días antes y 8 días después de realizar la inseminación artificial (IA), no mejoró la tasa de concepción (31% y 36%) de las vacas enfriadas y las no enfriadas, respectivamente. Los resultados obtenidos en estos experimentos nos llevan a la conclusión de que, el enfriamiento intensivo de las vacas que producen 30kg/día permitía a las vacas mantener una temperatura corporal normal durante todo el día, todos los días del verano, y les permitía obtener niveles de invierno en la tasa de concepción durante el verano. De todos modos, enfriar intensivamente a las vacas solo por un corto periodo de tiempo, antes y después del momento de la inseminación, no dio los mismos resultados, probablemente porque el "daño" causado por el estrés por calor se daba antes o después de este corto periodo. Suponemos que, probablemente, un enfriamiento intensivo y un mantenimiento de las temperaturas corporales normales son necesarios durante todo el verano, cubriendo todas las etapas de la reproducción (desde el desarrollo inicial del folículo, hasta la implantación del óvulo fertilizado en el útero), con el fin de mantener vacas con potenciales reproductivos normales bajo las condiciones del verano israelí.

En un estudio, llevado a cabo recientemente en Israel (datos sin publicar), las vacas que producían 45-50kg de leche al día y fueron provistas del mismo tratamiento de refrigeración, con la misma intensidad, no fueron capaces de mantener su temperatura corporal normal durante todo el día, como hicieron las vacas del estudio (2), a pesar de que estuvieron expuestas a condiciones climáticas similares. En el experimento actual, las vacas, enfriadas durante 45 minutos cada 3 horas, no pudieron mantener una temperatura corporal normal durante todo el tiempo entre las sesiones de refrigeración dadas y su temperatura corporal tendía a estar por encima de la normal, por pocas horas entre las sesiones de enfriamiento.

En la última década hemos llevado a cabo algunas encuestas, en cooperación con la Asociación de Criadores de Ganado de Israel (ICBA, por sus siglas en inglés). El objetivo de estos estudios era evaluar la eficiencia de la implementación de los sistemas de refrigeración en granjas comerciales ubicadas en distintos puntos del país, en los índices productivos y reproductivos de las vacas de alto rendimiento, actuando en el clima subtropical de Israel.

La primera encuesta estudiaba el efecto de la intensidad de enfriamiento en los índices productivos y reproductivos de la vaca. Esta encuesta de gran escala fue desarrollada a lo largo de cuatro años consecutivos, en 14 granjas, con una media de 300 vacas cada una, ubicadas en la zona costera de Israel (4). Las granjas se clasificaron en tres grupos distintos de acuerdo con la intensidad de la refrigeración en verano. Las vacas del grupo 1 (seis granjas, enfriamiento intensivo) se refrescaron en las zonas de espera y de alimentación por un total de 10 sesiones de enfriamiento y 7,5 horas acumuladas al día. Cada sesión de enfriamiento combinaba ciclos de aspersión (0,5 min.) y ventilación forzada (4,5 min.). Las vacas del grupo 2 (tres granjas, enfriamiento moderado) fueron enfriadas solamente en la zona de espera, teniendo un total de seis sesiones de enfriamiento y 4,5 horas acumuladas al día. Las vacas del grupo 3 (cinco granjas, sin refrigeración) no fueron en-

friadas en absoluto. Se registraron la producción de leche (kg/d) y las tasas de concepción (%) del verano (julio-septiembre) y el invierno (diciembre-febrero). El análisis incluía 125.000 registros de leche (>cinco registros para cada vaca por lactación) y 17.000 inseminaciones artificiales. La media de las temperaturas mínimas y máximas diarias (°C) de los cuatro años fueron de 8,4 y 19,3, y de 22,0 y 31,8 para el invierno y el verano, respectivamente.

Las tasas de concepción fueron de 56%, 54% y 54%, y de 40%, 34% y 15%, para las novillas primerizas bajo tratamientos de enfriamiento intensivo, moderado y sin tratamiento, inseminadas en invierno y verano, respectivamente (P<0.01). Las tasas de concepción fueron de 47%, 46% y 43%, y de 34%, 34% y 17%, para las vacas adultas en los mismos grupos respectivamente (P<0.01). Los resultados de esta encuesta se presentan en la Tabla 1. Los datos en la Tabla 1 indican que el enfriamiento intensivo de las vacas en verano tiene el potencial de reducir hasta la mitad el descenso en la tasa de concepción de las vacas en verano.

La segunda encuesta trató de averiguar si el enfriamiento intensivo en verano tenía el potencial de prevenir el descenso en la producción de leche y la tasa de concepción en las vacas de extremadamente alto rendimiento (media anual del rebaño por encima de los 13.000 kg). La encuesta utilizó los datos del Registro Lechero Israelí e incluyó 22 rebaños lecheros, con una media de 300 vacas cada uno y un total de 6.600 vacas (5). Todas las granjas lecheras de este estudio estaban ubicadas en la parte costera de Israel y las vacas estaban bajo sistemas de alojamiento similares, eran ordeñadas 3 veces al día y alimentadas ad-libitum con una ración mixta total (RMT), ofrecida a las vacas dos veces al día. Doce de las granjas eran de alto nivel de producción y diez, de bajo nivel de producción (rendimiento medio de la LCE en el invierno del año anterior 41 y 35 kg/d, respectivamente). Las vacas de la mitad de las granjas en cada grupo de nivel de producción fueron enfriadas intensivamente (EI) durante el verano, con una combinación de aspersión y ventilación forzada durante 10 sesiones de enfriamiento y un total de 7 horas acumuladas al día. Las vacas de la otra mitad de las granjas en cada grupo de nivel de producción fueron enfriadas moderadamente (EM) mediante una combinación de aspersión y ventilación forzada en el corral de espera, únicamente antes de ser ordeñadas. La tasa de concepción en la primera y segunda inseminación, llevadas a cabo en invierno y en verano, dio una media de 39% y 19%, respectivamente, para las EI; y de 39% y 12%, respectivamente, para las vacas EM en granjas de alta producción. Los resultados de este estudio se presentan en la Tabla 4. Los resultados muestran que el enfriamiento intensivo de las vacas de alto rendimiento en verano puede reducir aproximadamente a la mitad la disminución de la tasa de concepción en verano, independientemente del nivel de producción de las vacas.

Los Servicios de Extensión del Ministerio de Agricultura de Israel encontraron la necesidad de desarrollar una herramienta que permitiera el seguimiento de la efectividad de los sistemas de enfriamiento instalados en las granjas (6). Se desarrolló un informe computerizado, en colaboración con la Asociación de Criadores de Ganado de Israel (ICBA) y basado en la información almacenada en el "Registro Lechero de Israel". Este informe evalúa la efectividad de cada granja a la hora de reducir el impacto negativo del verano sobre el rendimiento de la vaca. El informe sobre la "ratio de rendimiento Verano-Invierno" (V:I) hace uso de los datos registrados mensualmente por la granja sobre la leche, la grasa en leche, la proteína en leche, el recuento de células somáticas en leche (RCS) y la tasa de concepción. Los meses de verano incluyen desde julio hasta septiembre; mientras que los de invierno van de enero a marzo. Cuanto más alta sea la ratio (cerca o por encima de 1,0) para los índices productivos y reproductivos y cuanto más baja sea la ratio del RCS, mejor estará tratando la granja el estrés por calor en verano. Los cálculos en este informe incluyen las tasas de concepción (%) del verano y el invierno, para las dos estaciones, seguidas de los cálculos de las ratios V:I. Un resumen de los resultados de los índices productivos y reproductivos y sus ratios V:I se presentan en la Tabla 3. Los datos presentados indican que las granjas de alta producción (probablemente, por tener una mejor gestión) obtienen también mejores resultados productivos y reproductivos en el verano. Las ratios V:I de la tasa de concepción fueron 0,66; 0,49 y 0,34 para las granjas de alta, media y baja producción, respectivamente. El informe computerizado puede proporcionar un análisis de los datos, clasificados en granjas regionales e individuales, y permite la detección de las granjas que necesitan mejorar su manejo en verano y ser provistas del asesoramiento y seguimiento necesarios por los asesores de extensión.

Basándonos en las ratios V:I de los últimos informes, hemos cuantificado recientemente el efecto general de una mejor gestión proporcionada por las explotaciones lecheras en verano, y el enfriamiento intensivo de las vacas, en sus índices productivos anuales (7). Las ratios V:I de las explotaciones individuales han servido como el parámetro para clasificar las granjas entre las 24 granjas "con mejor refrigeración" y las 24 "con peor refrigeración" de Israel. Suponemos que la diferencia en producción anual entre estos dos grupos de granjas representa el efecto total del enfriamiento y del uso de mejores prácticas de manejo proporcionados en verano sobre el rendimiento de las vacas. El estudio trabaja con un total de 48 granjas, con una media de 400 vacas cada una, con un total de casi 20.000 vacas. Las medias iniciales de los índices productivos y reproductivos para los grupos con ratio verano-invierno "alta" y "baja" se muestran en la Tabla 4. El hecho de que la producción media de leche en invierno fue casi la misma en ambos grupos apoya la suposición de que las diferencias en la ratio V:I entre las granjas en los dos grupos tiene que ver con un mejor manejo y un buen enfriamiento, proporcionados a las vacas en verano, en el grupo de "ratio alta". Las vacas en las granjas de ratio alta, paridas en primavera o al comienzo del verano, alcanzaban picos de lactación más altos y aquellas paridas en invierno, persistían mejor, en comparación con las vacas en granjas con ratio baja. Al analizar la totalidad de las curvas de lactación de las vacas en la última década en Israel, vimos que las vacas israelíes tienen una mucha mejor persistencia, en comparación con las curvas de lactación registradas hace 2-3 décadas. No hay duda de que el uso de sistemas de enfriamiento en gran parte de las granjas de Israel en la última década es uno de los factores más influyentes en este fenómeno.

Cuando comparamos los índices reproductivos anuales entre las granjas de ratio alta y baja, no encontramos diferencias en la proporción de ciclos cortos, normales, largos y "dobles", entre las granjas de ratio alta y baja en las dos estaciones (7%, 56% 13% y 24%, respectivamente). A diferencia de los meses de invierno, las tasas de concepción en verano eran significativamente mayores en las granjas de ratio alta, en comparación con las de ratio baja (40% vs 36% y 27% vs 19%, para el invierno y el verano, de las granjas con ratio alta y baja, respectivamente, Tabla 5). La tasa de concepción en verano en las granjas de ratio V:I alta alcanzó casi el 70% del nivel de invierno; mientras que, en las granjas de ratio baja, alcanzó solamente el 50% del nivel de concepción del invierno (7). Se puede concluir que el enfriamiento intensivo de las vacas en verano no puede eliminar por completo todo el descenso en la tasa de concepción que se da en verano, pero puede reducirlo a la mitad.

Los efectos estacionales y del enfriamiento en el intervalo entre el parto y la primera inseminación y hasta la concepción se han estudiado recientemente en Israel (8). El número óptimo de días hasta la concepción para vacas de primera lactación paridas en las semanas 12 (primavera), 25 (verano), 38 (otoño) y 51 (invierno) fueron 211, 162, 98, y 49 días. Los días óptimos para la primera inseminación, para vacas paridas en las mismas fechas, fueron 112, 105, 70 y 56 días, respectivamente.

No hay duda de que refrescar a las vacas en el verano es necesario y muy rentable. En una investigación llevada a cabo en Israel y publicada recientemente, se estudió el efecto que el enfriamiento de las vacas tenía sobre su bienestar (9). Cuarenta y dos vacas adultas de alto rendimiento fueron divididas en dos grupos con tratamientos de refrigeración. Ambos grupos fueron enfriados mediante la combinación de aspersión y ventilación forzada, en el corral de espera. Las vacas del primer grupo fueron enfriadas

5 veces al día y un total de 3,75 horas (5V); mientras que las vacas del otro grupo fueron refrescadas 8 veces al día y un total de 6 horas (8V). Se hizo un seguimiento de la producción lechera, la ingesta de alimentos, la temperatura corporal, el tiempo de resistencia de las vacas y el tiempo de rumia, haciendo uso de equipos nuevos y sofisticados hechos en Israel. Los resultados se describen en la Tabla 6. Los resultados de este estudio muestran que proporcionar a las vacas más de una sesión de enfriamiento al día aumentaba el consumo de alimento en 2,1 kg/d (8,5%) y la producción de leche diaria en 3,4 kg/d (9,3%). La temperatura corporal y la tasa de respiración fueron significativamente más bajas en las vacas 8V, en comparación con las 5V (+ 0,8°C y + 30 respiraciones por minuto al mediodía). De forma inesperada, las vacas que fueron enfriadas y, por tanto, fueron obligadas a caminar y estar de pie durante más tiempo durante el día, permanecieron tumbadas por casi un 10% más de tiempo (480 y 430 minutos al día en los grupos 8V y 5V, respectivamente) y tuvieron una tiempo de rumia un 6% superior (445 y 415 minutos al día, para 8V y 5V, respectivamente). Los resultados de este estudio indican que el enfriamiento intensivo en verano de las vacas de alto rendimiento, no solo mejora sus índices productivos y reproductivos, sino que también mejora el bienestar de la vaca, ya que las vacas con estrés por calor normalmente tienden a estar de pie y agrupadas. Enfriar a las vacas con más frecuencia en los días de verano extremadamente calurosos, les permite mantener temperaturas corporales normales durante más horas al día, permanecer tumbadas durante más tiempo y, probablemente, sentirse más cómodas. Los productores de leche deben saber que, cuando enfrían a las vacas, no están privando a las vacas de su descanso necesario, sino lo contrario, mejoran su bienestar, que es importante en los días calurosos del verano.

Los datos presentados en este trabajo nos llevan a las siguientes conclusiones:

1. Aunque se obtienen rendimientos relativamente altos y se produce en condiciones climáticas limitantes, las granjas israelíes consiguen índices reproductivos relativamente razonables.
2. El hecho de que la mayoría de las vacas de Israel son inseminadas principalmente en base a la detección electrónica del celo, no limita a las explotaciones lecheras israelíes a la hora de obtener tasas de inseminación normales.
3. El enfriamiento intensivo de las vacas en verano tiene el potencial de eliminar completamente el descenso en producción lechera. Este efecto positivo se puede alcanzar incluso con granjas de rendimiento extremadamente alto.
4. Bajo condiciones experimentales en Israel, el enfriamiento intensivo de las vacas, que producen casi 30 kg de leche al día en verano (7 tratamientos del calor al día), les permitió mantener una temperatura corporal normal durante todo el día, todo el verano, y obtener tasas de concepción en verano similares a las obtenidas en invierno.
5. El enfriamiento intensivo de las vacas con una producción de casi 50 kg de leche al día, utilizando el mismo sistema y bajo las mismas condiciones, no permitió a las vacas mantener una temperatura corporal normal durante todo el día y las vacas mostraron 5-6 periodos, de 1-2 horas cada uno, en los que su temperatura corporal era más alta de lo normal; lo que significa que un tratamiento de enfriamiento más intensivo debería llevarse a cabo en estas vacas.
6. El enfriamiento intensivo de las vacas de alta producción en verano reduce solo a la mitad el descenso la tasa de concepción en el verano.
7. Parece ser que, la obtención de "tasas de concepción de invierno" en verano a través del enfriamiento intensivo de las vacas en verano se puede alcanzar solo si la refrigeración permite a las vacas mantener una temperatura corporal normal durante todo el día y a lo largo de todo el verano.
8. Enfriar durante el verano a las vacas de alto rendimiento, no solo mejora su productividad, sino que también mejora su bienestar. Enfriar a las vacas con más frecuencia en los días de verano extremadamente calurosos, permite a las vacas mantener temperaturas corporales normales durante más horas al día, permanecer tumbadas durante más tiempo y, probablemente, sentirse más cómodas

Referencias

1. Flamenbaum I., Wolfenson D., Mamen. M., and Berman A. (1986). Cooling dairy-cattle by a combination of sprinkling and forced ventilation and its implementation in the shelter system. *J. Dairy Sci.* 69: 3140-3147.

2. Wolfenson D., Flamenbaum I., and Berman A. (1988) Hyperthermia and body energy store effects on estrous behaviour, conception rate, and corpus-luteum function in dairy-cows. *J. Dairy Sci.* 71: 3497- 3504.

3. Her E., Wolfenson D., Flamenbaum I., Folman Y., Kaim M., and Berman A. (1988) Thermal, productive, and reproductive responses of high yielding cows exposed to short-term cooling in summer. *J. Dairy Sci.* 71: 1085-1092.

4. Flamenbaum I. and Ezra E. (2003) A large-scale survey evaluating the effect of cooling Holstein cows on productive and reproductive performances under sub-tropical conditions. *J. Dairy Sci.* 86: (Suppl. 1) 19.

5. Flamenbaum. I and E. Ezra (2007). Effect of level of production and intensive cooling in summer on productive and reproductive performance of high yielding dairy cows, J. Dairy Sci. Vol. 90, Suppl. : abstract 345.

6. Flamenbaum. I and E. Ezra (2007). The Summer to Winter performance ratio" as a tool for evaluating heat stress relief efficiency of dairy herds, J. Dairy Sci. Vol. 90, Suppl. : abstract 753.

7. Flamenbaum. I and E. Ezra (2009). How much milk adds intensive cooling of high-yielding dairy cows during hot season ? , p' 14 in "The Dairy Industry In Israel" Israel Cattle Breeders Association, Herd Book report, 2008.

8. De Vries. A.., Ezra, E and Flamenbaum, I – Economic aspects of fertility in dairy cattle herds in hot climates, H. Sturman annual memorial conference, 2009, Israel.

9. Hon ig, H, J. Miron, H Lehrer, S. Jackoby, M, Zachu, A. Znou, Y, Portnick and U, Moallem. (2012) Performance and welfare of high-yielding dairy cows subjected to 5 or 8 cooling sessions daily under hot and humid climate. J. Dairy. Sci. Vol 95 : 3736 – 3742.

TABLAS

Tabla 1 – Efecto de diferentes intensidades de enfriamiento en vacas a través de la combinación de aspersión y ventilación forzada sobre sus índices productivos y reproductivos (TC = tasa de concepción).

Tratamiento Parámetro examinado	No enfriadas	Enfriadas en el corral de espera	Enfriadas en el corral de espera y en la línea de alimentación
Tiempo de enfriamiento acumulado (horas/día)	0	4,5	7,5
Disminución en la producción lechera en verano Kg/día	3,6 c	1,6 b	0,6 a
Ratio de producción Verano : Invierno (%)	90,7	96,1	98,5
Primera inseminación TC - Invierno (%)	54 a	53 a	56 a
Primera inseminación TC - Verano (%)	15 c	34 b	34 b

Tabla 2 - Efecto de la intensidad de enfriamiento en verano sobre la producción media de Leche Corregida Económicamente (kg/d) de vacas lecheras en granjas con nivel de producción alto y bajo.

Nivel de producción	Alto		Bajo	
Intensidad de enfriamiento	Intensivo (EI)	Moderado (EM)	Intensivo (EI)	Moderado (EM)
LCE en invierno (kg/d)	41 - 43	38 - 40	35 - 38	33 - 36
Ratio de producción Verano : Invierno	0,96 – 1,00	0,86 – 0,88	0,97 – 1,03	0,84 – 0,90
Producción media de LCE (kg/d)				
Invierno	42,0	35,3	37,1	39,1
Primavera	42,3	36,2	39,1	39,2
Verano	42,0	32,0	38,0	35,7
Otoño	42,1	34,1	38,1	36,9
Tasa de concepción (%)				
Invierno	39	39	40	39
Verano	19	12	25	3

Tabla 3 - Efecto del nivel de producción sobre las ratios verano-invierno para la leche corregida económicamente (LCE) y la tasa de concepción (T.C.) de todos los rebaños israelíes (2005).

Nivel de producción	Alto (Top 25%)	Medio (50% del medio)	Bajo (25% inferiores)
Producción LCE en invierno (kg/d)	35,1	33,2	30,2
Producción LCE en verano (kg/d)	36,1	30,9	24,8
Ratio V : I de la LCE	1,03	0,93	0,82
T.C. en invierno (%)	41	41	41
T.C. en verano (%)	27	20	14
Ratio V : I de la T.C.	0,66	0,49	0,34

Tabla 4 - Medias de la Leche Corregida Económicamente (LCE) y la Tasa de Concepción (T.C.) en verano y en invierno para las 3 primeras inseminaciones y sus ratios en rebaños con ratios altas y bajas.

Grupo Parámetro	Ratio V : I baja	Ratio V : I alta
Número de rebaños	24	24
Producción de leche en invierno (kg/d)	39,5	39,7
Producción de leche en verano (kg/d)	34,4	38,9
Ratio V : I de la LCE	0,87	0,98
Tasa de Concepción en invierno (%)	0,36	0,40
Tasa de Concepción en verano (%)	0,19	0,27
Ratio V : I de la Tasa de Concepción	**0,53**	**0,68**

Tabla 5- Producción media (305 días) de leche, LCE, grasa en leche y proteína en leche, de rebaños con ratio V:I alta y baja.

Suero (mg/L) *(n=4)*	**Al**	**Co**	**Cu**	**Fe**	**Mn**	
media±DE	**0.028 ± 0.003**	**0.011 ± 0.001**	**1.28 ± 0.22**	**4.52 ± 0.76**	**0.002 ± 0.001**	
Rango normal (3)	0.009-0.02	0.15	0.6-1.5	1.3-2.5	0.006-0.07	
Suero (mg/L) *(n=4)*	**Mo**	**Se**	**Zn**	**Ca**	**P**	**Mg**
Media ± DE	**0.004 ± 0.001**	**0.037 ± 0.000**	**0.742 ± 0.021**	**8.4 ± 0.4**	**6.4 ± 0.3**	**1.9 ± 0.2**
Rango normal (3)	0.01-0.1	0.08-0.3	0.8-1.4	8-10	4-8	1.8-2.4

	Ratio V : I baja	**Ratio V : I alta**	**Diferencia (kg)**	Producción añadida (%)
Leche (kg)	11.346	12.017	671	6,0%
LCE (Kg) (Leche Corregida Económicamente)	11.081	11.807	726	6,5%
Ratio V : I de la LCE	**0,87**	**0,98**	**-**	-
Grasa en leche (kg)	402,6	430,1	27,5	6,8%
Proteína en leche (kg)	360,9	385,3	24,4	6,8%
Tasa de Concepción en verano (%)	19	27	8	-
Tasa de Concepción en invierno (%)	36	40	4	-
Ratio V : I de la T.C.	0,53	0,68	-	-

Tabla 6 - Influencia de la intensidad del enfriamiento 8 (8V) y 5 (5V) veces al día, sobre el consumo de alimentos, el rendimiento y parámetros fisiológicos.

	5V	8V	SEM	P<
Consumo de alimentos (materia seca) (kg/d)	24,8	26,9	0,19	0,001
Producción de leche (kg/d)	36,6	40,0	0,17	0,001
Eficiencia alimentaria (kg de alimento/kg de leche)	1,45	1,47	0,001	0,11
Tiempo de descanso (minutos/d)	428	482	3,3	0,04
Tiempo de rumia (minutos/d)	413	443	2,6	0,001

ENGLISH VERSION ▼

Cooling in the Summer Improves Cow's Fertility and Welfare

The case of Israel

Israel Flamenbaum, Ph. D
Dr. Flamenbaum (Cow Cooling Solutions) LTD, Israel

Israel is located to the east of the Mediterranean Sea. Israel's climate is considered subtropical and dry. It is characterized by moderately cool, rainy winters (November–March) and hot summers (June–October), which is the dry season, with no rainfall. Summer is characterized by high temperatures (including the night) combined with high relative humidity in the coast region (average temperatures ranging between 26°C and 32°C and relative humidity ranges between 50% and 90%). In the hot and dry inland valleys and southern desert temperatures range between 38°C and 45°C and relative humidity is relatively low, ranging between 20% and 40%).

The Israeli dairy sector consists of near 120,000 *Israeli-Holstein*-breed cows, in near 900 dairy farms, located mostly in the coast and in the hot valleys. Based on Israel Herd book data (DHI), where more than 90% of the dairy cows in Israel are included, the 2013 average per cow annual milk production was close to 12,000 kg, with 3.7% fat and 3.2% protein.

The constant rise in cow-milk yields and global warming are boosting the decrease in cow's productive and reproductive traits. During the last three decades, some researches were conducted in Israel, with the aim of developing an efficient cooling system and allow reducing summer decline in cow's performance. The technologies developed for cooling the cows, have been rapidly adopted by Israeli farmers. Incentive, provided by an appropriate pricing system for milk, has encouraged dairy farmers to install and use these systems extensively. To achieve positive results, proper installation and accurate operation of the cooling system are required.

The cooling system largely in use in Israel is based on the combination of frequently wetting the cows and force ventilating them. This system was developed and first implemented in Israel trough a cooperation between the Department of Animal Science of the Hebrew University of Jerusalem and the Extension service of the Israel Ministry of Agriculture. The system was first described almost 30 years ago (1). Cooling the cows 5 times a day, 30 minutes each time, allowed cows, producing 25-30 kg of milk per day to maintain their body temperature below 39.0 C, during all day time, in a typical Israeli summer day.

Conception rate to first and all inseminations was studied in cows, cooled by the same procedure, for 7 times per day (2). Intensive cooling allowed cows, producing 30 kg of milk per day, maintain normal body temperature (below 39.0 C) all daytime, while, in the same time, non cooled cows shoed high body temperatures (above 39.5C), in great part of daytime and returned to normal body temperatures (below 39.0C), only for few hours, during late night. Conception rate of intensively cooled cows was significantly higher than of non cooled cows (59% vs. 17% and 57% Vs 17%), in first and all inseminations, respectively. Pregnancy rate calculated for 90, 120 and 150 days after calving differed significantly between groups (44%, 59% and 73% Vs 5%, 11% and 11%), in cooled and non cooled cows, respectively. Conception rates and pregnancy rates obtained in intensively cooled cows in this experiment were similar to those obtained in the winter of the same year, in commercial dairy farms in Israel.

In another study carried out by our group (3), intensive cooling the cows in the summer, for a period of 2 days before and 8 days after performing A.I, did not improve conception rate (31% and 36%), for cooled and non cooled cows, respectively. The results obtained in this experiments brings us to the conclusion that, intensive cooling cows, producing 30 kg/day, enabled cows to maintain normal body temperature during all daytime and during all summer days, permitted them obtain winter conception rate levels in the summer. Anyhow, intensively cooling the cows, only for short time, before and after insemination time, did not give the same results, probably, as the "damage" caused by heat stress occurred before or after this short period. We assume that probably, intensive cooling and maintenance of normal body temperatures are needed during all the summer, covering all reproductive steps (from initial follicular development, until the implantation of the fertilized egg in the uterus), in order to maintain cow's with normal reproductive potential under Israeli summer conditions.

In a study, carried out recently in Israel (unpublished data), cows producing 45-50 kg of milk per day and provided the same cooling treatment, in the same intensity, were not able to maintain their body temperature normal for all day time, as did cows in study (2), although being exposed to similar climatic conditions. In the actual experiment, cows, cooled for 45 minutes every 3 hours, couldn't maintain normal body temperature for all the time between cooling sessions provided and their body temperature tended to be above normal, for few hours between cooling sessions.

In the last decade some surveys were conducted, in cooperation with the Israel cattle Breeders Association (ICBA). The aim of these studies was to evaluate the effectiveness of the implementation of cooling system in commercial farms, located in different parts of the country, on productive and reproductive traits of high yielding cows, performing in the sub-tropical climate of Israel.

The first survey studied the effect of cooling intensity on cow's productive and reproductive traits. This large scale survey was carried out during four consecutive years, in 14 farms, averaging 300 cows each, located in the costal part of Israel (4). Farms were classified into three different groups according to the intensity of cooling in the summer. Cows of group 1 (six farms, intensive cooling), were cooled in the holding and feeding area for a total of 10 cooling sessions and 7.5 cumulative hours per day. Each cooling session combined cycles of sprinkling (0.5 min.) and forced ventilation (4.5 min.). Cows of group 2 (three farms, moderate cooling), were cooled in the holding area only, and were provided a total of six cooling sessions and 4.5 cumulative hours per day. Cows of group 3 (five farms, no cooling) were not cooled at all. Milk production (kg/d) and conception rates (%), were recorded for summer (July-September) and winter (December-February). The analysis included 125,000 milk recordings (> five recordings for each cow per lactation) and 17,000 artificial inseminations. Average four years daily low and high temperatures (C°) were 8.4 and 19.3, and 22.0 and 31.8, for winter and summer months, respectively.

Conception-rates were 56%, 54% and 54%, and 40%, 34% and 15%, for first calf heifers under intensive, moderate, and no cooling treatments, inseminated in winter and summer, respectively ($P<0.01$). Conception-rates were 47%, 46% and 43%, and 34%, 34% and 17%, for adult cows in the same groups, respectively ($P<0.01$). The results of this survey are presented in table 1. Data in Table 1 indicate that, intensive cooling the cows in the summer has the potential to reduce to an half, the summer decline in cow's conception rate.

The second survey tried to find out, whether intensive cooling in summer has the potential to prevent summer decline in milk production and conception rate of extremely high yielding cows (annual herd average above 13,000 kg). The survey used Israeli herd book data and included 22 dairy farms, averaging 300 cows each and a total of 6600 cows (5). All dairy farms in this study were located in the coastal part of Israel and cows were held under similar housing system, milked 3 times per day and fed for ad-lib, intake a TMR, offered to the cows twice daily. Twelve of the farms were of high and 10 of low production level (previous year winter ECM yields averaging 41 and 35 kg/d, respectively). Cows in half of the farms in each production level group were intensively cooled (IC) during summer, using a combination of wetting and forced ventilation for 10 cooling sessions and a total of 7 cumulative hours per day. Cows in the second half of the farms in each production level group were moderately cooled (MC) by a combination of wetting and forced ventilation in the holding pen, only before milking. Conception rate in first and second insemination, performed in winter and summer, averaged, 39% and 19%, respectively, for the IC, and 39% and 12%, respectively, for the MC cows in high producing farms. The results of this study are presented in table 4. Results shoes that intensive cooling of high yielding cows in summer can reduce to about an half the summer decline in conception rate, independently of level of production of the cows.

The Extension Services of the Israeli Ministry of Agriculture found the necessity to create a tool that will permit monitoring the effectiveness of cooling systems, installed in the farms (6).). A computerized report was developed, in cooperation with the Israel Cattle Breeders Association (ICBA) and based on the information stored in the "Israeli Herd book". This report evaluates the effectiveness of each farm in reducing summer negative impact on cow's performance. The "Summer to Winter (S:W) performance ratio" report uses farm's monthly recorded data for milk , milk fat, milk protein, milk somatic cells count (SCC) and conception rate. July to September are included in the summer months while January to March are included in the winter months. The higher the ratio is (close or above 1.0) for productive and reproductive traits and the lower the ratio is for SCC, the better the farm is dealing with summer heat-stress. The calculations in this report includes the summer and winter conception rates (%), for the two seasons, followed by calculation of S:W ratios. A summary of the results for productive and reproductive traits and their S;W ratios are presented in table 3. The data presented indicates that high producing farms (probably, having better management), obtain also better productive and reproductive results in the summer. S:W conception rate ratios were 0.66, 0.49 and 0.34, for high, medium and low producing farms, respectively. The computerized report can provide data analysis on regional and individual farm basis and enables the detection of farms that need improvement of summer management and the provision of necessary consultancy and follow up by extension advisors.

Based on the S:W ratios in the last reports, we recently quantified the overall effect of a better management provided by dairy farms in the summer, and intensive cooling the cows, on their annual productive traits (7). S;W ratios for individual farm, served as the parameter for classifying farms between 24 "best coolers" and 24"worst coolers" farms in Israel. We assume that the difference in annual production between these two groups of farms represents the total effect of cooling and better management practices provided in the summer on cow's performance. The study deals with a total of 48 farms averaging 400 cows each, with a total of near 20,000 cows. Initial averages for productive and reproductive traits for the "high" and "low" summer to winter ratio groups are presented in Table 4. The fact that average winter milk production was almost the same in both groups supports the supposition that the differences in the S:W ratio among farms in the two groups is related to the better management and good cooling, provided to the cows in summer in the "high ratio" group. Cows in high ratio farms, calving in spring and early summer, reached higher lactation peaks and those calving in the winter had better persistency, as compared to cows in low ratio farms. When analysing the entire lactation curves of cows in last decade in Israel we notice that Israeli cows have much better persistency, when compared to lactation curves recorded 2-3 decades ago. No doubt that the use of cooling systems in great number of the farms in Israel in last decade is one of the main factors influencing this phenomenon.

When comparing annual reproductive traits between high and low ratio farms, we found no difference in the proportion of short, normal, long and "double" cycles, between high and low ratio farms in the two seasons (7%, 56% 13% and 24%, respectively). Differently from winter months, summer conception rates were significantly higher in the high ratio farms, as compared to the low ones (40% Vs 36% and 27% Vs 19%, for winter and summer, high and low ratio farms, respectively, Table 5). Summer conception rate in high S:W ratio farms reached near 70% of winter level, while, low ratio farms reached only 50% of the winter conception level (7). It can be concluded that intensive cooling the cows in the summer can't eliminate the entire decrease in summer conception rate, but can reduced it to an half.

Seasonal and cooling effects on the interval from calving to first insemination and to conception were studied recently in Israel (8). Optimum days to conception for first lactation cows calving in weeks 12 (spring), 25 (summer), 38 (autumn), and 51 (winter), were 211, 162, 98, and 49 days. Optimum days to the first insemination, for the same dates was 112, 105, 70, 56 days, respectively.

There is no doubt that cooling the cows in the summer is required and highly cost effective. In a research carried out in Israel and published recently, the effect of cooling the cows on their welfare was studied. (9). Forty two adult high yielding cows were divided into two cooling treatments groups,. Both groups were cooled by combining wetting and forced ventilation, provided in the holding pen. Cows of first group were cooled for 5 times per day and a total of 3.75 hours (5T), while cows in the other group were cooled for 8 times per day and a total of 6 hours (8T). Milk production, feed intake, body temperature, cows resting time and rumination time were monitored, making use of new and sophisticated Israeli made equipment. Results are described in Table 6. The results of this study shows that cooling the cows for more cooling sessions per day increased feed consumption by 2.1 kg/d (8.5%) and daily milk production by 3.4 kg/d (9.3%). Body temperature and respiration rate were significantly lower in 8T cows, compared to 5T ones (+ 0.8 C and + 30 respirations per minute at noon time). Unexpectedly, cows that were cooled and therefore, were obliged to walk and stand for longer time per day, laid down for almost 10% more time (480 and 430 minutes per day in the 8T and 5T groups, respectively) and 6% longer rumination time (445 and 415 minutes per day, for 8T and 5T, respectively). The results of this study indicate that intensive cooling of high yielding cows in the summer, not only improves their productive and reproductive traits, but also improves their cow's welfare, as heat stressed cows usually tend to stand and crowd. Cooling the cows more frequently in extremely hot summer days, allows them maintain normal body temperatures for more hours per day, they lay down more time and probably feel more comfortable. Dairy farmers must know that, when cooling the cows, they are not depriving cows of required rest, but on the contrary, they improve their well-being, which is important in the hot summer days.

The data presented in this paper brings us to the following insights:

1. Although obtaining relatively high yields, and producing in limiting climatic conditions, the Israeli farms achieve relatively fair reproductive traits.
2. The fact that most of cows in Israel are inseminated based mostly on electronic heat detection, do not limit Israeli dairy farms to obtain normal insemination rates.
3. Intensive cooling the cows in summer have the potential to totally eliminate summer decline in milk production. This positive effect can be achieved even with extremely high yielding farms.
4. Under experimental conditions in Israel, intensive cooling cows, producing near 30 kg of milk daily in summer (7 cooling treatments per day), allowed them maintain normal body temperature during all day, all the summer and obtain conception rates in summer, which were similar to those obtained in winter.
5. Intensive cooling cows producing near 50 kg of milk daily, using the same system and under the same conditions, did not allow cows maintain normal body temperature during all day and cows showed 5-6 periods of 1-2 hour each , where their body temperature was above normal, meaning that more intensive cooling treatment should be provided with these cows.
6. Intensively cooling high yielding cows in the summer reduces only to an half the decline in summer conception rate.
7. It seems that, obtaining "winter conception rates" in summer through intensive cooling of the cows in the summer can be reached only if cooling will allow cows maintain normal body temperature during all day and all the summer period.
8. Intensively cooling high yielding cows in the summer, not only improves their productivity, but also improve their welfare. Cooling the cows more frequently in extremely hot summer days,

Allow cows maintain normal body temperatures for more hours per day, lay down for longer time and probably feel more comfortable.

References

1. Flamenbaum I., Wolfenson D., Mamen. M., and Berman A. (1986). Cooling dairy-cattle by a combination of sprinkling and forced ventilation and its implementation in the shelter system. *J. Dairy Sci.* 69: 3140-3147.

2. Wolfenson D., Flamenbaum I., and Berman A. (1988) Hyperthermia and body energy store effects on estrous behaviour, conception rate, and corpus-luteum function in dairy-cows. *J. Dairy Sci.* 71: 3497- 3504.

3. Her E., Wolfenson D., Flamenbaum I., Folman Y., Kaim M., and Berman A. (1988) Thermal, productive, and reproductive responses of high yielding cows exposed to short-term cooling in summer. *J. Dairy Sci.* 71: 1085-1092.

4. Flamenbaum I. and Ezra E. (2003) A large-scale survey evaluating the effect of cooling Holstein cows on productive and reproductive performances under sub-tropical conditions. *J. Dairy Sci.* 86: (Suppl. 1) 19.

5. Flamenbaum. I and E. Ezra (2007). Effect of level of production and intensive cooling in summer on productive and reproductive performance of high yielding dairy cows, J. Dairy Sci. Vol. 90, Suppl. : abstract 345.

6. Flamenbaum. I and E. Ezra (2007). The Summer to Winter performance ratio" as a tool for evaluating heat stress relief efficiency of dairy herds, J. Dairy Sci. Vol. 90, Suppl. : abstract 753.

7. Flamenbaum. I and E. Ezra (2009). How much milk adds intensive cooling of high-yielding dairy cows during hot season ? , p' 14 in "The Dairy Industry In Israel" Israel Cattle Breeders Association, Herd Book report, 2008.

8. De Vries. A.., Ezra, E and Flamenbaum, I – Economic aspects of fertility in dairy cattle herds in hot climates, H. Sturman annual memorial conference, 2009, Israel.

9. Hon ig, H, J. Miron, H Lehrer, S. Jackoby, M, Zachu, A. Znou, Y, Portnick and U, Moallem. (2012) Performance and welfare of high-yielding dairy cows subjected to 5 or 8 cooling sessions daily under hot and humid climate. J. Dairy. Sci. Vol 95 : 3736 – 3742.

Tables

Table 1 – Effect if different intensities of cooling cows by a combination of wetting and forced ventilation on their productive and reproductive traits.

Treatment Parameter tested	Not cooled	Cooled in Holding pen	Cooled in holding pen + feed line
Cumulative cooling time (hours /day)	0	4.5	7.5
Summer decline in milk production Kg/day	3.6 c	1.6 b	0.6 a
Summer : Winter production ratio (%)	90.7	96.1	98.5
First insemination CR – Winter (%)	54 a	53 a	56 a
First insemination CR – summer (%)	15 c	34 b	34 b

Table 2 – Effect cooling intensity in summer on average Economical Corrected Milk production (kg/d) of dairy cow in farms with high and low production level.

Level of production	High		Low	
Cooling intensity	Intensive (IC)	Moderate (MC)	Intensive (IC)	Moderate (MC)
Winter ECM (kg/d)	41 - 43	38 - 40	35 - 38	33 - 36
Summer : winter production ratio	0.96 – 1.00	0.86 – 0.88	0.97 – 1.03	0.84 – 0.90
Average ECM production (kg/d)				
Winter	**42.0**	35.3	37.1	39.1
Spring	42.3	36.2	39.1	39.2
Summer	42.0	32.0	38.0	35.7
Autumn	42.1	34.1	38.1	36.9
Conception Rate (%)				
Winter	39	39	40	39
Summer	19	12	25	3

Table 3 - Effect of production level on summer to winter ratios for economical corrected milk (ECM) and Conception rate (C.R) of all Israeli herds (2005).

Production level	High (Top 25%)	Medium (Middle 50%)	Low (Low 25%)
Winter ECM production (kg/d)	35.1	33.2	30.2
Summer ECM production (kg/d)	36.1	30.9	24.8
S : W ECM ratio	1.03	0.93	0.82
Winter C.R (%)	41	41	41
Summer C.R (%)	27	20	14
S : W C.R ratio	0.66	0.49	0.34

Table 4 - Summer and Winter averages of Economical Corrected Milk (ECM) and Conception Rate (C.R) for first 3 inseminations and their ratios in High and low ratios herds.

Grou Parameter	Low S : W ratio	High S : W ratio
No. Herds	**24**	**24**
Winter Milk Production (kg/d)	**39.5**	**39.7**
Summer Milk Production (kg/d)	**34.4**	**38.9**
S : W ECM ratio	**0.87**	**0.98**
Winter Conception Rate (%)	0.36	**0.40**
Summer Conception Rate (%)	**0.19**	**0.27**
S : W Conception Rate ratio	0.53	0.68

Table 5- Average production (305 days) for milk, ECM, milk fat and milk protein, for herds with high and low S:W ratio.

	Low S : W ratio	**High S : W ratio**	**Difference (kg)**	Added production (%)
Milk (kg)	**11,346**	**12,017**	**671**	6.0%
ECM (Kg) (Economical Corrected Milk)	**11,081**	**11,807**	**726**	6.5%
S:W ECM ratio	**0.98**	**0.87**	**-**	-
Milk fat (kg)	**402.6**	**430.1**	**27.5**	6.8%
Milk protein (kg)	**360.9**	**385.3**	**24.4**	6.8%
Summer CR (%)	27	19	8	-
Winter CR (%)	40	36	4	-
S:W CR ratio	0.68	0.53	-	-

Table 6 - Cooling intensity by 8 (8T) and 5 (5T) times per day, on cows feed consumption, performance and physiological parameters.

	5T	8T	SEM	P<
Feed consumption DM (kg/d)	24.8	26.9	0.19	0.001
Milk production (kg/d)	36.6	40.0	0.17	0.001
Feed efficiency (kg feed/kg milk	1.45	1.47	0.001	0.11
Resting time (minutes/d)	428	482	3.3	0.04
Ruminating time (minutes/d)	413	443	2.6	0.001

REFRESCAR A LAS VACAS DURANTE EL VERANO MEJORA LA EFICIENCIA DE PRODUCCIÓN, LA RENTABILIDAD DE LA GRANJA Y LA SOSTENIBILIDAD DE LA PRODUCCIÓN EL CASO DE ISRAEL

Israel Flamenbaum, Ph. D
Dr. Flamenbaum (Cow Cooling Solutions) LTD, Israel

Israel se encuentra al este del Mar Mediterráneo. El clima de Israel se considera subtropical y seco. Se caracteriza por inviernos moderadamente fríos y lluviosos (noviembre/marzo) y veranos calurosos (junio/octubre), que se corresponden con la estación seca, sin lluvias. El verano se caracteriza por sus altas temperaturas (incluyendo la noche) en combinación con la alta humedad relativa en la región costera (las temperaturas medias oscilan entre 26ºC y 32ºC y la humedad relativa oscila entre el 50% y el 90%). En los valles interiores cálidos y secos y en el desierto al sur, las temperaturas oscilan entre 38ºC y 45ºC y la humedad relativa es relativamente baja, oscilando entre el 20% y el 40%.

El sector lechero israelí consta de casi 120.000 vacas de la raza *Holstein-Israelí* en casi 900 granjas lecheras. Estas granjas se distribuyen principalmente por la costa y los valles cálidos. Según los datos del Registro Lechero de Israel (RLI), que incluye casi el 90% del ganado lechero de Israel, la producción media de leche anual en el 2013 se acercó a los 12.000 kg por vaca, con 3,7% de grasa y 3,2% de proteína.

El constante aumento en el rendimiento lechero y el calentamiento global están impulsando la disminución en la producción de leche y los índices reproductivos de la vaca. Durante las tres últimas décadas, los investigadores israelitas han llevado a cabo algunas investigaciones con el fin de desarrollar un sistema de refrigeración eficiente que permita obtener altos rendimientos de leche y una relativamente buena fertilidad durante la estación cálida. Las tecnologías aquí desarrolladas para la refrigeración de las vacas han sido rápidamente adoptadas por los granjeros israelitas. Los incentivos, proporcionados por un sistema de precios adecuado para la leche, han animado a los productores de leche a instalar y utilizar estos sistemas ampliamente. Para conseguir unos resultados positivos, es necesaria una correcta instalación y un manejo preciso del sistema de enfriamiento.

El sistema de enfriamiento más utilizado en Israel se basa en la combinación de mojar por aspersión a las vacas y hacer correr el aire sobre ellas mediante ventilación forzada. Este sistema se desarrolló y se implementó por primera vez en Israel a través de la cooperación entre el Departamento de Ciencia Animal de la Universidad Hebrea de Jerusalén y el servicio de Extensión del Ministerio de Agricultura de Israel. El sistema fue descrito por primera vez hace casi 25 años (1). Refrescar a las vacas 5 veces al día, 30 minutos cada vez, permitió a las vacas, que producían 25 -30 kg de leche al día, mantener su temperatura corporal por debajo de 39ºC durante todo el día, en un día típico de verano israelí.

En la última década hemos conducido algunas encuestas, en cooperación con la Asociación de Criadores de Ganado de Israel (ICBA, por sus siglas en inglés). El objetivo de estos estudios era evaluar la eficiencia de la implementación de los sistemas de refrigeración en granjas comerciales ubicadas en distintos puntos del país, en los índices productivos y reproductivos de las vacas de alto rendimiento, actuando en el clima subtropical de Israel.

La primera encuesta estudiaba el efecto de la intensidad de enfriamiento en los índices productivos y reproductivos de la vaca. Esta encuesta de gran escala fue desarrollada a lo largo de cuatro años e incluía 14 granjas, con casi 300 vacas cada una, ubicadas en la zona costera del país (2). Las granjas se clasificaron en tres grupos distintos de acuerdo con la intensidad de la refrigeración en verano. Las vacas del grupo 1 (seis granjas, enfriamiento intensivo) se refrescaron en la zona de espera y en el área de alimentación por un total de 10 periodos de enfriamiento y 7,5 horas acumuladas al día. Cada periodo de enfriamiento combinaba ciclos de aspersión (0,5 min.) y ventilación forzada (4,5 min.). Las vacas del grupo 2 (tres granjas, enfriamiento moderado) fueron refrescadas solamente en la zona de espera, con un total de seis periodos de enfriamiento y 4,5 horas acumuladas al día. Las vacas del grupo 3 (cinco granjas, sin refrigeración) no se refrescaron en absoluto. Se calculó la producción de leche (kg/d) para el verano (julio-septiembre) y el invierno (diciembre-febrero). El análisis incluía 125.000 registros de leche (>cinco registros para cada vaca por lactación). La media de las temperaturas mínimas y máximas diarias (ºC) de los cuatro años fueron de 8,4 y 19,3, y de 22,0 y 31,8 para el invierno y el verano, respectivamente. La interacción entre la estación y el tratamiento de refrigeración fue significante ($P<0,001$). Las ratios entre las medias de producción de leche diaria del verano y el invierno fueron 98%, 96% y 93% en tratamientos intensivos, moderados o sin tratamiento, para las novillas y 98%, 96% y 91% para las vacas adultas, respectivamente. Los resultados de esta encuesta se presentan en la Tabla 1. Estos resultados indican que el enfriamiento intensivo de las vacas en verano puede reducir casi completamente las variaciones estacionales en los índices productivos de las vacas lecheras en verano.

La segunda encuesta trató de averiguar si el enfriamiento intensivo en verano tenía el potencial de prevenir el descenso en la producción de leche y la reproducción en las vacas de extremadamente alto rendimiento (media anual del rebaño por encima de los 13.000 kg). La encuesta utilizó los datos del Registro Lechero israelí e incluyó 22 rebaños lecheros, con una media de 300 vacas cada uno, con un total de 6.600 vacas (3). Todos los rebaños de leche estaban ubicados en la parte costera de Israel, con las mismas condiciones climáticas. Las vacas de todos los rebaños estaban bajo sistemas de alojamiento similares, eran ordeñadas 3 veces al día y alimentadas ad-libitum con una ración mixta total (RMT), ofrecida a las vacas dos veces al día. Doce de los rebaños eran de alto nivel de producción y diez, de bajo (producción media de leche en el invierno del año anterior de 41 y 35 kg/d, respectivamente). En cada grupo de nivel de producción las vacas de la mitad de los rebaños fueron enfriadas intensivamente (EI) durante el verano, con una combinación de aspersión y ventilación forzada durante 10 periodos de enfriamiento y un total de 7 horas acumuladas al día. Las vacas de la otra mitad de los rebaños en cada grupo de nivel de producción fueron enfriadas moderadamente (EM) mediante una combinación de aspersión y

ventilación forzada en el corral de espera, únicamente antes de ser ordeñadas (el enfriamiento mínimo que se puede encontrar esos días en rebaños comerciales israelíes).

Como puede verse en la Tabla 2, la producción media de leche en invierno (enero-marzo) y en verano (julio-septiembre) fue de 41,5 y 40,7 kg/d, respectivamente, para los rebaños EI; y de 38,5 y 33,8 kg/d, respectivamente, para los rebaños EM del nivel alto de producción. Durante las mismas estaciones, en los rebaños de baja producción, la producción media de leche fue de 36,5 y 36,8 kg/d, respectivamente, para los rebaños EI; y 34,4 y 30,2 kg/d, respectivamente, para los rebaños EM.

Los servicios de extensión del Ministerio de Agricultura de Israel encontraron la necesidad de desarrollar una herramienta que permitiera el seguimiento de la efectividad de los sistemas de enfriamiento instalados en las granjas (4). En colaboración con la Asociación de Criadores de Ganado de Israel (ICBA), han desarrollado el índice de las ratios verano-invierno. Este es un informe computerizado, basado en la información almacenada en el "Registro Lechero de Israel", que evalúa la efectividad de las granjas a la hora de reducir el impacto del verano sobre el rendimiento de la vaca. El informe sobre la "ratio de rendimiento verano-invierno" (V:I) hace uso de los datos mensuales registrados por la granja sobre la leche, la grasa y la proteína en leche, el recuento de células somáticas en leche (RCS) y la tasa de concepción. Cuanto más alta sea la ratio (cerca o por encima de 1,0) para los índices productivos y reproductivos y cuanto más baja sea la ratio para los datos de RCS, mejor estará tratando la granja el estrés de calor en verano. Los cálculos en este informe incluyen la estimación de mínimos cuadrados para el rendimiento lechero y el rendimiento lechero corregido económicamente (LCE) (kg/d), grasa y proteína (%), RCS (000/ml) y tasas de concepción (%) en verano (julio-septiembre) e invierno (enero-marzo), y el cálculo de las ratios V:I.

En una encuesta llevada a cabo recientemente, se registraron ratios V:I de >0,96, 0,90 - 0,96 y <0,90 en el 34%, 44% y 22% de las granjas lecheras de Israel, respectivamente. La ratio verano-invierno de la leche fue 0,94 en 495 granjas familiares de pequeña escala, con una media de 50 vacas cada una; y 0,95, en explotaciones cooperativas de gran escala, con una media de 300 vacas cada una. Las granjas de alta, media y baja producción (rendimiento lechero medio en invierno de 35, 33 y 30 kg/d, respectivamente) tuvieron ratios V:I de la leche de 1,03, 0,93 y 0,82, respectivamente (Tabla 3). La ratio verano-invierno para la producción lechera fue 0,96 en el 70% de las granjas ubicadas en regiones de montaña (clima fresco en verano), en comparación con solo el 30% de las granjas ubicadas en el valle del Jordán (regiones extremadamente cálidas). Los datos aquí presentados indican que las granjas de alta producción (probablemente, teniendo un mejor manejo) obtienen también mejores resultados productivos en verano. El informe V:I puede proporcionar un análisis de los datos, clasificados en granjas individuales y regionales, y permite detectar aquellas granjas que necesitan mejorar su manejo en verano y la provisión del asesoramiento y seguimiento necesarios por los asesores de extensión agraria.

Con el objetivo de estudiar la tasa de mejora en el sector lechero israelí, calculamos las ratios verano-invierno de las 200 explotaciones lecheras cooperativas de gran escala, y las comparamos entre los años 1994 y 2008. Los resultados se muestran en la Tabla 4. De lo presentado en la Tabla 4, se puede ver que, a lo largo de esos años, la producción media diaria de leche por vaca aumentó en 2,3 kg (6%) en el invierno, frente al incremento de 7,3 kg en verano (23%). La ratio V:I puede representar los avances producidos en el sector lechero israelí en este periodo de tiempo, relacionados, sobre todo, con la implementación adecuada de medios de enfriamiento en las granjas lecheras israelíes.

Las ratios V:I nos han ayudado recientemente a cuantificar los efectos productivos y económicos globales de un mejor enfriamiento de las vacas en verano (5). La ratio verano-invierno de la leche para cada rebaño sirvió como el parámetro por el cual seleccionamos a las 24 granjas con "mejor refrigeración" en Israel y las comparamos con las 24 con "peor refrigeración". Se supone que la diferencia en el rendimiento de la vaca durante el verano entre estos dos grupos representa el efecto total de la refrigeración y el mejor manejo de las vacas en verano. El tamaño medio de las granjas del estudio fue de 400 vacas cada una y el total de vacas incluidas fue de casi 10.000 vacas por grupo. Las medias de las tasas de producción lechera y concepción, en grupos de ratio "alta" y "baja", se muestran en la Tabla 5. El hecho de que la producción media de leche en invierno fue la misma en ambos grupos apoya la suposición de que la mayoría de las diferencias en la ratio V:I entre las granjas en los dos grupos tiene que ver con un mejor manejo en verano en el grupo de ratio alta. Los mínimos cuadrados para los porcentajes de leche, LCE, y grasa y proteína en leche en los 305 días de lactación para los grupos de ratio V:I alta y baja se presentan en la Tabla 6. De los datos mostrados en la Tabla 6, podemos extraer que ese enfriamiento intensivo de las vacas de alto rendimiento en las condiciones del verano israelí, tienen el potencial de añadir aproximadamente 700 kg de LCE a la lactación de cada vaca, un incremento del 6,5% de su producción anual. Las vacas en granjas de ratio V:I alta, paridas en primavera o al comienzo del verano alcanzaban picos de lactación más altos y aquellas paridas en invierno, persistían mejor en el verano, en comparación con las vacas en granjas con ratio V:I baja. Cabe mencionar que hemos apreciado que las vacas israelíes tienden a persistir mucho mejor en su lactación en la última década, en comparación con lactaciones registradas hace 2-3 décadas. No hay duda de que el enfriamiento intensivo de las vacas en gran parte de las granjas de Israel en la última década es uno de los factores más influyentes en este fenómeno.

Se ha publicado mucha información en los últimos años sobre los efectos negativos del estrés de calor en verano en los índices productivos y reproductivos de la vaca de alto rendimiento; pero, hasta ahora hay muy poca información sobre el efecto del estrés de calor en su eficiencia alimentaria (como se estima de la relación alimento-leche).

Una publicación especial de NRC en el año 1981 mostró que las necesidades energéticas de mantenimiento de las vacas en lactación eran un 25% más altas para las vacas sujetas a altas temperaturas ambientales (35°C), en comparación con las vacas mantenidas a 20°C. El requerimiento energético total de las vacas con estrés de calor se espera que sea un 5-10% más alto que el de las vacas en condiciones climáticas normales.

Investigadores de la Universidad de Arizona han estudiado recientemente el efecto del estrés de calor en la eficiencia alimentaria. El estudio se desarrolló en cámaras climáticas ubicadas en Tucson, AZ (6). La disminución en la producción de leche de las vacas de alto rendimiento, bajo condiciones climáticas normales, cuya ingesta de alimentos fue restringida a aquella de las vacas con estrés de calor, fue solo la mitad que la que se dio en las vacas con estrés de calor (30% y 15% de disminución en las vacas con estrés de calor y las vacas con restricción de alimentos, respectivamente). Esto significa que la reducción en el consumo de alimentos puede explicar solo la mitad del descenso en la producción de leche, asumiendo que el resto se debe a la energía utilizada para la activación de los mecanismos del cuerpo para la disipación del calor, y a que puede haber cambios en vías metabólicas, causadas por el estrés de calor. En otras palabras, el estrés de calor causa "ineficiencia nutricional" en el sector lechero.

Con base en los resultados del estudio de Arizona y siguiendo un procedimiento experimental similar, los efectos del estrés de calor y el enfriamiento intensivo sobre las vacas en verano se han estudiado recientemente por investigadores de los servicios de investigación y extensión del Ministerio de Agricultura de Israel (7). Dos grupos de vacas de alto rendimiento, con una media de 45 kg/d, se instalaron en el mismo lado del establo, con alimentación ad libitum o con una ración de RMT (proporcionada en comederos individuales y pesada cada día) y fueron ordeñadas 3 veces al día. Todas las vacas se enfriaron intensivamente a través de una combinación de aspersión y ventilación forzada. La investigación comenzó el 1 de julio y, hasta el final de este mes, todas las vacas fueron enfriadas, mientras que se registraban los

parámetros del consumo de alimentos, la producción de leche y algunos más. Durante la última semana de julio, el enfriamiento se fue quitando progresivamente en uno de los grupos, mientras que el suministro de alimento se fue restringiendo para las vacas del otro grupo (en base par) al consumido por el grupo de vacas no enfriadas, con estrés de calor. Como en el "estudio de Arizona", también en el "estudio israelí", el 20% de descenso en el consumo de alimento (de 24,4 a 19,4 kg/vaca/día) explicó solo la mitad de la disminución en la producción de leche, y la caída de la leche en las vacas con estrés de calor fue de casi el doble de la obtenida en las enfriadas (14 y 8 kg/vaca/día), aunque el consumo de alimento fue el mismo. Se puede resumir que enfriar a las vacas en verano mejora la eficiencia alimentaria, al reducir en un 5-10% las necesidades de alimento para la producción de leche, en comparación con las requeridas por las vacas con estrés de calor.

Se examinó la rentabilidad del enfriamiento intensivo de las vacas en verano bajo las condiciones del sector lechero israelí, utilizando un programa especial de Excel que hemos desarrollado recientemente. Este programa tiene en cuenta los dos "beneficios económicos" principales, recogidos del enfriamiento intensivo de las vacas en verano, que son el incremento esperado en la producción de leche anual por vaca y la mejora esperada en la eficiencia alimentaria. El estudio no tuvo en cuenta otros beneficios económicos extraídos del enfriamiento de las vacas durante el verano, como el incremento del contenido en grasa y proteínas de la leche, la reducción del RCS en leche y la mejora en la fertilidad de la vaca.

Utilizando el programa Excel, calculamos la rentabilidad de enfriar a las vacas bajo las condiciones del sur de EEUU (8), el norte de México (9), la zona costera de Perú (10), la zona central de Argentina y Uruguay (11) y las regiones lecheras del centro de Brasil (MG y SP) (12), en función de los precios de la alimentación, la energía y la leche locales. Para estos cálculos, supusimos un incremento anual por vaca en la eficiencia productiva y alimentaria de un 5% y 10%, debido al enfriamiento intensivo de las vacas en verano. Los datos se muestran en la Tabla 7. A partir de los datos presentados en la Tabla 7, podemos ver que, aunque las diferencias en el nivel de producción y las prácticas de manejo, los inputs del enfriamiento y los precios de la leche en los distintos países estudiados, el incremento de los ingresos anuales por vaca debido al enfriamiento intensivo en el verano era bastante parejo y oscilaba entre 100 y 300 USD, dependiendo de la tasa de incremento de leche producida por vaca asumida y la mejora en eficiencia alimentaria.

Asumimos que, cuando se añaden al aumento existente de las ganancias, los beneficios derivados de la mejora de los índices de fertilidad y salud en verano, los ingresos totales por vaca pueden aumentar en un 30-40% adicional.

Como conclusión:

1. El enfriamiento intensivo de las vacas durante el verano puede eliminar casi toda la disminución en la producción de leche en verano.

2. Estos resultados también se pueden obtener en vacas de alto rendimiento, que producen más de 13.000 kg anualmente.

3. El enfriamiento intensivo de las vacas durante el verano en Israel aumenta la producción de leche anual de la vaca en 700 kg (un 8% más de leche en comparación con las vacas no enfriadas).

4. Entre 1994 y 2008, la producción media diaria de leche durante el invierno aumentó en 2,3 kg/d y un 6%, en comparación al incremento de 7,3 kg/d y un 23% en el verano, respectivamente.

5. El enfriamiento intensivo de las vacas en verano tiene el potencial de reducir, o incluso eliminar completamente, el esperado 5-10% de descenso en la eficiencia alimentaria (conversión alimento-leche).

6. Se evaluó la rentabilidad de implementar sistemas de enfriamiento intensivo en el verano en las granjas lecheras israelíes, y se encontró que el ingreso neto aumentaba en 300 USD por vaca y año (0,03 USD por litro de leche producida anualmente).

7. Se evaluó la rentabilidad de implementar sistemas de enfriamiento intensivo en distintos países, teniendo en cuanta las diferencias en el nivel de producción y prácticas de manejo, los costes del enfriamiento y los precios de la leche

8. El aumento anual de los beneficios por vaca debido al enfriamiento intensivo de las vacas en verano, oscila en estos países entre 100 y 300 USD, en función de la tasa de aumento anual en la producción de leche por vaca y la mejora en la eficacia alimenticia.

9. Se espera que los beneficios económicos de mejorar la salud y la fertilidad de las vacas a través del enfriamiento intensivo aumenten en un 30-40% el aumento esperado en los ingresos anuales por vaca al implementar correctamente las tecnologías de refrigeración en la granja.

Referencias

1. Flamenbaum I., Wolfenson D., Mamen. M., and Berman A. (1986). Cooling dairy-cattle by a combination of sprinkling and forced ventilation and its implementation in the shelter system. *J. Dairy Sci.* 69: 3140-3147.
2. Flamenbaum I. and Ezra E. (2003) A large-scale survey evaluating the effect of cooling Holstein cows on productive and reproductive performances under sub-tropical conditions. *J. Dairy Sci.* 86: (Suppl. 1) 19.
3. Flamenbaum. I, and E. Ezra (2007). Effect of level of production and intensive cooling in summer on productive and reproductive performance of high yielding dairy cows, J. Dairy Sci. Vol. 90, Suppl: abstract 345.
4. Flamenbaum. I and E. Ezra (2007). The Summer to Winter performance ratio" as a tool for evaluating heat stress relief efficiency of dairy herds, J. Dairy Sci. Vol. 90, Suppl: abstract 753.
5. Flamenbaum. I and E. Ezra (2009). How much milk adds intensive cooling of high-yielding dairy cows during hot season ? , p' 14 in "The Dairy Industry In Israel" Israel Cattle Breeders Association, Herd Book report, 2008.
6. Roads et al. (2009). Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: 1. Production, metabolism and aspects of circulating Somathotropin. J. Dairy. Sci. 92:1986.
7. Flamenbaum I., (2012), "Heat stress abatement improves feed efficiency of high yielding cows in the summer" Hoard's Dairyman Magazine, (in press).
8. Flamenbaum, I,. (2010), "Is cooling cows worth the cost?", Hoard's Dairyman, July 2010, p 485.
9. Flamenbaum, I,. (2010), "Relacion costo beneficio del enfriamiento de vacas lecheras en el verano en el norte de Mexico" Hoard's Dairyman en Espanol, January 2010, p 46.
10. Flamenbaum, I, (2010), "Relacion costo beneficio de la implementación de sistemas intensivas de enfriamiento para vacas altas productoras en clima calido", PANVET annual meeting, Lima, Peru.
11. Flamenbaum , I,. (2011), Lectures presented in Argentina and Uruguay.
12. Flamenbaum, I,. (2010), "Improving production and reproduction of high performance dairy cows with heat abatement practices and facilities", "INTERLAITE 2010" meeting, Uberlandia MG, Brazil.

Tabla 1 – Efecto de las diferentes intensidades de enfriamiento en vacas lecheras adultas a través de la combinación de aspersión y ventilación forzada sobre sus índices productivos.

Tratamiento Parámetro examinado	No enfriadas	Enfriadas en el corral de espera	Enfriadas en el corral de espera y en la línea de alimentación
Tiempo de enfriamiento acumulado (horas/día)	0	4,5	7,5
Producción media de leche en invierno (kg/d)	38,6	41,4	40,6
Producción media de leche en verano (kg/d)	35,0	39,8	40,0
Disminución de la producción de leche en verano Kg/día	3,6 c	1,6 b	0,6 a
Ratio de producción Verano : Invierno (%)	90,7	96,1	98,5

Tabla 2 - Efecto de la intensidad de enfriamiento en verano sobre la producción media de leche (kg/d) de vacas lecheras en granjas con niveles de producción altos y bajos.

Nivel de producción	Alto		Bajo	
Intensidad de enfriamiento	**Intensivo (EI)**	**Moderado (EM)**	**Intensivo (EI)**	**Moderado (EM)**
Rango de producción de leche en invierno (kg/vaca/d)	41 - 43	38 – 40	35 – 38	33 - 36
Ratio de producción Verano : Invierno	0,96 – 1,00	0,86 – 0,88	0,97 – 1,03	0,84 – 0,90
Producción media de leche (kg/vaca/d)				
Invierno	42,0	35,3	37,1	39,1
Primavera	42,3	36,2	39,1	39,2
Verano	42,0	32,0	38,0	35,7
Otoño	42,1	34,1	38,1	36,9

Tabla 3 - Efecto del nivel de producción sobre las ratios verano-invierno para la leche corregida económicamente (LCE) de todos los rebaños israelíes (2005).

Nivel de producción	Alto (Top 25%)	Medio (50% del medio)	Bajo (25% inferiores)
Producción LCE en invierno (kg/d)	35,1	33,2	30,2
Producción LCE en verano (kg/d)	36,1	30,9	24,8
Ratio V : I de la LCE	1,03	0,93	0,82

Tabla 4 - Producción media de leche (kg/d) en el verano y el invierno y su tasa de aumento, en explotaciones lecheras cooperativas de gran escala en Israel entre 1994 - 2008.

Año / Estación	Invierno	Verano	Ratio V : I
1994	37,7	31,0	0,82
2004	39,8	36,5	0,92
2008	40,0	38,3	0,96
Cambio 2008-1994 (kg)	+ 2,3	+ 7,3	-
Cambio 2008 - 1994 (%)	+ 6%	+ 23%	-

Tabla 5 - Producción media de leche en verano y en invierno y ratios verano-invierno en rebaños de ratio alta (enfriamiento intensivo) y baja (prácticamente sin enfriar).

Ratio V : I alta	Ratio V : I baja	Grupo Parámetro
24	24	**Número de rebaños**
10.000	10.000	**Número de vacas (aproximación)**
39,7	39,5	**Producción de leche en invierno (kg/d)**
38,9	34,4	**Producción de leche en verano (kg/d)**
0,98	0,87	**Ratio Verano : Invierno de leche**
0,99	0,90	**Ratio Verano : Invierno del pico de lactación**

Tabla 6 - Producción media (305 días) de leche, LCE, grasa en leche y proteína en leche, de rebaños con ratio V:I alta y baja.

Producción añadida (%)	Diferencia (kg)	Ratio V : I alta	Ratio V : I baja	Índice / Grupo
6,0%	671	12,017	11.346	**Leche (kg)**
6,5%	**726**	**11,807**	**11.081**	**LCE (Kg)**
6,8%	27,5	430,1	402,6	**Grasa en leche (kg)**
6,8%	24,4	385,3	360,9	**Proteína en leche (kg)**

Tabla 7 - El incremento de beneficio neto por vaca y año (USD) debido a la implementación correcta de un sistema de enfriamiento intensivo en distintos países del continente americano y sur de China.

País / Tasa de mejora Debida al enfriamiento	5% de aumento en la producción de leche y la eficiencia alimentaria	10 % de aumento en la producción de leche y la eficiencia alimentaria
Israel	170	340
Sur de EEUU	150	345
Sur de China	140	310
Norte de México	165	400
Costa de Perú	145	240
Centro de Argentina (Santa Fe Córdoba)	80	200
Centro de Uruguay	110	245
Centro de Brasil (MG y SP)	**145**	**310**

ENGLISH VERSION ▼

Cooling Cows in the Summer Improves Production Efficiency, Farm Profitability and Production Sustainability

The case of Israel

Israel Flamenbaum, Ph. D
Dr. Flamenbaum (Cow Cooling Solutions) LTD, Israel

Israel is located to the east of the Mediterranean Sea. Israel's climate is considered subtropical and dry. It is characterized by moderately cool, rainy winters (November–March) and hot summers (June–October), which is the dry season, with no rainfall. Summer is characterized by high temperatures (including the night) combined with high relative humidity in the coast region (average temperatures ranging between 26° C and 32°C and relative humidity ranges between 50% and 90%). In the hot and dry inland valleys and southern desert temperatures range between 38°C and 45°C and relative humidity is relatively low, ranging between 20% and 40%).

The Israeli dairy sector consists of near 120,000 *Israeli-Holstein*-breed cows on near 900 dairy farms. These farms are distributed mostly on the coast and in the hot valleys. Based on Israel Herd book data (DHI), which includes near 90% of the dairy cattle in Israel, 2013 average per cow annual milk production was close to 12,000 kg per cow, with 3.7% fat and 3.2% protein.

The constant rise in cow-milk yields and global warming are boosting the decrease in milk production and cow's reproductive traits. During the last three decades, Israeli researchers have conducted some researches in order to develop an efficient cooling system which will allow obtaining high milk yields and relatively good fertility during the hot season. The technologies for cooling cows developed here have been rapidly adopted by Israeli farmers. Incentive, provided by an appropriate pricing system for milk, has encouraged dairy farmers to install and use these systems extensively. To achieve positive results, proper installation and accurate operation of the cooling system is required.

The cooling system largely used in Israel is based on the combination of wetting the cows and uently, followed with blowing air on her through forced ventilation. This system was developed and first implemented in Israel trough cooperation between the Department of Animal Science of the Hebrew University of Jerusalem and the Extension service of the Israel Ministry of Agriculture. The system was first described almost 25 years ago (1). Cooling the cows 5 times a day, 30 minutes each time, allowed cows, producing 25-30 kg of milk per day to maintain their body temperature below 39.0 C, during all day time, in a typical Israeli summer day.

In the last decade we conducted some surveys, in cooperation with the Israel cattle Breeders Association (ICBA). The aim of these studies was to evaluate the efficiency of the implementation of cooling system in commercial farms located in different parts of the country, on productive and reproductive traits of high yielding cows, performing in the sub-tropical climate of Israel.

The first survey studied the effect of cooling intensity on cow's productive and reproductive traits. This large scale survey was carried out during four years and included 14 farms, near 300 cows each, located in the costal part of the country (2). Farms were classified into three different groups according to the intensity of cooling in summer. Cows of group 1 (six farms, intensive cooling), were cooled in the holding and feeding area for a total of 10 cooling periods and 7.5 cumulative hours per day. Each cooling period combined cycles of sprinkling (0.5 min.) and forced ventilation (4.5 min.). Cows of group 2 (three farms, moderate cooling), were cooled in the holding area only, and were provided a total of six cooling periods and 4.5 cumulative hours per day. Cows of group 3 (five farms, no cooling) were not cooled at all. Milk production (kg/d), was calculated for summer (July-September) and winter (December-February). The analysis included 125,000 milk recordings (> five recordings for each cow per lactation). Average four years daily low and high temperatures (C°) were 8.4 and 19.3, and 22.0 and 31.8, for winter and summer, respectively. The interaction between season and cooling treatment was significant ($P<0.001$). The ratios between summer and winter daily average milk production were 98%, 96% and 93%, in intensive, moderate, and no cooling treatments, for first calf heifers and 98%, 96% and 91% for adult cows, respectively. The results of this survey are presented in table 1. These results indicate that intensive cooling of cows in the summer can reduces almost completely the seasonal variations in productive traits of dairy cows in summer.

The second survey tried to find out, if intensive cooling in summer has the potential to prevent summer decline in milk production and reproduction of extremely high yielding cows (annual herd average above 13,000 kg). The survey used Israeli "herd book data" and included 22 dairy herds, averaging 300 cows each, with total of 6600 cows (3). All dairy herds were located in the coastal part of Israel with same climatic conditions. Cows in all the herds were held under similar housing system, milked 3 times per day and fed for ad-lib, intake a TMR, offered to the cows twice daily. Twelve of the herds were of high and 10 of low production level (previous year winter average milk production of 41 and 35 kg/d, respectively). Cows in half of the herds in each production level group were intensively cooled (IC) during summer, using a combination of wetting and forced ventilation for 10 cooling periods and a total of 7 cumulative hours per day. Cows in the second half of the herds in each production level group were moderately cooled (MC) by a combination of wetting and forced ventilation in the holding pen, only before milking (the minimum cooling that can be found these days in Israeli commercial herds).

As we can see in table 2, Winter (Jan-Mar) and summer (Jul-Sep) milk production averaged 41.5 and 40.7 kg/d, respectively, for the IC herds, and 38.5, 33.8 kg/d, respectively, for the MC herds of the high production level. During the same seasons, in the low producing herds, milk production averaged 36,5 and 36.8 kg/d, respectively, for the IC herds, and 34.4 and 30.2 kg/d, respectively for MC herds.

The extension services of the Israel ministry of agriculture found the necessity to develop a tool that will allow monitoring the effectiveness of cooling systems installed in the farms (4). In cooperation with the Israel Cattle Breeders Association (ICBA), the summer to winter ratio index have been developed. This is a computerized report, based on the information stored in the "Israeli Herd book", which evaluates farm-effectiveness in reducing summer impact on cow's performance. The "Summer to Winter (S:W) performance ratio" report make use of farm's monthly recorded data for milk , milk fat and protein, milk somatic cells count (SCC) and conception rate. The higher the ratio is (close or above 1.0) for productive and reproductive traits and the lower ratio is for SCC data, the better the farm is dealing with summer heat-stress. The calculations in this report include the estimates of L.S.M for milk and economical corrected milk (ECM) yield (kg/day), fat and protein (%), SCC (000/ml) and summer (July – September) and winter (January – March) conception rates (%), followed by calcu-

lation of S:W ratios.

In a survey carried out recently, a S:W ratios of >0.96, 0.90 - 0.96 and <0.90 were recorded in 34%, 44% and 22% of the dairy farms in Israel, respectively. Summer to winter milk ratio was 0.94, in 495 small - scale family farms averaging 50 cows each and 0.95, in 191 large scale cooperative farms averaging 300 cows each. High, middle and low producing farms (mean winter milk yields of 35, 33 and 30 kg/d, respectively), had S:W milk ratios of 1.03, 0.93 and 0.82, respectively (Table 3). Summer to winter milk production ratio was 0.96, in 70% of the farms located in mountain regions (cool weather in summer), compared to only 30% of the farms located in the Jordan Valley (extremely hot regions). The data presented here indicates that high producing farms (probably, having better management), obtain also better productive results in summer. The S:W report can provide data analysis sorted by regional and individual farm basis and enables detecting those farms needing improvement in their summer management and the provision of necessary consultancy and follow up by extension advisors.

With the aim to study the rate of improvement in the Israeli dairy sector we calculated the summer to winter ratio for the 200 large scale cooperative dairy farms, and compared it through the years 1994 to 2008. Results are presented in table 4. From the presented in table 4 it can be seen that, through these years, the average per cow daily milk production was increased by 2.3 kg (6%) in the winter, as compared to the increase of 7.3 kg in the summer (23%). The S:W ratio can represent the advances occurring the Israeli dairy sector in this period of time, related mostly to proper implementation of cooling means in the Israeli dairy farms.

S:W ratios helped us recently to quantify the overall productive and economical effects of better cooling the cows in the summer (5). Summer to winter milk ratio for each herd served as the parameter by which we sorted between 24 “best cooling” farms in Israel and compared them to the 24 “worst cooling” ones. It is assumed that the difference in cow’s performance in the summer between these two groups, represent the total effect of cooling and better managing the cows in the summer. Average size of farms in the study was of 400 cows each and the total cows included, was almost 10,000 cows per group. Averages of milk production and conception rates in “high” and “low” ratio groups are presented in Table 5. The fact that average winter milk production was the same in both groups supports the supposition that most of the differences in the S:W ratio among farms in the two groups is related to the better management in summer in the high ratio group. Least Square Means for Milk, ECM, milk fat and protein percentages in 305 days of lactation for high and low S:W ratio groups is presented in table 6. From the data presented in table 6, we can see that that intensive cooling of high yielding cows under Israeli summer conditions, have the potential to add approximately 700 kg ECM to every cow’s lactation, an increase by 6.5% their annual production. Cows in high S:W ratio farms, calving in spring-early summer reached higher lactation peaks and those calving in winter, persisted better in the summer, as compared to cows in low S:W ratio farms. It is to mention that we noticed that Israeli cows tend to persist much better in their lactation in last decade, as compared to lactations recorded 2-3 decades ago. No doubt that intensively cooling the cows in great part of the farms in Israel in last decade is one of the factors most influencing this phenomenon.

Much information was published in recent years, dealing with the negative effect of summer heat stress on the productive and reproductive traits of the high yielding cow, but, very limited information exists till now regarding the effect of heat stress on their feed efficiency (as estimated by the feed to milk ratio).

A special 1981 NRC publication showed that maintenance energy requirements of milking cows where 25% higher for cows subjected to high ambient temperatures (35 C), as compared to cows kept at 20 C. The total energy requirement of heat stressed cows is expected to be 5% - 10% higher than that of cows in normal climate conditions.

Researchers from the University of Arizona studied recently the effect of heat stress on feed efficiency. The study was carried out in climatic chambers located in Tucson AZ. (6). The decrease in milk yield of high yielding cows, subjected to normal climatic conditions, whose feed intake was restricted to that of heat stressed cows, was only half that occurring in heat stressed cows (30% and 15% decline, in the heat stressed and feed restricted cows, respectively). This means that the reduction in feed consumption can explain only half of the decline in milk production, assuming that the remaining was the energy used for activation of body mechanisms for heat dissipation, and may be changes in metabolic pathways, caused by heat stress. In other words, heat stress causes “nutritional inefficiency” in the dairy sector.

Based on the results from the study in Arizona and running similar experimental procedure , the effects of heat stress and intensive cooling the cows in summer were studied recently by researchers from the Israel ministry of agriculture research and extension services (7). Two groups of high yielding cows, averaging 45 kg/d, were installed in the same side of a barn, fed ad lib, a TMR ration (provided in individual feed boxes weighted daily) and milked 3 times a day. All cows were cooled intensively by a combination of wetting and forced ventilation. The research started on July 1 and until the end of this month, all the cows were cooled, while feed consumption, milk production and some more parameters were recorded. During last week of July, cooling was gradually stopped to one of the groups, while food supply to the cows in the other group was restricted (on pair basis) to that, consumed by the cows in the non cooled, heat stressed one. As obtained in the “Arizona study”, also in the “Israeli study” the 20% decline in feed consumption (from 24.4 to 19.4 kg/cow/day), explained only half of the decline in milk production, and milk drop in heat stressed cows was almost double of that obtained in cooled ones (14 and 8 kg/cow/day), although feed consumption was the same. It can be resumed that cooling the cows in the summer improve feed efficiency by reducing 5 - 10% the feed required for milk production, as compared to that required in heat stressed cows.

Cost effectiveness of intensive cooling the cows in the summer was examined under the conditions of the Israeli dairy sector, making use of a special Excel program we developed recently. This program takes in account the two main “economical benefits”, raised from intensively cooling the cows in summer, as are the expected increase in per cow annual milk production and the expected improvement in feed efficiency. The study did not take in account some other economical benefits raised from cooling the cows in the summer, like the increase in milk fat and protein content, the reduction in milk SCC and the improvement in cow’s fertility.

Making use of the Excel program we calculated the cost effectiveness of cooling the cows under the conditions of the South of USA (8), the north of Mexico (9), the coastal part of Peru (10), the central part of Argentina and Uruguay (11) and the central dairy regions (MG and SP) in Brazil (12), based on local feed, energy and milk prices. For these calculations, we assumed an increase in per cow annual production and feed efficiency of 5% and 10%, due to intensively cooling the cows in the summer. Data is presented in table 8. From the data presented in table 8, we can see that, although the differences in the level of production and management practices, cooling inputs and milk prices in the different countries studied, the increase in per cow annual income due to

intensively cooling the cows in the summer was quite similar and ranged between 100 and 300 USD, depending in the assumed rate of increase in annual per cow milk production and the improvement in feed efficiency.

We assume that, when adding to the existing increase in the profit, also the benefits caused by improving summer fertility and health traits, total income per cow can be increase by additional 30-40%.

In conclusion:

1. Intensive cooling the cows in the summer can eliminate almost all summer decline in their milk production.

2. These results can be obtained also in high yielding cows producing more than 13,000 kg annually.

3. Intensive cooling the cows in the summer in Israel increases cow's annual milk production by 700 kg (8% more milk as compared to non cooled cows).

4. Between 1994 and 2008, average daily milk production in the winter increased by 2.3 kg/d and 6%, as compared to an increase of 7.3 kg/d and 23% in the summer, respectively.

5. Intensive cooling the cows in the summer have the potential to reduce, or even totally eliminate the expected 5- 10% decline in feed efficiency (feed to milk conversion).

6. The cost effectiveness of implementing intensive cooling system in the summer was evaluated for the Israeli dairy farm and was found to increase by 300 USD the net annual per cow income (0.03USD per liter of milk produced annually).

7. The cost effectiveness of implementing intensive cooling systems in different countries was evaluated, taking in account the differences in level of production and management practices, cooling inputs and milk prices,.

8. The increase in the annual per cow annual profit due to intensively cooling the cows in the summer, ranges in these countries between 100 and 300 USD, depending in the rate of increase in annual per cow milk production and the improvement in feed efficiency.

9. Economical benefits from improving cow's health and fertility due to the intensive cooling are expected to increase by 30-40% the expected increase in annual per cow income when properly implementing cooling technologies in the farm.

References

1. Flamenbaum I., Wolfenson D., Mamen. M., and Berman A. (1986). Cooling dairy-cattle by a combination of sprinkling and forced ventilation and its implementation in the shelter system. *J. Dairy Sci.* 69: 3140-3147.

2. Flamenbaum I. and Ezra E. (2003) A large-scale survey evaluating the effect of cooling Holstein cows on productive and reproductive performances under sub-tropical conditions. *J. Dairy Sci.* 86: (Suppl. 1) 19.

3. Flamenbaum. I, and E. Ezra (2007). Effect of level of production and intensive cooling in summer on productive and reproductive performance of high yielding dairy cows, J. Dairy Sci. Vol. 90, Suppl: abstract 345.

4. Flamenbaum. I and E. Ezra (2007). The Summer to Winter performance ratio" as a tool for evaluating heat stress relief efficiency of dairy herds, J. Dairy Sci. Vol. 90, Suppl: abstract 753.

5. Flamenbaum. I and E. Ezra (2009). How much milk adds intensive cooling of high-yielding dairy cows during hot season ? , p' 14 in "The Dairy Industry In Israel" Israel Cattle Breeders Association, Herd Book report, 2008.

6. Roads et al. (2009). Effects of heat stress and plane of nutrition on lactating Holstein cows: 1. Production, metabolism and aspects of circulating Somathotropin. J. Dairy. Sci. 92:1986.

7. Flamenbaum I., (2012), "Heat stress abatement improves feed efficiency of high yielding cows in the summer" Hoard's Dairyman Magazine, (in press).

8. Flamenbaum, I,. (2010), "Is cooling cows worth the cost?", Hoard's Dairyman, July 2010, p 485.

9. Flamenbaum, I,. (2010), "Relacion costo beneficio del enfriamiento de vacas lecheras en el verano en el norte de Mexico" Hoard's Dairyman en Espanol, January 2010, p 46.

10. Flamenbaum, I, (2010), "Relacion costo – beneficio de la implementación de sistemas intensivas de enfriamiento para vacas altas productoras en clima calido", PANVET annual meeting, Lima, Peru.

11. Flamenbaum , I,. (2011), Lectures presented in Argentina and Uruguay.

12. Flamenbaum, I,. (2010), "Improving production and reproduction of high performance dairy cows with heat abatement practices and facilities", "INTERLAITE 2010" meeting, Uberlandia MG, Brazil.

Table 1 – Effect of different intensities of cooling adult dairy cows by a combination of wetting and forced ventilation on their productive traits.

Treatment Parameter tested	Not cooled	Cooled in Holding pen	Cooled in holding pen + feed line
Cumulative cooling time (hours /day)	0	4.5	7.5
Average milk production in winter (kg/d)	38.6	41.4	40.6
Average milk production in summer (kg/d)	35.0	39.8	40.0
Summer decline in milk production Kg/day	3.6 c	1.6 b	0.6 a
Summer : Winter production ratio (%)	90.7	96.1	98.5

Table 2 – Effect cooling intensity in summer on average milk production (kg/d) of dairy cow in farms with high and low production level.

Level of production	High		Low	
Cooling intensity	**Intensive (IC)**	**Moderate (MC)**	**Intensive (IC)**	**Moderate (MC)**
Winter range of milk production (kg/cow/d)	41 - 43	38 – 40	35 – 38	33 - 36
Summer : winter production ratio	0.96 – 1.00	0.86 – 0.88	0.97 – 1.03	0.84 – 0.90
Average milk production (kg/cow/d)				
Winter	42.0	35.3	37.1	39.1
Spring	42.3	36.2	39.1	39.2
Summer	42.0	32.0	38.0	35.7
Autumn	42.1	34.1	38.1	36.9

Table 3 - Effect of production level on summer to winter ratios for economical corrected milk (ECM) of all Israeli herds (2005).

Production level	High (Top 25%)	Medium (Middle 50%)	Low (Low 25%)
Winter ECM production (kg/d)	35.1	33.2	30.2
Summer ECM production (kg/d)	36.1	30.9	24.8
S : W ECM ratio	1.03	0.93	0.82

Table 4 – Average milk production (kg/d) in the summer and the winter and its rate of increase, in large scale cooperative dairy farms in Israel in 1994 – 2008.

Year/Season	Winter	Summer	S:W ratio
1994	37.7	31.0	0.82
2004	39.8	36.5	0.92
2008	40.0	38.3	0.96
Change 2008-1994 (kg)	+ 2.3	+ 7.3	-
Change 2008 - 1994 (%)	+ 6%	+ 23%	-

Table 5 - Summer and Winter averages of milk production and summer to winter ratios in high ratio (intensively cooling) and low ratio (almost not cooling) herds.

Group Parameter	Low S : W ratio	High S : W ratio
No. Herds	24	24
Number of cows (approximation)	10,000	10,000
Winter Milk Production (kg/d)	39.5	39.7
Summer Milk Production (kg/d)	34.4	38.9
Summer : Winter milk ratio	0.87	0.98
Summer : Winter peak lactation ratio	0.90	0.99

Table 6- Average production (305 days) for milk, ECM, milk fat and milk protein, for herds with high and low S:W ratio.

Trait/Group	Low S : W ratio	High S : W ratio	Difference (kg)	Added production (%)
Milk (kg)	11,346	12,017	671	6.0%
ECM (Kg)	**11,081**	**11,807**	**726**	**6.5%**
Milk fat (kg)	402.6	430.1	27.5	6.8%
Milk protein (kg)	360.9	385.3	24.4	6.8%

Table 7 – The increase in annual per cow net profit (USD) due to the proper implementation of an intensive cooling system in different countries of the American continent.

Country/Rate of improvement Due to cooling	5% increase in milk production and feed efficiency	10 % increase in milk production and feed efficiency
Israel	170	340
South of USA	150	345
South China	140	310
North of Mexico	165	400
Coast of Peru	145	240
Central Argentina (Santa Fe Cordoba)	80	200
Central Uruguay	110	245
Central Brazil (MG and SP)	**145**	**310**

IMPACTO DEL ESTRÉS METABÓLICO SOBRE LA INFLAMACIÓN Y LA SALUD DE LA VACA EN TRANSICIÓN: EL PAPEL DE LA BIOSÍNTESIS DE EICOSANOIDES

Lorraine M. Sordillo
College of Veterinary Medicine
Michigan State University

1. Introducción

El aumento de la incidencia de varias enfermedades económicamente importantes (es decir, mamitis, metritis, desplazamiento del abomaso y cetosis) causa pérdidas de producción antes del ordeño significativas en el ganado lechero en transición y reduce la disponibilidad de alimentos seguros y nutritivos para una población global en crecimiento. Un factor subyacente importante responsable del desarrollo de alteraciones en la vaca en transición es el estrés metabólico, que se da cuando las vacas no consiguen adaptarse fisiológicamente a un aumento de los requerimientos de energía necesarios para el parto y el inicio de la síntesis y la secreción de grandes cantidades de leche. El estrés metabólico puede caracterizarse como el resultado de los efectos combinados de la alteración de metabolismo de los nutrientes, las respuestas inflamatorias disfuncionales, y el estrés oxidativo. En conjunto, estos factores forman bucles de retroalimentación destructiva que exacerban el estrés metabólico y causan problemas de salud en las vacas en transición. Una mejor comprensión de cómo la nutrición y la inmunología interactúan para influir en el estrés metabólico facilitará el desarrollo de programas de control para mejorar la salud de la vaca en transición. La capacidad de detectar los signos del estrés metabólico lo suficientemente pronto en el periodo seco para implementar los ajustes de manejo necesarios antes del parto será la clave para los programas de seguimiento e intervención posteriores.

2. Estrés Metabólico en Vacas en Transición

El dramático aumento en los requerimientos de energía necesarios para el inicio de la lactación en las vacas en transición va acompañado a menudo por una disminución en la ingesta voluntaria de materia seca, que causa un balance energético negativo (BEN). Las necesidades de energía que no se consiguen a través de la dieta deben obtenerse de las reservas de energía del tejido adiposo. La movilización de lípidos está mediada, en parte, por los cambios en la producción y la respuesta a las hormonas esteroides, la hormona del crecimiento, los glucocorticoides y la insulina (Bell y Bauman, 1997). Durante la época de homeostasis fisiológica, un sistema de controles y balances metabólicos puede regular eficazmente la movilización adiposa cuando aumentan los requerimientos de energía. Por ejemplo, cuando la demanda de energía aumenta, las concentraciones de glucosa en sangre disminuyen, lo que causa consecuentemente reducciones en las concentraciones de insulina. Según disminuyen las concentraciones de insulina, aumenta la lipolisis, dando lugar a la liberación de NEFA (ácidos grasos no esterificados) en el torrente sanguíneo para su uso como fuente de energía y para la síntesis de la grasa de la leche. El aumento de NEFA en plasma debería entonces estimular la secreción de insulina, que regula y reduce la tasa de lipolisis mediante la supresión de la activación de las lipasas del tejido adiposo. Cuando se regula adecuadamente, el aumento de NEFA en plasma se puede utilizar de forma efectiva como una fuente de energía necesaria sin alterar la sensibilidad a la insulina necesaria para mantener las concentraciones de glucosa (Herdt, 2000). Las vacas se adaptan correctamente al BEN cuando la liberación de NEFA se limita a concentraciones que pueden ser completamente metabolizadas según las necesidades de energía asociadas con la gluconeogénesis. Existe amplia evidencia de que la eficiencia de este bucle de retroalimentación disminuye a medida que aumenta la masa adiposa. La obesidad es un factor importante que contribuye a que las vacas no sean capaces de adaptarse adecuadamente al BEN durante el periodo de transición (Ospina et al., 2010). De hecho, el exceso de grasa corporal en las vacas con sobrepeso es un factor de riesgo bien establecido para las enfermedades del periparto en las vacas lecheras, incluyendo la cetosis y el hígado graso (Dechow et al., 2004). De forma parecida a lo que ocurre en humanos, una gran masa adiposa en las vacas da lugar a una movilización de lípidos excesiva durante los momentos de hipermetabolismo que resultan en un aumento de las concentraciones de NEFA en sangre que no pueden ser procesadas eficazmente por los hepatocitos (Grummer et al., 2004).

El hígado puede procesar los NEFA de varias maneras, incluyendo la oxidación para combustible, la reconversión en triglicéridos y el almacenamiento como gotitas de grasa en los hepatocitos, o la conversión en compuestos cetónicos. Un ciclo perjudicial de dislipidemia se da con la acumulación de grasa en el hígado que compromete la función de los hepatocitos, reduce la gluconeogénesis y aumenta la necesidad de más lipolisis. De forma similar a los humanos, también puede desarrollarse un estado de resistencia a la insulina como consecuencia de la movilización excesiva de lípidos que puede dar lugar a una disminución de la sensibilidad o la capacidad de respuesta a la insulina. Estudios previos han mostrado que las vacas con sobrepeso con concentraciones prolongadas de NEFA en plasma durante la lactación temprana tenían deteriorada la liquidación de glucosa aunque presentaban una mayor respuesta de insulina a la infusión de glucosa (Holtenius et al., 2003). Además, la inducción de una cantidad elevada de NEFA en sangre por infusión de una emulsión de sebo alteraba eficazmente la tolerancia a la glucosa y la capacidad de respuesta a la insulina en las vacas (Pires et al., 2007). Por tanto, concentraciones excesivamente altas de NEFA en plasma pueden tener un impacto perjudicial sobre la función hepática incluyendo la acumulación de triglicéridos, que causa hígado graso, y la sobreproducción de cetonas, como el β-hidroxibutirato (BHBA), que provoca la cetosis (Herdt, 2000). El desarrollo de la resistencia a la insulina por los adipocitos durante la hiperlipidemia es probablemente uno de los factores principales en la mala adaptación al metabolismo energético durante el periodo de transición. Por lo tanto, el BEN durante el periodo de periparto provoca la movilización de grasa desde los almacenes en los tejidos y la liberación de NEFA en el torrente sanguíneo. Numerosos estudios

documentan claramente una asociación entre las concentraciones elevadas de NEFA en suero, la inmunidad comprometida, y el aumento de la susceptibilidad a la enfermedad en el ganado lechero durante el periodo de periparto (Contreras y Sordillo, 2011, Sordillo y Aitken, 2009). No obstante, los mecanismos por los que los ácidos grasos pueden influir sobre las defensas del huésped bovinas y la susceptibilidad a la enfermedad en las vacas metabólicamente desafiadas no se conocen.

3. Estrés Metabólico e Inflamación

Las formas en las que la dislipidemia en la lactación temprana afecta negativamente a las vías del metabolismo intermediario de los nutrientes y la patogénesis de las enfermedades metabólicas han sido un foco principal de las investigaciones sobre la vaca en transición durante muchos años (Oetzel, 2004). Más recientemente, sin embargo, hay un mayor reconocimiento de que las vías metabólicas e inflamatorias pueden cruzarse para formar bucles de retroalimentación destructiva que contribuyen a la patogénesis de enfermedades tanto metabólicas como infecciosas en las vacas en transición (Sordillo y Raphael, 2013). Las vacas en transición pueden mostrar una respuesta inflamatoria sistémica manifiesta alrededor del momento del parto incluso sin signos de infecciones microbianas u otras patologías (Bertoni et al., 2008). Como ocurre con los humanos obesos, una inflamación crónica de bajo grado puede agravar el estrés metabólico, aumentando la lipolisis y comprometiendo las funciones hepáticas. Por ejemplo, se observaron concentraciones elevadas en suero de la potente citoquina proinflamatoria TNF-α en vacas con hígado graso de moderado a severo (Ohtsuka et al., 2001). Infusionar directamente las vacas en lactación tardía con TNF-α también ha demostrado reducir la resistencia a la insulina y aumentar las concentraciones de triglicéridos en el hígado (Bradford et al., 2009). Cuando la TNF-α fue infusionada en las vacas durante la primera semana de lactación, los marcadores de inflamación aumentaron con un deterioro concomitante de la salud y de la producción de leche (Yuan et al., 2013). Por otra parte, el tratamiento de las vacas con salicilato de sodio antiinflamatorio durante la lactación temprana provocó hipoglicemia, sugiriendo que las vías asociadas a la inflamación están involucradas en las adaptaciones homeorhéticas para la lactación (Farney et al., 2013). Como consecuencia de estas interrelaciones, se cree que las respuestas inflamatorias disfuncionales o no reguladas son el nexo común entre el aumento de la incidencia tanto de las enfermedades metabólica como de las infecciosas durante el periodo de transición (Sordillo y Raphael, 2013). Una mejor comprensión de cómo las respuestas metabólicas e inflamatorias influyen en el estrés metabólico probablemente conducirá a mejores estrategias de control para los trastornos de la vaca en transición.

El papel del BEN, los cambios y el metabolismo de los nutrientes durante el periodo de transición ha sido implicado en la alteración de las respuestas inflamatorias apropiadas (Sordillo y Raphael, 2013). En una serie de estudios elegantes, por ejemplo, las vacas lecheras preñadas fueron mastectomizadas para evaluar el impacto de la producción de leche y el BEN sobre varios parámetros inmunológicos mientras se seguían manteniendo los cambios endocrinos asociados al final de la gestación y el parto (Kimura et al., 1999, Kimura et al., 2002, Nonnecke et al., 2003). Las vacas con mastectomía sufrieron solo un aumento moderado de NEFA en comparación con las vacas con glándulas mamarias durante el periparto. Por otro lado, las funciones de los linfocitos y de los neutrófilos disminuyeron por más tiempo en las vacas con glándulas mamarias en comparación con las vacas mastectomizadas (Kimura et al., 1999, Nonnecke et al., 2003). Estos autores también reportaron un impacto negativo en la composición de las poblaciones de leucocitos en sangre periférica como consecuencia de la lactación (Kimura et al., 2002). La conclusión principal que se extrae de estos estudios es que ese acto del parto con los cambios asociados en los perfiles de las hormonas esteroides no es el factor inmunosupresor principal en las vacas periparturientas. En cambio, el aumento de las demandas metabólicas durante la lactación temprana probablemente es responsable del impacto negativo sobre las poblaciones de células inmunes.

Las investigaciones sobre cómo los componentes metabólicos individuales pueden afectar a la poblaciones de células inmunes han proporcionado información adicional sobre las conexiones entre las vías metabólicas e inflamatorias. Con base en la literatura actual, los aumentos progresivos de las concentraciones de NEFA en sangre se pueden considerar como un factor significativo que impacta sobre las respuestas inflamatorias de las vacas en transición (Sordillo y Raphael, 2013). Tanto la concentración como la composición de los NEFA en plasma cambian significativamente en las vacas durante los periodos de movilización intensa de lípidos. Estudios recientes han descubierto que los ácidos grasos saturados (palmitato y estearato) y el ácido oleico monosaturado son las grasas predominantes que se encuentran en los NEFA en plasma alrededor del momento del parto (Contreras et al., 2010, Douglas et al., 2007). Por el contrario, se da una disminución en algunos ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) omega-3 (n-3), como el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA). Estos cambios son importantes para las respuestas inflamatorias del huésped porque el contenido en ácidos grasos de las células inmunes reflejará los cambios en la composición observados en los NEFA en plasma durante el periodo de transición (Contreras et al., 2010). Los ácidos grasos esenciales, incluyendo los ácidos omega 6 (n-6), linoleico y α-linolénico n-3, se metabolizan en PUFA de cadena larga. El ácido linoleico puede convertirse, a través de reacciones enzimáticas que implican elongasas y desaturasas, en el PUFA n-6, ácido araquidónico. Estas mismas reacciones enzimáticas también pueden convertir el ácido α-linolénico en PUFA n-3, EPA y DHA. La investigación en humanos y varios modelos animales sugiere que estos PUFA n-3 y n-6 son importantes moduladores de las reacciones inmunes e inflamatorias (Serhan, 2009). Los PUFA se incorporan a los fosfolípidos de la membrana y pueden influir en las funciones celulares, controlando la fluidez de la membrana, interactuando con los factores de transcripción nuclear, afectando a los mecanismos de señalización celular y regulando la expresión de los genes (Calder y Yaqoob, 2007). La función de las células inmunes puede verse influida por la composición de sus ácidos grasos de varias maneras. Por ejemplo, la distribución relativa de los ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana puede controlar la fluidez de la membrana y la formación de balsas de lípidos (Raphael y Sordillo, 2013). Los ácidos grasos también juegan un papel en la vinculación al receptor y regulando las vías de señalización intracelular en las células inmunes humanas (de Heredia et al., 2012, Lee et al., 2003). Los efectos directos que la lipolisis intensa y los cambios en la composición de los NEFA pueden tener sobre las vías de señalización específicas en las células inmunes bovinas no se han investigado demasiado. No obstante, estas vías de señalización sí tienen un papel claro en el metabolismo lipídico bovino y están asociadas con las respuestas inmunológicas alteradas en las vacas lecheras (Moyes et al., 2009).

4. Biosíntesis de Eicosanoides

Otra forma en la que los NEFA en plasma y la composición de los fosfolípidos pueden afectar a la señalización de las células inmunes es a través de la producción de una clase de mediadores lipídicos, denominados eicosanoides, que pueden orquestar la iniciación, la magnitud y la duración de la respuesta inflamatoria. Los eicosanoides derivan principalmente de los PUFA omega-6

(ácidos linoleico y araquidónico) u omega-3 (EPA y DHA) que se encuentran en los fosfolípidos de la membrana celular (Raphael y Sordillo, 2013). Una vez liberados de los fosfolípidos de la membrana, estos ácidos grasos sirven como sustratos que se oxidan a través de vías enzimáticas (ciclooxigenasa, lipoxigenasa y citocromo P450) o no enzimáticas por especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés). En general, los eicosanoides generados a partir de los ácidos grasos omega-6 (prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos) tienden a aumentar la inflamación, mientras que los eicosanoides generados a partir de ácidos grasos omega-3 (protectinas y resolvinas) tienden a promover la resolución de la inflamación (Serhan, 2009). Por tanto, los cambios en el contenido fosfolipídico de las células inmunitarias como consecuencia de una movilización intensa de lípidos pueden afectar las respuestas inflamatorias modificando el perfil de los eicosanoides producidos durante el periodo de transición. Por ejemplo, se realizó un amplio ensayo de campo en el que se modificaron las dietas de las vacas próximas al parto para reducir la ratio de los ácidos grasos omega-6/omega-3. Los autores reportaron una inmunidad innata mejorada en las vacas suplementadas con ácidos grasos omega-3, como se indica por las mejores respuestas en la fase aguda y la mejora en la función de los neutrófilos durante el periodo de transición (Silvestre et al., 2011). Evidencias más directas mostraron que aumentar el contenido en ácidos grasos omega-3 de las células endoteliales bovinas podría mitigar las respuestas proinflamatorias para las concentraciones altas de NEFA (Contreras et al., 2012). Se sugirió que la respuesta inflamatoria reducida era el resultado de los cambios en los perfiles de los eicosanoides tras el suplemento de omega-3 en el que había una mayor expresión de eicosanoides pro-resolutivos, como resolvinas, protectinas y lipoxinas (Contreras et al., 2012).

Dependiendo del momento y la magnitud de la expresión, determinados eicosanoides pueden aumentar o resolver la respuesta inflamatoria (Figura 1). La vía COX está compuesta por 2 isoformas principales. La COX1 se expresa constitutivamente en la mayoría de los tejidos y sintetiza niveles bajos de PGs, como la prostaciclina (PGI_2), cuya función es el mantenimiento de las funciones fisiológicas normales. Por el contrario, la COX2 es altamente inducible como respuesta a estímulos proinflamatorios y se ha asociado tradicionalmente con la biosíntesis de mediadores proinflamatorios, como PGE_2, $PGF_{2\alpha}$ y TXA_2. Los fármacos antiinflamatorios no esteroideos pueden inhibir la biosíntesis de PG, centrándose en la actividad COX, y se utilizan ampliamente para tratar una variedad de enfermedades con base inflamatoria, incluida la mamitis coliforme en las vacas lecheras (Erskine et al., 2003). La supresión de estas enzimas, sin embargo, también puede causar efectos secundarios indeseados. La consecuencia más común de la inhibición prolongada de la COX1 es el desarrollo de úlceras abomasales. Aunque los inhibidores de la COX2 selectivos minimizan el riesgo de problemas gastrointestinales, como las úlceras de estómagos, estos medicamentos se han relacionado con reacciones cardiovasculares fatales en humanos, posiblemente por la disminución de la producción de PGI_2 vascular. Las suposiciones previas de que todos los metabolitos de la COX2 eran los únicos responsables de la propagación de la respuesta inflamatoria ya no son apoyadas por la literatura actual. De hecho, hay evidencia para sugerir que tanto las isoformas de la COX1 como las de la COX2 pueden contribuir a las respuestas inflamatorias inducidas por agonistas, mientras que algunos metabolitos derivados de la COX2 pueden ser críticos en la mediación de la resolución de inflamaciones agudas y crónicas (Serhan, 2009).

La LOX es una familia heterogénea de enzimas dioxigenasas sin hemo con la capacidad de oxidar los PUFA. Existen varias isoformas diferentes de LOX, incluyendo 5LOX y 15LOX, donde la nomenclatura se define por la capacidad de cada enzima de introducir oxígeno molecular en un carbono específico de la estructura del ácido graso. El metabolismo del ácido araquidónico por la vía 5LOX da lugar a derivados de hidroxilo e hidroperoxi (5HETE y 5HPETE), respectivamente que son normalmente elevados en problemas agudos y crónicos. La isoforma 15LOX1 se caracteriza como una enzima inducible expresada en endotelios, epitelios, reticulocitos, monocitos y macrófagos con la capacidad de oxigenar PUFA durante la inflamación. El producto oxigenado inicial formado durante el metabolismo del ácido araquidónico por la 15LOX1 es el 15HPETE, que es el precursor biosintético del 15HETE y otros leucotrienos. La expresión aumentada de la 15LOX1 se observa en enfermedades en las que el estrés oxidativo juega un papel importante, como la aterosclerosis, el Alzhéimer y el cáncer

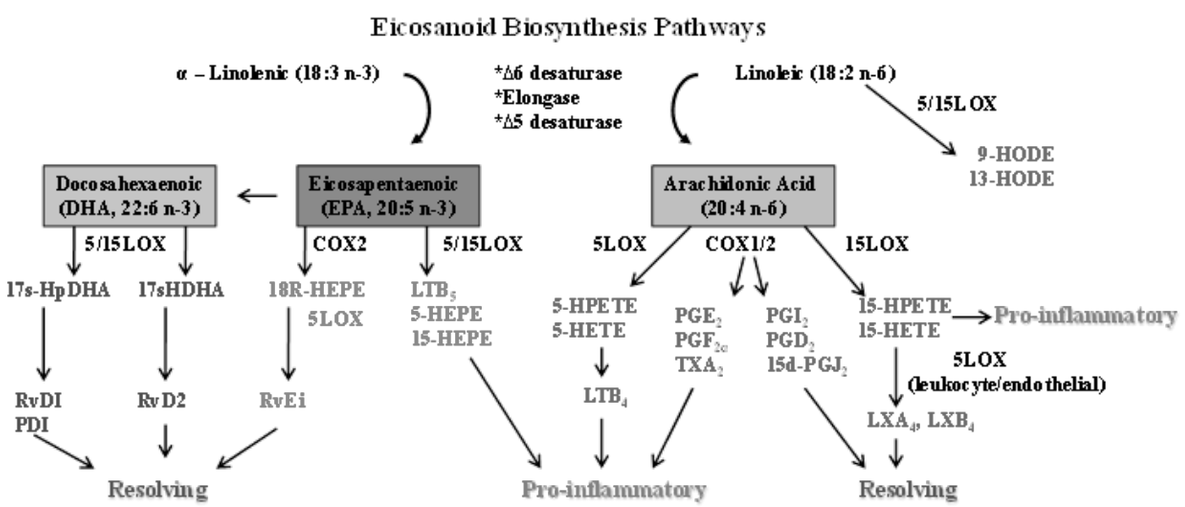


Figura 1. Vías enzimáticas que conducen a la producción de mediadores lipídicos biológicamente activos. El ácido linoleico es el compuesto base de la familia de ácidos grasos n-6 y el ácido α-linolénico es el precursor de los ácidos grasos n-3. Estos ácidos grasos compiten por un sistema de enzimas microsomales que los desatura (desaturasa) y alarga (elongasa) para formar PUFA de cadena larga, incluyendo ácido araquidónico, ácido eicosapentaenoico y ácido docosahexaenoico. Estos PUFA se incorporan en los fosfolípidos de la membrana, pero sirven como sustratos importantes para la biosíntesis de eicosanoides a través de las vías ciclooxigenasa (COX) y lipoxigenasa (LOX).

de próstata (Kuhn y O'Donnell, 2006). Estudios previos in vitro mostraron que tanto el 15HPETE como el 15HETE pueden aumentar la expresión de las moléculas de adhesión dentro de las paredes vasculares durante la progresión de las enfermedades en humanos (Natarajan y Nadler, 2004). Estos datos sugieren que la 15LOX1 puede facilitar el desarrollo de enfermedades con base inflamatoria en el ganado, por lo menos en parte, aumentando el fenotipo proinflamatorio de las células endoteliales.

La biosíntesis de eicosanoides proinflamatorios o resolutivos a través de la vía COX o LOX depende, en parte, de la composición de los PUFA n-6 frente a la de los n-3 de los fosfolípidos de la membrana. El ácido linoleico dietético normalmente es consumido en mayores cantidades por los humanos y los animales destinados al consumo que el ácido a-linolénico. Por tanto, no sorprende que el ácido araquidónico sea el ácido graso polienoico de 20 carbonos más abundante encontrado en los fosfolípidos de los tejidos de los mamíferos. Como tal, la composición relativa de los ácidos grasos dentro de los fosfolípidos de la membrana está determinada en gran medida por la ingesta en la dieta de ácido linoleico y a-linolénico. El aumento del consumo de ácidos grasos n-3 se ha reconocido desde hace tiempo como algo beneficioso para la salud humana, en parte, por controlar la inflamación y mejorar la salud cardiovascular. Una de las razones para este efecto beneficioso viene probablemente de la producción de mediadores lipídicos pro-resolutivos derivados del metabolismo de los ácidos grasos n-3 a través de las vías COX y LOX. Las resolvinas (Rv) y las protectinas (PD) son metabolitos de los ácidos grasos recientemente descubiertos de las vías COX y LOX en los que los ácidos grasos n-3 EPA y DHA, en vez del ácido araquidónico, sirven como sustrato enzimático (Serhan, 2009). Una mejor comprensión de cómo el aumento de lípidos en sangre puede afectar la inmunidad del ganado lechero durante el periodo de transición puede conducir a enfoques innovadores para controlar el aumento de la susceptibilidad a la enfermedad a través de la intervención nutricional.

5. Conclusión

La inflamación no controlada contribuye a la patología de varias enfermedades de importancia económica del ganado lechero en transición, incluyendo la mamitis y la metritis. Las concentraciones de NEFA en las vacas en transición también están estrechamente vinculadas con la susceptibilidad a la enfermedad. Una movilización intensa de lípidos en las vacas en transición puede alterar las respuestas inflamatorias vasculares y contribuir a la gravedad de la enfermedad (Sordillo et al., 2009). Por otra parte, aumentar el contenido en ácidos grasos n-3 de los fosfolípidos vasculares podría mitigar las respuestas proinflamatorias de las células endoteliales a las altas concentraciones de NEFA que modelan aquellas encontradas durante el periodo de periparto. Una forma en la que las respuestas inflamatorias disfuncionales pueden estar vinculadas al estrés metabólico son los cambios observados en los perfiles de eicosanoides específicos que son responsables de controlar la magnitud de las respuestas inflamatorias. Cambiar la composición de los ácidos grasos podría ser una manera efectiva de alterar la respuesta de la vaca frente a las enfermedades infecciosas y metabólicas durante el periodo de transición. Las estrategias nutricionales que pueden aumentar eficazmente la biosíntesis de ácidos grasos n-3 derivados de eicosanoides antiinflamatorios podrían limitar las respuestas inflamatorias no controladas y mejorar el resultado de la enfermedad en las vacas lecheras en lactación temprana. El desarrollo de estrategias alimentarias innovadoras que puedan mejorar la inmunidad del huésped es un enfoque atractivo a la hora de considerar el manejo de la vaca en transición.

6. Referencias

1. Bell, A. W. and D. E. Bauman. 1997. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. J Mammary Gland Biol Neoplasia 2(3):265-278.
2. Bertoni, G., E. Trevisi, X. Han, and M. Bionaz. 2008. Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. J Dairy Sci 91(9):3300-3310.
3. Bradford, B. J., L. K. Mamedova, J. E. Minton, J. S. Drouillard, and B. J. Johnson. 2009. Daily injection of tumor necrosis factor-{alpha} increases hepatic triglycerides and alters transcript abundance of metabolic genes in lactating dairy cattle. J Nutr 139(8):1451-1456.
4. Calder, P. C. and P. Yaqoob. 2007. Lipid rafts--composition, characterization, and controversies. J Nutr 137(3):545-547.
5. Contreras, G. A., S. A. Mattmiller, W. Raphael, J. C. Gandy, and L. M. Sordillo. 2012. Enhanced n-3 phospholipid content reduces inflammatory responses in bovine endothelial cells. J Dairy Sci.
6. Contreras, G. A., N. J. O'Boyle, T. H. Herdt, and L. M. Sordillo. 2010. Lipomobilization in periparturient dairy cows influences the composition of plasma nonesterified fatty acids and leukocyte phospholipid fatty acids. J Dairy Sci 93(6):2508-2516.
7. Contreras, G. A. and L. M. Sordillo. 2011. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 34(3):281-289.
8. de Heredia, F. P., S. Gomez-Martinez, and A. Marcos. 2012. Obesity, inflammation and the immune system. Proc Nutr Soc 71(2):332-338.
9. Dechow, C. D., G. W. Rogers, U. Sander-Nielsen, L. Klei, T. J. Lawlor, J. S. Clay, A. E. Freeman, G. Abdel-Azim, A. Kuck, and S. Schnell. 2004. Correlations among body condition scores from various sources, dairy form, and cow health from the United States and Denmark. J Dairy Sci 87(10):3526-3533.
10. Douglas, G. N., J. Rehage, A. D. Beaulieu, A. O. Bahaa, and J. K. Drackley. 2007. Prepartum Nutrition Alters Fatty Acid Composition in Plasma, Adipose Tissue, and Liver Lipids of Periparturient Dairy Cows. J. Dairy Sci. 90(6):2941-2959.
11. Erskine, R. J., S. Wagner, and F. J. DeGraves. 2003. Mastitis therapy and pharmacology. Vet Clin North Am Food Anim Pract 19(1):109-138, vi.
12. Farney, J. K., L. K. Mamedova, J. F. Coetzee, B. Kukanich, L. M. Sordillo, S. K. Stoakes, J. E. Minton, L. C. Hollis, and B. J. Bradford. 2013. Anti-inflammatory salicylate treatment alters the metabolic adaptations to lactation in dairy cattle. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.
13. Grummer, R. R., D. G. Mashek, and A. Hayirli. 2004. Dry matter intake and energy balance in the transition period. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 20(3):447-470.
14. Herdt, T. H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. Vet Clin North Am Food Anim Pract 16(2):215-230, v.
15. Holtenius, K., S. Agenas, C. Delavaud, and Y. Chilliard. 2003. Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. J Dairy Sci 86(3):883-891.
16. Kimura, K., J. P. Goff, and M. E. Kehrli, Jr. 1999. Effects of the presence of the mammary gland on expression of neutrophil adhesion molecules and myeloperoxidase activity in periparturient dairy cows. J Dairy Sci 82(11):2385-2392.

17. Kimura, K., J. P. Goff, M. E. Kehrli, Jr., J. A. Harp, and B. J. Nonnecke. 2002. Effects of mastectomy on composition of peripheral blood mononuclear cell populations in periparturient dairy cows. J Dairy Sci 85(6):1437-1444.
18. Kuhn, H. and V. B. O'Donnell. 2006. Inflammation and immune regulation by 12/15-lipoxygenases. Prog Lipid Res 45(4):334-356.
19. Lee, J. Y., A. Plakidas, W. H. Lee, A. Heikkinen, P. Chanmugam, G. Bray, and D. H.
20. Hwang. 2003. Differential modulation of Toll-like receptors by fatty acids: preferential inhibition by n-3 polyunsaturated fatty acids. J. Lipid Res. 44(3):479-486.
21. Lee, J. Y., K. H. Sohn, S. H. Rhee, and D. Hwang. 2001. Saturated Fatty Acids, but Not Unsaturated Fatty Acids, Induce the Expression of Cyclooxygenase-2 Mediated through Toll-like Receptor 4. J. Biol. Chem. 276(20):16683-16689.
22. Moyes, K. M., J. K. Drackley, D. E. Morin, M. Bionaz, S. L. Rodriguez-Zas, R. E. Everts, H. A. Lewin, and J. J. Loor. 2009. Gene network and pathway analysis of bovine mammary tissue challenged with Streptococcus uberis reveals induction of cell proliferation and inhibition of PPARgamma signaling as potential mechanism for the negative relationships between immune response and lipid metabolism. BMC Genomics 10:542.
23. Natarajan, R. and J. L. Nadler. 2004. Lipid inflammatory mediators in diabetic vascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 24(9):1542-1548.
24. Nonnecke, B. J., K. Kimura, J. P. Goff, and M. E. Kehrli, Jr. 2003. Effects of the mammary gland on functional capacities of blood mononuclear leukocyte populations from periparturient cows. J Dairy Sci 86(7):2359-2368.
25. Oetzel, G. R. 2004. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 20(3):651-674.
26. Ohtsuka, H., M. Koiwa, A. Hatsugaya, K. Kudo, F. Hoshi, N. Itoh, H. Yokota, H. Okada, and S. Kawamura. 2001. Relationship between serum TNF activity and insulin resistance in dairy cows affected with naturally occurring fatty liver. J Vet Med Sci 63(9):1021-1025.
27. Ospina, P. A., D. V. Nydam, T. Stokol, and T. R. Overton. 2010. Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. J Dairy Sci 93(4):1596-1603.
28. Pires, J. A., A. H. Souza, and R. R. Grummer. 2007. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. J Dairy Sci 90(6):2735-2744.
29. Raphael, W. and L. M. Sordillo. 2013. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammation: the role of phospholipid biosynthesis. Int J Mol Sci 14(10):21167-21188.
30. Serhan, C. N. 2009. Systems approach to inflammation resolution: identification of novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. J Thromb Haemost 7 Suppl 1:44-48.
31. Silvestre, F. T., T. S. Carvalho, P. C. Crawford, J. E. Santos, C. R. Staples, T. Jenkins, and W. W. Thatcher. 2011. Effects of differential supplementation of fatty acids during the peripartum and breeding periods of Holstein cows: II. Neutrophil fatty acids and function, and acute phase proteins. J Dairy Sci 94(5):2285-2301.
32. Sordillo, L. M. and S. L. Aitken. 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. Vet Immunol Immunopathol 128(1-3):104-109.
33. Sordillo, L. M. and W. Raphael. 2013. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. Vet Clin North Am Food Anim Pract 29(2):267-278.
34. Yuan, K., J. K. Farney, L. K. Mamedova, L. M. Sordillo, and B. J. Bradford. 2013. TNFalpha altered inflammatory responses, impaired health and productivity, but did not affect glucose or lipid metabolism in early-lactation dairy cows. PLoS One 8(11):e80316.

ENGLISH VERSION ▼

Impact of Metabolic Stress on Transition Cow Inflammation and Health: Role of Eicosanoid Biosynthesis

Lorraine M. Sordillo
College of Veterinary Medicine
Michigan State University

1. Introduction

Increased incidence of several economically important diseases (i.e. mastitis, metritis, displaced abomasum and ketosis) cause significant pre-harvest production losses in transition dairy cattle and decreases the availability of safe and nutritious food for a growing global population. A major underlying factor responsible for the development of transition cow disorders is metabolic stress, which occurs when cows fail to adapt physiologically to an increase in energy requirements needed for parturition and the onset of copious milk synthesis and secretion. Metabolic stress can be characterized as resulting from the combined effects of altered nutrient metabolism, dysfunctional inflammatory responses, and oxidative stress. Together, these factors form destructive feedback loops that exacerbate metabolic stress and cause health disorders in transition cows. A better understanding of how nutrition and immunology interact to influence metabolic stress will facilitate the development of control programs to improve transition cow health. The ability to detect signs of metabolic stress early enough in the dry period to implement needed management adjustments prior to calving will be the key to successive monitoring and intervention programs.

2. Metabolic Stress in Transition Cows

The dramatic increase in energy requirements needed for the onset of lactation in transition cows is often accompanied by a decrease in voluntary dry matter intake that causes a negative energy balance (NEB). Energy requirements that are not met by the diet must be obtained from adipose tissue energy reserves. Lipid mobilization is mediated, in part, by changes in the production and response to steroid hormones, growth hormone, glucocorticoids, and insulin (Bell and Bauman, 1997). During times of physiological homeostasis, a system of metabolic checks and balances can effectively regulate adipose mobilization when energy requirements increase. For example, when the demand for energy increases, blood glucose concentrations decrease that subsequently causes reductions in insulin concentrations. As insulin concentrations decline, lipolysis increases resulting in the release of NEFA into the blood stream for use as an energy source and for milk fat synthesis. Increasing plasma NEFA then should stimulate insulin secretion that down regulates the rate of lipolysis by suppressing the activation of adipose tissue lipases. When regulated properly, the increased plasma NEFA can be effectively utilized as a needed energy source without disrupting insulin sensitivity necessary to maintain glucose concentrations (Herdt, 2000). Cows successfully adapt to NEB when the release of NEFA is limited to concentrations that can be fully metabolized for energy needs associated with gluconeogenesis. Ample evidence exists that the efficiency of this feedback loop is diminished as adipose mass increases. Obesity is a major contributing factor why cows fail to adapt successfully to NEB during the transition period (Ospina et al., 2010). Indeed, excessive body fat in over conditioned cows is a well-established risk factor for peripartum diseases in dairy cows including ketosis and fatty liver (Dechow et al., 2004). Similar to the condition in humans, a large adipose mass in cows results in excessive lipid mobilization during times of hypermetabolism that result in increased NEFA concentrations in blood that cannot be effectively processed by hepatocytes (Grummer et al., 2004).

The liver can process NEFA in several ways including oxidation for fuel, converted back into triglycerides and stored as fat droplets in hepatocytes, or converted to ketone compounds. A detrimental cycle of dyslipidemia results with the accumulation of fat in the liver that compromised hepatocyte function, reduces gluconeogenesis, and increases the need for more lipolysis. Similar to humans, a state of insulin resistance also may develop as a consequence of excessive lipid mobilization that can result in decreased insulin sensitivity or responsiveness. Previous studies showed that over conditioned cows with prolonged plasma NEFA concentrations during early lactation had impaired clearance of glucose even though they presented a greater insulin response to glucose infusion (Holtenius et al., 2003). In addition, induction of elevated blood NEFA by infusion of a tallow emulsion effectively altered glucose tolerance and responsiveness to insulin in cows (Pires et al., 2007). Thus, excessively high concentrations of plasma NEFA can have a detrimental impact on liver function including triglyceride accumulation that causes fatty liver and the overproduction of ketones, such as b-hydroxybutyrate (BHBA) which causes ketosis (Herdt, 2000). The development of insulin resistance by adipocytes during hyperlipidemia is likely a major factor in the maladaptation to energy metabolism during the transition period. Therefore, NEB during the periparturient period causes mobilization of fat from tissue stores and the release of NEFA into the blood stream. Numerous studies clearly document an association between elevated sera NEFA concentrations, compromised immunity, and increased disease susceptibility in dairy cattle during the periparturient period (Contreras and Sordillo, 2011, Sordillo and Aitken, 2009). However, the mechanisms by which fatty acids may influence bovine host defenses and disease susceptibility in metabolically challenged cows are not known.

3. Metabolic Stress and Inflammation

The ways in which early lactation dyslipidemia adversely affect pathways of intermediate nutrient metabolism and the pathogenesis of metabolic diseases was a major focus of transition cow research for many years (Oetzel, 2004). More recently, however, there is now a greater appreciation that metabolic and inflammatory pathways may intersect to form destructive feedback loops that contribute to both metabolic and infectious disease pathogenesis in transition cows (Sordillo and Raphael, 2013). Transition cows may display an overt systemic inflammatory response around the time of calving even without signs of microbial infections or other pathologies (Bertoni et al., 2008). As with obese humans, low-grade chronic inflammation can aggravate metabolic stress by increasing lipolysis and compromising liver functions. For example, elevated serum concentrations of the potent pro-inflammatory cytokine TNF-α was observed in cows with moderate to severe fatty livers (Ohtsuka et al., 2001). Directly infusing late lactation cows with TNF-α also was shown to induce insulin resistance and increase triglyceride concentrations in the liver (Bradford et al., 2009). When TNF-α was infused into cows during the first week of lactation, markers of inflammation increased with a concomitant impairment of health and milk production (Yuan et al., 2013). Moreover, treating cows with anti-inflammatory sodium salicylate during early lactation caused hypoglycemia suggesting that inflammatory-associated pathways are involved in

homeorhetic adaptations to lactation (Farney et al., 2013). As a consequence of these inter-relationships, dysfunctional or unregulated inflammatory responses are thought to be the common link between the increased incidence of both metabolic and infectious diseases during the transition period (Sordillo and Raphael, 2013). A better understanding of how metabolic and inflammatory responses impact metabolic stress will likely lead to better control strategies for transition cow disorders.

The role of NEB and changes and nutrient metabolism during the transition period has been implicated in the derangement of appropriate inflammatory responses (Sordillo and Raphael, 2013). In a series of elegant studies, for example, pregnant dairy cows were mastectomized to assess the impact of milk production and NEB on various immune parameters while still maintaining the endocrine changes associated with late pregnancy and parturition (Kimura et al., 1999, Kimura et al., 2002, Nonnecke et al., 2003). The mastectomy cows experienced only moderate increases in NEFA when compared to the cows with mammary glands during the periparturient period. Moreover, lymphocyte and neutrophil functions were diminished longer in cows with mammary glands when compared to the mastectomized cows (Kimura et al., 1999, Nonnecke et al., 2003). These authors also reported a negative impact of the composition of peripheral blood leukocyte populations as a consequence of lactation (Kimura et al., 2002). The major conclusion from these studies was that that act of parturition with the associated changes in steroid hormone profiles is not the major immunosuppressive factor in periparturient cows. Instead, the increased the metabolic demands of early lactation was likely responsible for the adverse impact on immune cell populations.

Investigations into how individual metabolic components may affect immune cell populations have provided some additional insight into the linkages between metabolic and inflammatory pathways. Based on the current literature, progressive increases in blood NEFA concentrations can be considered a significant factor impacting inflammatory responses of transition cows (Sordillo and Raphael, 2013). Both the concentration and composition of plasma NEFA changes significantly in cows during periods of intense lipid mobilization. Recent studies found that saturated fatty acids (palmitate and stearate) and monosaturated oleic acid are the predominant fat found in the plasma NEFA around the time of parturition (Contreras et al., 2010, Douglas et al., 2007). Conversely, there is a decrease in some omega-3 (n-3) polyunsaturated fatty acids (PUFA) such as eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA). These changes are important to host inflammatory responses because the fatty acid content of immune cells will reflect the compositional changes seen in the plasma NEFA during the transition period (Contreras et al., 2010). Essential fatty acids, including the omega 6 (n-6) linoleic and n-3 α-linolenic acid, are metabolized into long chain PUFA. Linoleic acid can be converted through enzymatic reactions involving elongase and desaturase into the n-6 PUFA, arachidonic acid. These same enzymatic reactions also can convert α-linolenic acid into n-3 PUFA, EPA and DHA. Research in humans and various animal models suggest that these n-3 and n-6 PUFA are important modulators of immune and inflammatory reactions (Serhan, 2009). PUFA are incorporated into membrane phospholipids and can influence cellular functions by controlling membrane fluidity, interacting with nuclear transcription factors, affecting cellular signalling mechanisms, and regulating gene expression (Calder and Yaqoob, 2007). The function of immune cells can be influenced by their fatty acid composition in several ways. For example, the relative distribution of fatty acids within the membrane phospholipids can control membrane fluidity and lipid raft formation (Raphael and Sordillo, 2013). Fatty acids also play a role in receptor binding and regulating intracellular signaling pathways in human immune cells (de Heredia et al., 2012, Lee et al., 2003). The direct effects that intense lipolysis and changes in NEFA composition may have on specific signaling pathways in bovine immune cells have not been invested extensively. However, these signaling pathways do have a clear role in bovine lipid metabolism and are associated with altered immune responses in dairy cows (Moyes et al., 2009).

4. Eicosanoid Biosynthesis

Another way that plasma NEFA and phospholipid composition can affect immune cell signaling is through the production of a class of lipid mediators called eicosanoids that can orchestrate the initiation, magnitude and duration of the inflammatory response. Eicosanoids are primarily derived from omega-6 (linoleic and arachidonic acids) or omega-3 (EPA and DHA) PUFA found in cell membrane phospholipids (Raphael and Sordillo, 2013). Once released from the membrane phospholipid, these fatty acids serve as substrates that are oxidized through either enzymatic (cyclooxygenase, lipoxygenase, and cytochrome P450) or non-enzymatic pathways by reactive oxygen species (ROS). In general, eicosanoids generated from omega-6 fatty acids (prostaglandins, leukotrienes, and thromboxanes) tend to enhance inflammation whereas eicosanoids generated from omega-3 fatty acids (protectins and resolvins) tend to promote the resolution of inflammation (Serhan, 2009). Thus, shifts in the phospholipid content of immune cells as a consequence of intense lipid mobilization can impact inflammatory responses by modifying the profile of eicosanoids produced during the transition period. For example, a large field trial was conducted in which the diets of prepartum cows were modified to reduce the omega-6 to omega-3 fatty acid ratio. The authors reported improved innate immunity in cows supplemented with omega-3 fatty acids as indicated by better acute phase responses and enhanced neutrophil function during the transition period (Silvestre et al., 2011). More direct evidence showed that increasing the omega-3 fatty acid content of bovine endothelial cells could mitigate the pro-inflammatory responses to high NEFA concentrations (Contreras et al., 2012). The reduced inflammatory response was suggested to be a result of shifts in eicosanoid profiles following omega-3 supplementation in which there was an increased expression of pro-resolving eicosanoids such as resolvins, protectins, and lipoxins (Contreras et al., 2012).

Depending on the timing and magnitude of expression, certain eicosanoids can either enhance or resolve the inflammatory response (Figure 1). The COX pathway is composed of 2 major isoforms. COX1 is constitutively expressed in most tissues and synthesizes low levels of PGs, such as prostacyclin (PGI_2), that are thought to function in the maintenance of normal physiological functions. Conversely, COX2 is highly inducible in response to pro-inflammatory stimuli and it traditionally has been associated with the biosynthesis of pro-inflammatory mediators such as PGE_2, PGF_{2a} and TXA_2. Non-steroidal anti-inflammatory drugs can inhibit PG biosynthesis by targeting COX activity and are used widely to treat a variety of inflammatory-based diseases including coliform mastitis in dairy cows (Erskine et al., 2003). Suppression of these enzymes, however, also can cause undesirable side effects. The most common consequence of prolonged COX1 inhibition is the development of abomasal ulcers. Although selective COX2 inhibitors minimize the risk of gastrointestinal events such as stomach ulcers, these drugs have been related to fatal cardiovascular reactions in humans, possibly by decreasing vascular PGI_2 production. Previous assumption that all COX2 metabolites are solely responsible for propagating the inflammatory response is not supported by current literature. Indeed, there is evidence to suggest that both COX1 and COX2 isoforms can contribute to agonist-induced inflammatory responses whereas some COX2-derived metabolites may be critical in mediating the resolution of

acute and chronic inflammation (Serhan, 2009).

LOX is a heterogeneous family of non-heme enzyme dioxygenases with the ability to oxidize PUFA. There are several different LOX isoforms including 5LOX and 15LOX where the nomenclature is defined by the capability of each enzyme to introduce molecular oxygen on a specific carbon of the fatty acid structure. Metabolism of arachidonic acid by the 5LOX pathway gives rise to hydroxyl and hydroperoxy derivatives (5HETE and 5HPETE), respectively that are often elevated in acute and chronic conditions. The 15LOX1 isoform is characterized as an inducible enzyme expressed in endothelial, epithelial, reticulocytes, monocytes, and macrophages with the ability to oxygenate PUFA during inflammation. The initial oxygenated product formed during arachidonic acid metabolism by 15LOX is 15HPETE, which is the biosynthetic precursor of 15HETE and other leukotrienes. Increased expression of 15LOX1 is observed in diseases where oxidative stress plays important roles such as atherosclerosis, Alzheimer's disease, and prostate cancer (Kuhn and O'Donnell, 2006). Previous in vitro studies showed that both 15HPETE and 15HETE can enhance adhesion molecule expression within vessel walls during disease progression in humans (Natarajan and Nadler, 2004). These data suggest that 15LOX1 may facilitate the development of inflammatory-based diseases in cattle, at least in part, by enhancing the pro-inflammatory phenotype of endothelial cells.

The biosynthesis of either pro-inflammatory or resolving eicosanoids through either the COX or LOX pathways depends, in part, on the n-6 vs n-3 PUFA composition of membrane phospholipids. Dietary linoleic acid generally is consumed in greater quantities by humans and food animal species than α-linolenic acid. Therefore, it is not surprising that arachidonic acid is the most abundant 20 carbon polyenoic fatty acid found in the phospholipids of mammalian tissues. As such, the relative fatty acid composition within the membrane phospholipids is largely determined by dietary intake of linoleic and α-linolenic acid. Increased consumption of n-3 fatty acids has long been recognized to benefit human health, in part, by controlling inflammation and improving cardiovascular health. One reason for this beneficial effect is likely from the production of pro-resolving lipid mediators derived from the metabolism of n-3 fatty acids through the COX and LOX pathways. Resolvins (Rv) and protectins (PD) are newly discovered fatty acid metabolites of the COX and LOX pathways in which the n-3 fatty acids EPA and DHA, rather than arachidonic acid, serve as the enzyme substrate (Serhan, 2009). A better understanding of how elevated blood lipids may affect dairy cattle immunity during the transition period may lead to innovative approaches to control increased disease susceptibility through nutritional intervention.

5. Conclusion

Uncontrolled inflammation contributes to the pathology of several economically important diseases of transition dairy cattle including mastitis and metritis. NEFA concentrations in transition cows also are closely linked with disease susceptibility. Intense lipid mobilization in transition cows may alter vascular inflammatory responses and contribute to disease severity (Sordillo et al., 2009). Morevoer, increasing the n-3 fatty acid content of vascular phospholipids could mitigate endothelial cell proinflammatory responses to high NEFA concentrations that models those found during the periparturient period. One way that dysfunctional inflammatory responses may be linked with metabolic stress is the observed shifts in specific eicosanoid profiles that are responsible for controlling the magnitude of inflammatory responses. Changing the composition of fatty acids may be an effective way of altering the cow's response to infectious and metabolic diseases during the transition period. Nutritional strategies that can effectively enhance the biosynthesis of n-3 FA derived antiinflammatory eicosanoids may limit uncontrolled inflammatory responses and improve the outcome of disease in early lactation dairy cows. The development of innovative feeding strategies that could enhance host immunity is an attractive approach when considering transition cow management.

6. References

1. Bell, A. W. and D. E. Bauman. 1997. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. J Mammary Gland Biol Neoplasia 2(3):265-278.

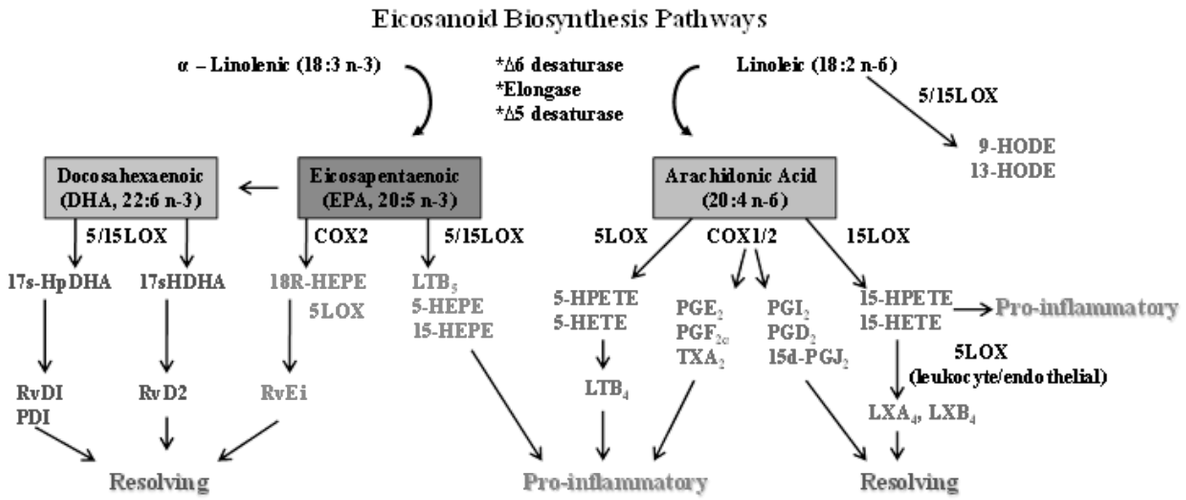


Figure 1. Enzymatic pathways leading to the production of biologically active lipid mediators. Linoleic acid is the parent compound of the n-6 family of fatty acids and a-linolenic acid is the n-3 fatty acid precursor. These fatty acids compete for a microsomal enzyme system that desaturates (desaturase) and lengthens (elongase) them to form long-chain PUFA including arachidonic acid, eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid. These PUFA are incorporated into membrane phospholipids, but serve as important substrates for the biosynthesis of eicosanoids through the cyclooxygenase (COX) and lipoxygenase (LOX) pathways.

2. Bertoni, G., E. Trevisi, X. Han, and M. Bionaz. 2008. Effects of inflammatory conditions on liver activity in puerperium period and consequences for performance in dairy cows. J Dairy Sci 91(9):3300-3310.
3. Bradford, B. J., L. K. Mamedova, J. E. Minton, J. S. Drouillard, and B. J. Johnson. 2009. Daily injection of tumor necrosis factor-{alpha} increases hepatic triglycerides and alters transcript abundance of metabolic genes in lactating dairy cattle. J Nutr 139(8):1451-1456.
4. Calder, P. C. and P. Yaqoob. 2007. Lipid rafts--composition, characterization, and controversies. J Nutr 137(3):545-547.
5. Contreras, G. A., S. A. Mattmiller, W. Raphael, J. C. Gandy, and L. M. Sordillo. 2012. Enhanced n-3 phospholipid content reduces inflammatory responses in bovine endothelial cells. J Dairy Sci.
6. Contreras, G. A., N. J. O'Boyle, T. H. Herdt, and L. M. Sordillo. 2010. Lipomobilization in periparturient dairy cows influences the composition of plasma nonesterified fatty acids and leukocyte phospholipid fatty acids. J Dairy Sci 93(6):2508-2516.
7. Contreras, G. A. and L. M. Sordillo. 2011. Lipid mobilization and inflammatory responses during the transition period of dairy cows. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 34(3):281-289.
8. de Heredia, F. P., S. Gomez-Martinez, and A. Marcos. 2012. Obesity, inflammation and the immune system. Proc Nutr Soc 71(2):332-338.
9. Dechow, C. D., G. W. Rogers, U. Sander-Nielsen, L. Klei, T. J. Lawlor, J. S. Clay, A. E. Freeman, G. Abdel-Azim, A. Kuck, and S. Schnell. 2004. Correlations among body condition scores from various sources, dairy form, and cow health from the United States and Denmark. J Dairy Sci 87(10):3526-3533.
10. Douglas, G. N., J. Rehage, A. D. Beaulieu, A. O. Bahaa, and J. K. Drackley. 2007. Prepartum Nutrition Alters Fatty Acid Composition in Plasma, Adipose Tissue, and Liver Lipids of Periparturient Dairy Cows. J. Dairy Sci. 90(6):2941-2959.
11. Erskine, R. J., S. Wagner, and F. J. DeGraves. 2003. Mastitis therapy and pharmacology. Vet Clin North Am Food Anim Pract 19(1):109-138, vi.
12. Farney, J. K., L. K. Mamedova, J. F. Coetzee, B. Kukanich, L. M. Sordillo, S. K. Stoakes, J. E. Minton, L. C. Hollis, and B. J. Bradford. 2013. Anti-inflammatory salicylate treatment alters the metabolic adaptations to lactation in dairy cattle. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.
13. Grummer, R. R., D. G. Mashek, and A. Hayirli. 2004. Dry matter intake and energy balance in the transition period. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 20(3):447-470.
14. Herdt, T. H. 2000. Ruminant adaptation to negative energy balance. Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. Vet Clin North Am Food Anim Pract 16(2):215-230, v.
15. Holtenius, K., S. Agenas, C. Delavaud, and Y. Chilliard. 2003. Effects of feeding intensity during the dry period. 2. Metabolic and hormonal responses. J Dairy Sci 86(3):883-891.
16. Kimura, K., J. P. Goff, and M. E. Kehrli, Jr. 1999. Effects of the presence of the mammary gland on expression of neutrophil adhesion molecules and myeloperoxidase activity in periparturient dairy cows. J Dairy Sci 82(11):2385-2392.
17. Kimura, K., J. P. Goff, M. E. Kehrli, Jr., J. A. Harp, and B. J. Nonnecke. 2002. Effects of mastectomy on composition of peripheral blood mononuclear cell populations in periparturient dairy cows. J Dairy Sci 85(6):1437-1444.
18. Kuhn, H. and V. B. O'Donnell. 2006. Inflammation and immune regulation by 12/15-lipoxygenases. Prog Lipid Res 45(4):334-356.
19. Lee, J. Y., A. Plakidas, W. H. Lee, A. Heikkinen, P. Chanmugam, G. Bray, and D. H.
20. Hwang. 2003. Differential modulation of Toll-like receptors by fatty acids: preferential inhibition by n-3 polyunsaturated fatty acids. J. Lipid Res. 44(3):479-486.
21. Lee, J. Y., K. H. Sohn, S. H. Rhee, and D. Hwang. 2001. Saturated Fatty Acids, but Not Unsaturated Fatty Acids, Induce the Expression of Cyclooxygenase-2 Mediated through Toll-like Receptor 4. J. Biol. Chem. 276(20):16683-16689.
22. Moyes, K. M., J. K. Drackley, D. E. Morin, M. Bionaz, S. L. Rodriguez-Zas, R. E. Everts, H. A. Lewin, and J. J. Loor. 2009. Gene network and pathway analysis of bovine mammary tissue challenged with Streptococcus uberis reveals induction of cell proliferation and inhibition of PPARgamma signaling as potential mechanism for the negative relationships between immune response and lipid metabolism. BMC Genomics 10:542.
23. Natarajan, R. and J. L. Nadler. 2004. Lipid inflammatory mediators in diabetic vascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol 24(9):1542-1548.
24. Nonnecke, B. J., K. Kimura, J. P. Goff, and M. E. Kehrli, Jr. 2003. Effects of the mammary gland on functional capacities of blood mononuclear leukocyte populations from periparturient cows. J Dairy Sci 86(7):2359-2368.
25. Oetzel, G. R. 2004. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 20(3):651-674.
26. Ohtsuka, H., M. Koiwa, A. Hatsugaya, K. Kudo, F. Hoshi, N. Itoh, H. Yokota, H. Okada, and S. Kawamura. 2001. Relationship between serum TNF activity and insulin resistance in dairy cows affected with naturally occurring fatty liver. J Vet Med Sci 63(9):1021-1025.
27. Ospina, P. A., D. V. Nydam, T. Stokol, and T. R. Overton. 2010. Associations of elevated nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations with early lactation reproductive performance and milk production in transition dairy cattle in the northeastern United States. J Dairy Sci 93(4):1596-1603.
28. Pires, J. A., A. H. Souza, and R. R. Grummer. 2007. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. J Dairy Sci 90(6):2735-2744.
29. Raphael, W. and L. M. Sordillo. 2013. Dietary polyunsaturated fatty acids and inflammation: the role of phospholipid biosynthesis. Int J Mol Sci 14(10):21167-21188.
30. Serhan, C. N. 2009. Systems approach to inflammation resolution: identification of novel anti-inflammatory and pro-resolving mediators. J Thromb Haemost 7 Suppl 1:44-48.
31. Silvestre, F. T., T. S. Carvalho, P. C. Crawford, J. E. Santos, C. R. Staples, T. Jenkins, and W. W. Thatcher. 2011. Effects of differential supplementation of fatty acids during the peripartum and breeding periods of Holstein cows: II. Neutrophil fatty acids and function, and acute phase proteins. J Dairy Sci 94(5):2285-2301.
32. Sordillo, L. M. and S. L. Aitken. 2009. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. Vet Immunol Immunopathol 128(1-3):104-109.
33. Sordillo, L. M. and W. Raphael. 2013. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. Vet Clin North Am Food Anim Pract 29(2):267-278.
34. Yuan, K., J. K. Farney, L. K. Mamedova, L. M. Sordillo, and B. J. Bradford. 2013. TNFalpha altered inflammatory responses, impaired health and productivity, but did not affect glucose or lipid metabolism in early-lactation dairy cows. PLoS One 8(11):e80316.

ESTRATEGIAS DE DIAGNÓSTICO Y CONTROL DE LA TUBERCULOSIS BOVINA EN ESPAÑA: UNA PERSPECTIVA DESDE LA ASÍNTOTA.

Mariano Domingo
Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Sanitat i Anatomia Animals, y CReSA (Centre de Recerca en Sanitat Animal), Campus UAB.
email: mariano.domingo@cresa.uab.cat

INTRODUCCIÓN

La tuberculosis bovina (bTB) es una enfermedad infecciosa crónica del ganado bovino causada por micobacterias englobadas dentro del complejo *Mycobacterium tuberculosis* (cMTB, sinónimo de micobacterias que son capaces de causar enfermedad tuberculosa en la especie humana). La bTB es una infección de carácter zoonótico, y sometida a medidas obligatorias de control en la UE. Las bacterias que normalmente causan bTB son *Mycobacterium (M) bovis*, *M. caprae*, y en menor medida (menos frecuente, menos virulenta), la bacteria que causa habitualmente TB en humanos, *M. tuberculosis*.

Además de infectar a los bovinos, *M. bovis* y *M. caprae*[1] también ocasionan TB en un gran número de especies, como la especie humana, la cabra y la oveja, cérvidos, cerdo, perros, gatos, y una larga lista de especies salvajes, y este hecho es muy relevante desde el punto de vista epidemiológico y no ha de ser ignorado en el contexto de la erradicación global de la infección.

PREVALENCIA ACTUAL DE bTB

La campaña oficial obligatoria de control de la TB en España ha comportado una reducción progresiva de la infección, hasta llegar a una prevalencia de rebaños infectados del 1,31% en 2012. El descenso de la prevalencia fue muy manifiesto entre los años 1986-2000, pero a partir de ese año, los descensos han requerido un esfuerzo mayor, los progresos han sido menos evidentes, y a veces hay retrocesos (ver Figura 1).

La prevalencia de bTB de 1,31% alcanzada el año 2012 no se distribuye uniformemente en las diferentes Comunidades Autónomas. Si se atiende a las cifras publicadas en el último informe disponible[2], se puede comprobar que existen importantes diferencias en la situación epidemiológica en las diferentes comarcas de las CCAA (Figura 2). Así, y de forma general, en el norte y este peninsular las prevalencias son bajas o muy bajas, mientras que en la zona centro y en el sudoeste peninsular existen prevalencias más altas. Probablemente, estas diferencias de prevalencia responden a la presencia de diferentes factores de riesgo, relacionados con los sistemas productivos, y con la mayor o menor importancia de los reservorios salvajes de TB. El objetivo a medio-largo plazo de la campaña de control es la obtención del estatus de oficialmente libre de bTB (OTF), de acuerdo a la Directiva del Consejo 98/46/EC. Para ello, durante 6 años consecutivos se han de mantener niveles de prevalencia (rebaños) inferiores a 0,1%, y un 99,9% de rebaños libres del total de rebaños del país, al final de un ejercicio anual.

FACTORES RELEVANTES EN LA ERRADICACIÓN DE bTB

La erradicación de la Tuberculosis es un proceso en el que intervienen numerosos factores y condicionantes, muchas veces interdependientes entre si (Figura 3). El éxito de la campaña de erradicación depende de poder entender y controlar los factores que determinan la fuerza de infección y transmisión de *M.bovis* (o *M.caprae*) a los animales susceptibles no infectados en un rebaño, factores que son numerosos, e interrelacionados, y a menudo, cambiantes.

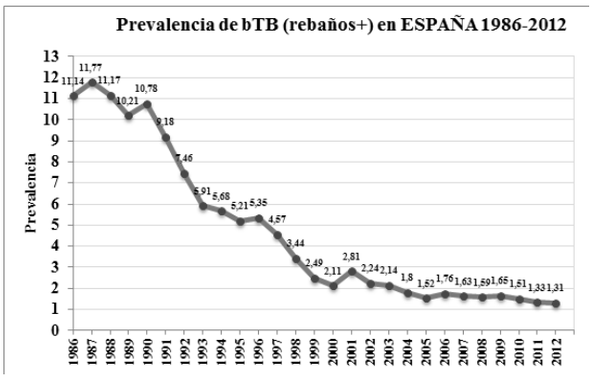


Figura 1. Prevalencia anual de Tuberculosis Bovina (% de rebaños infectados) en España para el periodo 1986-2012. Fuente: MAGRAMA, Programa Nacional Tuberculosis Bovina 2014.

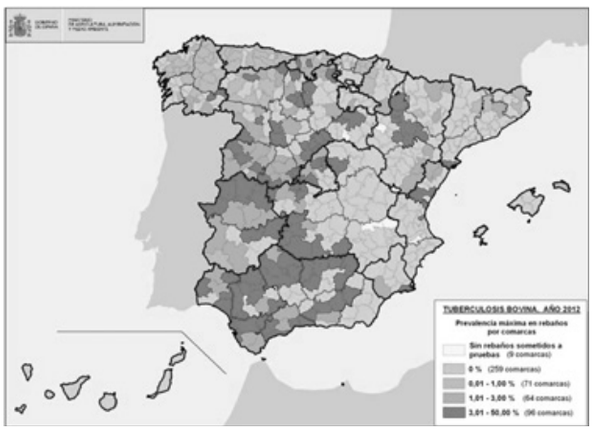


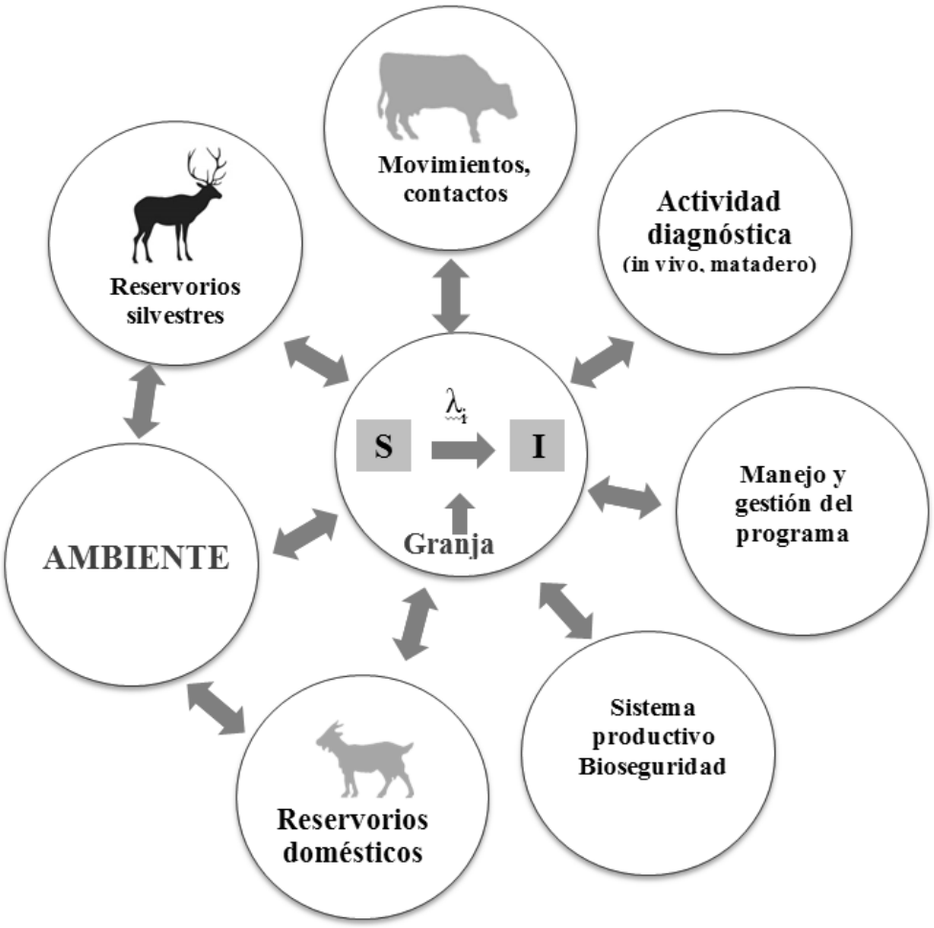
Figura 2. Prevalencia de Tuberculosis Bovina en rebaños en las diferentes comarcas de España. Fuente: MAGRAMA, Programa Nacional Tuberculosis Bovina 2014.

A todos estos factores se tendría que añadir el llamado contexto no-biológico, formado por una serie de factores sociológicos y culturales que modifican o alteran la eficacia de los esfuerzos de control. El contexto no-biológico es difícil de percibir y analizar, pero es sin duda importante en un largo proceso de control y erradicación.

En ausencia de reservorios salvajes, y en sistemas productivos con suficiente bioseguridad y que posibilitan el manejo de todos

1 A lo largo de este resumen, la mención a *M. bovis* incluye también a *M. caprae*, excepto en los casos en que expresamente se indique.

2 MAGRAMA, Programa Nacional Tuberculosis Bovina 2014



los animales de los rebaños, la bTB es una infección erradicable con los programas de test y sacrificio que han sido empleados en todos aquellos países que han llegado a controlar la infección en los rebaños bovinos. Si en esas condiciones favorables la erradicación no avanza, se debe probablemente a un manejo y gestión deficientes del programa de erradicación (O'Reilly & Daborn 1995).

DIAGNÓSTICO *IN VIVO* DE LA bTB

La actividad diagnóstica para detectar bTB es un componente crucial de los programas de erradicación de bTB. En la actualidad, el diagnóstico in vivo de la bTB en rebaños infectados se basa en la detección de la respuesta inmunitaria celular frente a los antígenos de *M. bovis*, bien mediante tuberculinización intradérmica o también mediante el test de γ-IFN, usados ambos en paralelo. En los rebaños no infectados, la vigilancia se lleva a cabo únicamente mediante tuberculinización. Esta respuesta mediada por células es el mecanismo habitual de defensa frente a infecciones por agentes patógenos intracelulares, y a la vez la causa de las lesiones inflamatorias granulomatosas características de la infección por *M. bovis* (Pritchard 1988).

Existen dos variantes de la técnica de tuberculinización en uso en la EU: la tuberculinización simple intradérmica (SIT), en la que se inocula únicamente tuberculina bovina (PPD Bov), y la tuberculinización simple comparativa (SICTT), que compara las reacciones frente a PPD Bov y a tuberculina aviar (PPD Av). Por su parte, la técnica del γ-IFN es una técnica laboratorial que se lleva a cabo en sangre heparinizada, con el mismo principio básico que en la tuberculinización (se "tuberculiniza" la sangre en cultivo y se mide la respuesta mediante detección de la citoquina γ-IFN), y es una técnica comparada.

La sensibilidad (Se) y la especificidad (Sp) de una técnica de diagnóstico son indicadores de su efectividad para el diagnóstico, y dependen de la buena ejecución de la técnica, de la buena calidad de los reactivos empleados, y de factores intrínsecos de la población sometida a diagnóstico, como son la fase de la infección en que se encuentre el animal, la presencia de reacciones cruzadas con otras micobacterias y bacterias relacionadas, así como del estado inmunológico de los animales testados. La Se de una técnica se define como la proporción de animales infectados correctamente clasificados como tal, y la Sp se define como la proporción de animales no infectados identificados correctamente como tales, del total de animales testados. Asimismo, el valor predictivo del resultado de una técnica (la probabilidad de que un resultado positivo o negativo sea correcto) depende no solo de la Se y Sp de la misma, sino también de la prevalencia de la infección en la población estudiada.

La Se y Sp de las técnicas de tuberculinización han sido objeto de estudio por parte de numerosos autores (Monaghan et al. 1994) (la Rua-Domenech et al. 2006), y, en general, la SIT muestra una mayor Se, pero una menor Sp que la SICTT. Pero los diferentes estudios son siempre difíciles de comparar por diferencias en el planteamiento de cada estudio, y en la elección del *gold standard*. Así, no es de extrañar que en los diferentes estudios se obtengan valores muy diferentes de la efectividad de los test de tuberculinización, que se mueven en los siguientes rangos:

SIT: Se 63-100 Sp 88-99

SICCT: Se 75-95 Sp 88-100,

En todos los estudios realizados se pone de manifiesto que la Se de la tuberculinización es imperfecta, pero una interpretación más estricta de cada una de estas técnicas permite incrementar su sensibilidad, y esta lectura estricta suele aplicarse en rebaños infectados, para acelerar la detección de animales infectados, a costa de reducir la Sp. Las principales causas de reducción de la Se en la tuberculinización se muestran en la **Tabla 1**.

La elección de una técnica u otra (SIT o SICTT) depende sobre todo de la presencia de infecciones por otras micobacterias que causan falsas reacciones positivas en la SIT. Un ejemplo de ello es la presencia en la granja de Paratuberculosis. En esta situación, la utilización de la SICTT puede reducir considerablemente la proporción de resultados falsos positivos, aunque la sensibilidad de detección de bTB puede resentirse en el caso de que se trate de una granja doblemente infectada.

La técnica de detección de γ-IFN fue desarrollada en Australia en el año 1990 (Rothel et al. 1990) como una técnica in vitro para el diagnóstico de la bTB. La técnica se basa en la medida de la inmunidad celular tras estimular sangre completa con PPD, y la medida de la cantidad de γ-IFN liberado, mediante ELISA. En la UE la técnica se ha autorizado para su uso en rebaños infectados, con el fin de aumentar la Se de detección de bTB. En todos los estudios realizados, el test de γ-IFN ha mostrado mayor Se que las pruebas de tuberculinización, y usados conjuntamente en paralelo, se obtiene una Se aun mayor que cuando se usan separadamente (Gormley et al. 2006), por lo que ambas técnicas se usan conjuntamente en numerosos países para acelerar la eliminación de la infección en aquellos rebaños que aun la presentan. En cambio, según han puesto de manifiesto estudios recientes, la Sp del test de γ-IFN no es superior a la de la tuberculinización (Gormley et al. 2013), y por ello su aplicabilidad en granjas libres de infección no se recomienda en la actualidad.

Tabla 1

Posibles causas de resultado falso negativo a los tests de tuberculinización en bovino (adaptado de De la Rua Domenech et al., 2006)

A. Factores relacionados con el animal testado

- Desensibilización a la PPD Bov (realización del test demasiado pronto después de la anterior tuberculinización)
- Periodo pre-alérgico (test aplicado demasiado tempranamente tras la infección)
- Anergia (enfermedad generalizada con *M. bovis* y falta de respuesta celular
- Co-infección con (o pre-exposición a) micobacterias ambientales (e.g. *M. avium-intracellulare* complex), que determina una mayor reacción a la PPD Av en SICCT o en γ-IFN.
- Infección con o vacunación contra *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*
- Infección con virus inmunosupresores (BVDV)
- Medicamentos (e.g. corticosteroides y otros fármacos inmunosupresores)
- Test aplicado en el post-parto (inmunosupresión)

B. Factores relacionados con la tuberculina utilizada (producto de insuficiente potencia)

- Producto expirado
- Almacenamiento incorrecto (exposición a luz y calor)
- Errores en la producción (cepa de M. bovis inadecuada, medida errónea de la potencia, etc.)

C. Factores relacionados con la realización, lectura y anotación de la tuberculinización (errores de aplicación por inexperiencia, insuficiente atención, dificultades logísticas, equipamiento inadecuado, etc.)

- Inyección insuficiente de PPD Bov, o inyección subcutánea (en lugar de intradérmina)
- Lugar de aplicación erróneo
- Equivocación de localización de PPD Bov y PPD Av (en SICCT)
- Lectura demasiado temprana o demasiado tardía)
- Errores de medida, o errores de identificación del animal reactor.
- Influencias conscientes o inconscientes en la lectura del test.

DIAGNÓSTICO *ANATOMOPATOLÓGICO* DE LA bTB

El diagnóstico morfológico es una pieza clave de la vigilancia de bTB en todos los países. El diagnóstico morfológico puede aplicarse en dos escenarios diferentes: en animales detectados como positivos por las pruebas de diagnóstico in vivo, y como sistema basal de vigilancia epidemiológica en granjas negativas.

a. Diagnóstico lesional de bTB en animales positivos a las pruebas in vivo.

En áreas de elevada prevalencia de bTB, la confirmación de la infección en animales detectados como positivos por un test de diagnóstico in vivo no es una prioridad, y basta con la visualización de alguna lesión macroscópica clasificable como tuberculosa en uno o varios animales sacrificados para mantener la granja como infectada y continuar los esfuerzos para eliminar la infección de la misma. Sin embargo, cuando la prevalencia disminuye considerablemente, como ocurre en numerosas zonas de España, el resultado de las pruebas in vivo ya no es criterio suficiente para asignar el estado de infección de la granja, ya que el valor predictivo de un resultado positivo disminuye según baja la prevalencia. Es entonces que aparecen de forma más evidente resultados falsos positivos, y se han de hacer esfuerzos para llegar al diagnóstico laboratorial de bTB (detección de lesiones macroscópicas, con estudio histopatológico y/o cultivo microbiológico). La inspección post mortem rutinaria llevada a cabo en los mataderos es insuficiente para este propósito, ya que su Se para la detección de lesiones es baja (Corner et al. 1990), probablemente no superior al 50%. Es por ello que en estos casos conviene poder realizar una inspección detallada, que aumenta considerablemente la probabilidad de detectar lesiones, y poder remitir estas lesiones al laboratorio para estudio microbiológico. En el caso de no encontrar lesiones, es necesario cultivar un número lo más elevado posible de linfonodos, al menos los del área respiratoria y retrofaríngea. En un estudio sobre granjas en las que se realizó vacío sanitario, se comprobó que la Se de la inspección detallada (necropsia) fue de 86%, usando como *gold standard* el cultivo microbiológico (Norby et al. 2004). La realización de técnicas de detección molecular sobre pruebas sospechosas (que contienen lesiones compatibles con tuberculosis) puede permitir llegar a un diagnóstico de manera rápida (Liébana et al. 1995).

b. Diagnóstico lesional de bTB en vigilancia pasiva.

La detección de bTb en la inspección post mortem rutinaria es una herramienta clave en la vigilancia de la infección, especialmente en los países o zonas oficialmente libres de bTB (OTF), en los que

la inspección *post mortem* puede ser a veces la única o principal actividad diagnóstica para detectar la infección. Además, la inspección rutinaria de todos los bovinos sacrificados para consumo es una condición incluida en la legislación (Directiva del Consejo 98/46/EC) para que un país o zona mantenga su estatus de OTF. Ya se ha mencionado que la sensibilidad de la inspección post mortem rutinaria es baja, pero el hecho de que una granja puede enviar cada año 1/3 de sus efectivos al matadero, aumenta la probabilidad de encontrar lesiones en algún animal de la granja si la granja estuviese infectada.

Por otro lado, la inspección *post mortem* rutinaria de todos los bovinos sacrificados para consumo permite detectar, en los países o zonas que actualmente no son OTF, entre 1/3 y 1/4 de las nuevas granjas infectadas cada año.es una condición incluida en la legislación (Directiva del Consejo 98/46/EC) para que un país o zona mantenga su estatus de OTF.

CONCLUSIONES

Las técnicas de diagnóstico de bTB son una pieza fundamental del control de la infección. La sensibilidad de las técnicas in vivo no es perfecta, pero usadas de manera repetitiva, y de forma combinada, son capaces de eliminar la infección de un rebaño en la mayor parte de situaciones. El diagnóstico post mortem contribuye a la clasificación correcta de la situación de las granjas cuando aparecen animales que reaccionan positivamente a la pruebas, y esto es especialmente importante en casos de áreas de baja prevalencia o en rebaños libres. La vigilancia pasiva en matadero es fundamental para mantener el estatus de OTF, y ha de incrementarse y asentarse en la fase de transición de muy baja prevalencia al estatus OTF.

REFERENCIAS

1. Corner, L. et al., 1990. Efficiency of inspection procedures for the detection of tuberculous lesions in cattle. *Australian Veterinary Journal*, 67(11), pp.389–392.
2. Gormley, E. et al., 2006. Diagnosis of Mycobacterium bovis infection in cattle by use of the gamma-interferon (Bovigam) assay. *Veterinary Microbiology*, 112(2-4), pp.171–179.
3. Gormley, E. et al., 2013. Identification of risk factors associated with disclosure of false positive bovine tuberculosis reactors using the gamma-interferon (IFN**γ**) assay. *Veterinary Research*, 44, p.117.
4. la Rua-Domenech, de, R. et al., 2006. Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques. *RESEARCH IN VETERINARY SCIENCES*, 81(2), pp.190–210.
5. Liébana, E. et al., 1995. Simple and rapid detection of Mycobacterium tuberculosis complex organisms in bovine tissue samples by PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 33(1), pp.33–36.
6. Monaghan, M.L. et al., 1994. The tuberculin test. *Veterinary Microbiology*, 40(1-2), pp.111–124.
7. Norby, B. et al., 2004. The Sensitivity of Gross Necropsy, Caudal Fold and Comparative Cervical Tests for the Diagnosis of Bovine Tuberculosis. *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 16(2), pp.126–131.
8. O'Reilly, L.M. & Daborn, C.J., 1995. The epidemiology of Mycobacterium bovis infections in animals and man: a review. *Tubercle and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*, 76 Suppl 1, pp.1–46.
9. Pritchard, D.G., 1988. A century of bovine tuberculosis 1888-1988: conquest and controversy. *Journal of Comparative Pathology*, 99(4), pp.357–399.
10. Rothel, J.S. et al., 1990. A sandwich enzyme immunoassay for bovine interferon-gamma and its use for the detection of tuberculosis in cattle. *Australian Veterinary Journal*, 67(4), pp.134–137.

BIOSEGURIDAD EN EXPLOTACIONES DE VACUNO DE LECHE

Eduardo Yus Respaldiza
Profesor Titular del Área de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria de Lugo, Universidad de Santiago de Compostela

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, el sector de bovino lechero está cambiando vertiginosamente y existe una necesidad de reorientar a los ganaderos hacia una medicina preventiva más que a la curativa; la bioseguridad es un componente esencial en la práctica de la medicina preventiva veterinaria y un importante aspecto a promover en el sector lácteo.

La bioseguridad comprende sistemas de gestión integrados por un conjunto de prácticas de manejo, sanitarias, ubicación y diseño de las instalaciones, etc. que previenen la introducción de agentes infecto-contagiosos en una explotación (bioexclusión o bioseguridad externa) o su diseminación, en el caso de estar presentes ya en la granja (biocontención o bioseguridad o bioseguridad interna).

LA BIOSEGURIDAD DEBE SER ENTENDIDA COMO UNA COMBINACIÓN DE ACTITUDES, RUTINAS, COMUNICACIÓN Y SENTIDO COMÚN, Y NO COMO UN MERO LISTADO DE COSAS A REALIZAR, QUE EN MUCHOS CASOS NO SE REALIZAN.

La implementación práctica de la bioseguridad en las granjas de vacuno lechero requiere el conocimiento de los agentes patógenos y del comportamiento de las infecciones en las poblaciones bovinas, a fin de determinar en qué momento la cadena de transmisión puede ser intervenida y por qué métodos, es decir, tener en cuenta:

- La capacidad de los agentes infecciosos para ser diseminados a partir de animales infectados
- Su capacidad para permanecer en el medio externo al animal, siendo infectivos
- Las vías o mecanismos de transmisión por los que alcanzan a otros animales susceptibles (tabla 1).

A pesar del conocimiento de la importancia de bioseguridad, aún con la escasez de información sobre la cuantificación del impacto de ésta sobre el riesgo de introducción de enfermedades, la adopción de medidas es limitada. La aptitud de los productores varía según la enfermedad y si existe o no actuación de la administración respectiva (enfermedades de declaración oficial y zoonosis de origen alimentario).

Tabla 1. Métodos de transmisión de los agentes infecciosos y parasitarios en una granja.

Contacto directo	Animales infectados (enfermos, en período de incubación o portadores subclínicos), heces o secreciones
Contacto indirecto	Vehículos, equipo, instrumental, botas, ropa, etc.
Personas	Personal de la granja, veterinarios, transportistas, etc.
Cadáveres	Si no han sido eliminados adecuadamente
Otros animales	Roedores, insectos, pájaros, perros, gatos, ovejas, animales silvestres, etc.
Ingestión	Agua y/o alimento contaminado
Contaminación ambiental	Purines, camas, aerosoles o polvo contaminados

Por otro lado, indicar que los elementos esenciales de la bioseguridad son la identificación y evaluación de peligros (todo agente infeccioso con capacidad de alterar la salud animal) y riesgos (probabilidad de que cause enfermedad y las consecuencias, gravedad y frecuencia, derivadas de ésta), la gestión de los riesgos y la comunicación de los mismos asociados a cada una de las posibles enfermedades infecto-contagiosas que pueden introducirse o estar presente en una explotación de ganado vacuno lechero (Callejo, 2009).

Transferencia de conocimientos y opiniones sobre bioseguridad de veterinarios:

Existe una alta proporción de veterinarios a los que regularmente les preguntan y dan asesoramiento a sus ganaderos, sin embargo, no existe una comunicación óptima sobre el tema con otros profesionales que visiten las explotaciones ganaderas. Además, se observa un acuerdo entre veterinarios prácticos y "expertos veterinarios" en la importancia de las medidas de bioseguridad a tomar; no obstante, los veterinarios clínicos eligen la buena higiene como la más importante medida de bioseguridad y los "expertos" el mantener el rebaño cerrado.

Para los veterinarios clínicos los factores externos (beneficio económico o por obligación) son la principal motivación para implementar medidas de bioseguridad, mientras que para los ganaderos son los factores relacionados con la sanidad animal.

Se debe destacar la necesidad de estandarizar la información y mejorar la comunicación a través de programas de entrenamiento entre los profesionales (Sayers et al., 2014).

Opiniones sobre bioseguridad de ganaderos:

Aunque el mantenimiento de un "rebaño cerrado" es la más importante medida de bioseguridad en prevenir la introducción de enfermedades en una explotación, este concepto no es bien en-

tendido, ni establecido entre los ganaderos; así mismo, las piedras angulares de la bioseguridad (rebaño cerrado, cuarentena y testaje de animales comprados) permanecen infravaloradas (Sayers et al., 2013).

En la tabla 2 se reflejan las principales razones, ordenadas en importancia de mayor a menor, indicadas por los ganaderos interesados en establecer un plan de bioseguridad en su explotación (Laanen et al., 2014).

Tabla 2. Principales motivos de ganaderos para establecer un plan de bioseguridad

Mejorar rentabilidad por incremento de la producción	Satisfacer a los consumidores
Mejorar el bienestar animal	Cumplir obligaciones de calidad
Granja estable sanitariamente	Evitar penalizaciones
Conservar la sanidad animal	Obtener recursos financieros
Mejorar la calidad y la seguridad de los productos	Sentirme orgulloso de mi granja

Los ganaderos consideran a los veterinarios como la fuente preferente de información en bioseguridad en comparación con otros profesionales o técnicos que visitan la granja u otros medios de información (revistas, televisión, etc.); no obstante, son necesarios programas de educación diseñados adecuadamente para asegurar la participación óptima de los ganaderos en la implementación de la bioseguridad.

Diseño y componentes de un plan de bioseguridad:

Cada explotación de ganado vacuno lechero deberá elaborar su plan de bioseguridad en base al estatus sanitario deseado por el propietario para su rebaño y a los riesgos de enfermedades existentes, no obstante, los principios deben ser siempre los mismos. En el diseño de un plan de bioseguridad existen 10 fases principales a establecer (Boersema, 2010):

1. Hacer la granja lo más "cerrada" posible e implementar medidas preventivas generales.

2. Identificar las principales enfermedades infecciosas y los factores de riesgo asociados a cada una de ellas.

3. Diseño de instalaciones en las naves de nueva construcción o definir las secciones/unidades de la granja para un mejor manejo y organización del personal, incluyendo la evaluación de rendimientos de cada una, mediante un diagrama de flujo (Villaroel et al., 2007). De alto riesgo serían los animales de elevada susceptibilidad o áreas con una alta carga de patógenos, como por ejemplo: recién nacidos, terneros/as jóvenes, vacas en parto y animales enfermos o zonas de partos, almacén y preparación de alimentos y estercolero y fosa de purines.

4. Diseñar e implementar un protocolo de entrada de visitas y de animales.

5. Diseñar e implementar una Guía de Buenas Prácticas Ganaderas (códigos de prácticas), así como instrucciones de trabajo necesarias en áreas particulares:
   a. Protocolos de higiene: desinfección, desinsectación y desratización
   b. Protocolos sanitarios: de control posparto, de ordeño, tratamientos de lactación/de secado y otros, ante un RCS alto en tanque, etc.
   c. Protocolos de alimentación y de suministro de agua de bebida: de vacas en producción, de novillas, de terneros lactantes, etc.
   d. Protocolos reproductivos: detección celos, inseminaciones, índices reproductivos
   e. Protocolos de movimientos de personas y de vehículos, y de utilización de herramientas y equipos
   f. Protocolos de manejo de estiércol y/o purines, y de cadáveres

g. Protocolos de uso de productos fitosanitarios, etc.

6. Diseñar y establecer un protocolo de monitorización, a fin de detectar desviaciones o no-conformidades.

7. Instrucciones para el personal, asignación de responsabilidades, evaluaciones de conductas cada 3-6 meses.

8. Desarrollar un programa de entrenamiento para trabajadores *in situ* en temas específicos.

9. Programar períodos de evaluación a lo largo del año para valorar los riesgos críticos en cada área o unidad definida.

10. Programar reuniones de equipo al menos mensualmente y evaluar si son necesarios ajustes en el plan de bioseguridad.

Como puede observarse, las etapas que se han definido se adaptan a lo que serían los principios del análisis de peligros y control de puntos críticos (APPCC), un sistema de autocontrol que tiene la finalidad de asegurar el control de los "peligros", ampliamente implementado en el sector alimentario y extrapolable a la producción primaria.

LOS OBJETIVOS GENERALES DE UN SISTEMA APPCC APLICADO A LA BIOSEGURIDAD SON REDUCIR EL MICROBISMO INICIAL Y MINIMIZAR LA POSIBLE CONTAMINACIÓN Y CONTAGIO, CONTROLANDO DETERMINADAS CONDICIONES QUE ESPECÍFICAMENTE REDUZCAN O EVITEN LA DISEMINACIÓN DE AGENTES PATÓGENOS.

Las principales medidas de bioseguridad a implementar en las explotaciones bovinas lecheras recomendadas en Webs mundiales de organizaciones nacionales, servicios de administración competentes en la materia y servicios universitarios se reflejan en la tabla 3 (Moore, 2008).

Tabla 3. Principales medidas de bioseguridad en granjas de ganado vacuno lechero

Lavado de botas o botas disponibles	Programa de control de vectores (D/D/D)
Lavado de manos o uso de guantes	Equipo y material de desinfección
Uso de ropa limpia a la entrada	Adecuado manejo del estiércol
Formación del personal	Mantenimiento de registros sanitarios
Restricciones en áreas de estabulación	Mantener el rebaño "cerrado"
Vehículos particulares lejos de animales	Limitar incorporaciones de animales y cuarentena y análisis de los mismos
Control en el acceso de visitas a la granja	Manejo adecuado del lote de novillas
Valla perimetral y puertas cerradas	Programas de vacunación adecuados
Desinfección y control de vehículos	Fomentar el conocimiento y la notificación de enfermedades

En una encuesta que realizamos entre ganaderos cuyas explotaciones de ganado vacuno lechero (n = 98) estaban integradas en Asociaciones de Defensa Sanitaria Ganadera de Galicia (ADSG) durante el año 2007, se pudieron obtener como datos más destacados los siguientes:

- En el 30% de las granjas los animales utilizan pastos compartidos con unas explotaciones con el consiguiente riesgo de transmisión de infecciones
- Más del 50% de las explotaciones incorporaron animales nuevos, especialmente novillas gestantes o vacas de 1-2 partos, en los dos últimos años y únicamente el 5% realizaba una cuarentena adecuada en cuanto a aislamiento, tiempo, examinación diaria y análisis correspondientes
- Únicamente una explotación llevaba animales a certámenes ganaderos
- Menos del 4% de las granjas realiza restricciones en visitas, obliga a desinfección de calzado o cambio del mismo y sólo el 12% dispone de calzas
- Únicamente el 20% de los ganaderos comprueba que los veterinarios cuando entran o salen de su explotación se lavan y desinfectan las botas
- Casi el 25% de los ganaderos considera que su rebaño tiene contacto con animales silvestres, aunque estudios realizados en los últimos años en Galicia indican que estos éstos no están actuando como reservorio de agentes patógenos
- Aproximadamente el 90% de las granjas realiza periódicamente un plan de control de roedores
- El 40% de las explotaciones aún utiliza agua proveniente de pozos o fuentes naturales, con la posibilidad que pueda actuar como fuente de infección por un inadecuado sistema de higienización

Se podría proponer un sistema de indicadores de bioseguridad en un contexto colectivo (ADSG, cooperativas, etc.) que permitiera la creatividad e innovación en la granja y protegiera a los ganaderos participantes de explotaciones de otros ganaderos. Este sistema podría contribuir al desarrollo de cambios sostenibles en la "cultura" de bioseguridad a nivel de granja y nacional.

La bioseguridad comienza por los propios veterinarios:

La bioseguridad sigue siendo una asignatura pendiente, tanto para los ganaderos como para nosotros los veterinarios. Un estudio reciente realizado entre veterinarios clínicos ingleses refleja que las prioridades en la aplicación de medidas de bioseguridad en ellos mismos, en orden decreciente, son las siguientes: lavado de botas, desinfección de botas, uso de ropa impermeable, aparcar coche lejos de animales, cambiarse de ropa y uso de guantes (Gunn et al., 2008).

La eliminación de restricciones de la Unión Europea a la producción láctea en el año 2015 podría traer como consecuencia un rápido incremento del tamaño de granjas por la compra e introducción de nuevos animales, tanto novillas gestantes como vacas paridas, lo que hará que aumente el riesgo de introducción de enfermedades como la diarrea vírica bovina o la paratuberculosis, en explotaciones sin un plan de bioseguridad adecuado. Por ello, los profesionales veterinarios tenemos un papel esencial en promover la bioseguridad, por ello, es importante que los veterinarios tengamos suficiente conocimiento y ser capaces de transmitirlos a los ganaderos.

Deberíamos preguntarnos cuestiones como: ¿qué medidas de bioseguridad estamos dispuestos a aplicar en nuestra práctica diaria?, ¿estamos dispuestos a "reciclarnos" en diversos conocimientos sobre planes de bioseguridad?, ¿hasta que punto estamos dispuestos a involucrarnos en concienciar, informar y asesorar a nuestros ganaderos en bioseguridad?, etc.

La mejora de la bioseguridad promete beneficios para los ganaderos individuales en proteger la sanidad animal, para la sociedad en incrementar la seguridad y garantía alimentaria, y para la economía nacional mediante el apoyo a un comercio internacional.

Bibliografía recomendada:

- Boersema SJ, Da Silva JC, Mee J, Noordhuizen J. 2010. Farm health and productivity management of dairy young stock. 1ª Ed. Wageningen Academic Publishers, The Netherlands
- Callejo A. 2009. Cow comfort. El bienestar de la vaca lechera. 1ª Ed. Servet. Zaragoza.
- Gunn GJ, Hefferman C, Hall M, McLeod A, Hovi M. 2008. Measuring and comparing constraints to improved biosecurity amongst GB farmers, veterinarians and auxiliary industries. Prev Vet Med, 84: 310-323.
- Laanen M, Maes D, Hendriksen C, Gelaude P, De Vliegher Y, Rosseel Y, Dewulf J. 2014. Pig, cattle, and poultry farmers with a know interest in research have comparable perspectives on disease prevention and on-farm biosecurity. Prev Vet Med (accepted)
- Moore DA, Merryman ML, Hartman ML, Klingborg DJ. 2008. Comparison of published recommendations regarding biosecurity practices for various production animal species and classes. J Am Vet Med Assos, 233. 249-256
- Sayers RG, Sayers GP, Mee JF, Good M, Bermingham ML Grant J, Dillon PG. 2013. Implementing biosecurity measures on dairy farms in Ireland. Vet J, 197: 259-267
- Sayers RG, Good M, Sayers GP. 2014. A survey of biosecurity-related practices, opinions and communication across dairy farm veterinarians and advisors: Vet J. (accepted)
- Villarroel A, Dargatz DA, Lane VM, McCluskey J, Salman MD. 2007. Suggested outline of potential critical control points for biosecurity and biocontainment on large dairy farms. J Am Vet Med Assos 230: 808-819

EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD RESPIRATORIA BOVINA INFECCIOSA (EIBR): ¿UNA CONTRIBUCIÓN IMPORTANTE DE EXAMEN *POST MORTEM*?

F. Schelcher [1] [2], **C. Lacroux** [1] [2]
(1) Université de Toulouse, INP, ENVT, Pathologie des ruminants, F-31076 Toulouse
(2) INRA, UMR 1225 Interactions Hôtes - Agents Pathogènes, F-31076 Toulouse

Las enfermedades respiratorias infecciosas son uno de los trastornos bovinos más costosos y más estudiados en Norte América y Europa. Afectan a la producción de carne, de leche y de engorde. En los sistemas de producción de carne, la Enfermedad Respiratoria Bovina Infecciosa (EIBR) tiene un impacto negativo en la capacidad de crecimiento (Gardner et al 1999), las características finales de la canal (Garcia et al 2010) (Holland et al 2010) y la rentabilidad (Pinchak et al 2004).

La EIBR está causada por uno o más patógenos actuando solos o en combinación. Numerosos aspectos del manejo (estrés de los animales, la alimentación, el alojamiento, etc.) determinan la ocurrencia y la severidad de la EIBR.

Los patógenos potencialmente involucrados son numerosos y su prevalencia depende del sistema de producción y la localización geográfica (por ejemplo, el HVB-1 y el VDVB han sido prácticamente erradicados en determinadas regiones de Europa):

- Virus – *Virus Respiratorio Sincicial Bovino* (VRSB); *virus Parainfluenza-3* (VPI3); *Herpes Virus Bovino 1* (HVB-1); *virus de la Diarrea Viral Bovina* (VDVB); *Coronavirus Respiratorio Bovino* (CRB), Mastadenovirus, etc.
- Bacterias – *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*, *Mycoplasma bovis*, *Salmonella*, *Trueperella pyogenes,* etc.
- Nematodos – *Dictyocaulus viviparus*, migración de larvas de *Strongyloïdes papillosus.*
- Hongos (ocasionalmente) – *Aspergillus fumigatus,* etc.

El diagnóstico de la EIBR se puede dividir en dos pasos (i) el diagnóstico de un síndrome respiratorio basado en un examen clínico y/o un examen post-mortem y (ii) el diagnóstico de los patógenos específicos implicados basado en los datos del laboratorio.

Para determinar la causa de un brote de ERB, los principales enfoques de diagnóstico tienen ventajas y desventajas comparativas (Tabla 1).

La finalidad de esta ponencia es presentar cómo las enfermedades clínicas y las lesiones macroscópicas se pueden utilizar para predecir la implicación de patógenos específicos en los brotes de ERB.

1. Relevancia y limitaciones del examen clínico

El valor diagnóstico del examen clínico en el campo depende claramente de los objetivos (identificar el síndrome respiratorio vs los patógenos implicados) y de los métodos y herramientas (inspección visual, auscultación, ecografía, y dispositivos automatizados para registrar parámetros fisiológicos).

1.1. Identificar el síndrome respiratorio

La sospecha clínica de ERB realizada por los ganaderos se basa en la observación visual de signos incluyendo depresión, descarga nasal, tos, aumento de la frecuencia respiratoria, anorexia y/o falta de llenado del rumen. La decisión para el tratamiento la mayoría de las veces combina las observaciones visuales y una alta temperatura rectal (> 39,7°C o > 40°C) (Apley 2006). Habitualmente, se utilizan puntuaciones de la enfermedad clínica en la cuantificación de la gravedad de la enfermedad.

El rendimiento de las observaciones clínicas para el diagnóstico de la ERB en terneros de engorde tras el destete ha sido estimado a través de un método bayesiano en ausencia de un estándar de oro y en base a los resultados emitidos por los estudios clínicos en cebadero controlados publicados (White et al 2009). La sensibilidad y la especificidad del diagnóstico estimadas del enfoque clínico fueron bajas, 62% y 63%, respectivamente.

Las puntuaciones de la enfermedad clínica basadas en la observación visual se evaluaron 2 días antes de la necropsia, en relación a las puntuaciones de la consolidación pulmonar asignadas en el examen post mortem, en terneros Holstein (n=178) expuestos experimentalmente al *Mycoplasma bovis* (Amrine et al 2013). El acuerdo entre los observadores fue bajo (κ=0,16; CI 95% de 0,10 a 0,24). La sensibilidad media para todos los observadores oscilaba entre 81,7% y 98,9%; y la especificidad media, entre 80,8% y 94,9%. La precisión aumentaba con la gravedad de la consolidación pulmonar.

La observación visual tiene claras limitaciones en la fiabilidad de la detección de las lesiones pulmonares.

En el ganado, los datos sobre el valor diagnóstico de la auscultación torácica para la detección de las lesiones del pulmón son sorprendentemente escasos.

Se ha realizado un estudio de campo sobre terneras lecheras antes del destete comparando las puntuaciones de la enfermedad, la auscultación torácica y la ecografía (Buczinski et al 2014). La detección de sonidos pulmonares anormales definidos como crujidos, silbidos, sonidos de fricción pleural o ausencia de sonidos respiratorios fue de valor limitado en el diagnóstico de la consolidación pulmonar. La evaluación ecográfica del tórax fue una herramienta útil para diagnosticar ERB.

En una combinación médica individual de observación visual, auscultación torácica y ecografía se pueden diferenciar las lesiones del tracto respiratorio superior (incluyendo la rinitis, la laringitis, la rino-traqueítis), la bronconeumonía y las condiciones médicas torácicas no pulmonares, como empiemas pleurales o enfermedades cardíacas.

Los signos clínicos, a menudo, se detectan tarde en el transcurso de las EBR, lo que conduce a un diagnóstico retardado, que es una de las razones principales para el fallo del tratamiento.

Se han evaluado diferentes dispositivos y métodos para el reconocimiento temprano de la ERB y para el seguimiento automatizado.

Los cambios en el comportamiento (para una revisión, véase Weary et al 2009), como en la comida (Sowell et al 1999), en la

bebida (Basarab et al 1997), o en la actividad evaluada a través de podómetros o acelerómetros (Hanzlicek et al 2010) se han evaluado.

La temperatura central se puede evaluar registrando la temperatura del rumen (Rose-Dye et al 2010) (Timsit et al 2010) o mediante la termografía infrarroja (Schaefer et al 2007) (Schaefer et al 2012).

Los sonidos de tos se han controlado y analizado a través de dispositivos automáticos, y se pueden diferenciar de los sonidos de bandeja metálica, que son sonidos muy comunes en el ganado de granja (Ferrari et al 2010).

Estos métodos han dado algunos resultados prometedores pero necesitan ser evaluados a gran escala en estudios de campo.

1.2. Signos clínicos y patógenos

Los signos respiratorios normalmente se consideran de escaso valor predictivo de los patógenos causales.

Por ejemplo, se comparó el curso clínico de terneros infectados experimentalmente, bien con *Dictyocaulus viviparus* o bien con VRSB. En la enfermedad por los gusanos pulmonares, los signos clínicos (tos, descarga nasal, taquipnea, respiración abdominal, pirexia, aumento de sonidos bronquiales en la auscultación del pecho) fueron parecidos a aquellos observados después de la infección con VRSB (Verhoeff et al 1988).

La asociación con signos clínicos no respiratorios puede ser sugestiva de patógenos específicos, pero no se puede considerar como patognomónico. Por ejemplo en los cebaderos, la artritis está frecuentemente provocada por infecciones por *Mycoplasma bovis*. Los signos nerviosos de encefalitis observados junto a la ERB sugieren una infección por *Histophilus somni*.

1. Relevancia y limitaciones del examen post mortem

El objetivo de la necropsia es identificar las lesiones macroscópicas y realizar el muestreo para la identificación de los patógenos respiratorios.

1.1. Valor diagnóstico de las lesiones macroscópicas

Se han propuesto varias clasificaciones de lesiones pulmonares (véanse las revisiones recientes de Panciera et al 2010 y Caswell et al 2012).

Para interpretar las lesiones neumónicas se debe tener en cuenta que el tipo de lesión está determinado por el/los patógeno(s) causante(s) incitante(s) y sus factores de virulencia, y por la respuesta del huésped (inflamación, inmunidad). Además, las características de la lesión dependen en gran medida del curso agudo o crónico de la enfermedad, así como los tipos de tratamientos antes de la muerte.

Para la orientación del diagnóstico, hay básicamente dos tipos principales de lesiones pulmonares fácilmente definidas en la apariencia histológica: lesiones bronco-alveolares y lesiones intesticiales o bronco-intersticiales. Las características principales se describen en la Tabla 2.

Las lesiones macroscópicas del tracto respiratorio, en algunos casos, permiten, *per se* y con una buena fiabilidad, la identificación de la causa o mecanismo primario.

Las laringitis necrótica o purulenta son lesiones localizadas, principalmente simétricas, pero pueden ser difusas a veces. La difteria en los terneros está causada por *Fusobacterium necrophorum*. En algunos casos, se pueden detectar otros agentes patógenos (*Histophilus somni*, *Trueperella pyogenes*...).

La rino-laringo-traqueítis con úlceras difusas o localizadas y exudaciones fibrino-purulentas es altamente predictiva de una infección de HVB-1 (virus IBR). No obstante, estas lesiones tienen que diferenciarse de los tapones expectorados de fibrina y exudado purulento, resultante de la bronconeumonía bacteriana. En este último caso, el exudado se retira fácilmente de la mucosa traqueal, mientras que en los casos de IBR, el exudado está firmemente adherido a la mucosa. Otro diagnóstico diferencial tiene que ver con la aspiración de sustancias cáusticas en el árbol traqueobronquial, que conduce a la llamada neumonía por aspiración con una traqueítis ulcerativa en las primeras etapas.

Las infecciones por gusanos pulmonares se diagnostican fácilmente por la observación de gusanos *Dictyocaulus viviparus* adultos que residen preferentemente en los bronquios caudales. En los casos poco frecuentes de neumonía por *Dictyocaulus*, solo se detectan muy pocos gusanos adultos. La migración de un gran número de larvas durante la fase prepatente del ciclo puede ser, por tanto, responsable de una neumonía intersticial difusa, fácilmente reconocible por el examen histológico.

La pleuro-bronconeumonía fibrinosa lobular con focos necróticos en las zonas consolidadas es bastante patognomónico de la infección por *Mannheimia haemolytica*. La exudación fibrinosa es bastante abundante en la superficie pleural y en las paredes interlobulares. Los focos necróticos son grandes, de forma irregular (mapa geográfico), sublobulares, rojos o rosas y rodeados por una línea blanca que representa la acumulación de leucocitos, y nunca sobresalen ni son friables (Gagea et al 2006). Las lesiones primarias se explican fácilmente por los factores de virulencia de la *M. haemolytica*.

La bronconeumonía lobular o supurativa con focos caseonecróticos en las áreas consolidadas es altamente predictiva de una infección por *Mycoplasma bovis*. Los llamados focos caseonecróticos a veces son multifocales, grandes (entre 2 y 3 cm), blancos, nódulos circulares y sobresalientes, con material friable o desmenuzable (Gagea et al 2006). Actualmente, la patogénesis de la lesión y los factores de virulencia implicados de la *Mycoplasma bovis* no se comprenden.

Los focos necróticos múltiples, pequeños (entre 2 y 3 mm), grises o amarillos, a veces con un borde congestivo, detectables en todos los lóbulos y, en particular, en los lóbulos caudales, son bastante patognomónicos de una infección por *Aspergillus* spp. Esta lesión se observa casi siempre en terneros.

Los nódulos hemorrágicos o purulentos en poca o mucha cantidad, de tamaño variable y distribuidos a lo largo de todos los lóbulos pulmonares son predictivos de una neumonía tromboembólica. Por el contrario, la localización craneoventral de los abscesos es consistente con una bronconeumonía supurativa.

La observación de focos granulomatosos con un diámetro de 1-40mm, normalmente circunscritos, que contienen material caseoso entre blanco y amarillo pálido con focos de mineralización en algunas ocasiones y localizados en los ganglios linfáticos pulmonares, pero, a veces, en los pulmones, la pleura o en otros órganos, tiene que conducir a una sospecha de tuberculosis (*Mycobacterium bovis*). En muchos casos, un examen histopatológico permite diferencias entre los tubérculos y otras lesiones infecciosas granulomatosas (bacterianas o fúngicas) o lesiones neoplásicas metastásicas. El aislamiento y el diagnóstico por PCR completan la investigación del laboratorio.

1.2. Toma de muestras para el diagnóstico de laboratorio

Entre algunos y numerosos casos, las lesiones macroscópicas no son suficientes *per se* para concluir un patógeno causal específico.

El examen post mortem permite la toma de muestras para la histopatología y para las investigaciones microbiológicas *lato sensu*.

La selección de los animales para el muestreo es el primer paso teórico. Desafortunadamente, en el campo o en rebaños o lotes pequeños, la elección está muy limitada porque se dan muy pocos fallecimientos bovinos, o ninguno.

Los animales seleccionados deben ser representativos de su enfermedad, de acuerdo con el curso clínico, la edad y los lotes alojados en los corrales.

Los animales seleccionados deben ser examinados y muestreados al aparecer la enfermedad clínica (Figura 1). Estudios experimentales y en campo sugieren que los virus (con la notable excepción de los bovinos persistentemente infectados por el virus DVB) están presentes en el tracto respiratorio solo unos pocos días tras el inicio de la enfermedad clínica. Por otro lado, en las granjas de engorde, se detectaron, mediante inmunoquímica, infecciones por *M. haemolytica*, *H. somni* y *M. bovis* en el 80%, el 20% y el 50-60%, respectivamente, de los pulmones del ganado muerto debido a una neumonía entre hiperaguda y aguda, y en el 40%, el 30% y el 90% del ganado muerto por neumonía crónica (Booker et al 2008). En la mayoría de los casos, debería evitarse el muestreo para la investigación en el laboratorio en etapas crónicas de la enfermedad respiratoria.

Si se tiene que llevar a cabo la identificación de los patógenos bacterianos y su susceptibilidad antimicrobiana, se deben muestrear los animales no tratados con antibióticos.

Conclusión

En muchos casos, el examen post mortem tiene un inmenso valor diagnóstico. Se pueden definir el tipo exacto, la gravedad y la duración de las lesiones. Este método de investigación tiene una buena rentabilidad. Además, tiene un fuerte valor educativo para los ganaderos y los cuidadores.

Resumen

La investigación rutinaria de ERB debe ser exhaustiva, permitiendo la identificación de las enfermedades comunes, pero también de las inesperadas. El examen clínico tal y como lo realizan los ganaderos de engorde tiene una sensibilidad y especificidad relativamente bajas. Las investigaciones patológicas y de laboratorio son necesarias en las situaciones en las que se requiere un diagnóstico específico o la identificación de la causa. Los resultados de las necropsias sugieren patrones de enfermedad pulmonar basados en la distribución, la naturaleza morfológica y la duración de las lesiones. En muchos casos, estos patrones son lo suficientemente específicos como para predecir el agente causal principal con una gran fiabilidad. Para que sea útil, el proceso de toma de muestras en el examen post mortem debe realizarse en animales representativos y en el inicio de la enfermedad.

Palabras clave: bovino, enfermedad respiratoria, patología, examen clínico

Referencias

1. Amrine DE, White BJ, Larson R, Anderson DE, Mosier DA, Cernicchiaro N. Precision and accuracy of clinical illness scores, compared with pulmonary consolidation scores, in Holstein calves with experimentally induced Mycoplasma bovis pneumonia. Am J Vet Res. 2013;74(2):310-5.
2. Apley M. Bovine respiratory disease: pathogenesis, clinical signs, and treatment in lightweight calves. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2006;22(2):399-411
3. Basarab JA, Milligan D, Hand R, Hutsma C. Automatic monitoring of watering behaviour in feedlot steers: potential use in early detection of respiratory disease and in predicting growth performance. Can J Anim Sci. 1997;77:554
4. Booker CW, Abutarbush SM, Morley PS, Jim GK, Pittman TJ, Schunicht OC, Perrett T, Wildman BK, Fenton RK, Guichon PT, Janzen ED. Microbiological and histopathological findings in cases of fatal bovine respiratory disease of feedlot cattle in Western Canada. Can Vet J. 2008;49(5):473-81.
5. Buczinski S, Forté G, Francoz D, Bélanger AM. Comparison of thoracic auscultation, clinical score, and ultrasonography as indicators of bovine respiratory disease in preweaned dairy calves. J Vet Intern Med. 2014;28(1):234-42.
6. Caswell JL, Hewson J, Slavi Đ, DeLay J, Bateman K. Laboratory and postmortem diagnosis of bovine respiratory disease. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2012;28(3):419-41.
7. Ferrari S, Piccinini R, Silva M, Exadaktylos V, Berckmans D, Guarino M. Cough sound description in relation to respiratory diseases in dairy calves. Prev Vet Med. 2010;96(3-4):276-80.
8. Gagea MI, Bateman KG, Shanahan RA, van Dreumel T, McEwen BJ, Carman S, Archambault M, Caswell JL. Naturally occurring Mycoplasma bovis-associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves. J Vet Diagn Invest. 2006;18(1):29-40.
9. Garcia MD, Thallman RM, Wheeler TL, Shackelford SD, Casas E. Effect of bovine respiratory disease and overall pathogenic disease incidence on carcass traits. J Anim Sci. 2010;88(2):491-6.
10. Gardner BA, Dolezal HG, Bryant LK, Owens FN, Smith RA. Health of finishing steers: effects on performance, carcass traits, and meat tenderness. J Anim Sci. 1999;77(12):3168-75.
11. Hanzlicek GA, White BJ, Mosier D, Renter DG, Anderson DE. Serial evaluation of physiologic, pathological, and behavioral changes related to disease progression of experimentally induced Mannheimia haemolytica pneumonia in postweaned calves. Am J Vet Res. 2010;71(3):359-69.
12. Holland BP, Burciaga-Robles LO, VanOverbeke DL, Shook JN, Step DL, Richards CJ, Krehbiel CR. Effect of bovine respiratory disease during preconditioning on subsequent feedlot performance, carcass characteristics, and beef attributes. J Anim Sci. 2010;88(7):2486-99.
13. Panciera RJ, Confer AW. Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2010;26(2):191-214
14. Pinchak WE, Tolleson DR, McCloy M, Hunt LJ, Gill RJ, Ansley RJ, Bevers SJ. MoIBRdity effects on productivity and profitability of stocker cattle grazing in the Southern Plains. J Anim Sci. 2004;82(9):2773-9.
15. Rose-Dye TK, Burciaga-Robles LO, Krehbiel CR, Step DL, Fulton RW, Confer AW, Richards CJ. Rumen temperature change monitored with remote rumen temperature boluses after challenges with bovine viral diarrhea virus and Mannheimia haemolytica. J Anim Sci. 2011;89(4):1193-200.
16. Schaefer AL, Cook NJ, Church JS, Basarab J, Perry B, Miller C, Tong AK. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. Res Vet Sci. 2007;83(3):376-84.
17. Schaefer AL, Cook NJ, Bench C, Chabot JB, Colyn J, Liu T, Okine EK, Stewart M, Webster JR. The non-invasive and automated detection of bovine respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. Res Vet Sci. 2012;93(2):928-35.
18. Sowell BF, Branine ME, Bowman JG, Hubbert ME, Sherwood HE, Quimby W. Feeding and watering behavior of healthy and moIBRd steers in a commercial feedlot. J Anim Sci. 1999;77(5):1105-12.
19. Timsit E, Assié S, Quiniou R, Seegers H, Bareille N. Early detection of bovine respiratory disease in young bulls using reticulo-rumen temperature boluses. Vet J. 2011;190(1):136-42
20. Verhoeff J, Wierda A, Boon JH. Clinical signs following experimental lungworm infection and natural bovine respiratory syncytial virus infection in calves. Vet Rec. 1988;123(13):346-50.
21. Weary DM, Huzzey JM, von Keyserlingk MA. Using behavior to predict and identify ill health in animals. J Anim Sci. 2009;87(2):770-7.
22. White BJ, Renter DG. Bayesian estimation of the performance of using clinical observations and harvest lung lesions for diagnosing bovine respiratory disease in post-weaned beef calves. J Vet Diagn Invest. 2009;21(4):446-53.

Tabla 1: Principales ventajas y desventajas de los enfoques de diagnóstico para investigar un brote de Enfermedad Respiratoria Bovina

Enfoque de diagnóstico		Ventajas	Desventajas
Animales vivos			
	Examen clínico	Resultados rápidos de las pruebas Primer paso del diagnóstico	Muy bajo nivel predictivo para los patógenos
	Detección de patógenos (muestreo: hisopo nasal, lavado trans-traqueal, lavado bronco-alveolar)	Resultados rápidos de las pruebas Fiabilidad de los resultados por relación causal	Las infecciones virales son transitorias Los aislados bacterianos de las muestras nasales pueden ser de dudosa significación Algunas técnicas de muestreo (por ejemplo, el lavado bronco-alveolar) requieren habilidades específicas El examen de múltiples muestras puede ser caro
	Aumento de los títulos de anticuerpos séricos	El examen de muchos animales hace que los resultados sean relevantes al problema del rebaño Método retrospectivo menos dependiente de la fase de la enfermedad que los métodos directos de muestreo.	Requiere muestras pares de suero (inicial y convaleciente) y los resultados no están disponibles antes de 3 ó 4 semanas después del inicio del brote Baja fiabilidad en terneros de menos de 3-6 meses de edad, con anticuerpos derivados de la madre interfiriendo en la seroconversión activa No hay kits disponibles en el mercado para algunos patógenos
Animales muertos			
	Examen post mortem	Las lesiones macro y microscópicas son normalmente sugestivas y, en algunos casos, pueden ser altamente predictivas de los patógenos involucrados. Altamente sensible y específico para la enfermedad respiratoria Buena evaluación de la duración y de la puntuación de la enfermedad.	Pocos animales afectados Los animales muertos no son siempre representativos del problema del rebaño
	Detección de patógenos	El pulmón y la tráquea se muestrean fácilmente y , a menudo, son muestras ideales para el diagnóstico de laboratorio	La muerte se puede dar en etapas subagudas o crónicas de la enfermedad cuando los virus ya no están presentes El tratamiento con antibióticos antes de la muerte impide el aislamiento de las bacterias y puede dar lugar a datos engañosos de la sensibilidad antimicrobiana

Tabla 2: Características principales de la neumonía bronco-alveolar e intersticial o bronco-intersticial

	Bronco-alveolar		Intersticial o bronco-intersticial
Característica	**Aguda**	**Crónica**	
Volumen	Aumento significativo	Entre normal y ligeramente aumentado	Entre normal y ligeramente aumentado
Textura (palpación)	Dura (parecida al hígado)	Moderadamente firme	Moderadamente firme, gomoso
Distribución	craneoventral	craneoventral	Entre craneoventral y generalizada
	Más o menos simétrica bilateralmente	Más o menos simétrica bilateralmente	Más o menos simétrica bilateralmente
Lesión bronquial	Sin evidencias de pus	Abundante exudado purulento Bronquiectasias	Exudado mucopurulento
Sección de corte	Entre seco y ligeramente húmedo	Seco	Ligeramente húmedo
Posibles lesiones particulares	Focos necróticos	Focos necróticos	Enfisema (lobular, interlobular, subpleural)
	Pleuritis focal o difusa generalmente severa	Pleuritis focal o difusa	Atelectasia
	Septos interlobulares distendidos con edema o fibrina		
Causas principales	Bacterias, pero virus posibles como agentes iniciadores	Bacterias, pero virus posibles como agentes iniciadores	Principalmente, virus respiratorios como el VRSB Posibles bacterias como la Salmonella

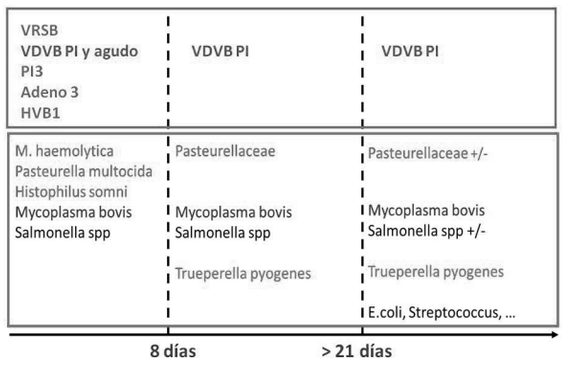


Figura 1: Esquema de la probabilidad de la detección de los principales patógenos respiratorios durante el curso de la Enfermedad Respiratoria Bovina

ENGLISH VERSION ▼

Diagnosis of Infectious Bovine Respiratory Disease (IBRD): a major contribution of post mortem examination?

F. Schelcher [1] [2], C. Lacroux [1] [2]
(1) Université de Toulouse, INP, ENVT, Pathologie des ruminants, F-31076 Toulouse
(2) INRA, UMR 1225 Interactions Hôtes – Agents Pathogènes, F-31076 Toulouse

Infectious respiratory diseases are among the most costly and the most studied bovine disorders in North America and Europe. It affects beef, dairy and feedlot production. In meat production systems, Infectious Bovine Respiratory Disease (IBRD) has a negative impact on the growth performance (Gardner et al 1999), final carcass traits (Garcia et al 2010) (Holland et al 2010) and profitability (Pinchak et al 2004).

IBRD is caused by one or more pathogens acting alone or in combination. Numerous aspects of husbandry (animal stress, feeding, housing etc.) determine occurrence and severity of IBRD.

The potentially involved pathogens are numerous and their prevalence depends on the production system and the geographic location (e.g BoHV-1 and BVDV have been virtually eradicated in certain regions of Europe):

- Viruses – *Bovine Respiratory Syncytial Virus* (BRSV); *Parainfluenza*-3 virus (PI3V); *Bovine Herpes virus 1* (BoHV-1); *Bovine Viral Diarrhoea virus* (BVDV); *Bovine Respiratory Coronavirus* (BCoV), Mastadenoviruses etc
- Bacteria – *Mannheimia haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Histophilus somni*, *Mycoplasma bovis*, *Salmonella*, *Trueperella pyogenes,* etc.
- Nematodes – *Dictyocaulus viviparus*, migrating larvae of *Strongyloïdes papillosus.*
- Fungi (occasionally) – *Aspergillus fumigatus,* etc.

IBRD diagnosis can be divided into two steps (i) diagnosis of a respiratory syndrome based on clinical examination and/or post-mortem examination and (ii) diagnosis of the specific involved pathogens based on laboratory data.

To determine the causes of an outbreak of BRD, major diagnostic approaches have comparative advantages and disadvantages (table 1).

The aim of the lecture is to present how clinical illness and gross lesions can be used to predict the involvement of specific pathogens in BRD outbreaks.

1. Relevance and limitations of clinical examination

Diagnostic value of clinical examination in the field depends clearly on the objectives (identifying the respiratory syndrome vs involved pathogens) and on the methods and tools (visual inspection, auscultation, ultrasonography, and automated devices for recording physiological parameters).

1.1. Identifying the respiratory syndrome

Clinical BRD suspicion made by stockmen relies on visual observation of signs including depression, nasal discharge, coughing, increased respiratory rate, anorexia and/or lack of rumen fill. Decision to treat most often combines visual observations and high rectal temperature (> 39.7°c or > 40°C) (Apley 2006). Clinical illness scores are commonly used in the quantification of disease severity.

Performance of clinical observations for diagnosing BRD in post-weaned beef calves has been estimated using a Bayesian method in absence of gold standard, and on the basis of results issued from published clinical controlled studies in feedlot (White et al 2009). Estimated diagnostic sensitivity and specificity of the clinical approach were low, respectively 62% and 63%.

Clinical illness scores based on visual observation have been evaluated 2 days before necropsy, in relation to pulmonary consolidation scores assigned at post mortem examination, in Holstein calves (n= 178) experimentally challenged with *Mycoplasma bovis* (Amrine et al 2013). Agreement among observers was low (κ=0.16; CI 95% 0.10 to 0.24). Median sensitivity for all observers ranged from 81.7% to 98.9% and median specificity from 80.8% to 94.9%. Accuracy increased with the severity of lung consolidation.

Visual observation has clear limitations in the reliability of detection of lung lesions.

In cattle, data on diagnostic value of thoracic auscultation to detect lung lesion are surprisingly scarce.

A field study has been performed on preweaned dairy calves comparing illness scores, thoracic auscultation and ultrasonography (Buczinski et al 2014). Detection of abnormal lung sounds defined as crackles, wheezes, pleural friction rubs or absence of respiratory noises was of limited value in diagnosing lung consolidation. Ultrasonographic assessment of the thorax was a useful tool to diagnose BRD.

In individual medicine combination of visual observation, thoracic auscultation and ultrasonography allows to differentiate upper respiratory tract lesions (including rhinitis, laryngitis, rhino-tracheitis), bronchopneumonia, and non-lung thoracic medical conditions as pleural empyema or heart illness.

Clinical signs are often detected late in the course of BRD, leading to a delayed diagnosis, which is one of the main reasons of treatment failure.

Different devices and methods were evaluated for early recognition of BRD and for automated monitoring.

Changes in behaviour (for a review see Weary et al 2009) such as feeding (Sowell et al 1999), drinking (Basarab et al 1997), or activity evaluated by pedometers or accelerometers (Hanzlicek et al 2010) have been assessed.

Core temperature can be evaluated by recording rumen temperature (Rose- Dye et al 2010) (Timsit et al 2010) or by infrared thermography (Schaefer et al 2007) (Schaefer et al 2012).

Cough sounds have been monitored and analysed through automatic devices, and can be differentiated from metal rack sounds, which are very common sounds in cattle farming (Ferrari et al 2010).

These methods have given some promising results but need to be assessed at a large scale in field studies.

1.2. Clinical signs and pathogens

Respiratory signs are usually considered of weak predictive value for causal pathogens.

For example, clinical course was compared in calves experimentally infected either by *Dictyocaulus viviparus* or BRSV. In lungworm illness, the clinical signs (coughing, nasal discharge, tachypnoea, abdominal breathing, pyrexia, increased bronchial sounds at chest auscultation) were similar to those observed after infection with BRSV (Verhoeff et al 1988).

Association with non-respiratory clinical signs can be suggestive of specific pathogens, but cannot be considered as pathogno-

monic. For example in feedlot, arthritis is commonly due to *Mycoplasma bovis* infection. Nervous signs of encephalitis observed in conjunction of BRD are suggestive of *Histophilus somni* infection.

2. Relevance and limitations of post mortem examination

The goals of necropsy are to identify gross lesions and to perform sampling for respiratory pathogens identification.

2.1. Diagnostic value of gross lesions

Several classifications of lung lesions have been proposed (see recent reviews of Panciera et al 2010 and Caswell et al 2012).

To interpret pneumonic lesions it should be kept in mind that the type of lesion is determined by the inciting causative pathogen(s) and its (their) virulence factors, and by the host response (inflammation, immunity). In addition, lesion characteristics are highly dependent on the acute or chronic course of illness, as well as the types of treatments before death.

For diagnostic orientation, there are basically two major types of lung lesions easily defined on histologic appearance: broncho-alveolar lesions and interstitial or broncho-interstitial lesions. Main characteristics are described in table 2.

Gross lesions of the respiratory tract, in some cases, allow per se and with good reliability the identification of the primary cause or mechanism.

Necrotic or purulent laryngitis are mainly symmetric, localised lesions but may be sometimes diffuse. Calf diphtheria is caused by *Fusobacterium necrophorum*. In some cases other pathogenic agents can be detected (*Histophilus somni*, *Trueperella pyogenes*...).

Rhino –laryngo – tracheitis with diffuse or localised ulceration and fibrino-purulent exudate is highly predictive of BoHV1 (IBR virus) infection. However these lesions have to be differentiated from expectorated plugs of fibrin and purulent exudate, coming from bacterial bronchopneumonia. In this latter case the exudate is easily wiped from the tracheal mucosa, whereas in cases of IBR, exudate is firmly adherent to the mucosa. Another differential diagnosis concerns aspiration in the tracheobronchial tree of caustic substances, leading to the so called aspiration pneumonia with at the earlier stages an ulcerative tracheitis.

Lungworm infection is easily diagnosed by observation of adult *Dictyocaulus viviparus* worms that reside preferentially in the caudal bronchi. In rare cases of *Dictyocaulus* pneumonia, only very few adult worms are detected. Great numbers of migrating larvae during the prepatent phase of the cycle can therefore be responsible for a diffuse interstitial pneumonia, easily recognised by histologic examination.

Lobar fibrinous pleuro-bronchopneumonia with necrotic foci in consolidated areas is quite pathognomonic of *Mannheimia haemolytica* infection. Fibrinous exudation is usually heavy on pleural surface and in interlobular walls. Necrotic foci are large, irregularly shaped (geographic map), sublobular, red or pink and outlined by a white line representing accumulation of leucocytes, and neither raised or friable (Gagea et al 2006). Elementary lesions are easily explained by the virulence factors of *M. haemolytica*.

Lobular and suppurative bronchopneumonia with caseonecrotic foci in consolidated areas is highly predictive of a *Mycoplasma bovis* infection. The so-called caseo-necrotic foci are sometimes multifocal, big (2 to 3 cm), white, circular and raised nodules, with friable or crumbly material (Gagea et al 2006). Pathogenesis of the lesion and involved virulence factors of *Mycoplasma bovis* are not currently understood.

Multiple necrotic, small (2 to 3 mm), grey or yellow foci, with sometimes a congestive rim, detectable in all the lobes in particular the caudal lobes is quite pathognomonic of an *Aspergillus* spp infection. This lesion is almost always observed in calves.

Few or numerous haemorrhagic or purulent nodules of variable size and distributed throughout all lung lobes is predictive of thromboembolic pneumonia. In contrast, cranioventral location of the abscesses is consistent with a suppurative bronchopneumonia.

Observation of 1-40 mm of diameter granulomatous foci usually circumscribed, containing white to pale-yellow caseous material with sometimes foci of mineralisation and located in the pulmonary lymph nodes but sometimes in the lungs, the pleura or in other organs, has to lead to a tuberculosis (*Mycobacterium bovis*) suspicion. In numerous cases, histopathologic examination allows differentiation between tubercles and other granulomatous infectious (bacteria or fungi) lesions or metastatic neoplasic lesions. Isolation and PCR diagnosis complete laboratory investigation.

2.2. Sampling for laboratory diagnosis

In some to numerous instances gross lesions are not sufficient *per se* to conclude to a specific causal pathogen.

Post mortem examination allows sampling for histopathology and for microbiologic *lato sensu* investigations.

Selection of animals for sampling is the first theoretical step. Unfortunately in the field and in small herds or lots choice is very limited because very few if any bovine decease.

Selected animals should be representative of the illness problem, according to clinical course, age and pen grouping.

Selected animals should be examined and sampled at the onset of clinical illness (figure 1). Experimental and field studies suggest that viruses (with the notable exception of persistently infected bovines by the BVD virus) are present for only a few days in the respiratory tract after onset of clinical illness. Moreover in feedlot, infection by *M. haemolytica*, *H. somni* and *M. bovis*, using immunochemistry, was detected respectively in 80%, 20% and 50 to 60% of the lungs of cattle dying of peracute to acute pneumonia and in 40%, 30% and 90% in cattle dying of chronic pneumonia (Booker et al 2008). In most instances sampling for laboratory investigation at a chronic stage of the respiratory disease should be avoided.

If identification of bacterial pathogens and their antimicrobial susceptibility have to be carried out, animals not treated with antibiotics should be sampled.

Conclusion

In numerous cases post mortem examination has a huge diagnostic value. Accurate type, severity and duration of lesions can be defined. This investigation method has good cost effectiveness. Moreover it has a strong educational value for stockmen and caretakers.

Summary

Routine investigation of BRD should be comprehensive allowing identification of common but also unexpected diseases. Clinical examination as performed by feedlot stockmen has a relatively low sensitivity and specificity. Pathologic and laboratory investigations are necessary in situations in which a specific diagnosis or identification of the cause is required. Necropsy findings suggest lung disease patterns based on distribution, morphologic nature and duration of lesions. In numerous instances these patterns are sufficiently specific to predict main causative agent with a strong reliability. To be useful, sampling process at post mortem examination should be performed on representative animals and at the onset of illness.

Key words: bovine, respiratory disease, pathology, clinical examination

References

1. Amrine DE, White BJ, Larson R, Anderson DE, Mosier DA, Cernicchiaro N. Precision and accuracy of clinical illness scores, compared with pulmonary consolidation scores, in Holstein calves with experimentally induced Mycoplasma bovis pneumonia. Am J Vet Res. 2013;74(2):310-5.
2. Apley M. Bovine respiratory disease: pathogenesis, clinical signs, and treatment in lightweight calves. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2006;22(2):399-411
3. Basarab JA, Milligan D, Hand R, Hutsma C. Automatic monitoring of watering behaviour in feedlot steers: potential use in early detection of respiratory disease and in predicting growth performance. Can J Anim Sci. 1997;77:554
4. Booker CW, Abutarbush SM, Morley PS, Jim GK, Pittman TJ, Schunicht OC, Perrett T, Wildman BK, Fenton RK, Guichon PT, Janzen ED. Microbiological and histopathological findings in cases of fatal bovine respiratory disease of feedlot cattle in Western Canada. Can Vet J. 2008;49(5):473-81.
5. Buczinski S, Forté G, Francoz D, Bélanger AM. Comparison of thoracic auscultation, clinical score, and ultrasonography as indicators of bovine respiratory disease in preweaned dairy calves. J Vet Intern Med. 2014;28(1):234-42.
6. Caswell JL, Hewson J, Slavić Đ, DeLay J, Bateman K. Laboratory and postmortem diagnosis of bovine respiratory disease. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2012;28(3):419-41.
7. Ferrari S, Piccinini R, Silva M, Exadaktylos V, Berckmans D, Guarino M. Cough sound description in relation to respiratory diseases in dairy calves. Prev Vet Med. 2010;96(3-4):276-80.
8. Gagea MI, Bateman KG, Shanahan RA, van Dreumel T, McEwen BJ, Carman S, Archambault M, Caswell JL. Naturally occurring Mycoplasma bovis-associated pneumonia and polyarthritis in feedlot beef calves. J Vet Diagn Invest. 2006;18(1):29-40.
9. Garcia MD, Thallman RM, Wheeler TL, Shackelford SD, Casas E. Effect of bovine respiratory disease and overall pathogenic disease incidence on carcass traits. J Anim Sci. 2010;88(2):491-6.
10. Gardner BA, Dolezal HG, Bryant LK, Owens FN, Smith RA. Health of finishing steers: effects on performance, carcass traits, and meat tenderness. J Anim Sci. 1999;77(12):3168-75.
11. Hanzlicek GA, White BJ, Mosier D, Renter DG, Anderson DE. Serial evaluation of physiologic, pathological, and behavioral changes related to disease progression of experimentally induced Mannheimia haemolytica pneumonia in postweaned calves. Am J Vet Res. 2010;71(3):359-69.
12. Holland BP, Burciaga-Robles LO, VanOverbeke DL, Shook JN, Step DL, Richards CJ, Krehbiel CR. Effect of bovine respiratory disease during preconditioning on subsequent feedlot performance, carcass characteristics, and beef attributes. J Anim Sci. 2010;88(7):2486-99.
13. Panciera RJ, Confer AW. Pathogenesis and pathology of bovine pneumonia. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2010;26(2):191-214
14. Pinchak WE, Tolleson DR, McCloy M, Hunt LJ, Gill RJ, Ansley RJ, Bevers SJ. Morbidity effects on productivity and profitability of stocker cattle grazing in the Southern Plains. J Anim Sci. 2004;82(9):2773-9.
15. Rose-Dye TK, Burciaga-Robles LO, Krehbiel CR, Step DL, Fulton RW, Confer AW, Richards CJ. Rumen temperature change monitored with remote rumen temperature boluses after challenges with bovine viral diarrhea virus and Mannheimia haemolytica. J Anim Sci. 2011;89(4):1193-200.
16. Schaefer AL, Cook NJ, Church JS, Basarab J, Perry B, Miller C, Tong AK. The use of infrared thermography as an early indicator of bovine respiratory disease complex in calves. Res Vet Sci. 2007;83(3):376-84.
17. Schaefer AL, Cook NJ, Bench C, Chabot JB, Colyn J, Liu T, Okine EK, Stewart M, Webster JR. The non-invasive and automated detection of bovine respiratory disease onset in receiver calves using infrared thermography. Res Vet Sci. 2012;93(2):928-35.
18. Sowell BF, Branine ME, Bowman JG, Hubbert ME, Sherwood HE, Quimby W. Feeding and watering behavior of healthy and morbid steers in a commercial feedlot. J Anim Sci. 1999;77(5):1105-12.
19. Timsit E, Assié S, Quiniou R, Seegers H, Bareille N. Early detection of bovine respiratory disease in young bulls using reticulo-rumen temperature boluses. Vet J. 2011;190(1):136-42
20. Verhoeff J, Wierda A, Boon JH. Clinical signs following experimental lungworm infection and natural bovine respiratory syncytial virus infection in calves. Vet Rec. 1988;123(13):346-50.
21. Weary DM, Huzzey JM, von Keyserlingk MA. Using behavior to predict and identify ill health in animals. J Anim Sci. 2009;87(2):770-7.
22. White BJ, Renter DG. Bayesian estimation of the performance of using clinical observations and harvest lung lesions for diagnosing bovine respiratory disease in post-weaned beef calves. J Vet Diagn Invest. 2009;21(4):446-53.

Table 1: Major advantages and disadvantages of diagnostic approaches to investigate an outbreak of Bovine Respiratory Disease

Diagnostic approach		Advantages	Disadvantages
Live animals			
	Clinical examination	Rapid test results First step of diagnosis	Very low predictive value for pathogens
	Pathogens detection (sampling : nasal swab, trans-tracheal wash, broncho-alveolar lavage)	Rapid test results Reliability of results for causal relationship	Viral infections are transient Bacterial isolates of nasal samples could be of dubious significance Some sampling techniques (eg broncho-alveolar lavage) requires specific skills Testing of multiple samples may be expensive
	Rise in serum antibody titers	Multiple animals tested makes the results relevant to the herd problem Retrospective method less stage of illness -dependent than direct methods of testing	Requires paired serum samples (initial and convalescent) so results are not available before 3 to 4 weeks after beginning of the outbreak Low reliability in calves under 3 to 6 months old, with maternal-derived antibodies interfering with active seroconversion No commercial kits available for some pathogens
Dead animals			
	Post mortem examination	Gross and microscopic lesions are usually suggestive, and in some cases may be highly predictive, of pathogens Highly sensitive and specific for the respiratory disease Good assessment of illness duration and severity scoring	Few animals concerned Dead animals are not always representative of the herd problem
	Pathogens detection	Lung and trachea are easily sampled and are often ideal samples for laboratory diagnosis	Death may occur at subacute or chronic stages of disease when viruses are no longer present Treatment with antibiotics before death preclude isolation of bacteria and could result in misleading antimicrobial sensitivity data

Table 2: Main Characteristics of broncho-alveolar and interstitial or broncho-interstitial pneumonia

	Broncho-alveolar		Interstitial or broncho-interstitial
Characteristic	**Acute**	**Chronic**	
Volume	Significantly increased	normal to slightly increased	normal to slightly increased
Texture (palpation)	hard (liver-like)	moderately firm	slightly firm, rubbery
Distribution	cranioventral	cranioventral	cranioventral to generalized
	more or less bilaterally symmetric	more or less bilaterally symmetric	More or less bilaterally symmetric
Bronchial lesion	no frank pus	heavy purulent exudate bronchiectasia	mucopurulent exudate
Cut section	dry to slightly wet	dry	slightly wet
Possible particular lesions	necrotic foci	necrotic foci	emphysema (lobular, interlobular, subpleural)
	focal or diffuse pleuritis usually severe	focal or diffuse pleuritis	atelectasia
	Interlobular septa distended with edema or fibrin		
Major causes	bacteria but possible viruses as initiating agents	bacteria but possible viruses as initiating agents	mainly respiratory viruses such as BRSV possible bacteria such as Salmonella

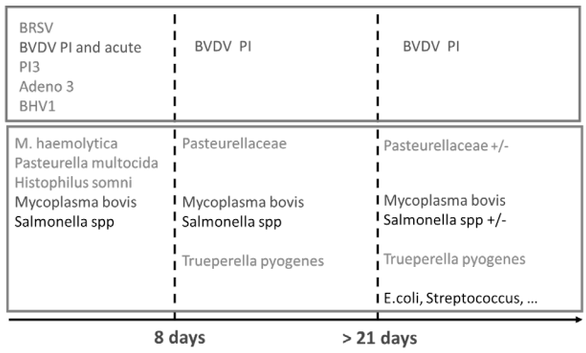


Figure 1: Schematic probability of main respiratory pathogens detection during the course of Bovine Respiratory Disease

INFLUENCIA NEGATIVA DE ALGUNAS MICOTOXINAS EN EL GANADO VACUNO LECHERO Y SU REPERCUSIÓN EN LA SALUD HUMANA COMO CONTAMINANTES EN LECHE

Agustín Ariño
Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza, España

1. Introducción

Las micotoxinas son metabolitos secundarios tóxicos producidos por hongos, en especial algunas especies pertenecientes a los géneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium* y *Claviceps*. Los hongos son ubicuos y la formación de micotoxinas puede ocurrir en campo en muchos productos agroalimentarios en condiciones favorables o durante el almacenamiento, en toda la cadena de suministro de alimentos para animales. La contaminación es dependiente en gran medida de factores agronómicos y ambientales tales como la temperatura, humedad y precipitaciones. La reciente aparición de altos niveles de aflatoxina B1 en Europa (principalmente en el maíz) también subraya el hecho de que el cambio climático puede suponer un cambio en los patrones actuales de distribución de las micotoxinas. La mayoría de las micotoxinas son muy estables químicamente y una vez formadas en una materia prima continuarán contaminándola, así como los piensos fabricados a partir de dicho producto. En cuanto a la alimentación animal, seis micotoxinas (aflatoxinas, ocratoxina A, zearalenona, deoxinivalenol, fumonisinas y los alcaloides del cornezuelo del centeno) están legisladas por la normativa comunitaria (mediante Reglamento o Recomendación), por lo que tienen mayor interés.

Muchos factores contribuyen a la contaminación de piensos y forrajes con micotoxinas y la subsiguiente exposición de los animales. Dos factores importantes son la modificación genética de cultivos para conferir resistencia al ataque de insectos (i.e., taladro del maíz) y el manejo en la granja de los alimentos para el ganado. El maíz Bt modificado genéticamente es eficaz en la reducción de la incidencia de la contaminación por fumonisinas, que están altamente relacionadas con daño por insectos, pero menos eficaz en la reducción de la contaminación por aflatoxinas o deoxinivalenol. La manipulación incorrecta de lotes y las malas condiciones de almacenamiento pueden tener una gran influencia en el grado de contaminación por micotoxinas de los piensos. El almacén de granos con un contenido apropiado de humedad, la inspección regular de la temperatura del grano, la vigilancia de insectos y puntos calientes son medidas que limitan la posibilidad de desarrollo de hongos en los alimentos y piensos.

El problema principal asociado con la contaminación por micotoxinas en alimentos para animales no son los episodios de enfermedad aguda, sino la exposición crónica a bajas concentraciones que puede causar una serie de trastornos metabólicos que resultan en baja productividad, así como la transferencia de toxinas a los productos de origen animal. Es importante conocer el destino metabólico de las micotoxinas después de la ingestión, así como la contaminación de los productos de origen animal con micotoxinas o sus productos metabólicos, debido a las importantes implicaciones para la salud pública. En este sentido, la transferencia de aflatoxina a la leche y de ocratoxina A a la carne y vísceras son los temas de mayor preocupación. La evidencia disponible sugiere que la acumulación de aflatoxina o de sus metabolitos en tejidos es muy baja y que los contaminantes se eliminan en pocos días. Sin embargo, los animales son eliminadores eficaces de toxinas con la leche, que es el producto animal con más probabilidad de estar contaminado con aflatoxinas. Por ejemplo, el metabolito hidroxilado de la aflatoxina B1, llamado aflatoxina M1, se excreta en la leche a una tasa del 1 a 6 % de la ingesta dietética.

En general, hay una serie de medidas que se pueden tomar para reducir al mínimo la contaminación por micotoxinas en los alimentos de origen animal y éstas implican la prevención de la proliferación de hongos y por lo tanto la formación de micotoxinas, y las estrategias para reducir o eliminar las micotoxinas de los productos contaminados, especialmente mediante aditivos para alimentación animal. Para descontaminar y / o detoxificar alimentos contaminados con micotoxinas, el enfoque más frecuente en la industria de la alimentación animal es la inclusión de materiales absorbentes obteniendo así la eliminación más o menos selectiva de toxinas por adsorción durante el paso a través del tracto gastrointestinal. Estos agentes previenen la absorción intestinal de las micotoxinas, reduciendo o incluso eliminando sus efectos tóxicos. Otro método fiable es añadir enzimas o microorganismos capaces de descontaminar algunas micotoxinas.

2. Aflatoxinas

Las aflatoxinas son un grupo de micotoxinas producidas principalmente por dos especies del hongo *Aspergillus*: *A. flavus* y *A. parasiticus*. Entre las aflatoxinas de origen natural (B1, B2, G1 y G2), la aflatoxina B1 es el compuesto más importante con respecto a la prevalencia y la toxicidad para el hombre y los animales. La aflatoxina B1 es claramente genotóxica y se considera que es un carcinógeno humano (clasificado por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC), en el grupo 1). La leche puede contaminarse con su metabolito hidroxilado aflatoxina M1 (clasificado como 2B, posiblemente carcinógeno en humanos) tras la exposición de animales productores de leche a la aflatoxina B1 presente en los piensos.

Las aflatoxinas son producidas pre - y post-cosecha en determinadas condiciones de temperatura, actividad de agua y disponibilidad de nutrientes, y se pueden encontrar en diversos productos agrícolas de las regiones tropicales y subtropicales. Con respecto a los alimentos importados se considera que las principales fuentes de aflatoxina B1 son: extracto de copra, torta de cacahuete, de girasol, de palma, de babasú y de semilla de algodón, soja, gluten de maíz, germen de maíz y salvado de arroz. La contaminación primaria de los cultivos agrícolas en Europa no ha sido considerada un problema durante muchos años. Sin embargo, la contaminación por aflatoxinas se ha reportado recientemente en el maíz cultivado en todo el sudeste de Europa debido a condiciones favorables, tales como altas temperaturas, sequía y fuertes daños por insectos, dando un giro a los acontecimientos, posiblemente influenciado por los cambios en el clima y las prácticas agrícolas. Esto ha culminado en cantidades relativamente altas de aflatoxinas en las últimas cosechas de maíz y en los piensos deri-

vados, dando como resultado tasas de aflatoxina M1 en muestras de leche por encima del límite legal.

El Reglamento CE No 1881/2006 establece límites máximos de micotoxinas en diversos productos alimenticios derivados de plantas susceptibles, así como en la leche. Se han fijado niveles máximos para la aflatoxina B1 y para el total de aflatoxinas (B1, B2, G1 y G2) en cereales, cacahuetes, nueces, semillas oleaginosas, frutos secos y especias. La UE aplica un nivel máximo de 0,05 µg de aflatoxina M1/kg leche (0,025 µg/kg para los alimentos infantiles), mientras que la Comisión del Codex Alimentarius adoptó un límite muy superior para la aflatoxina M1 en la leche, de 0,5 µg /kg.

Asimismo, la legislación vigente de la UE para aflatoxina B1 en los piensos (Reglamento UE n º 574/ 2011, que modifica el anexo I de la Directiva 2002/32/CE) es estricta, ya que las materias primas para piensos tienen que cumplir con un nivel máximo de 20 µg/kg y los piensos complementarios y completos con 10 µg/kg, mientras que el nivel máximo de aflatoxina B1 en los piensos compuestos para el ganado lechero se ha fijado en 5 µg /kg. Sin embargo, se puede observar que algunas materias primas para alimentación animal regularmente exceden el nivel de aflatoxina B1 de 20 µg/kg, lo que dará como resultado que cantidades significativas de algunos de estos productos de alimentación sólo se puedan utilizar para la alimentación animal después de un tratamiento eficaz de descontaminación.

La aflatoxina B1 es una potente toxina aguda en varias especies animales, siendo el hígado el principal órgano diana. Los signos clínicos en los animales asociados a la exposición a las aflatoxinas, incluyen anorexia, ictericia, depresión, pérdida de peso, secreción nasal, afecciones gastrointestinales, hemorragias, ascitis y edema pulmonar. La especie bovina es generalmente menos sensible en comparación con los no rumiantes, porque las aflatoxinas son parcialmente degradadas por la microbiota ruminal. En el ganado bovino, los signos clínicos se han producido después de la exposición a elevadas concentraciones de 1,5 a 2,2 mg/kg de alimento. La disminución de la producción de leche de los animales expuestos, y un efecto fotosensibilizante pueden preceder a los síntomas clínicos graves de intoxicación. Las aflatoxinas tienen un efecto inmunosupresor a un nivel sub-clínico de intoxicación, haciendo a los animales más susceptibles a las infecciones bacterianas, virales, micóticas y parasitarias. Los estudios experimentales y de campo indican que la exposición a largo plazo a concentraciones relativamente bajas de aflatoxinas puede causar fibrosis y tumores hepáticos.

Los cálculos del modelo de transferencia de las aflatoxinas presentes en los piensos a la leche revelaron que la cantidad excretada de aflatoxina M1 en la leche de las vacas lecheras representa el 1-2% de la aflatoxina B1 ingerida con el pienso. Esta tasa de transferencia, sin embargo, puede variar en cada animal, de día a día y de un ordeño al siguiente, ya que está influenciada por diversos factores (pato-)fisiológicos, incluyendo el régimen de alimentación, estado de salud y la capacidad de biotransformación individual, y, finalmente, por el volumen de producción de leche. En bien sabido que en vacas lecheras de alto rendimiento la tasa de transferencia puede aumentar hasta 6,2%, lo que puede resultar en concentraciones de aflatoxina M1 en leche que excedan los límites actuales de la UE.

3. Ocratoxina A

La ocratoxina A es una micotoxina producida por varios hongos de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, principalmente *P. verrucosum* en climas templados y *A. ochraceus* en regiones cálidas. Las materias primas para piensos más susceptibles a esta micotoxina son los cereales (centeno, cebada, maíz y trigo) y en menor grado los cacahuetes y la soja. Por lo general la producción de ocratoxina A ocurre durante el almacenamiento, por lo que el control de la formación de la toxina requiere un secado adecuado de los granos antes de su almacenamiento en condiciones controladas. La Recomendación de la Comisión 2006/576/CE establece un valor orientativo de 0,25 mg/kg de ocratoxina A en cereales y productos de cereales utilizados como materias primas para piensos.

La ocratoxina A es una potente toxina renal, y también es inmunotóxica y teratogénica pero por lo general a dosis más altas que las nefrotóxicas. Se clasifica como grupo 2B (posiblemente carcinogénico para los humanos) por la IARC. Los rumiantes son menos sensibles debido a la degradación de ocratoxina A a la menos tóxica ocratoxina α por la microbiota del rumen. La acumulación de ocratoxina A se produce en la sangre, el hígado y el riñón, y concentraciones significativamente más bajas se encuentran en el tejido muscular, la grasa y la leche. La transferencia de la ocratoxina A a la leche se ha demostrado en animales monogástricos. Esta micotoxina también se ha encontrado en la leche bovina en bajas concentraciones, lo que indica que pequeñas cantidades pueden escapar el metabolismo del rumen, y son absorbidas. La evaluación de la exposición dietética total indica que la contribución global de productos de origen animal a la exposición humana a ocratoxina A generalmente no supera el 3 - 10%.

Como se indicó anteriormente, los rumiantes son considerados menos sensibles a la toxicidad de la ocratoxina A. Sin embargo, en terneros pre - rumiantes alimentados con 0,1 - 2 mg de ocratoxina A / kg de peso corporal durante 30 días, se observó poliuria y enteritis leve, así como leve degeneración tubular renal. Vacas adultas que recibieron dosis orales de ocratoxina A entre 0,2 y 1,66 mg/kg de peso corporal durante 4 días permanecieron clínicamente normales; una sola vaca que ingirió una dosis de 13,3 mg/kg de peso corporal desarrolló diarrea, anorexia y cesación de la producción de leche.

4. Deoxinivalenol y otros tricotecenos

Deoxinivalenol (DON, vomitoxina) es una micotoxina producida por varios hongos de campo, incluyendo *Fusarium graminearum* y *Fusarium culmorum*. La toxina, un tricoteceno tipo B, es común en cereales, particularmente en el trigo, el maíz y la cebada. DON se produce pre-cosecha en los cultivos, en lugar de ser un contaminante de almacenamiento, y casi siempre aparece simultáneamente con otras toxinas de *Fusarium*, tales como zearalenona, nivalenol y fumonisinas. La Recomendación de la Comisión 2006/576/CE establece valores orientativos de 8-12 mg / kg de DON en las materias primas, y 5 mg / kg para los piensos complementarios y completos.

Los estudios sobre la molienda de trigo y maíz contaminados mostraron que DON se concentra en subproductos, siendo a menudo destinados a la alimentación animal. DON se concentró por un factor de 2 - 5 en el salvado de trigo y con un factor de 2 en harina de trigo para alimentación animal. Después de la molienda seca de maíz, gran parte de DON termina en la harina de germen de maíz. En contraste, la molienda en húmedo produce concentraciones de DON similares a los del maíz original en las fracciones de gluten y germen, y se concentra en la fracción de fibra y licor de maíz fermentado. DON también se acumula en las cáscaras y granos dañados y rotos que se separan durante el cribado y limpieza de los granos de cereales, que se utilizan a veces como piensos.

No hay evidencia de teratogenicidad y genotoxicidad de DON y sus metabolitos. En los animales domésticos, la exposición a DON resulta en pérdida de apetito, rechazo de alimento y vómitos, acompañado con una disminución en la ganancia de peso. Los cerdos se han identificado como la especie animal más sen-

sibles con respecto a estos efectos adversos. Con respecto al ganado vacuno, sólo están disponibles unos pocos estudios de alimentación con vacas lecheras, resultando en una disminución temporal leve en el consumo del concentrado, sin efectos significativos sobre la ganancia de peso y producción de leche, ni signos de enfermedad. Después de la absorción, DON se metaboliza rápidamente produciendo productos menos tóxicos. La transferencia de DON y sus metabolitos a los tejidos comestibles, la leche y los huevos es muy baja. Por lo tanto, los productos de origen animal no contribuyen significativamente a la exposición humana. El traspaso de DON a la leche se ha investigado en diferentes estudios en los que ni DON ni sus metabolitos o conjugados fueron detectados en la leche de vaca.

Las micotoxinas T-2 y HT-2 son tricotecenos tipo A producidos por varias especies de *Fusarium* (*F. langsethiae, F. sporotrichioides*) que se encuentran en los cereales y productos a base de cereales, principalmente en la avena y la cebada. En general, las especies de *Fusarium* crecen e invaden los cultivos en condiciones húmedas y frías. Hay algunas pruebas de formación de T- 2 y HT- 2 en ensilado de maíz, aunque los niveles son generalmente bajos. En rumiantes, las exposiciones estimadas en base a los datos disponibles de contaminación indican que es poco probable que estas toxinas sean un problema de salud. La transferencia de los tricotecenos T-2 o HT-2 de los piensos a los alimentos de origen animal no es una gran preocupación ya que no hay evidencia de acumulación de dichas toxinas en los tejidos de animales o en la leche, ya que la tasa de transferencia es muy baja.

En general, los rumiantes son considerados menos sensibles a los efectos de las toxinas T-2 y HT-2, debido a la capacidad de desintoxicación del rumen. Por lo tanto, los animales jóvenes, en los que el rumen no está completamente desarrollado, pueden ser más susceptibles a sus efectos tóxicos. La exposición a ≥ 0,3 mg de toxina T-2/kg de peso corporal por día puede resultar en lesiones gastrointestinales y alteraciones hematológicas en terneros.

5. Zearalenona

La zearalenona (ZON) es una micotoxina producida por varios hongos de campo, incluyendo *Fusarium graminearum* y *Fusarium culmorum*. La toxina es común en el maíz y productos de maíz, pero se puede encontrar en la soja y diversos cereales y granos y sus productos derivados. Por otra parte, la zearalenona puede ocurrir en forrajes, heno y paja, resultando en una exposición adicional de los animales a través de los alimentos fibrosos y la cama. La Recomendación de la Comisión 2006/576/CE establece valores orientativos de 2-3 mg/kg de ZON en las materias primas para piensos y 0,5 mg/kg para los piensos complementarios y completos para ganado lechero.

En los animales domésticos, como en todas las especies de mamíferos, la zearalenona interactúa con los receptores de estrógenos, lo que resulta en un hiperestrogenismo, incluyendo reducción de la fertilidad. Los rumiantes muestran una capacidad de respuesta inferior a la zearalenona. Los efectos de la zearalenona en novillas y vacas lecheras sólo se han examinado en algunos estudios, revelando desviaciones de menor importancia en el ciclo estral. Debido a la rápida biotransformación y excreción de zearalenona en los animales, se estima que la exposición humana resultante del consumo de carne, leche y huevos es muy baja.

6. Fumonisinas

Las fumonisinas son un grupo de micotoxinas producidas por diversos hongos de campo, incluyendo *Fusarium verticillioides* y *Fusarium proliferatum*. La fumonisina B1 se considera que es el derivado más frecuente y más tóxico dentro del grupo de las fumonisinas. Las fumonisinas se producen sobre todo en el maíz y los productos derivados del maíz. Los alimentos a base de maíz y el maíz se utilizan ampliamente en la alimentación de animales de granja, como granos de maíz, ensilaje de maíz (planta entera, mezcla la mazorca de maíz, rastrojo de maíz) y productos de las industrias de molienda y refinado, como el aceite de maíz, gluten de maíz, harina de germen maíz y salvado de maíz. La Recomendación de la Comisión 2006/576/CE establece valores orientativos de 60 mg/kg para la suma de las fumonisinas B1 y B2 en el maíz como materia prima para piensos, y 50 mg / kg para los piensos complementarios y completos para los rumiantes adultos.

La fumonisina B1 es un inhibidor prototípico de la esfinganina N-acetiltransferasa, provocando cambios metabólicos en la relación esfingosina/esfinganina. Se clasifica como grupo 2B (posiblemente carcinogénico para los humanos) por la IARC. Las especies equina y porcina se consideran más sensibles a las fumonisinas, desarrollando síndromes clínicos específicos, como leucoencefalomalacia equina y edema pulmonar porcino. Los rumiantes muestran una sensibilidad baja a las fumonisinas. Sin embargo, en contraste con muchas otras micotoxinas, FB1 se degrada de forma incompleta por la microbiota ruminal. Los signos de intoxicación en el ganado vacuno, ovino y caprino expuestos a fumonisinas en materias primas contaminadas, incluyen el consumo disminuido de alimento y menor producción de leche.

Los datos disponibles sobre la transferencia de fumonisinas de alimentos para animales a los tejidos comestibles, incluidos la leche y los huevos, indican que la transferencia es muy limitada, y por lo tanto las cantidades traza en los tejidos animales no contribuyen de manera significativa a la exposición humana total.

7. Alcaloides del cornezuelo de centeno

Los alcaloides del cornezuelo de centeno (AC) son producidos por especies de hongos del género *Claviceps* que infestan gramíneas y cereales, principalmente centeno, triticale, trigo y cebada (por orden descendente de susceptibilidad). Tres a cuatro semanas después de la infección por el hongo, se hacen visibles los esclerocios o cornezuelo de centeno (color oscuro), que sustituyen a los granos en las espigas en la etapa final de la enfermedad. En Europa, *Claviceps purpurea* es la especie más extendida, y los principales alcaloides producidos son ergometrina, ergotamina, ergosina, ergocristina, ergocriptina (que es una mezcla de α -y β -isómeros), ergocornina y los epímeros correspondientes - inina. El centeno es el cereal infectado más preocupante en la alimentación del ganado. La legislación actual de la UE sobre sustancias indeseables en la alimentación animal (Reglamento CE n º 574/2011, que modifica el anexo I de la Directiva 2002/32/CE) establece un contenido máximo de cornezuelo de centeno (*Claviceps purpurea*) de 1000 mg/kg en todas las materias primas y piensos compuestos que contengan cereales no molidos. El contenido máximo se refiere a un alimento con un contenido de humedad de 12 %.

Los esclerocios se pueden eliminar de los granos de cereales mediante clasificación y limpieza de semillas, aunque es importante asegurarse de que los residuos resultantes que contienen cornezuelo de centeno no se utilizan como alimentos para animales. Si los esclerocios no se eliminan de los granos, el proceso de molienda dará lugar a la redistribución de las partículas de esclerocios en las diferentes fracciones. Dado que los ACs son sensibles al calor, pueden disminuir durante la fabricación de piensos compuestos, en donde los gránulos se someten generalmente a temperaturas que oscilan entre 60 y 95ºC. Los subproductos de destilería son ampliamente utilizados como piensos para animales, en particular para los rumiantes. Si se utilizan granos contaminados en la producción de destilados, los esclerocios tienden a

flotar en la parte superior del recipiente de remojo, lo que facilita su retirada.

La exposición a ACs por el ganado es más probable que se produzca como resultado del consumo de las raciones que contienen granos de cereales y subproductos de cereales, y, en particular, el centeno, el sorgo y el mijo y subproductos derivados de ellos, que no son ampliamente utilizados como piensos para el ganado dentro de la UE. Las estimaciones de la exposición a través de los alimentos para animales realizadas en Europa sugieren que en condiciones normales el riesgo de intoxicación en el ganado es bajo. Algunos forrajes contaminados (festuca, rye-grass) presentan un riesgo potencial en aquellas áreas en las que las condiciones ambientales favorezcan el desarrollo de los esclerocios. La intoxicación por festuca, causada por los alcaloides del cornezuelo de centeno producidos por hongos endófitos, es un riesgo para los animales gestantes (principalmente yeguas). Durante los últimos meses de gestación, la intoxicación por festuca aumenta el riesgo de aborto espontáneo, muerte fetal intrauterina, retención de placenta, y cesación en la producción de leche. Algunas prácticas zootécnicas, como la incorporación de leguminosas a la festuca contaminada pueden corregir los efectos tóxicos.

La intoxicación por cornezuelo en rumiantes suele ser una enfermedad crónica, y el resultado de la ingestión continua de pequeñas cantidades. Los primeros síntomas suelen ser diarrea, inapetencia, debilidad, rigidez de las articulaciones inferiores de las patas, y la frialdad e insensibilidad en las extremidades. La gangrena seca aparece más tarde, lo que afecta a los pies, las orejas y la cola del animal. Los alcaloides del cornezuelo son bien conocidos por inhibir la producción de leche del ganado. Este efecto se ha correlacionado por varios autores con la disminución de la secreción de prolactina inducida por los ACs. No hay pruebas de genotoxicidad de estas toxinas.

Los escasos datos disponibles sobre la transferencia de ACs de alimentos para animales a los tejidos comestibles, incluidos la leche y los huevos, indican que la transferencia es muy limitada o nula, por lo tanto es probable que no contribuyan a la exposición dietética humana.

8. Fomopsinas

Las fomopsinas son una familia de micotoxinas producidas por el hongo *Diaporthe toxica* (anteriormente conocido como *Phomopsis leptostromiformis*). Los altramuces son el huésped principal para el hongo, y el rastrojo infectado es la principal fuente de exposición de los animales a fomopsinas. La fomopsina A, el principal congénere tóxico, es hepatotóxica en todas las especies animales ensayadas en dosis suficientes. Lupinosis es el nombre de la enfermedad causada por fomopsinas en el ganado. La lupinosis se manifiesta principalmente como una hepatotoxicosis en rumiantes (principalmente ovejas), y el hígado es un importante órgano diana, seguido del riñón.

En Australia se han establecido límites máximos de fomopsinas en semillas de altramuz y productos derivados (5 µg/kg). Sólo existen datos muy limitados sobre la prevalencia de fomopsinas en alimentación animal, y no existen estudios disponibles que examinen la posibilidad de transferencia de fomopsinas a los productos de origen animal.

El hígado es el principal órgano afectado y ha habido informes de lupinosis en bovinos procedentes de países de la UE (Polonia, Alemania). En un caso reportado en Alemania las vacas fueron afectadas en los dos días siguientes a la introducción de los altramuces tóxicos. Los animales mostraron anorexia, apatía, fiebre, estreñimiento e ictericia. Hubo una reducción pronunciada en la producción de leche. Cuando se retiró la alimentación tóxica, todos los animales se recuperaron.

Agradecimientos. Este trabajo ha sido financiado por el MICINN (Proyecto AGL2011-26808), el Gobierno de Aragón (Grupo de Investigación Consolidado A01), y el Fondo Social Europeo.

Bibliografía

1. Bryden, W.L. (2012). Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. Animal Feed Science and Technology 173: 134–158.
2. EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to ochratoxin A (OTA) as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal (2004) 101, 1-36.
3. EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Deoxynivalenol (DON) as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal (2004) 73, 1-42.
4. EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal (2004) 39, 1-27.
5. EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Zearalenone as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal (2004) 89, 1-35.
6. EFSA (2005). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. The EFSA Journal (2005) 235, 1 – 32.
7. EFSA (2011). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. EFSA Journal 2011;9(12):2481 (pp. 187).
8. EFSA (2012). Scientific Opinion on Ergot alkaloids in food and feed. EFSA Journal 10(7): 2798 (pp. 158).
9. EFSA (2012). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of phomopsins in feed and food. EFSA Journal 2012;10(2):2567 (pp. 52).
10. Jard, G., Liboz, T., Mathieu, F., Guyonvarc'h, A., Lebrihi, A. (2011). Review of mycotoxin reduction in food and feed: from prevention in the field to detoxification by adsorption or transformation. Food Additives and Contaminants 28: 1590–1609
11. Streit, E., Schatzmayr, G., Tassis, P., Tzika, E., Marin, D., Taranu, I., Tabuc, C., Nicolau, A., Aprodu, I., Puel, O., Oswald, I.P. (2012). Current Situation of Mycotoxin Contamination and Co-occurrence in Animal Feed–Focus on Europe. Toxins 4: 788-809
12. Van Egmong, H.P. (2014). Foreword. World Mycotoxin Journal, February 7: 1-2.

ENGLISH VERSION

Negative influence of certain mycotoxins in dairy cattle and its impact on human health as contaminants in milk

1. Introduction

Mycotoxins are secondary metabolites produced by fungi especially those belonging to the genus *Aspergillus*, *Penicillum*, *Fusarium*, and *Claviceps*. Fungi are ubiquitous and formation of mycotoxins can occur in all agricultural commodities under appropriate field or storage conditions throughout the animal feed supply chain. Contamination is largely dependent on agronomic and environmental factors such as temperature, humidity and

rainfall. The recent occurrence of aflatoxin B1 at high levels in Europe (mainly in maize) also underlines the fact that climate change will entail a change in the mycotoxin distribution patterns observed today. Most mycotoxins are very stable chemically and once formed in a feedstuff will continue to contaminate that commodity and feeds manufactured from it. Regarding animal feed, six mycotoxins (aflatoxins, ochratoxin A, deoxynivalenol, zearalenone, fumonisins and ergot alkaloids) are covered by EU legislation (Regulation or Recommendation).

Many factors contribute to feed contamination with mycotoxins and subsequent animal exposure. Two important factors are genetic modification of crops to resist insect attack (i.e. corn borers) and feed handling on farm. The genetically modified Bt maize is effective in reducing the incidence of fumonisin contamination, which is highly related to insect injury, but less effective in reducing aflatoxin or deoxynivalenol contamination. Incorrect bulk handling and inferior storage conditions can have a major influence on the degree of mycotoxin contamination of feedstuffs. Storage of grain at appropriate moisture content, inspection of grain regularly for temperature, insects and wet spots will limit the possibility of fungal development in feeds and feedstuffs.

The major problem associated with mycotoxin contaminated animal feed is not acute disease episodes but low level toxin ingestion which may cause an array of metabolic disturbances resulting in poor animal productivity. It is important to know the fate of mycotoxins after ingestion, as contamination of animal products with mycotoxins or their metabolic products has significant public health implications. In this regard, transfer of aflatoxin into milk and ochratoxin A into meat have been the issues of most concern. Available evidence suggests that tissue accumulation of aflatoxin or its metabolites is very low and that contaminants are excreted in a few days. Animals are effective toxin eliminators with milk, the animal product most likely to be contaminated with aflatoxin. The hydroxylated metabolite of aflatoxin B1, named aflatoxin M1, is excreted into milk from 1 to 6% of dietary intake.

Overall, there are a number of approaches that can be taken to minimize mycotoxin contamination in animal feeds and these involve prevention of fungal growth and therefore mycotoxin formation, and strategies to reduce or eliminate mycotoxins from contaminated commodities, especially feed additives. To decontaminate and/or detoxify mycotoxin-contaminated feed, the most prevalent approach in the feed industry is the inclusion of sorbent materials in the feed thus obtaining more or less selective removal of toxins by adsorption during passage through the gastrointestinal tract. Successful binding agents work by preventing intestinal absorption of the toxin by the animal from the contaminated feed. Another reliable approach is to add enzymes or microorganisms capable of detoxifying some mycotoxins.

2. Aflatoxins

Aflatoxins are a group of mycotoxins produced primarily by two species of the ubiquitous fungus *Aspergillus*: *A. flavus* and *A. parasiticus*. Among the naturally occurring aflatoxins (B1, B2, G1 and G2), aflatoxin B1 is the most important compound with respect to prevalence and toxicity for man and animals. Aflatoxin B1 is clearly genotoxic and considered to be a human carcinogen (classified by the International Agency for Research in Cancer (IARC), in group 1). Milk is contaminated with the hydroxy-metabolite aflatoxin M1 (classified as 2B, possibly carcinogenic to humans) following exposure of lactating animals to aflatoxin B1 present in feedstuffs.

Aflatoxins are produced pre- and post-harvest under certain conditions of temperature, water activity and availability of nutrients, and can be found in agricultural products from tropical and subtropical regions. With respect to imported feeds, extracted copra, peanut cake, sunflower cake, palm kernel, babassu, cottonseed, soy beans, corn gluten, maize germ, and rice bran are considered to be the most important carriers of aflatoxin B1. Primary contamination of agricultural crops grown in Europe has not been considered a problem for many years. However, aflatoxin contamination has been reported to occur in maize grown across south-east Europe due to conductive conditions such as high temperatures, drought and strong insect damage, a turn of events possibly influenced by changes in climate and agricultural practices. This culminated in relatively high amounts of aflatoxins in recent maize harvests and contaminated feedstuffs resulted in aflatoxin M1 in milk samples above the statutory limit.

Commission Regulation EC No 1881/2006 addresses various susceptible plant-derived food commodities as well as milk. Maximum levels have been set for aflatoxin B1 and for total aflatoxins (B1, B2, G1 and G2) in cereals, groundnuts, nuts, oilseeds, dried fruits and spices. The EU apply a maximum level of 0.05 µg aflatoxin M1/kg milk (0.025 µg/kg for infant foods), while the Codex Alimentarius adopted a limit for aflatoxin M1 in milk of 0.5 µg/kg.

The current EU legislation on aflatoxin B1 in feed (Commission Regulation EU No 574/2011 amending Annex I to Directive 2002/32/EC) is stringent, as feed materials have to comply with the maximum level of 20 µg/kg and complementary and complete feed with 10 µg/kg, while maximum level of aflatoxin B1 in compound feed for dairy cattle is set at 5 µg/kg. However, it can be observed that some feed materials regularly exceed the 20 µg/kg aflatoxin B1 level which will result that significant amounts of some of these feed materials can only be used for animal feed after an effective detoxification treatment.

Aflatoxin B1 is a strong acute toxin in various animal species and the principal target organ is the liver. Clinical signs in animals, associated with aflatoxin exposure consist of anorexia, icterus, depression, weight loss, nasal discharge, gastrointestinal affections, hemorrhages, ascitis and pulmonary edema. Bovine species are generally less sensitive compared to non-ruminants because aflatoxins are partly degraded by the rumen microbiota. In cattle, clinical signs have occurred after exposure to concentrations of 1.5 – 2.2 mg/kg feed. Decreasing milk production of exposed animals, and a photosensitizing effect can precede gross clinical signs of intoxication. Aflatoxins have an immunosuppressive effect at a sub-clinical level of intoxication, rendering animals more susceptible to bacterial, viral, fungal and parasitic infections. Experimental and field studies indicated that long term exposure to relatively low concentrations of aflatoxins may result in hepatic fibrosis and liver cell tumors.

Model calculations on the carry-over of aflatoxins present in feedstuff into milk revealed that the excreted amount of aflatoxin M1 in the milk of dairy cows represent 1-2 % of the ingested aflatoxin B1. This carry-over rate, however, can vary in individual animals, from day to day and from one milking to the next as it is influenced by various (patho-)physiological factors, including the feeding regime, health status and individual biotransformation capacity, and finally by the actual milk production. For high yielding dairy cows, carry-over percentages as high as 6.2 % have been reported, that may result in milk concentrations that exceed the current EU limits.

3. Ochratoxin A

Ochratoxin A is a mycotoxin produced by several fungi of the genera *Aspergillus* and *Penicillium*, principally *P. verrucosum* in temperate climates and *A. ochraceus* in warm regions. In animal feed materials the toxin is found most commonly in cereals (rye,

barley, maize, and wheat) and to a lesser degree in peanuts and soybean. Toxin production usually occurs during storage and control of formation of the toxin requires adequate drying of grains prior to storage under controlled conditions. Commission Recommendation 2006/576/EC establish a guidance value of 0.25 mg/kg ochratoxin A in cereals and cereal products used for feed materials.

Ochratoxin A is a potent renal toxin, and it is also immunotoxic and teratogenic but usually at higher than nephrotoxic doses. It is classified as group 2B (possibly carcinogenic to humans) by IARC. Ruminants are less sensitive due to degradation of ochratoxin A to the less toxic ochratoxin α by the rumen microbiota. Accumulation occurs in blood, liver and kidney, and significant lower concentrations are found in muscle tissue, fat and milk. Transmission of ochratoxin A into milk has been shown in monogastric animals. Ochratoxin A has also been found in bovine milk in low concentrations, indicating that small amounts may escape rumen metabolism, and are absorbed. Multiple source exposure assessment indicates that the overall contribution of animal products to human exposure does not generally exceed 3 – 10 %.

As stated above, ruminants are considered to be less sensitive to the toxicity of ochratoxin A. In contrast, if pre-ruminant calves obtained feed containing 0.1 - 2 mg ochratoxin A/kg body weight for 30 days, polyuria and mild enteritis was observed; at termination there was mild renal tubular degeneration. Mature cows given oral doses of ochratoxin A ranging from 0.2 – 1.66 mg/kg b.w. for 4 days remained clinically normal; a single cow given one dose of 13.3 mg/kg b.w. developed diarrhea, anorexia and cessation of milk production one day later.

4. Deoxynivalenol and other trichothecenes

Deoxynivalenol (DON, vomitoxin) is a mycotoxin produced by several field fungi, including *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*. The toxin, a type-B trichothecene, is common in cereals and grains, particularly in wheat, maize and barley. DON occurs as a field (pre-harvest) rather than a storage contaminant, and almost always co-occurs with other *Fusarium* toxins such as zearalenone, nivalenol and fumonisins. Commission Recommendation 2006/576/EC establish guidance values of 8-12 mg/kg DON in feed materials, and 5 mg/kg for complementary and complete feedingstuffs.

Studies on the milling of DON contaminated wheat and maize showed that DON is concentrated in by-products, the latter being often intended as animal feed. DON was found to be concentrated by a factor of 2 - 5 in wheat bran and with a factor 2 in wheat feed meal. After dry milling of maize most of DON ends up in the maize germ meal. In contrast, wet milling gives DON concentrations similar to those in the original maize in the gluten and germ fractions and several times higher in the feed fraction including fibre and corn steep liquor. DON is also accumulated through husk, small and broken kernels in cereal grain screenings, which is sometimes used as feedstuffs.

There is no evidence for teratogenicity and genotoxicity of DON and its metabolites. In domestic animals, exposure to DON results in loss of appetite, feed refusal and vomiting, accompanied with a decrease in weight gain. Pigs have been identified as the most sensitive animal species regarding these adverse effects. With regard to cattle, only a few feeding studies with dairy cows are available, recording a slight temporary decrease in consumption of the concentrate with no significant effect on weight gain and milk yield, but no sign of illness was observed. Following absorption, DON is rapidly metabolized yielding less toxic products. Transfer of DON and its metabolites into edible tissues, milk and eggs is very low. Thus, products of animal origin do not contribute significantly to human exposure. The carry-over of DON into milk has been investigated in different studies concluding that neither DON nor its metabolites or conjugates were detected in dairy milk.

T-2 toxin and HT-2 toxin are type-A trichothecene mycotoxins produced by various *Fusarium* species (*F. langsethiae, F. sporotrichioides*), found in cereal grains and products thereof, mainly in oats and barley. Generally, the *Fusarium* species grow and invade crops under moist cool conditions. There is some evidence of T-2 and HT-2 toxins in maize silage, although levels are generally low. However, for ruminants the estimated exposures to the sum of these toxins based on the available occurrence data are considered unlikely to be a health concern. The carry-over of trichothecenes like T-2 toxin or HT-2 toxin from feed to animal derived food is not a major concern as there is no evidence for accumulation of the toxins in specific tissues of animals or milk as the transmission rate is very low.

In general, ruminants are considered to be less sensitive to the effects of trichothecenes such as T-2 toxin, due to the detoxification capacity of the rumen. Therefore young animals, in which the rumen is not fully developed, may be more susceptible to toxic effects of T-2 toxin. Exposure to 0.3 mg T-2 toxin/kg b.w. per day or more may result in gastrointestinal lesions, altered serum proteins and hematological alterations in calves.

5. Zearalenone

Zearalenone (ZON) is a mycotoxin produced by several field fungi, including *Fusarium graminearum* and *Fusarium culmorum*. The toxin is common in maize and maize products, but can be found in soybeans and various cereals and grains, and their by-products as well. Moreover, zearalenone seems to occur on grass, hay and straw resulting in additional exposure of animals from roughage and bedding. Commission Recommendation 2006/576/EC establish guidance values of 2-3 mg/kg DON in feed materials, and 0.5 mg/kg for complementary and complete feedingstuffs for dairy cattle.

In domestic animals, like in all mammalian species, zearalenone interacts with estrogen receptors, resulting in an apparent hyperestrogenism, including reduced fertility. Ruminants show a lower responsiveness to zearalenone. The effects of zearalenone on heifers and dairy cows have only been examined in a few studies, revealing minor deviations in the estrus cycle. Due to the rapid biotransformation and excretion of zearalenone in animals, secondary human exposure resulting from meat, milk and eggs is expected to be low, contributing only marginally to the daily intake.

6. Fumonisins

Fumonisins are group of mycotoxins produced by several field fungi, including *Fusarium verticillioides* and *Fusarium proliferatum*. Fumonisin B1 is considered to be the most prevalent and most toxic derivative within the group of fumonisins. Fumonisins are occurring particularly in maize and maize-based products. Maize and maize based feedstuffs are extensively used in feeding of farm animals. The main feedstuffs, which are made of maize, are maize grain, maize silages (whole plant, corn cob mix, maize stover) and products of the milling and refining industries such as maize oil, maize gluten, maize germ meal and maize germ bran. Commission Recommendation 2006/576/EC establish guidance values of 60 mg/kg for the sum of fumonisin B1 and B2 in maize as feed material, and 50 mg/kg for complementary and complete feedingstuffs for adult ruminants.

Fumonisin B1 is a prototypic inhibitor of cellular sphingosine (sphinganine) N-acetyltransferase. It is classified as group 2B (possibly carcinogenic to humans) by IARC. Equine and porcine

species are considered to be the most sensitive animal species to fumonisins, developing species-specific clinical syndromes such as equine leukoencephalomalacia and porcine pulmonary edema. Ruminants show a low responsiveness to fumonisins. However, in contrast to many other mycotoxins FB1 is incompletely degraded by the forestomach microbiota in ruminants. Signs of intoxications have been reported in cattle, sheep and goats exposed to fumonisin contaminated feed materials, including decreased feed intake and milk production.

Available data on carry-over of fumonisins from animal feeds into edible tissues, including milk and eggs, indicate that transfer is limited, and thus trace amounts in animal tissues contribute insignificantly to total human exposure.

7. Ergot alkaloids

Ergot alkaloids (EAs) are known to be produced by fungal species of the *Claviceps* genus that infest grasses and cereals, mainly rye, triticale, wheat and barley (in descending order of susceptibility). Three to four weeks after infection the fungus becomes visible (dark sclerotia or ergot) and replaces the kernels of the grain ears, representing the final stage of the disease. In Europe, *Claviceps purpurea* is the most widespread species, and the main EAs produced are ergometrine, ergotamine, ergosine, ergocristine, ergocryptine (which is a mixture of α- and β- isomers), ergocornine, and the corresponding –inine epimers. Rye is the most commonly infected cereal used in livestock feeds. The current EU legislation on undesirable substances in feed (Commission Regulation EU No 574/2011 amending Annex I to Directive 2002/32/EC) sets a maximum content for rye ergot (*Claviceps purpurea*) of 1000 mg/kg in all feed materials and compound feed containing unground cereals. The maximum content relates to a feed with a moisture content of 12 %.

Sclerotia can be removed from cereal grains by standard sorting and seed-cleaning techniques, although it is important to ensure that the screenings from ergot-containing grains are not used as feeds. If sclerotia is not removed from grains milling processes result in redistribution of sclerotia particles in different milling fractions. Since the EAs are heat-sensitive, they may be reduced during compound feed manufacture, where pellets are generally subjected to temperatures ranging from 60 to 95 °C. Distillery by-products are widely used as animal feeds, particularly for ruminants. If contaminated grains are used in whiskey production, the sclerotia float to the top of the steeping vessel, and can be removed off the top of the steep. Where this is done, the risk of contamination of the malt culms is low.

Exposure to EAs by livestock is most likely to occur as a result of consuming rations containing cereal grains and cereal by-products, and in particular rye, sorghum and millet and by-products derived from them, which are not widely used as livestock feeds within the EU. Estimates of exposure based on example diets and levels of EAs in cereal grains reported in Europe would suggest that under normal conditions the risk of toxicosis in livestock is low. Contaminated forages (tall fescue, rye-grass) present a potential risk in those areas in which environmental conditions support the development of the sclerotia. Fescue poisoning, caused by ergot alkaloids produced by endophytic fungus, is a risk for pregnant animals (mainly mares). During the last months of pregnancy fescue poisoning increases the risk of spontaneous abortion, stillbirths, retained placenta, absent milk production, and prolonged pregnancy. Husbandry practices such as incorporating legumes into the fescue can be a way to increase livestock gains and conception rates, even if the fescue is infected.

Ergot toxicosis in ruminants is usually a chronic disease, and the result of continued ingestion of small quantities of the fungus on grass. The first symptoms are usually diarrhea, inappetance, lameness, stiffness of the lower joints of the legs, and coldness and insensibility of the extremities. Dry gangrene appears later, affecting the feet, ears and tail of the animal. EAs are well known to inhibit milk production in livestock animals. This effect has been correlated by several authors to the decrease of prolactin secretion induced by EAs. There is no evidence for genotoxicity of EAs.

Insufficient data on tissue distribution and residual concentrations in edible tissues, milk and eggs were available to reliably estimate carry-over rates, but the few available data did not provide any evidence that EAs accumulate in edible tissues and therefore these are unlikely to be an important source of human exposure to EA.

8. Phomopsins

Phomopsins are a family of mycotoxins produced by the fungus *Diaporthe toxica* (formerly referred to as *Phomopsis leptostromiformis*). Lupins are the main host for the fungus, and infected stubble is the major source of animal exposure to phomopsins. Phomopsin A, the major toxic congener, is hepatotoxic in all animal species tested at sufficient doses. Lupinosis is the name of the disease caused by phomopsins toxicosis in livestock. Lupinosis manifests primarily as a hepatotoxicosis in ruminants (mainly sheep), and the liver is a major target organ in all species, but the kidney is also significantly targeted.

Maximum levels for phomopsins are only known from Australia, where there is a limit for phomopsins in lupin seeds and products thereof of 5 µg/kg. Only very limited data on occurrence of phomopsins in feed are available, and there are no studies examining the potential for carryover of phomopsins into animal products.

The liver is the primary organ affected and there have been reports of lupinosis in cattle from UE countries (Poland, Germany). In a case reported in Germany cows became affected within two days of the introduction of toxic lupins. Affected animals were anorexic, apathetic, pyrexic, constipated and jaundiced. There was a pronounced reduction in their milk production. The toxic feed was removed and all animals recovered.

Acknowledgments. This review was supported by the Spanish MICINN (Project AGL2011-26808), the Government of Aragón (Grupo de Investigación Consolidado A01), and the European Social Fund.

References

1. Bryden, W.L. (2012). Mycotoxin contamination of the feed supply chain: Implications for animal productivity and feed security. Animal Feed Science and Technology 173: 134–158.
2. EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to ochratoxin A (OTA) as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal (2004) 101, 1-36.
3. EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Deoxynivalenol (DON) as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal (2004) 73, 1-42.
4. EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Aflatoxin B1 as undesirable substance in animal feed. The EFSA Journal (2004) 39, 1-27.
5. EFSA (2004). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the Commission related to Zearalenone as undesirable substance in animal

feed. The EFSA Journal (2004) 89, 1-35.

6. EFSA (2005). Opinion of the Scientific Panel on Contaminants in Food Chain on a request from the Commission related to fumonisins as undesirable substances in animal feed. The EFSA Journal (2005) 235, 1 – 32.
7. EFSA (2011). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of T-2 and HT-2 toxin in food and feed. EFSA Journal 2011;9(12):2481 (pp. 187).
8. EFSA (2012). Scientific Opinion on Ergot alkaloids in food and feed. EFSA Journal 10(7): 2798 (pp. 158).
9. EFSA (2012). Scientific Opinion on the risks for animal and public health related to the presence of phomopsins in feed and food. EFSA Journal 2012;10(2):2567 (pp. 52).
10. Jard, G., Liboz, T., Mathieu, F., Guyonvarc'h, A., Lebrihi, A. (2011). Review of mycotoxin reduction in food and feed: from prevention in the field to detoxification by adsorption or transformation. Food Additives and Contaminants 28: 1590–1609
11. Streit, E., Schatzmayr, G., Tassis, P., Tzika, E., Marin, D., Taranu, I., Tabuc, C., Nicolau, A., Aprodu, I., Puel, O., Oswald, I.P. (2012). Current Situation of Mycotoxin Contamination and Co-occurrence in Animal Feed–Focus on Europe. Toxins 4: 788-809
12. Van Egmong, H.P. (2014). Foreword. World Mycotoxin Journal, February 7: 1-2.

LA REFORMA DE LA PAC LLEGA A SU RECTA FINAL

Dña. ESPERANZA DE ORELLANA MORALEDA
MINISTERIO DE AGRICULTURA

El diseño del modelo aplicación de la enésima reforma de la Política Agrícola Común (PAC) entra ya en la recta final. Ha sido un proceso largo (más de dos años) desde que en octubre de 2011 la Comisión Europea hiciera pública su comunicación "La PAC hacia 2020".

Esta última reforma supone quizá un punto de inflexión en la línea trazada por las reformas anteriores. Es sin duda una reforma distinta, que da lugar a una PAC en muchos aspectos diferente. Es distinta, en primer lugar, porque en ella ha tenido una participación sin precedentes el Parlamento Europeo, colegislador con el Consejo de Ministros de Agricultura de los 28 Estados Miembros desde la aprobación del Tratado de Lisboa. También es diferente porque es la primera que se aprueba sin que de manera paralela se hayan incrementado los fondos destinados a la PAC en los presupuestos comunitarios. Introduce además elementos muy nuevos en el diseño de los pagos directos, que dejan en gran medida de responder a criterios históricos (derechos adquiridos por agricultores y ganaderos en función de lo que produjeron o cultivaron en determinados años de referencia), para pasar a concederse en función de criterios "territoriales" o vinculados a la superficie en la que se produce la actividad agraria. Y finalmente, supone de algún modo reconocer que en anteriores reformas se habían quizá cometido algunos errores o se había ido demasiado lejos.

Efectivamente, la reforma aprobada, gracias indudablemente al trabajo realizado por algunos Estados miembros, como España, y por el Parlamento Europeo, reorienta algunas de las decisiones tomadas en el pasado.

En primer lugar, recupera en cierta medida herramientas de mercado. No las clásicas intervenciones directas, costosas y contrarias a los criterios que rigen en la Organización Mundial de Comercio por distorsionadoras del mercado, sino herramientas orientadas a que el mercado retribuya adecuadamente a los agricultores y ganaderos por su esfuerzo. Para ello, incorpora instrumentos para equilibrar la cadena de valor en la producción y comercialización de los alimentos, desde el agricultor o ganadero hasta el consumidor final. Herramientas como la contratación obligatoria por escrito entre los operadores, el reconocimiento de Organizaciones de productores con funciones de concentración de oferta, o de negociación conjunta de los elementos de los contratos, o la ampliación de las funciones que pueden desempeñar las Organizaciones Interprofesionales. Todos ellos tienen por objetivo mejorar la posición de los productores en la cadena de valor para que puedan obtener mejores precios por sus productos.

Por su parte, y en lo que a las ayudas directas se refiere, el acuerdo final supone una corrección de algunos elementos de anteriores reformas que habían venido en cierta medida deslegitimando la PAC frente a los ciudadanos.

El sistema de ayudas directas que hasta ahora se centraba en el denominado "pago Único" adoptará la forma de "pagos por capas". La base de los mismos, es el nuevo Pago Básico" heredero del anterior, que constituirá una red de seguridad para todos los agricultores y ganaderos.

La clave es la conversión paulatina del modelo de ayudas históricas hacia un modelo territorial. No obstante, la Comisión proponía un modelo en el que todos los agricultores y ganaderos percibieran idénticas ayudas por hectárea, con independencia de lo que produjeran. Obviamente, en un país con una agricultura y una ganadería tan variadas como España, tal propuesta carecía de sentido. El modelo finalmente aprobado supone una aproximación o convergencia de las ayudas que perciben los agricultores y ganaderos, pero no una identidad de importes.

De esta forma, si bien el importe del pago abandona las referencias a lo que cada productor producía en el pasado, el modelo de pagos que se ha diseñado parte de dos conceptos esenciales: el uso de la tierra (cultivos de secano o regadío, pastos y cultivos permanentes) y la intensidad de la ayuda que los productores que declaran esas superficies venían cobrando. Lógicamente no es igual ni mucho menos la intensidad de la ayuda de una superficie de pastos extensivos que declaran los ganaderos de vacas nodrizas en el sur de España que unas hectáreas de pastos correspondientes a productores de leche en la cornisa cantábrica.

El nuevo sistema de ayudas basado en un modelo de regiones (no administrativas, sino agronómicas), si bien aproxima en parte el importe de ayuda por hectárea para productores que realizan la misma actividad en la misma zona, se aleja de la uniformidad en las cuantías de toda España, que como se ha mencionado, hubiera resultado nefasta para muchos sectores y ganaderos, por ejemplo, en el caso de la leche.

Otro de los elementos "estrella" de esta reforma y que justifica en gran medida la misma es lo que se refiere al "verdeo" o "greening" de la PAC. La exigencia de que la percepción de una parte sustancial de las ayudas se vincule a la realización de prácticas beneficiosas para el medio ambiente es una exigencia social en Europa, sin la cual no se concibe que los ciudadanos europeos estén dispuestos a destinar una parte importante del presupuesto comunitario a las ayudas agrícolas. Pero al mismo tiempo, y esa es una de las claves del acuerdo final frente a la propuesta inicial de la Comisión Europea, es que estas prácticas no pueden convertir a la agricultura europea en improductiva, en un mundo que cada vez necesita más de la agricultura para alimentar a una población creciente.

Pero uno de los elementos más importantes es que el acuerdo final abre importantes oportunidades de corregir efectos indeseados del proceso emprendido hace años de desacoplamiento o desvinculación de las ayudas de la producción agraria.

Efectivamente, en 2005 las ayudas a las rentas de los agricultores y ganaderos dejaron de concederse por producir realmente (por cabeza de ganado mantenida, en el caso de la ganadería), y pasaron a concederse sin necesidad de producir, solo por mantener la superficie en buen estado. Esta transformación, exigida por las reglas de la Organización Mundial del Comercio, se llevó en muchos casos a extremos que no solo ponían en riesgo la producción de alimentos en la Unión Europea, sino que además han supuesto que se cuestione el objetivo y fundamento de las propias ayudas y de la Política Agrícola Común, al fomentar la aparición de los denominados por el Tribunal de Cuentas Europeo "agricultores de sofá", perceptores de las ayudas sin ejercer en realidad una actividad agraria.

El acuerdo final de la reforma tiene entre sus objetivos poner coto

a estas prácticas consolidando dos conceptos claves para el acceso las ayudas: el "agricultor activo" y la

El marco reglamentario europeo en este punto, al igual que otros de la reforma, deja mucho desarrollo a la subsidiaridad del los Estados Miembros. No obstante, sí que permite a los estados establecer condiciones para que las ayudas se destinen de manera mucho más estricta a quienes tienen en la actividad agraria una parte realmente significativa de su renta, que son los agricultores que, en definitiva, producen alimentos y mantienen nuestro medio rural vivo.

Por ello, uno de los principales acuerdos adoptados por la Conferencia Sectorial de Agricultura y Desarrollo Rural (que reúne al Ministro de Agricultura y a los 17 consejeros de las CCAA), es impulsar la figura del agricultor activo y endurecer las condiciones relativas al concepto de "actividad agraria".

De esta forma, para ser considerados activos, todos los agricultores y ganaderos deberán obtener al menos un 20% de sus ingresos agrarios (en el año fiscal más reciente) de orígenes distintos de las ayudas. Esto es, del mercado. Y en el caso de los ganaderos, deberán además ser titulares de una explotación activa en el Registro General de Explotaciones Ganaderas (REGA).

En cuanto a la actividad agraria, además deberá realizarse una actividad real de producción o mantenimiento de las superficies. La dimensión de la explotación deberá ser además compatible con la superficie que se declara (al menos 0,20 UGM por hectárea).

Otro elemento clave de esta reforma es que permite recuperar una importante posibilidad de conceder ayudas vinculadas con la producción; esto es, por hectárea de determinados cultivos o por cabeza de ganado. La anterior reforma limitó estos pagos al 3,5% de los fondos disponibles en concepto de ayudas directas del primer pilar de la PAC para los Estados Miembros. Las dificultades en la producción ganadera derivadas esencialmente del incremento del precio de las materias primas para la alimentación animal que comenzaron en 2007 y que impactaron muy negativamente en la rentabilidad de las explotaciones, no han podido ser compensadas por la aplicación exclusiva de pagos desacoplados. Ello ha conllevado fuertes retrocesos en los últimos años de los censos y número de explotaciones, en particular en los sectores lácteo y ovino y caprino, más vulnerables.

Por ello, la recuperación a partir de 2015 de la posibilidad de conceder pagos acoplados por un montante total de hasta el 15% de las dotaciones presupuestarias totales de los Estados miembros en el capítulo de ayudas directas, permitirá sin duda atender adecuadamente a la ganadería que, en un modelo exclusivamente basado en pagos por hectárea, tendría peor encaje.

Las propuestas realizadas por el Ministerio de Agricultura partieron de la evaluación de las dificultades de cada sector, en particular del riesgo de abandono de la actividad que cada uno presenta, a partir de la evolución de la rentabilidad de las explotaciones. También se ha tomado en consideración el comportamiento de cada sector en la aplicación del nuevo modelo de pagos por hectárea (Pago básico y pago verde) y muy especialmente, se ha evaluado como afectará a las rentas de los productores el proceso de convergencia o aproximación de los pagos en cada comarca. Es obvio que aquellos sectores con menos base territorial se comportarán peor en el nuevo modelo, por lo que esa pérdida de apoyos debe ser compensada con pagos acoplados.

La Conferencia Sectorial también decidió por ello que la ganadería fuera prioritaria en la concesión de pagos asociados o acoplados. Y por ello, una parte mayoritaria del "sobre" destinado a estos pagos se concederá a los sectores ganaderos.

Como ya se ha mencionado, esta PAC deja en manos de los Estados Miembros decisiones de gran calado. Por ello, los debates y negociaciones se están cerrando en estos momentos entre el Ministerio de Agricultura y las Comunidades Autónomas, a partir de los acuerdos básicos que produjeron en la Conferencia Sectorial de Agricultura.

SECTOR	IMPORTES PAGOS ACOPLADOS (miles €)
Vacuno de engorde	40.127
Nodriza	187.745
Ovino	154.892
Caprino	13.645
Vacuno de leche	93.579
Remolacha azucarera	16.836
Arroz	12.206
Tomate para industria	6.352
Frutos de cáscara y algarrobas	14.000
Cultivos proteicos	44.537
Legumbres de calidad	1.000
TOTAL	**584.919**
% ACOPLADOS	**12,08%**

Las últimas y más recientes negociaciones se centran precisamente en determinar el diseño de los pagos por cabeza para cada uno de los sectores vacuno (de carne y leche), ovino y caprino.

La idea de partida es que los pagos acoplados deben, dentro de un esquema de máxima simplicidad en su gestión, favorecer a todo el sector ganadero pero atender de manera diferenciada a aquellos modelos productivos que por sus características, o por su ubicación geográfica, resultan más vulnerables o frágiles. En particular, en el caso del vacuno, se buscará atender de manera especial a las explotaciones en zonas de montaña o desfavorecidas cuya capacidad de responder ante los desafíos de mercado, es más reducida.

En síntesis, podemos asegurar que muchos de los recelos y temores que suscitó en nuestros sectores ganaderos la propuesta presentada por la Comisión Europea en 2011, serán despejados favorablemente con el resultado final de la aplicación de esta reforma. Y que, contra todo pronóstico (y hubo muchos, y muchos de ellos catastrofistas), la nueva PAC será positiva para la ganadería y para los ganaderos verdaderamente profesionales y activos.

NOVEDAD EDITORIAL

60 Q&A sobre parasitología bovina

Respuestas a los interrogantes habituales sobre **parasitosis bovinas**



60 Q&A sobre parasitología bovina

Autores: Aránzazu Meana Mañes y Francisco A. Rojo Vázquez
Formato: 22 x 28 cm • **Páginas:** 240 • **Encuadernación:** tapa dura

PVP 70 €

Solicítalo en http://tienda.portalveterinaria.com

En tu **librería** habitual

Llamando al teléfono **976 461 480**

En el e-mail **pedidos@grupoasis.com**

GASTOS DE ENVÍO: 7 euros. Precios válidos para territorio español y para un libro. Para más unidades consultar. Para pedidos superiores a 125 €, gastos de envío gratuitos. IVA incluido en el precio.

GRUPO asís

Centro Empresarial El Trovador, planta 8, oficina I - Plaza Antonio Beltrán Martínez, 1
50002 Zaragoza - España • Tel.: 976 461 480 • Fax: 976 423 000 • www.grupoasis.com

SERVET
LA EDITORIAL DE LOS VETERINARIOS

XIX CONGRESO INTERNACIONAL ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

Oviedo 25, 27 y 27 de junio 2014

LIBRO DE PONENCIAS, COMUNICACIONES ORALES Y POSTER

ANEMBE
ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA

COMUNICACIONES ORALES

MEDICINA //MEDICINE

ECBHM
European College of Bovine Health Management

THE APPLICATION OF 5 MHZ LINEAR ULTRASOUND (RECTAL) SCANNERS TO ACCURATELY DIAGNOSE LUNG AND PLEURAL CONDITIONS IN CATTLE PRACTICE.

Dr Phil Scott DiplECBHM

Division of Veterinary Clinical Sciences, R(D)SVS, University of Edinburgh, Easter Bush, Roslin, Midlothian, Scotland, EH25 9RG, UK

ABSTRACT

Ultrasonographic examination of the chest of cattle with chronic suppurative pneumonia readily identified hypoechoic columns extending 2 to 4 cm from the visceral pleura into the lung parenchyma bordered distally by bright hyperechoic lines as the transmitted sound waves contacted either normal aerated lung or small airways. More ventrally, there was an extensive hypoechoic area extending up to from the visceral pleura containing many hyperechoic dots measuring up to 2 to 10 mm. In adult cattle, the dorsal extent of the sonographic changes summated for both sides of the chest from the elbow aided prognosis: <35cm - reasonable to good prognosis (6/8), >40 cm – poor prognosis (2/9). Pleural effusion and exudates containing fibrin tags, pleural abscesses and pericardial exudate were readily distinguished on ultrasound examination.

INTRODUCTION

Diagnosis of chronic suppurative pneumonia is difficult because affected cattle are commonly afebrile at presentation. While auscultation is considered the critical component in diagnosis of respiratory disease in ruminants, adventitious sounds do not accurately reflect underlying lung pathology (Cousens et al., 2008; Scott et al., 2010; Scott 2013). Indeed, pleural and pericardial lesions simply cause reduced lung and heart sounds.

The aim of this prospective study was to assess whether 5 MHz linear ultrasound scanners, commonly used by cattle practitioners to determine ovarian function and early pregnancy, provide similar sonograms to those obtained with a 5 MHz sector transducer (Scott , 2009), and if such examinations improved the clinical diagnosis and accuracy of prognosis of cattle with respiratory disease. Cattle of all ages with suspected chronic respiratory disease were enrolled in a three years' prospective study. The ultrasound examination of both sides of the chest was limited to only 5 minutes to mimic the time and cost challenges faced by cattle practitioners.

MATERIALS AND METHODS

Both 5.0 MHz linear and sector transducers connected to a real-time, B-mode ultrasound machine were used in the ultrasound examination of all cases. A 5-7 cm wide strip of hair was shaved from both sides of the thorax extending in a vertical plane from the point of the elbow to the caudal edge of the scapula. The skin was soaked with warm tap water then ultrasound gel liberally applied to the wet skin to ensure good contact. The transducer head was firmly held at right angles against the skin overlying the intercostal muscles of the 6th or 7th intercostal spaces.

RESULTS

Twenty adult cattle and eight growing cattle with chronic respiratory diseases were included in the study; 17 cases of chronic suppurative pneumonia and three cows with pleural abscesses. Four cattle with extensive pleural effusion (two cows with pericarditis; two heifers with thymic lymphosarcoma) were also included. Increased audibility of normal lung sounds due to tachypnoea in cattle with chronic suppurative pneumonia could not be reliably differentiated from wheezes; coarse crackles were not commonly heard. In general, lung sounds were reduced in volume over consolidated lung relative to normal lung tissue situated dorsally. No lungs sounds were heard over areas of pleural effusion and heart sounds were muffled. Auscultation of the bovine chest alone did not allow the clinician to determine lung pathology nor accurately define its distribution when compared to ultrasound findings.

Normal lung was characterized sonographically by the uppermost white linear echo with equally-spaced reverberation artefacts below this line. In normal adult cattle (around 600kg) the visceral pleura was observed moving approximately 5 mm in a vertical plane during respiration; the chest wall was approximately 2 to 3 cm wide. No pleural fluid was visualized in these normal cattle.

At the dorsal margin of lung pathology, sonographic recordings of cattle with chronic suppurative pneumonia presented as loss of the normal hyperechoic visceral pleura replaced by numerous hypoechoic columns extending 2 to 6 cm into the lung parenchyma which were bordered distally by bright white (hyperechoic) lines as the transmitted sound waves contact normal aerated lung. As the probe head extended ventrally, consolidated lung had the sonographic appearance of liver (hepatoid change). Pleural effusion appeared as an anechoic widening of the pleural space as the probe head was moved ventrally.

Ultrasonographic examination of the chest undertaken using a 5.0 MHz linear transducer yielded similar results to those obtained with a sector scanner with respect to the vertical measurement of lung pathology but failed to reveal the full volume of pleural effusion and pleural abscesses due to the limited field depth of 9 cm compared to 25 cm.

Extended treatment with procaine penicillin was effective in 8/17 adult cattle where sonographic changes indicating consolidation did not exceed more than a total of 35 cm on both sides of the chest above the point of the olecranon. Four of eight growing cattle with chronic suppurative pneumonia responded to this treatment strategy after macrolide therapy had failed. There was no change in ultrasound findings recorded at the start of treatment and at the end of a positive response to six weeks' penicillin therapy. *Trueperella* (formerly *Arcanobacterium*) *pyogenes* was isolated from three of four lung tissue samples taken at necropsy. One of three cows with pleural abscesses responded to antibiotic treatment.

DISCUSSION

Clinical findings of reduced appetite, poor production, occasional coughing and purulent nasal discharge, and tachypnoea in all cases were consistent with previous reports of chronic suppurative pneumonia (Selman et al., 1997; Breeze, 1985). Pyrexia was not a feature of chronic suppurative pneumonia in this study albeit all cows had received antibiotics at some stage during the previous two weeks however these antibiotic treatments had not effected any clinical improvement. It proved difficult to differentiate increased audibility of normal breath sounds from wheezes; no crackles were detected in adult cattle over consolidated lung identified sonographically.

Trueperella pyogenes is a common bacterial isolate from chronic suppurative pneumonia in cattle (Breeze, 1985; Pardon et al., 2011), and sheep (Barbour et al., 1997). Extended treatment with procaine penicillin in this study was generally effective in adult cattle where the lung lesions did not extend dorsally on both sides of the chest for more than a total of 35 cm above the point of the olecranon. The treatment response in 8 of 15 cows in the present study challenges the assertion (Barrett 2000; Baggott et al., 2011) that all cattle with chronic suppurative pneumonia respond poorly to treatment, suffer chronic weight loss and may die as a result of an acute exacerbation of the condition. Furthermore, whether the dosing interval suits the current management (Baggott et al., 2011) must not be considered an important factor in antibiotic selection. However, without accurate ultrasound assessment of the lungs (Rabeling et al., 1998), a provisional diagnosis of chronic suppurative pneumonia cannot be confirmed therefore treatment efficacy cannot be reliably evaluated.

Classification of the ultrasonographic changes into fine-, medium- and coarse-grained structures based upon the echogenic pattern with <10, 10-20 and >20 hyperechogenic zones per centimeter penetration of pneumonic lung tissue (Rabeling et al., 1998) was considered unnecessarily complicated and did not aid formulating the prognosis. Rather, the hypoechoic changes had a distinct columnar appearance dorsally representing the lobular distribution of superficial lung pathology extending to a large hypoechoic area with the sonographic appearance of liver most graphically illustrated when both pneumonic right ventral lung, diaphragm then liver were included in the same image.

With some experience, ultrasound examination of both sides of the chest takes less than five minutes (Scott et al., 2012) and as such would not add significantly to the cost of the veterinary examination. Moreover, establishing the correct diagnosis (Rabeling et al., 1998) and antibiotic therapy (Ortman and Svensson, 2004) may prove crucial to the likely recovery of the animal; 12 cattle in this study receiving treatment on referral improved after the antibiotic was changed to penicillin. Responsible antibiotic use by veterinarians necessitates an accurate diagnosis and ultrasound examination provides busy farm animal practitioners with a cost-effective ancillary test for chronic respiratory disease in adult cattle.

CONCLUSIONS

Ultrasonographic examination of the chest undertaken using a 5.0 MHz linear transducer yielded similar results to a sector scanner with respect to the area of lung surface affected and takes less than 5 minutes. Ultrasound diagnosis of chronic suppurative pneumonia allows the practitioner to choose the correct antibiotic therapy and proceed with confidence in the diagnosis. The depth of pleural pathologies may be considerably underestimated using a linear scanner limited to a field depth of 9cm but the diagnosis is not affected.

REFERENCES

1. Baggott D, Casartelli A, Fraisse F, Manavella C, Marteau R, Rehbein S, Wiedemann M, Yoon S. Demonstration of the metaphylactic use of gamithromycin against bacterial pathogens associated with bovine respiratory disease in a multicentre farm trial. Vet Rec. 2011; 168:241-246.
2. Barbour EK, Nabbut NH, Hamadeh SK, Al-Nakhli HM. Bacterial identity and characteristics in healthy and unhealthy respiratory tracts of sheep and calves. Vet Res Comm. 1997; 21:421-430
3. Barrett DC. Cost-effective antimicrobial drug selection for the management and control of respiratory disease in European cattle. Vet Rec. 2000; 146:545-550.
4. Breeze R. Respiratory disease in adult cattle. Vet Clinics North America - Food Animal Practice. 1985; 1:311-346.
5. Cousens C, Graham M, Sales J, Dagleish MP. Evaluation of the efficacy of clinical diagnosis of ovine pulmonary adenocarcinoma. Vet Rec. 2008; 162:88-90.
6. Ortman K, Svensson C. Use of antimicrobial drugs in Swedish dairy calves and replacement heifers. Vet Rec. 2004; 154:136-140.
7. Pardon B, De Bleecker K, Dewulf J, Callens J, Boyen F, Catry B, Deprez P. Prevalence of respiratory pathogens in diseased, non-vaccinated, routinely medicated veal calves. Vet Rec. 2011; 169:278-279.
8. Rabeling B, Rehage J, Döpfer D. Ultrasonographic findings in calves with respiratory disease. Vet Rec. 1998; 143:468-471.
9. Scott PR. Thoracic ultrasonography as an adjunct to clinical examination on farm. In Prac. 2009; 31:446-453.
10. Scott PR. Clinical presentation, auscultation recordings, ultrasonographic findings and treatment response of 12 adult cattle with chronic suppurative pneumonia. Irish Vet J. 2013; 66:5-12.
11. Scott PR, Sargison ND, Kirovski D Ultrasonographic findings in adult cattle with chronic respiratory disease. Large Anim Rev. 2012; 18:27-30.
12. Scott PR, Collie DDS, McGorum B, Sargison ND. Relationship between thoracic auscultation and lung pathology detected by ultrasonography in sheep. Vet J. 2010; 186: 53-57.
13. Selman IE, Wiseman A, Breeze RG, Pirie HM: Differential diagnosis of pulmonary disease in adult cattle in Britain. Bov Pract. 1997; 12:63-74.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

INTEREST OF ULTRASONOGRAPHY FOR THE DIAGNOSTIC OF CONGENITAL HEART DEFECTS IN CATTLE: 10 YEARS OF EXPERIENCE 2003-2013

Nora Cesbron, Raphaël Guatteo, Sébastien Assié, Christophe Chartier, Alain Douart

National College of Veterinary Medicine, Food science and Engineering, Oniris, Nantes Atlantique – France - Unit of Farm Animal Medicine

France

Tel:+33(0)240687851

nora.cesbron@oniris-nantes.fr

In routine cattle practice, heart congenital defects are never the reason spontaneously expressed by the farmer to call his vet. Therefore, the practitioner would suspect a heart congenital defect when facing clinical signs associated with cardiovascular dysfunctions. Heart congenital defects account for 3% of the whole congenital defects in cattle. Among heart congenital defects, abattoir surveys and/or description from veterinary hospital case reports reported that ventricular septal defect (VSD) is the most frequent (42-65%).

The aim of this presentation is to describe the clinical, ultrasonography and necropsy findings of the cases of heart congenital defects found during a 10 years period in the Clinics for Ruminants of Oniris. During this period, clinical, ultrasonography and necropsy data were available for 100 cases.

The clinical observations led to the following patterns:

- Clinical suspicion based on clinical signs only related to cardiovascular system in 25 cases
- Clinical suspicion associated with growth retardation in 20 cases
- Clinical suspicion associated with chronic respiratory disorders for which antibiotics and/or NSAIDS were ineffective in 20 cases
- Clinical suspicion associated with multiple malformations (head, eyes, bones) in 20 cases.
- Clinical suspicion and/or endocarditis in 15 cases.

The ultrasonographic examinations were made while the animals were standing using a 2.5 MHz phased array transducer (Mylab Five Vet, HospiMedi France) in 2-D Mode. The heart was ultrasonographically examined on the right cranial parasternal side in six positions as classicaly described in small animals. VSD were easily and systematically observed. The distinction between other malformations (Patent Ductus Arteriosus (PDA), Aortic Stenosis or complex congenital cardiac defect like Tetra/Pentalogy of Fallot) was not always easy to make especiallyregardin the identification of all defects..

At necropsy:

- Ventricular Septal Defect (VSD) was noticed in 86 cases
- Atrial Septal Defect (ASD) was noticed in 22 cases
- Tetra and Pentalogy of Fallot in 9 cases
- Other malformations (Patent Ductus Arteriosus, Aortic Stenosis,...) in other cases
- Endocarditis assoviated with VSD, in 15 cases, only in animals older than 2 years.

Our results confirm that VSD is the most frequent heart congenital defects in cattle, but los frequently in association with other defects or associated/secondary lesions such as endocarditis.. Our results highlight also that heart congenital defects must be suspected in clinical pattern such as growth retardation or chronic respiratory disease. In that specific case, ultrasonography is a sensitive and specific method for both investigating diagnosis and making a prognosis. Ultrasonography could also help to more precisely define phenotypes to investigate putative genomic patterns underlying these defects.

CASE REPORT. LUNG THORACOSCOPY-GUIDED BIOPSY IN A SUCKLING CALF.

Espinosa Crespo I1, Texeira Justo C2., Sacristán Álvarez S2, Ordis Pla P3, Pérez Villalobos N2

1: Clínico libre. iespinosacrespo@yahoo.es 2: TRIALVET S.L. trialvet@trialvet.com

3: HIPRA. hipra@hipra.com

ABSTRACT

Bovine respiratory disease (BRD) is one of leading causes of losses in the beef and dairy industry (Fulton, 2009; Miles, 2009; Panciera and Confer, 2010; Patrick, 2009; Poulsen and McGuirk, 2009). Although this is a disease of enormous importance, we do not have any gold standard diagnostic tests.

The ideal diagnostic tests should be performed rapidly, in field conditions, in live animals and in acute lesions and not acting based on an area far from injures have been caused.

Lung biopsy in cattle for the diagnosis of lung diseases is rarely used or described (Sydler et al., 2004). Ultrasonic-guided percutaneous biopsy procedure were reported 15 years ago in cattle (Braun U et al., 1999) and in sheep (Braun U et al., 2000). Other more recent studies reported more information about percutaneous lung biopsy in cattle with different instrumentation (Burgess et al., 2011; Sydler et al., 2004) but biopsy is not described yet by thoracoscopy in cattle.

Thoracoscopy is both a minimally invasive diagnostic and a therapeutic technique that allows us to access the thoracic cavity and assess intrathoracic pathologies (Landrenau RJ et al., 1993; McCarthy, 1999; Peroni et al., 2000) with a very low risk surgery (McCarthy, 1999; Scharner et al., 2013). The aim of our study was to evidence that thoracoscopy-guided biopsy in diseased cattle is a safe technique that could be performed under field conditions; respecting animal welfare and allowing the collection of samples directly from the lesion.

We have performed four thoracoscopy-guided biopsies in one 70kg of body weight (BW) Frisian calf of a feedlot located in the center of Spain in January 2014. The animal remained standing during the surgery and was only anesthetized locally (2% Lidocaine, 5ml) in the incision area.

Premedication treatment was not applied in order to measure clearly the pain or the absence of animal welfare. We performed the technique with flexible equipment (Flexible Bronchoscope Braun) and with homemade metallic trocars and plastic cannulas with 6mm of internal diameter). We chose a high board by the right side, on the ninth intercostal space. In terms of animal welfare, signs of pain or discomfort were low during intervention and biopsy. Recovery time was less than 1 hour and intervention time was around 20 minutes. We obtained four samples of 1mm size with moderate precision. Besides, there were no intra or postoperative complications.

Most cranial area of the cranial lobs has more difficulty access. From our prospective, complete adhesions could be an impediment to arrive to the critical areas; therefore it could be interesting to remove it surgically.

The quality of the images obtained with flexible endoscopes was rather fair but we have to improve the handling biopsy forceps to obtain some bigger sized samples.

As a conclusion, working with flexible endoscope could be a good choice in order to take biopsy samples safely as well as to diagnose the cause of the lesion, according to the phase of the disease and to establish a chronology of the lesions.

REFERENCES

1. Braun U, Estermann U, Feige K, Sydler T, Pospischil A, 1999. Percutaneus lung biopsy in cattle. J Am Vet MedAssoc 215, 679–681.
2. Braun U, Estermann U, Flückinger M, Sydler T, Pospischil A, 2000. Ultrasound-guided percutaneous lung biopsy in sheep. Vet. Rec. 146, 525–528.
3. Burgess, B.A., Hendrick, S.H., Pollock, C.M., Abutarbush, S.M., Vogstad, A., Jim, G.K., Booker, C.W., 2011. The development of a novel percutaneous lung biopsy procedure for use on feedlot steers. Can. J. Vet. Res. 75, 254.
4. Fulton, R.W., 2009. Bovine respiratory disease research (1983–2009). Anim. Health Res. Rev. 10, 131–139.

5. Landrenau RJ, Keenan MJ, Hazelrigg SR, 1993. Strategic planning for video-assisted thoracic surgery. Ann. Thorac. Surg. 56, 615–619.
6. McCarthy, T.C., 1999. Diagnostic thoracoscopy. Clin. Tech. Small Anim. Pract. 14, 213–219.
7. Miles, D.G., 2009. Overview of the North American beef cattle industry and the incidence of bovine respiratory disease (BRD). Anim. Health Res. Rev. 10, 101–103.
8. Panciera, R.J., Confer, A.W., 2010. Pathogenesis and Pathology of Bovine Pneumonia. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 26, 191–214.
9. Patrick, R.L., 2009. A dairy producer's view of respiratory disease. Anim. Health Res. Rev. 10, 111–112.
10. Peroni, J.F., Robinson, N.E., Stick, J.A., Derksen, F.J., 2000. Pleuropulmonary and cardiovascular consequences of thoracoscopy performed in healthy standing horses. Equine Vet. J. 32, 280–286.
11. Poulsen, K.P., McGuirk, S.M., 2009. Respiratory Disease of the Bovine Neonate. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 25, 121–137.
12. Scharner D, Dorn K, Brehm W, 2013. Bovine thoracoscopy: Surgical technique and normal anatomy. Vet. Surg.
13. Sydler, T., Braun, U., Estermann, U., Pospischil, A., 2004. A Comparison of Biopsy and Post-mortem Findings in the Lungs of Healthy Cows. J. Vet. Med. Ser. A 51, 184–187.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

THE ASSOCIATION OF LAMENESS WITH REPRODUCTIVE PERFORMANCE IN 10 SEASONALLY BREEDING PASTURE-BASED IRISH DAIRY HERDS.

Joris Somers

Lameness in dairy cattle is associated with reduced submission rates, conception rates and milk yields. The aim of this study is to determine the prevalence of lameness and to investigate the association of lameness with reproductive performance in Irish pasture-based dairy herds. The study involves 10 dairy herds that enrolled in a herd health programme conducted by University College Dublin (UCD) herd health group. All the farms use seasonal breeding and pasture-based production systems. Herd sizes range between 80 and 200 lactating animals. The average herd 305 day milk yields range between 2,600 and 10,500 litres. Each farm is visited by the UCD herd health group every 21 days during the calving and breeding seasons. During these visits the main focus is on the fertility performance of the cows and nutritional management.

Data being recorded as part of the herd health programme are:

- Monthly milk recording including yield to date, predicted 305 day yield, somatic cell count and milk content
- Calving date, calving difficulty and peri-parturient diseases
- Body condition score at key moments during the lactation
- Pre-breeding examination and breeding fertility recording
- Monthly locomotion scoring of the lactating herd and foot trimming of the lame cows

For the locomotion scoring, a 1-5 scale was used, based on the scale described by Sprecher et al. (1997). Each of the ten herds was locomotion scored approximately every 4 weeks between the end of February 2013 and the end of August 2013. The entire lactating herd was scored at each visit as they left the milking parlour at the time of the morning milking. Two members of the UCD herd health group were assigned to each visit. One and the same person was responsible for locomotion scoring the cows in each of the ten herds, the other was responsible for animal handling and identification. A list of lame cows that scored ≥3 on the Sprecher scale was presented to the farmer at the end of the visit. Unless immediate treatment was necessary, an experienced foot trimmer examined and treated the cows on this list within 5 days after the scoring visit. The member of the UCD herd health group who carried out the locomotion scoring accompanied the foot trimmer to identify and record any lesions found and treatment type carried out at this time. A total of 1,291 lactating cows were present on the ten farms, 901 of these cows were part of the spring breeding herds. A total of 898 cows were included in the study. Based on the data gathered from the locomotion scoring, lesion identification and farm management and environment assessment, prevalence of lameness and lesion types, treatment protocols and risk factors contributing to lameness development can be determined for each individual farm.

The average prevalence of lameness per farm ranges between 5% and 17% with an average prevalence of 11%. The prevalence of lame cows at any one scoring day ranged from 0 to 21%. During the period analysed in this study, the average of newly detected cases of lameness was 11% and the recovery rate was 12%. Newly detected cases were cows that were scored lame for the first time after being scored non-lame on previous scoring days. The recovery rate is based on cows scoring non-lame after being scored lame on the previous scoring day. 76% of the animals included in the study were never seen lame. White line lesions and solar haemorrhaging are the most common lesions found. Digital dermatitis is present in some but not all of the herds, often in combination with traumatic lesions. Hock lesions and swollen hocks are not observed.

Increased risk of lameness over a lactation was associated with higher yields and lactation number. Additionally, cows that lost more than 0.5 units in body condition score post calving were more likely to develop lameness. Lameness was not associated with changes in conception rate, but was negatively associated with submission rate and 24 day pregnancy rate. Submission rate was defined as the proportion of cows submitted for service within the first three weeks of their breeding season that were eligible to be served. The 24 day pregnancy rate was calculated by dividing the number of pregnant cows by the total number of 24 day open cycles for the entire breeding herd. Cows that were lame before the start of breeding had notably lower submission rates and 24 day pregnancy rates compared to cows that became lame during any other part of the season.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

FACTORS AFFECTING CURE AND INCIDENCE OF DIGITAL DERMATITIS LESIONS AFTER A COLLECTIVE TOPICAL TREATMENT IN DAIRY FARMS

Guatteo R[1*], Relun A[1], Lehébel A[1], Bareille N[1]

[1]LUNAM Université, ONIRIS, INRA, UMR1300, Biology, Epidemiology and Risk Analysis, Atlanpole la chantrerie, CS 40706, F-44307, France. (*presenting author)

Digital dermatitis (DD) is a widespread cause of lameness in dairy cows. Currently, the main control schemes are based on the use of footbath. Several products and modalities for disinfection have been tested in the field but their efficiency remains variable and limited. These results could be due to poor compliance of farmers or to the influence of management practices (such as hoof trimming, hygiene, detection of affected cows,...).

The objective of this study was then to investigate the respective impact of treatment procedures and management practices on the cure and incidence of DD lesions.

A controlled field trial was conducted to evaluate in dairy cattle the benefit provided by different regimens of a collective topical treatment using a solution of copper and zinc chelates to cure or prevent digital dermatitis (DD), and to investigate factors that could explain variations in the clinical cure or incidence of DD lesions. The study involved 4,677 dairy cows from 52 French dairy farms where DD was endemic. The farms were allocated by minimization to 1 of 4 treatment regimens for 6 months: no collective treatment (Control), walk-through footbath during 4 consecutive milkings every 4 weeks (FB/4W) or every 2 weeks (FB/2W) and collective spraying during 2 milkings fortnightly (CS/2W). For welfare reasons, all farmers also had to treat all detected active DD lesions with individual topical spraying of oxytetracycline. DD was scored on all lactating cows during milking 7 times every 4 weeks by 14 trained investigators. During these farm visits, data related to cow characteristics and farm management also were collected. The curative and preventive effectiveness of collective treatments was assessed through a Cox survival frailty model (adjusted for farm and investigators) respectively as (i) the probability of cure of an active DD lesion during at least 2 consecutive visits and as (ii) the time before a first case of DD lesion was observed.

Monthly DD cure rates were 58%, 55%, 76% and 76% in the Control, FB/4W, FB/2W and CS/2W regimens respectively. Hazard of cure of DD was increased by 1.28 and 1.41 when respectively walk-through footbath and collective spraying were applied over 2 days every fortnight compared to the control regimen, whereas the FB/4W regimen was not efficient. Three main factors were identified as quickening DD healing: cleanliness of the feet, initial small size of the DD lesion and additional individual topical treatment. Grazing tended to speed DD healing. Regarding prevention, a high initial DD prevalence strongly increased the hazard for DD occurrence (RR=2.1), as well as absence of regular hoof-trimming (RR=1.8), and poor leg cleanliness (RR=2.4). Prim'Holstein (RR=2.0) and high-productive cows (RR=1.3) were found to be more likely to develop DD. Collective treatments tended to decreased hazard for DD occurrence only when applied at least every fortnight (RR=0.7), compared to the control group.

These results highlight the need of combining several control measures to ensure a high cure and prevention of digital dermatitis on endemically affected farms.

BLOQUEO ANESTÉSICO PARAVERTEBRAL ECOGUIADO EN TERNEROS

Cordeiro Dos Santos, J. [a], Blanco Murcia, F.J.[b], Villaescusa Fernández, A.[b]; Calleja Bueno, L.[b], Monsalve Roquero B. [b], De Gaspar Simón, I.[c], Re, M.[b]

[a] Departamento de Medicina Veterinaria.Universidad de Evora

[b] Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria.UCM

[c] Departamento de Anatomía y Embriología. Facultad de Veterinaria.UCM

RESUMEN

El bloqueo anestésico paravertebral es una técnica muy empleada en ganado vacuno, que hasta ahora se ha basado exclusivamente en los conocimientos neuroanatómicos de los nervios espinales T13, L1 y L2. La visualización ecográfica de los nervios puede facilitar la realización de bloqueos anestésicos. El objetivo planteado fue comparar una técnica anestésica ecoguiada con las técnicas convencionales (bloqueo paravertebral proximal y distal). Se efectuó un estudio neuroanatómico y ecográfico en tres cadáveres frescos y posteriormente se realizó un estudio cruzado en vivo en 5 terneros, realizando bloqueos paravertebrales con lidocaína y epinefrina y empleando las tres técnicas. El bloqueo ecoguiado ha permitido: la visualización directa de las ramas de los nervios estudiados, produciendo una disminución de la respuesta al estímulo nociceptivo en el flanco en todos los animales. La técnica paravertebral ecoguiada en terneros ha demostrado ser una técnica viable y equiparable desde el punto de vista analgésico a las técnicas convencionales. Estudios adicionales deben determinar su aplicación clínica.

ABSTRACT

The paravertebral anesthetic block is a technique used in cattle which has been based until now exclusively on neuroanatomical knowledge of spinal nerves T13, L1 and L2. The main goal was to make an eco-guide anesthetic technique and compare it with conventional techniques (proximal and distal paravertebral block). A neuroanatomical and ultrasound study was performed on three fresh cadavers and then a crossover study was performed on five live calves, performing paravertebral blocks with lidocaine and epinephrine and using the three techniques. The ultrasound blocking allows the direct visualization of the studied nerve branches, resulting in a decreased response to nociceptive stimulus in the flank of all the animals. The ultrasound-guided paravertebral technique in calves has been shown to be a viable technique comparable from the analgesic point of view to conventional techniques. Additional studies should determine the clinical application of this technique.

INTRODUCCIÓN

En la clínica bovina existen numerosas intervenciones quirúrgicas que requieren analgesia de la pared abdominal del flanco (1,2). Para ello, se pueden emplear varias técnicas anestésicas, entre las cuales se encuentra el bloqueo paravertebral, que implica la desensibilización de los nervios espinales T13, L1 y L2, (1,3). Las técnicas convencionales de bloqueo paravertebral (bloqueos distal y proximal), se realizan a ciegas y confían en diferentes referencias anatómicas para la localización de las ramas nerviosas. La posibilidad de fallo depende de la habilidad y experiencia del veterinario y de la variación anatómica de cada animal (4). La ecografía aplicada al bloqueo nervioso, permite superar parcialmente las limitaciones de las técnicas anestésicas convencionales mediante la visualización directa de los nervios, estructuras adyacentes y dispersión del anestésico local, la detección de posibles variaciones anatómicas, y la posibilidad de reposicionar la aguja durante el bloqueo anestésico (5). En los últimos años existe un gran interés en la aplicación de estas técnicas en medicina humana y, más recientemente, en medicina veterinaria de pequeños animales. Hasta ahora, en ganado bovino, existe información sobre el bloqueo ecoguiado del nervio femoral (6, 7, 8), del nervio ciático (8) y del plexo braquial (9).

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio experimental, prospectivo, aleatorio y cruzado se com-

puso de tres fases.

Fase 1: Se realizó un estudio neuroanatómico de los nervios T13, L1 y L2 y respectivas ramas, efectuando la disección anatómica de la región dorsal toracolumbar en 3 cadáveres.

Fase 2: Se realizó un estudio ecográfico de los nervios T13, L1 y L2 y respectivas ramas en 3 cadáveres. La ecografía se realizó utilizando un equipo Logic Book XP® (GE, Wuxi, China) con un transductor lineal de 6-10 MHz. El transductor se colocó en el espacio entre las apófisis transversas de la última vértebra torácica y la primera vértebra lumbar, obteniendo un corte longitudinal de las ramas del nervio T13. Para localizar las ramas de los nervios L1 y L2, se colocó el transductor en el espacio entre las apófisis transversas de L1 y L2, y en el espacio entre las apófisis transversas de L2 y L3, respectivamente. Posteriormente se inyectaron las estructuras nerviosas identificadas con 0,1 ml/kg de azul de metileno, empleando una aguja espinal insertada en el eje mayor del transductor. Se disecó inmediatamente la región dorsal toracolumbar para verificar macroscópicamente la tinción de los nervios estudiados.

Fase 3: Se realizaron tres técnicas de bloqueo paravertebral (proximal o BPP; distal o BPD; y ecoguiado o BPE) en 5 terneros frisones, en ambos flancos y con un intervalo de diez días entre cada prueba. En cualquiera de las técnicas realizadas, se bloquearon las ramas dorsales y ventrales de los nervios T13, L1 y L2 con lidocaína al 2% con epinefrina 0,002% (Anesvet ®; Ovejero, León, España). Previamente, se procedió al rasurado y limpieza de la región dorsal toracolumbar. Los BPP y BPD se realizaron según las técnicas descritas por Weaver et al. (10) (20 mL de anestésico local por nervio). Para realizar el BPE se efectuó el examen ecográfico descrito anteriormente y se administraron 10 mL de anestésico local por cada nervio. Tras los bloqueos, se evaluó la función sensitiva a lo largo del tiempo (0, 5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos), mediante la respuesta a un estímulo nociceptivo (pinchazo de una aguja de 25 G) aplicado en cuatro áreas anatómicas de la fosa del ijar (cuadrantes dorsal craneal, dorsal caudal, ventral craneal y ventral caudal). Se clasificó la respuesta con una escala de tres valores (0= respuesta normal al estímulo, 1= respuesta disminuida, 2= ausencia de respuesta al estímulo).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Fase 1: el estudio neuroanatómico mostró que los nervios espinales T13, L1 y L2 emergen a través del agujero intervertebral que se localizó caudalmente a la vértebra con la misma designación numérica que el nervio. La rama dorsal de cada nervio espinal se subdivide en dos ramas, una medial y una lateral. La rama medial se orienta en dirección dorsomedial sin penetrar en el músculo *longissimus dorsi*, mientras que la rama lateral asume una posición dorsal a las apófisis transversas de las vértebras, dirigiendose caudolateralmente hasta penetrar en la musculatura epiaxial. Las ramas ventrales adoptan una posición ventral a las apófisis transversas de las vértebras, orientándose en dirección caudolateral hasta cruzar la musculatura hipoaxial.

Fase 2: En los tres cadáveres incluidos en el estudio, no se observó directamente el origen de los nervios espinales T13, L1 y L2, debido a la sombra acústica producida por las vértebras. Sin embargo, las ramas dorsales y ventrales fueron identificadas con facilidad en todos los cadáveres. En el corte longitudinal las ramas fueron visualizadas como bandas relativamente hiperecogénicas. Este abordaje fue más difícil de realizar, pero permitió una distinción clara de los límites nerviosos. La ventana acústica se localizó en el espacio paravertebral correspondiente a la salida de cada nervio estudiado por el agujero intervertebral. Se tiñeron el 61% de las ramas nerviosas.

Fase 3: Se visualizaron directamente las estructuras nerviosas, las estructuras adyacentes y la dispersión del anestésico local. El tiempo de ejecución de las distintas técnicas fue de 8,5 ± 2,0 minutos, 3,9 ± 1,3 minutos y 4,3 ± 0,8 minutos en el BPE, BPP y BPD, respectivamente. En el BPE se produjo la ausencia total de respuesta al estimulo nociceptivo en todos los cuadrantes de la fosa del ijar a partir del minuto 5, durante un mínimo de 45 minutos. En el BPD la ausencia de respuesta se produjo a partir del minuto 20 hasta el minuto 40 en los-cuadrantes dorsal craneal y ventral craneal y entre 30 y 40 minutos en los cuadrantes dorsal caudal y ventral caudal. Por último, en el BPP solo en el cuadrante dorsal craneal hubo una ausencia total de respuesta al dolor desde el minuto 10 hasta el minuto 50. El tiempo de ejecución de la técnica ecoguiada superó significativamente el tiempo de las técnicas convencionales, lo que puede ser desventajoso en su aplicación práctica, pero el inicio del efecto analgésico fue más rápido (5 minutos BPE, frente a 10 min BPP y 20 BPD).

La identificación ecoguiada de las ramas de los nervios espinales T13, L1 y L2 en terneros es una técnica relativamente fácil y novedosa que puede resultar útil en la clínica. El bloqueo ecoguiado resulta ser más efectivo, ya que se emplea un volumen menor de anestésico local, se visualizan directamente las ramas nerviosas y se evitan posibles complicaciones descritas con las técnicas convencionales, como dificultad de la localización de los límites anatómicos, sobre todo en vacas de condicion corporal elevada y el riesgo de producir lesiones (aorta, riñón, rumen). Para la valoración de la utilidad de la técnica en la práctica clínica sería necesario ampliar el numero de animales y que se realicen en pacientes.

CONCLUSIONES

La técnica de bloqueo paravertebral ecoguiado en terneros permite la visualización directa de los nervios y de la dispersión del anestésico local y reduce el tiempo de inicio del efecto analgésico en comparación con las técnicas de bloqueo convencionales.

REFERENCIAS

1. Dyce KM, Sack WO, Wensing C. Textbook of Veterinary Anatomy. Third edition. Philadelphia: Saunders; 2002. 666-690.
2. Popesko P. Atlas of Topographical Anatomy of the Bovine. Fourth edition. Slovakia: Vydavatelstvo; 2012.
3. Skarda R, Tranquilli W. Local Anesthetics. In: Tranquilli WJ, Thurmon JC, Grimm K, editors. Lumb & Jones' Veterinary Anesthesia and Analgesia. Fourth edition. Iowa: Wiley-Blackwell; 2007. 395-418.
4. Retrouvey M, Chiodo T, Quidley-Nevares A, Strand J, Goodmurphy C. Use of ultrasound in needle placement in intercostal muscles: a method for increased accuracy in cadavers. Arch Phys Med Rehabil. 2013;94(7):1256-9.
5. Marhofer P, Harrop-Griffiths W, Kettner SC, Kirchmair L. Fifteen years of ultrasound guidance in regional anaesthesia: part 1. Br J Anaesth. 2010;104(5):538–546.
6. Iwamoto J, Yamagishi N, Sasaki K, Kim D, Devkota B, Furuhama K. A novel technique of ultrasound-guided brachial plexus block in calves. Res Vet Sci. 2012;93(3):1467–1471.
7. Re M, Blanco Murcia FK, Villaescusa Fernández A, Calleja Bueno I, De Gaspar Simón IA, Gómez de Segura I. Bloqueo anestésico ecoguiado de la extremidad pelviana en terneros. Comunicación Oral en: XVIII Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina; 2013 24 a 26 de Abril; Lleida, España
8. De Vlamynck CA, Pille F, Hauspie S, Saunders JH, Van der Stede Y, Gasthuys F, Vlaminck LE. Evaluation of three ap-

proaches for performing ultrasonography-guided anesthetic blockade of the femoral nerve in calves. Am J Vet Res. 2013;74(5):750-6.

9. De Vlamynck C, Vlaminck L, Hauspie S, Sauders J, Gasthuys F. Ultrasound-guided femoral nerve block as a diagnostic aid in demonstrating quadriceps involvement in bovine spastic paresis. Vet J. 2013;196(3):451-5.
10. Weaver AD, Jean GS, Steiner A. Bovine Surgery and Lameness. Second edition. Iowa: Wiley-Blackwell; 2005. 22-29.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

INCIDENCE OF ABOMASAL ULCERS IN SLAUGHTERED CATTLE IN AUSTRIA

Alexandra Hund, Dr. med. Vet, Resident ECBHM

Theresa Beer, Cand. med. vet.

Thomas Wittek, Prof. Dr., DECBHM

Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, Clinic for Ruminants, University of Veterinary Medicine Vienna, Veterinärplatz 1, 1210 Vienna, Austria;

Alexandra.Hund@vetmeduni.ac.at

ABSTRACT

The abomasa of a total of 190 calves and adult cattle were examined for abomasal ulcers during slaughter. The ulcers were documented and categorized, pH of abomasal contents was measured and faeces were examined for occult blood. The carcass classification was recorded and the owners were presented with a questionnaire targeted at health and management as well as feeding practices that could influence gastric health in these animals.

About sixty and 50% of adult cattle and calves respectively showed abomasal ulcers, all of which were type one, which was the least severe classification. Abomasal pH was on average 3.7 and 2.7 in adult cattle and calves respectively. The faecal occult blood test proved not to be sensitive for detecting these type one ulcers.

From the questionnaire no clear tendencies as far as causative factors for abomasal ulcers could be determined due to the large number of farms that the animals came from.

It can be assumed that many contemporary cattle management systems in Austria cause the formation of low-grade abomasal ulcers. These could under various factors be the origin of more severe life-threatening type two to four ulcers.

Further influencing factors on the formation of abomasal ulcers, such as bacterial colonization, and the true animal welfare and economic impact of these findings need further investigation.

INTRODUCTION

Abomasal ulcers occur in adult cattle and calves with prevalences varying from 2 to 95% according to different authors (1-7). The ulcers can be categorized as four major types with a more detailed description of type one, erosions and non-perforating ulcers, as four subtypes (1, 5).

Ulcers in general are an important cause of indigestion and cause different clinical signs, which can be quite nonspecific, especially in less severe cases (8). However, ulcers are commonly associated with pain and a decrease in performance. Bleeding and perforating ulcers, type two, three and four, respectively, can be lethal and therefore cause severe financial losses.

Due to the inexplicit nature of clinical signs it is hard to diagnose abomasal ulcers. It is anatomically almost impossible in ruminants to examine the abomasum via endoscopy. There are no distinct laboratory parameters to diagnose ulcers; only their consequences like indigestion, anaemia and inflammation can be detected (8, 9).

Therefore it is safe to assume that abomasal ulcers are highly underdiagnosed in cattle and subsequently not treated. This has to be considered a significant economical and animal welfare gap.

The cause of abomasal ulcers in cattle seems to be multifactorial. Previous studies have discussed underlying diseases accompanied by stress, management factors, feeding regime and bacterial agents (2, 5, 6, 10-13).

The goal of this study was to determine the prevalence of abomasal ulcers in slaughtered cattle; to document and categorize the ulcers and measure the pH of abomasal contents as well as faecal occult blood. Using a questionnaire management factors that could lead to the formation of abomasal ulcers were surveyed.

MATERIAL AND METHODS

The abomasa of a total of 190 calves, heifers, adult cows, steers and feeder bulls were examined during the slaughter process. The occurring ulcers were photographed, measured and categorized. Abomasal contents were described and individually bottled. Faeces from the rectum were described and individually bottled as well. All information was recorded. Age, owner information and meat quality category (EUROP) were recorded for each animal.

After the slaughter process, abomasal pH was measured and the faeces from the rectum were examined for occult blood using the Hämofec® test.

Owners were contacted by telephone and a questionnaire targeted at evaluating health, management and feeding factors was presented to them.

RESULTS AND DISCUSSION

Abomasal ulcers were found in about 60% of the adult cattle that were examined; these were categorized as type one exclusively. About half of the examined calves showed only type one ulcers as well. These numbers are surprisingly high considering the fact that all animals are supposed to be healthy at slaughter. The question remains how severe the clinical symptoms and the pain are that are caused by these type one ulcers.

Abomasal pH was higher in adult cattle than in calves with a mean value of 3.7 ranging from 2.1 to 6.8. These high values could be due to the slaughter process and possible flow of ingesta from the rumen into the abomasum. Mean pH in calves was 2.7. Six faecal occult blood tests were positive in adult cattle and eight in calves. This indicates that the Hämofec® faecal occult test is not sensitive to detect type one ulcers in cattle.

Regarding the questionnaire no clear tendencies as far as causative factors for abomasal ulcers could be determined due to the large number of farms that the animals came from.

CONCLUSION

More than half of the examined adult cattle and calves showed type one abomasal ulcers. These could not be routinely detected using the Hämofec® test. Abomasal pH was higher in adult cattle than in calves, in some cases almost reaching the neutral state, indicating that there might be flow of ingesta from the rumen into the abomasum during the slaughtering process.

The animals originated from different farms with very different management systems. Therefore no clear influencing factors on the formation of abomasal ulcers could be determined.

It can be assumed that many contemporary cattle management systems in Austria cause formation of low-grade abomasal ulcers. These could under various factors be the origin of more severe life-threatening type two to four ulcers.

Further influencing factors on the formation of abomasal ulcers, such as bacterial colonization, and the true animal welfare and economic impact of these findings need further investigation.

REFERENCES

1. Braun U, Eicher R, Ehrensperger F. Type 1 abomasal ulcers in dairy cattle. Zentralblatt fur Veterinarmedizin Reihe A. 1991;38(5):357-66. Epub 1991/06/01.
2. Groth W, Berner H. Studies on abomasal ulcers in calves fed milk substitutes and early weaned. Zentralblatt fur Veterinarmedizin Reihe A. 1971;18(6):481-8. Epub 1971/08/01. Untersuchungen uber das Labmagengeschwur des Kalbes bei Milchaustauschermast und bei Fruhentwohnung.
3. Hemmingsen I. Ulcus perforans abomasi bovis. Nord vet Med 1967;19:17-30.
4. Krishnan NM. The incidence and pathology of peptic ulcer in domestic animals. Kerala J vet Sci 1973;4:120-3.
5. Smith DF, Munson L, Erb HN. Abomasal ulcer disease in adult dairy cattle. The Cornell veterinarian. 1983;73(3):213-24. Epub 1983/07/01.
6. Welchman DD, Baust GN. A survey of abomasal ulceration in veal calves. Vet Rec. 1987;121(25-26):586-90. Epub 1987/12/19.
7. Aukema JJ, Breukink HJ. Abomasal ulcers in cattle with fatal hemorrhage. The Cornell veterinarian. 1974;64:303-17.
8. Braun U, Bretscher R, Gerber D. Bleeding abomasal ulcers in dairy cows. Vet Rec. 1991;129(13):279-84. Epub 1991/09/28.
9. Mills KW, Johnson JL, Jensen RL, Woodard LF, Doster AR. Laboratory Findings Associated with Abomasal Ulcers/Tympany in Range Calves. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 1990;2(3):208-12.
10. Katchuik R. Abomasal disease in young beef calves: Surgical findings and management factors. The Canadian veterinary journal La revue veterinaire canadienne. 1992;33(7):459-61. Epub 1992/07/01.
11. Kolodzieyski L, Kim B, Park H, Yoon HS, Lim, C.W. Prevalence of gastrospirillum-like organisms in pigs, cattle, and dogs: a comparison of diagnostic methods between species. Veterinarni Medicina. 2008;53(4):193-202.
12. Lilley C, Hamar D, Gerlach M, Johnson J. Linking copper and bacteria with abomasal ulcers in beef calves. Vet Med. 1985;80:85-8.
13. Marshall TS. Abomasal ulceration and tympany of calves. The Veterinary clinics of North America Food animal practice. 2009;25(1):209-20, viii. Epub 2009/01/29.

TRATAMIENTO DE TERNEROS CON MIELODISPLASIA CONGÉNITA NACIDOS EN EL VALLE DE LIÉBANA (Cantabria).

L. Polledo [1], J. Alonso [2], J Busque [3], W. Salceda [2], MJ García-Iglesias [4], y JF García Marín [4].

[1] Micros Veterinaria. Instituto de Desarrollo Ganadero y Sanidad Animal de León (INDEGSAL). C/Pedro Cármenes S/N León, León, 24007, España

[2] Veterinarios clínicos. Potes, Cantabria, 39570, España

[3] Centro de Investigación y Formación Agrarias. Gobierno de Cantabria, c/Héroes del dos de Mayo 27, Muriedas 39600, Spain

[4] Sección de Anatomía Patológica, Departamento de Sanidad Animal de la Universidad de León, León, 24007, España

SUMMARY

In this work a preventive treatment for newborn calves born with congenital anomalies of myelodysplasia in the valley of Liébana is proposed. In two previous studies, the etiology of this disease was related to the consumption of neuroteratogen plants. A possible treatment was raised, based on the administration of folic acid, as protector of the neural tube development, taking into account the breeding and grazing time, the critical period of embryonic susceptibility and possible intake of neuroteratogen plants. The use of this treatment on the indicated days has been effective in preventing the severe forms of this disease. This fact, together with the low cost of the product administered, greatly decreases the losses from this disease.

RESUMEN

En este estudio se propone un tratamiento para los terneros que nacen con anomalías congénitas de mielodisplasia en el valle de Liébana. En dos estudios previo se relacionó la etiología de esta enfermedad con el consumo de plantas neuroteratógenas. Se planteó un posible tratamiento preventivo y de bajo coste basado en la administración de ácido fólico, como protector del desarrollo del tubo neural, teniendo en cuenta la época de cubriciones y de entrada al puerto, y el posible consumo de plantas teratogénicas. Este tratamiento en los días indicados ha resultado eficaz en la prevención de las formas graves de esta patología y disminuye en gran medida las pérdidas derivadas de esta enfermedad.

INTRODUCCIÓN

En el valle de Liébana (Cantabria) se diagnosticó hace tres años (2011) una mielodisplasia congénita que afectaba a terneros nacidos únicamente en febrero-marzo. Clínicamente cursaba con distintos grados de ataxia no progresiva y/o ceguera nerviosa, en muchos casos incompatible con la vida. Esta enfermedad afectaba entre un 20-30% de los terneros nacidos de rebaños afectados en este período crítico. Todos estos animales nacían de vacas que subían a pastar al Puerto de Áliva a principios de Junio, presentando esta patología solo los nacidos de hembras que pastan en determinadas áreas a más de 1.300 m de altitud (Polledo et al., 2012a, Polledo et al., 2012b). Asimismo, en este estudio se estableció una posible asociación con el consumo de plantas teratógenas (*Carex brevicollix*) al inicio del pastoreo, eliminándose otras posibles causas (infecciones víricas por BVD y Bunyavirus, ataxia enzoótica, deficiencia de vitamina A u otros tóxicos) (Polledo et al., 2012). El tipo de lesión diagnosticada tiene su origen en un desarrollo anómalo embrionario del tubo neural que sucede entre los días 21-28 de gestación (Neto et al., 2010). Asimismo, se conoce que en seres humanos, indistintamente de la etiología

que la causa, este tipo de patologías puede ser prevenida mediante la administración de ácido fólico durante la gestación (van Uitert EM, et al., 2012). Se planteó un posible tratamiento preventivo basado en la administración de ácido fólico, teniendo en cuenta la época de cubriciones y de entrada al puerto, y el posible consumo de plantas teratogénicas en relación con el desarrollo de lesiones fetales. Se ha propuesto este tipo de tratamiento, ante la imposibilidad de practicar cambios en el manejo (cambios en fecha de subida a puerto o de época de cubriciones) y de eliminación de plantas tóxicas de los pastos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó una encuesta epidemiológica encaminada a conocer el número de rebaños afectados y la prevalencia de la enfermedad durante los años 2008-2011. El número de rebaños que se encontraban en la zona de riesgo y con presencia de terneros afectados de los que se obtuvieron datos osciló entre 38 y 47 según el año estudiado. El total de vacas adultas (>2 años) incluidas en la encuesta varió entre 314-412 en cada año.

En 2011, se seleccionó una zona concreta de pastoreo del puerto de Áliva donde el problema se conoce desde hace casi 20 años, con presencia constante y elevada de terneros afectados en todos los rebaños. Fueron controlados 9 rebaños, que sumaban un total de 385 animales, administrándose el tratamiento únicamente a dos rebaños (39 animales) en 2011 permaneciendo los 7 restantes como controles, y a todos en 2012. La administración de ácido fólico consistió en la inyección de dos dosis de 60 ml de un compuesto multivitamínico (Vitear ®) que suponía un total de 12 mg de ácido fólico por dosis. La primera aplicación se realizó a los 7 días de la entrada de los animales en el pasto, mientras que la segunda se aplicó 17 días más tarde. Asimismo se llevo a cabo la observación y estudio de todos los animales nacidos afectados en los 9 rebaños estudiados.

RESULTADOS

Estudio epidemiológico: Tras las encuestas realizadas a ganaderos y veterinarios se observó un total de 7, 6% de terneros afectados (ataxia o ceguera) del total de terneros nacidos entre 2008-2011 (105 terneros afectados/1.381 vacas). De estos animales aproximadamente un 45% presentaban una clínica leve-moderada, un 40% grave y un 15 % no compatible con la vida. Todos los casos aparecieron en los partos de febrero y marzo.

Resultados del tratamiento aplicado: En 2011, en los dos rebaños tratados sólo se observó la presencia de un ternero con ligera ataxia, que no impidió su crecimiento normal, y otro ternero con signos clínicos de ceguera nerviosa, uno en cada rebaño. Los rebaños no tratados presentaron todos nacimientos de terneros afectados, con un mínimo de 3 animales por rebaño y un máximo de 6 con un 50% de terneros con malformaciones graves o incompatibles con la vida. En 2012, nacieron 327 terneros en los 9 rebaños, 21 de ellos (7,3%) con signos clínicos nerviosos, 17 leves (81%), 3 graves (14%) y 1 no viable (0,05%).

DISCUSIÓN

Se ha planteado como tratamiento preventivo la administración de ácido fólico como protector del desarrollo del tubo neural, dada la imposibilidad de plantearse otras actuaciones tanto a nivel de manejo como en los pastos. La no disponibilidad en el mercado de un preparado exclusivamente con ácido fólico nos llevó a utilizar un complejo multivitamínico que también incorpora vitamina A, no pudiendo por ello aplicar dosis más elevadas ni conocer el posible efecto de esta vitamina sobre la patología estudiada y en las condiciones descritas.

Tras los resultados obtenidos en 2011 en los dos rebaños en que se probó el tratamiento, donde únicamente aparecieron dos terneros con un cuadro clínico leve, los 7 ganaderos restantes decidieron aplicarlo en 2012. En los resultados se muestra como a pesar de que la incidencia de la enfermedad apenas varía, si disminuyen de forma evidente el porcentaje de terneros con formas graves o no viables del 40 y 15% respectivamente, a un 14 y 0,05%. Los animales afectados con formas leves, son terneros cuyos signos clínicos no le impiden alcanzar la edad adulta y no implican cambios en el manejo.

Tras este estudio, consideramos que el tratamiento en los días indicados ha resultado eficaz en la prevención de las formas graves de esta patología. Este hecho, unido al bajo coste del producto administrado, disminuye en gran medida las pérdidas derivadas de esta enfermedad. Además, dado el efecto protector del ácido fólico sobre el tubo neural, independiente de la patología implicada, podría ser un complemento vitamínico útil en otros rebaños con gestaciones susceptibles de presentar animales con malformaciones nerviosas (infecciones por BVD, Schmallemberg, etc.)

BIBLIOGRAFÍA

Busque J, Pedrosa MM, Cabellos B, Muzquiz M. Phenological changes in the concentration of alkaloids of Carex brevicollis in an Alpine rangeland. J. Chem. Ecol. 2010; 36, 1244-1254.

Neto AC, Pereira FTV, Santos TC, Ambrosio CE, Leiser R et al. Morpho-physical recording of bovine conceptus (Bos indicus) and placenta from days 20 to 70 of pregnancy. Reprod. Domes. Anim. 2010; 45, 760-772.

Polledo L, García Marín JF, Martínez-Fernández B, González J, Alonso J, Salceda W, García-Iglesias. Descripcion de brotes anuales de mielodisplasia en terneros en la zona oriental de Picos de Europa. ANEMBE XVII. 2012

Polledo L, García Marín JF, Martínez-Fernández B, González J, Alonso J, Salceda W, García-Iglesias MJ. Recurrent outbreaks of myelodysplasia in newborn calves. J Comp Pathol. 2012; 147(4):479-85.

van Uitert EM, Steegers-Theunissen RP. Influence of maternal folate status on human fetal growth parameters. Mol Nutr Food Res. 2013; 57(4):582-95

ECBHM
European College of Bovine Health Management

INVESTIGATIONS ON CLINICOPATHOLOGICAL ASSOCIATIONS OF HYPERKALAEMIA IN CALVES WITH NEONATAL DIARRHOEA

Florian M. Trefz[1], Peter D. Constable[2], Carola Sauter-Louis[1], Annette Lorch[1], Gabriela Knubben-Schweizer[1] and Ingrid Lorenz[3]

[1] Clinic for Ruminants with Ambulatory and Herd Health Services at the Centre for Clinical Veterinary Medicine, LMU Munich, Sonnenstrasse 16, 85764 Oberschleissheim, Germany.

[2] College of Veterinary Medicine, University of Illinois, Urbana, USA

[3]UCD School of Veterinary Medicine, University College Dublin, Belfield, Dublin 4, Ireland

ABSTRACT

Hyperkalaemia is a clinically important electrolyte imbalance in neonatal diarrhoeic calves that was traditionally attributed to

concomitant acidaemia and was associated with skeletal muscle weakness and life-threatening cardiac arrhythmias. The aim of this retrospective study was to identify risk factors for hyperkalaemia in a large study population of 832 neonatal diarrhoeic calves that were admitted to the Clinic for Ruminants, LMU Munich. We found that plasma potassium concentrations were most closely correlated ($p < 0.001$) to parameters of dehydration and renal function such as serum creatinine ($r = 0.61$), urea ($r = 0.51$), and inorganic phosphorus concentrations ($r = 0.64$). Remarkably, venous blood pH values were weakly associated with plasma potassium concentrations ($r = -0.21$, $p < 0.001$) and were not of predictive value in a multivariate linear regression analysis. Despite this fact, the odds for having hyperkalaemia (> 5.8 mmol/L) in acidaemic calves were found to be 8.6 times as high as in non-acidaemic calves (95% CI, 4.8 - 15.4). However, an important finding of this study was that the odds for the presence of hyperkalaemia in acidaemic calves with hyper-D-lactataemia (> 3.96 mmol/L) were only 0.15 times as high as in acidaemic calves with normal D-lactate concentrations (95% CI, 0.11 - 0.22). We therefore concluded that hyperkalaemia in neonatal diarrhoeic calves depends on the degree of dehydration and the nature of an existing acidosis but not on the presence of acidaemia per se. Since the acidosis of hyperkalaemic calves was predominantly characterized by increased blood concentrations of inorganic phosphorus, total protein, L-lactate and presumably uremic anions we also concluded that dehydration is not only a major contributor to the pathogenesis of hyperkalaemia but also to the acidaemia which is commonly found in such calves. This finding emphasizes the importance of rehydration in the treatment of diarrhoeic calves.

PRESENTING AUTHOR

Dr. Florian M. Trefz, Resident ECBHM, Clinic for Ruminants with Ambulatory and Herd Health Services, Sonnenstrasse 16, 85764 Oberschleissheim, Germany

Email: Florian.Trefz@campus.lmu.de

GESTIÓN DE EXPLOTACIONES //MANAGEMENT - STRESS

COMPARISON OF CLIMATE CONDITIONS BETWEEN ON FARM MEASUREMENT AND OFFICIAL METEOROLOGICAL DATA

L. Schüller, O. Burfeind, W. Heuwieser

Clinic for Animal Reproduction, Freie Universität Berlin, Germany

ABSTRACT

The objective of the study was to compare the climate conditions of 7 dairy farms with the climate recorded at the closest official meteorological station. Ambient temperature (AT), relative humidity (RH) and the resulting temperature-humidity-index (THI) were compared between 7 different barns and those data obtained from the closest official meteorological stations and between 4 different locations within one barn. The results of this study indicated that in climate data obtained from a meteorological station heat stress is underestimated both in magnitude and duration. To assess heat stress accurately onsite measurement of relevant climate data is mandatory.

INTRODUCTION

Heat stress in lactating dairy cows is becoming increasingly important because an increase in milk yield is related to a decrease in heat tolerance [1,2]. The majority of studies about heat stress in livestock has been conducted in tropical or subtropical areas but there is a dearth of information from the moderate climates although in summer months extreme temperatures can occur [3]. Furthermore, most of the studies investigating heat stress obtained meteorological data from a meteorological station located in the vicinity of the study sites, but the value of information from weather stations to augment dairy records is not known [4]. Therefore the objectives of the study were to compare the climate conditions of dairy free stall facilities with the climate recorded from the closest official meteorological station. Specifically we set out 1) to compare AT, RH and THI measured over a period of 24 months from one barn with the climate obtained from the closest official meteorological station, 2) to compare AT, RH and THI from 4 different locations within one barn and 3) to compare the climate conditions measured onsite at 7 different barns with data obtained from the closest official meteorological station.

MATERIALS AND METHODS

The first part of the study was conducted on a commercial dairy farm in Sachsen-Anhalt, Germany from May 2010 to May 2012. The herd consisted of 1,150 Holstein dairy cows with an average milk production of 10,124 kg. The barn was positioned in a NE-SW orientation with open ventilation and a mechanical fan-system. Ambient Temperature and RH within the barn were recorded using Tinytag Plus II loggers (Germini loggers Ltd, Chichester, UK) secured in the middle alley of the different pens at beams 3 m from the ground. These loggers measured AT from - 25 to + 85 °C with an accuracy of ± 0.3 °C and a resolution of 0.01 °C and RH from 0 to 100% with an accuracy of ± 3% and a resolution of 0.3%. Climate data was recorded in the high-yielding pen, the holding area, the fresh cow pen and the close-up pen which was located outside. Additionally climate data were obtained from a meteorological station located in the vincity of the study site. Ambient temperature and RH data were used to calculate the THI according to the equation reported by Kendall et al. [5]: THI = (1.8 x AT + 32) - ((0.55 - 0.0055 x RH) x (1.8 x AT - 26)).

Furthermore, climate data were collected from 7 different barns of 6 different commercial dairy farms in Germany. These data were compared to the climate data collected from the closest corresponding official meteorological stations for the period June 2012 to October 2012. Loggers and position of the loggers were identical to experiment 1.

RESULTS

Climate conditions differed significantly between one barn and the corresponding official meteorological station. The AT was higher (6.4 ± 3.6 °C) in the barn than at the official meteorological station. The RH was higher (0.2 ± 7.2 %) at the official meteorological station than in the barn. The THI was higher (11.1 ± 6.5) in the barn than at the official meteorological station. Days with an average THI ≥ 72, a commonly used threshold to describe heat stress in dairy cows [4,6,7], were 64 and 4 out of 756 experimental days in the barn and at the official meteorological station, respectively. Number of days with a minimum of one hour averaging THI ≥ 72 were 162 and 75 of the 756 experimental days in the barn and at the official meteorological station, respectively ($P < 0.01$). In the comparison of the 4 different locations in the barn RH and resulting THI were highest in the holding area and the adjacent high-yielding pen. Lowest THI was detected in the close-up pen which was located outdoors and the fresh cow pen which was located

nearby an exterior wall with an additional fresh air supply. Number of days with an average THI ≥ 72 were 44, 36, 26, and 23 for the high-yielding pen, the holding area, the close-up pen and the fresh cow pen, respectively (n = 270; $P = 0.06$). Also, in a comparison of 7 different barns AT and THI as well as the number of days with an average THI ≥ 72 were significantly higher than at the closest corresponding official meteorological station.

DISCUSSION

In the present study, AT and resulting THI measured in the barn over 2 years were significantly higher than measured at the official meteorological station. Most importantly, the number of days averaging THI ≥ 72 were significantly higher inside the barn compared to the official meteorological station. These results indicate that in studies which obtain climate data from a meteorological station heat stress is underestimated both in magnitude and duration. To assess heat stress accurately onsite measurement of relevant climate data is mandatory. Even though mechanical ventilation was operating inside barn 1, the THI was significantly higher inside the barn than at the official meteorological station for the whole study period. Without mechanical ventilation, the THI inside the barn and the difference to the meteorological station could have been even higher. These results indicate that climate data obtained from a meteorological station is not adequate, neither for barns with mechanical ventilation, nor for barns without mechanical ventilation.

Relative humidity and resulting THI were highest in the holding area and the adjacent high-yielding pen. These observations illustrate that climate conditions are not uniform across a dairy farm but microclimates can exist due to different functions of pens, construction characteristics and environmental conditions. Our study provide evidence to support an earlier postulation that especially the holding pen is a location of intensive heat stress [8] that requires effective heat abatement measures. In locations in the barn with high evaporation and consequently high THI conditions, effective discharge of this hot and humid air should be provided in order to prevent heat stress in the barn.

In the present study barns with different construction types and environmental conditions were included. Barn 5 showed the best climate conditions with lowest AT, RH and THI and barn 7 showed the poorest climate conditions with highest AT, RH and THI. Interestingly, both barns were newly constructed (2008 and 2000) with high ceylings (8m) and natural and mechanical ventilation. These results suggest that even modern barns with mechanical ventilation do not guarantee good climate conditions inside. Beside structural conditions, there are many factors (e.g. stocking rate, location of the barn, prevailing wind direction relative to the floor plan) influencing the climate conditions inside the barn which cannot always be anticipated or objectively assessed.

CONCLUSION

These results indicate that heat stress is particularly important in dairy livestock in the moderate climate and highly affects CR of lactating dairy cows. Climate conditions should be obtained from on farm measurements to evaluate potential heat stress and to develop effective measures to abate heat stress of dairy cows.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the collaborating dairy farm for the provision of the reproductive data and for the possibility to collect the climate data. Laura-Kim Schüller was partly funded by the Dr. Dr. h. c. Karl Eibl-Foundation of the Neustadt a.d. Aisch A.I. Association (Neustadt a.d. Aisch, Germany) and Tiergyn e. V. Berlin.

REFERENCES

1. Berman A, Folman Y, Kaim M, Mamen M, Herz Z, Wolfenson D, Arieli A, Graber Y. Upper Critical Temperatures and Forced Ventilation Effects for High-Yielding Dairy Cows in a Subtropical Climate. J. Dairy Sci. 1985;68: 1488-1495.
2. West JW. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. J. Dairy Sci. 2003;86: 2131-2144.
3. Alcamo J, J. M. Moreno, B. Nováky, M. Bindi, R. Corobov, R. J. N. Devoy, C. Giannakopoulos, E. Martin, J. E. Olesen, A. Shvidenko. Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge University Press 2007: 541-580.
4. Ravagnolo O, Misztal I, Hoogenboom G. Genetic Component of Heat Stress in Dairy Cattle, Development of Heat Index Function. J. Dairy Sci. 2000;83: 2120-2125.
5. Kendall PE, Webster JR. Season and physiological status affects the circadian body temperature rhythm of dairy cows. Livest. Sci. 2009;125: 155-160.
6. Morton JM, Tranter WP, Mayer DG, Jonsson NN. Effects of environmental heat on conception rates in lactating dairy cows: critical periods of exposure. J. Dairy Sci. 2007;90: 2271-2278.
7. Igono MO, Bjotvedt G, Sanford-Crane HT. Environmental profile and critical temperature effects on milk production of Holstein cows in desert climate. Int J Biometeorol 1992;36: 77-87.
8. Collier RJ, Dahl GE, VanBaale MJ. Major advances associated with environmental effects on dairy cattle. J. Dairy Sci. 2006;89: 1244-1253.

Contact Email: laura.schueller@fu-berlin.de

ECBHM
European College of Bovine Health Management

MEJORA DE LA CALIDAD DE LECHE Y DEL NIVEL DE PRODUCCIÓN TRAS EL MANTENIMIENTO DE LAS VACAS SOBRE CAMA COMPOSTADA DURANTE EL SECADO

Susana Astiz[1], Francisco Sebastián[2], Octavi Fargas[3], Miguel Fernández[2], y Emili Calvet[3]

1: Dpto Reproducción Animal (INIA), Madrid; 2: SAT More, Valencia; 3: VAPL SL, Barcelona

ABSTRACT

Housing and, specifically, bedding are of utmost importance for health, productivity and longevity of dairy cattle. “Compost bedding” (CB) is an alternative way of loose-housing that is currently being implemented in many regions world-wide. It has verifiable positive effects on lactating cows, and it can be expected to be beneficial also for dried cows. The objective of the present study was to analyze the benefits of a CB system during the dry-period for the health (udder and uterine health), and for reproductive and productive performance during the following lactation of multiparous cows when compared to cows allocated on straw bedding. A total of 423 Holstein cows were randomly distributed at drying-off into a CB-Group (n=242) and a straw-bedded group (S-group; n=181). After calving, the management was the same

for all cows. Data on milk yield, pregnancy after first insemination (P/FAI), somatic cell counts (SCC), incidence of clinical mastitis, metritis and cytological endometritis, and mortality/culling rate were recorded. No differences in P/FAI and mortality rate, nor in the incidence of clinical metritis or endometritis between groups were detected. We observed positive effects of CB-systems on udder health [lower incidence of the first mastitis-cases, 22.1 vs. 35%; *P*=.004, of second-mastitis cases, 6.8 vs. 15%; *P*=0.009, and a positive tendency in SCC (96.1±135.2 vs. 139.5±242.6 cells/L; *P*=0.08)]. Moreover, increased milk yield/cow during the first 100 days of the following lactation (3778±887 vs. 3538±991 L/100d of lactation; *P*=0.011) and milk yield/day-in-milk (38.38±7.3 vs. 36.70±7.5 L/d; *P*=0.022) were observed. These findings, added to the saving of straw costs and waste disposal, encourage the implementation of CB-systems in dairy farms.

RESUMEN

Las instalaciones y en concreto las camas son de suma importancia para la salud , la productividad y la longevidad de las vacas lecheras. El sistema de "camas compostadas"(CC) es una forma alternativa de encamado que se está implementando actualmente en muchas regiones del mundo. Ya se han observado efectos positivos en vacas lactantes, por lo que es de esperar que también tenga efectos beneficiosos si se instaura este sistema en el secado de las vacas. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue analizar los efectos de estabular las vacas en un sistema de CB durante el período seco sobre índices de salud (de la ubre y del útero), así como sobre la eficiencia repro- y productiva durante la siguiente lactación de vacas multíparas, en comparación con vacas estabuladas sobre cama de paja. Para ello, se asignaron en el momento del secado, al azar, 423 vacas holstein, bien al grupo CC (n =242), bien al grupo de cama de paja (P; n = 181) . Después del parto, el manejo y las instalaciones fueron las mismas para todas las vacas. Se registraron los datos sobre producción de leche, gestación tras la primera inseminación (P/AI), recuento de células somáticas (SCC), incidencia de mastitis clínica, metritis y endometritis citológica y la tasa de desecho. Si bien no hubo diferencias en P/AI, ni en la tasa de desecho, ni en la incidencia de metritis clínica o endometritis entre grupos, se observaron diferencias significativas positivas en las vacas CC respecto a la salud de la ubre [menor incidencia de los primeros casos de mastitis: 22,1 vs 35%, *P*= 0,004; de los segundos casos de mastitis: 6,8 vs 15%, *P*= 0,009; y una tendencia positiva en SCC (96,1 ±135,2 vs 139,5±242,6 cél/l; *P*=0,08)]. Además se detectó un aumento significativo de la producción láctea durante los primeros 100 d de la lactación siguiente (3778 ±887 vs 3538±991; *P*= 0,011) y de la producción diaria en este periodo (38,38 ±7,3 vs 36,70 ± 7,5 l/d; *P*=0,022). Estos resultados, sumados a la reducción del coste asociado al consumo de paja y de eliminación de residuos, nos hace concluir la conveniencia del sistema de la cama compostada (CC) en las explotaciones lecheras durante el secado.

INTRODUCCIÓN

La mejora de la fertilidad en las granjas de bovino de leche sigue siendo uno de los grandes retos en la actualidad. El objetivo del presente trabajo fue procesar los datos reproductivos obtenidos en granja para extraer conclusiones basadas en la evidencia de la granja que permitieran tomar decisiones en la gestión reproductiva.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en una granja comercial del este de España con una media de 1216 vacas en lactación, un 37% de primíparas, una tasa de reposición media del 30% anual, media de edad al primer parto de 23,8m y una longevidad media de entre 2,6 y 3,2 partos.

Se incluyeron 423 vacas multíparas distribuidas al azar en el momento del secado, bien al grupo de cama compostada (CC; n=242), bien al grupo de cama de paja de cebada (P). Del total eran 191 vacas de segundo parto, 101 de tercero y 124 de cuarto o más. La distribución de paridad no difería entre grupos (3,07 and 3,03 partos/vaca para CC y P, respectivamente; *P*=0.956). Las dimensiones de los parques eran semejantes garantizando ambos una superficie mínima de 10,3 y 10,5m^2 de superficie con sombra /vaca para CC y P en el momento de máxima densidad (septiembre). En los momentos de mínima densidad (octubre y noviembre) la superficie/vaca fue de 14,6 and 14,8 m^2.

Las fechas de partos fueron entre junio y noviembre, con una distribución por meses semejante entre grupos (*P*=0,239).

Una vez paridas, el manejo y las instalaciones fueron las mismas para todos los animales, pasando a ser ordeñadas tres veces al día a intervalos de aproximadamente 8h. Las vacas reciben su ración *unifeed* dos veces al día, siguiendo recomendaciones estándar (NRC 2001).

Sistema de camas: el compostado (Barberg et al., 2007; Friedman, 2008, Weinberg 2011) consistió en una base de cama de paja de cebada de 0,5kg//m^2. Tras 18-20 días con las vacas sobre esta cama y tras alcanzar una profundidad de cama de 35-40cm se comienza con la aireación de la misma una vez al día con un sistema torneador del suelo acoplado al tractor ("rotovator"). Este torneador lo que hace es airear la cama a una profundidad de 10-15cm lo que garantiza pérdida de humedad en la superficie de la cama, y suficiente temperatura en la profundidad de la misma (composta). Una vez conseguido el compostaje de la cama se adiciona paja una vez a la semana (0,5kg//m^2).

Datos recogidos: se recogieron los datos productivos de los primeros 100d de lactación, con una media de 94 datos diarios/vaca y un total de 39-071 datos procesados.

La fertilidad a primera IA también fue registrada (P/IA).

Los indicadores de salud se refirieron a la incidencia de mastitis clínica (cambios macroscópicos en la leche con algún grado de inflamación de la ubre) diferenciando primeros, segundos y terceros casos en un mismo animal, considerando un intervalo de 21d entre un caso y otro indicativo de nuevo caso de mastitis y no recidiva (Van Eenennaan et al., 1995). La media de CS se registraba de los controles lecheros oficiales. También se registró la incidencia de metritis clínica (descarga vaginal purulenta durante más de dos días posparto) y finalmente, la endometritis citológica, efectuándose el recuento de polimorfonucleados neutrófilos (PNN%) el día 30 pp de un frotis de endometrio (Kasimanikam et al., 2005). Un nivel de PNN% ≥20% se consideraba positivo a endometritis citológica.

Procesado estadístico: los datos se compararon mediante t de Student. El recuento de SCC se comparó tras su transformación [log2 (SCC/100)+3]. La distribución de variables categóricas se estudió mediante la prueba de chi-cuadrado. Un nivel de significancia de *P*<0,05 y *P*≤0,10

Se consideró indicativo de diferencias y tendencias respecitvamente. Todo el procesado se efectuó mediante SPSS® 19.0 (IBM, NY, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 19 animales se desecharon durante el estudio con una tasa de dsecho de 3,9 y 5% en los grupos CC y P, respectivamente (*P*=0.643). Los resultados se resumen en la tabla siguiente:

Tabla. Indicadores de salud, producción y reproducción de vacas mantenidas sobre cama compostada (grupo CC) o sobre cama de paja (grupo P) durante el sedado

	Grupo P			Grupo CC			
	(%)		n/N	(%)		n/N	*P*
P/AI (%)	63,7		100/157	69,1		154/223	0,319
PMN≥20%	26,9		35/130	27,2		40/147	1,000
MET (%)	10,0		18/180	7,2		17/235	0,374
MAST-1 (%)	35,0		63/180	22,1		52/235	0,004
MAST-2 (%)	11,7		21/180	5,1		12/235	0,021
MAST-3 (%)	3,3		6/180	1,7		4/235	0,172
	Grupo P			Grupo CC			
	media	±	SD	media	±	SD	*P*
INT-MET (d)	7,2	±	5,3	5,8	±	3,9	0,356
INT-MAST-1 (d)	67,5	±	56,6	71,9	±	48,50	0,661
INT-MAST-2 (d)	106,0	±	50,8	95,5	±	41,5	0,732
INT-MAST-3 (d)	124,7	±	28,2	111,3	±	47,7	0,803
SCC (céls/ml)	139,5	±	242,3	96,1	±	135,2	0,081
I/100d de lactación	3538	±	991,1	3778	±	887,5	0,011
I/DEL (I/d)	36,7	±	7,5	38,4	±	7,3	0,022

P/AI= porcentaje de vacas gestantes tras la primera IA; PMN≥20= prevalencia de endometritis citológica:

MET (%)= incidencia de metritis clínica; MAST-1= Incidencia de primer caso de mastitis;

MAST-2= Incidencia de segundos casos de mastitis;

MAST-3= Incidencia de terceros caso de mastitis;

INT-= Intervalo entre el parto y el problema de salud.

SCC= Recuento de células somáticas;

DEL= días en leche

Estos resultados de mayor producción y menor recuento de CS en CC son semejantes los descritos por otros autores en vacas en lactación sobre cama compostada. La ausencia de efecto sobre metritis, endometritis o fertilidad, también se ha publicado previamente, atribuyéndose a que estos valores dependen de otros muchos factores. En la granja del estudio, el nivel de enfermedad y mortalidad es muy bajo, lo que puede haber dificultado el encontrar mejoras significativas, atribuibles a la CC. Una de las razones por las que se critica frecuentemente la CC es por la gran cara bacteriana que contiene. En nuestro caso, también fue así. Sin embargo, y al igual que en trabajos previos, a pesar de la contaminación bacteriana, el nivel sanitario de ubre se ve mejorado. Las causas podrían ser un nivel de bienestar mayor asociado a este sistema, que induciría una mejora en el sistema inmune, y por ende, resistencia a la mastitis. O por otro, al ser la carga bacteriana general mayor, las bacterias patógenas tengan más competencia para llegar a infectar la ubre. Sin embargo, cualquiera de las dos hipótesis debe ser demostrada con evidencias científicas.

CONCLUSIONES

Con estos resultados queda clara la ventaja del sistema de cama compostada durante el secado de las vacas lecheras multíparas respecto a la cama de paja en sistema tradicional, siendo la principal ventaja la derivada de la reducción del nivel de mastitis subclínica (reducción en SCC) lo que incrementa el nivel productivo de los animales. Esto unido a la reducción del coste ligado al consumo de paja y manejo de la basura, subraya las ventajas del sistema de cama compostada durante el secado.

BIBLIOGRAFÍA

Barberg, et al., 2007. Performance and Welfare of Dairy Cows in an Alternative Housing System in Minnesota. J. Dairy Sci. 90, 1575–1583. **Friedman,** S., 2008. The economical potential of cattle manure. Meshek Habakar Vehachalav 332, 22–24. **Weinberg**, et al., 2011. The effect of cattle manure cultivation on moisture content and survival of Escherichia coli. J. Anim. Sci. 89, 874–81.**Kasimanickam,** et al., 2005. A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. Can. Vet. J. 46, 255–259. **Van Eenennaam,** et al., 1995. Financial analysis of alternative treatments for clinical mastitis associated with environmental pathogens. J. Dairy Sci. 78, 2086–2095.

APROXIMACIÓN A LAS CAUSAS DE DESECHO EN EXPLOTACIONES INTENSIVAS DE GANADO VACUNO DE APTITUD LÁCTEA

Rodríguez Lago, J.M.[1] y Sierra Toral, Ana [2]

1.Veterinario Técnico Agroseguro, S.A., Profesor Asociado de la Facultad de Veterinaria de León, Universidad de León

2.Doctora en Veterinaria, Técnica Veterinaria Sección de Sanidad y Producción Animal de Palencia, Junta de Castilla y León

RESUMEN

Este trabajo se ha llevado a cabo a partir de las 2.225 peritaciones realizadas en los animales siniestrados durante los años 2.011, 2.012 y 2013 en explotaciones intensivas de ganado vacuno de aptitud láctea de la zona sur de León, provincia localizada geográficamente en la zona noroeste de España.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio ponen de manifiesto que la principal causa de siniestro en estos rebaños se ha debido a traumatismos en el sistema locomotor, por delante de neumonías, problemas digestivos, mamitis, desplazamientos/ulceraciones de abomaso, problemas en el parto y periparto, etc...

Así, en el año 2011, de los 777 casos peritados, 153 han sido siniestros debidos a traumatismos del sistema locomotor, representando un 19,69 % del total; en el año 2012, de los 861 casos peritados, 203 casos han sido por este motivo, (23,57% del total), y en el 2013, (*con datos procesados hasta septiembre de ese año), de los 587 casos, 138 casos se deben a este motivo, representando un 23,50 % del total.

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El conocimiento de cuales son las principales causas de desecho en una explotación de vacuno de leche nos va a permitir contar con más herramientas con las que intentar disminuir las pérdidas económicas en un rebaño lechero.

La idea general que se desprende de los trabajos que estudian este tema es que las principales causas de desecho en las ex-

plotaciones intensivas de ganado vacuno de aptitud láctea son: baja fertilidad, baja producción, mamitis, problemas del sistema locomotor, desplazamiento de abomaso, neumonías, etc...

Por tanto este trabajo, a través de la casuística de los animales siniestrados, pretende focalizar la atención hacia los motivos principales de desecho observados en este tipo de explotaciones, con la esperanza de poder contribuir a mejorar los resultados económicos de estas granjas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Este trabajo se ha llevado a cabo a partir de 2.225 peritaciones de hembras de raza Frisona de media-alta producción láctea siniestradas durante los años 2.011, 2.012 y 2013, (*con datos procesados hasta septiembre de ese año).

Se ha desarrollado en 119 explotaciones intensivas de ganado vacuno de aptitud láctea, el número total de animales de estas explotaciones es de 20.246, con un tamaño medio de 170 animales/explotación, oscilando entre 42 y 754 animales con la siguiente proporción del tamaño de rebaño: de 0 a 50 animales el 11,19%; de 50-100 el 21,64%; de 100-200: el 36,56%; de 200-300 animales: el 20,89% y más de 300 animales: el 9,70%.

Todas las explotaciones son de media-alta producción láctea y la producción media por vaca y año es de 9.912,5 Kg de leche, oscilando entre 9.150 Kg y 10.675 Kg.

Los rebaños son de régimen intensivo con sistema de estabulación permanente en patios con cama de paja un 64,71 % o en cubículos, el 35,29% del total de explotaciones.

En el momento de la peritación, se recoge toda la información de la explotación a la que pertenece el animal así como los siguientes datos de la hembra siniestrada (raza, edad, identificación, etc...). Se realiza la inspección-exploración,- en caso de tratarse de animales vivos-, o la necropsia: en caso de animales muertos, registrando todos los hallazgos encontrados, lo que nos va a permitir completar la ficha y encuadrar cada caso peritado, en el tipo de siniestro del que se trata.

Con las 2.225 causas de siniestro que hemos peritado y registrado, construimos la tabla (Figura 1), que nos va a facilitar el conocer cuantos casos de cada tipo nos hemos encontrado durante los años 2011, 2012 y 2013 (con datos registrados hasta el mes de septiembre de ese año).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en nuestro estudio ponen de manifiesto que la principal causa de siniestro en estos rebaños, año 2011 (19,69 %), año 2012, (23,57 %) y 2013 (23,50 %), se ha debido a traumatismos en el sistema locomotor, por delante de neumonías, problemas digestivos, mamitis, desplazamientos/ulceraciones de abomaso, problemas en el parto y periparto, etc...,

También observamos y debemos destacar por otro lado, que el porcentaje de siniestros por mamitis sépticas e hiperagudas ha disminuido de forma importante en estos tres años: 2011 (15,18%), 2012 (13,35%) y en 2013 (10,56%) y en cambio, los desechos involuntarios por desplazamiento/ulceración de abomaso han aumentando de forma muy destacada, pasando de un 9,26 % en 2011 y un 11,26% en 2012, a un 13,96% para este último año 2013.

Si abordamos la discusión de estos resultados, lo primero que debemos tener en cuenta es que este trabajo que presentamos deriva de las peritaciones realizadas en los animales siniestrados cubiertos por la póliza del seguro pecuario línea 102 de Agroseguro, S.A. y por tanto, los casos están limitados por las garantías del seguro recogidas, y en este sentido, la mayoría de los autores consultados, presentan los problemas de fertilidad y la baja pro-

Figura 1: número de casos y porcentaje de cada tipo de siniestro encontrados durante los años 2011, 2012 y 2013

CAUSA DE SINIESTRO	AÑO 2011 (Nº CASOS)	AÑO 2011 %	AÑO 2012 (Nº CASOS)	AÑO 2012 %	AÑO 2013 (*hasta mes septiembre) (Nº CASOS)	AÑO 2013 %	INTERANUAL %
TRAUMATISMOS SISTEMA LOCOMOTOR	153	19,69	203	23,57	138	23,50	22,25
TRAUMATISMOS AJENOS SISTEMA LOCOMOTOR	15	1,93	11	1,27	9	1,53	1,57
PODODERMITIS	4	0,51	1	0,11	2	0,34	0,32
TOPES TRAUMÁTICOS	6	0,77	8	0,92	0	0	0,56
NEUMONÍAS total	112	14,41	129	14,98	76	12,94	14,11
PARTO o a consecuencia de él	74	9,52	85	9,87	57	9,71	9,70
MAMITIS (Séptica y/o hiperaguda)	118	15,18	115	13,35	62	10,56	13,03
PROCESOS DIGESTIVOS	124	14,15	102	11,84	72	12,26	12,75
DISLOCACIÓN/ULCERACIÓN ABOMASO	72	9,26	97	11,26	82	13,96	11,49
METEORISMO	5	0,64	6	0,69	8	1,36	0,89
HEPATITIS	3	0,38	5	0,58	0	0	0,32
RETICULOPERICARDITIS TRAUMÁTICA	37	4,76	50	5,80	32	5,45	5,33
PROCESOS INFECCIOSAS NO CODIFICADOS	32	4,11	41	4,64	28	4,77	4,50
MUERTE SÚBITA	8	1,02	9	1,04	17	2,89	1,65
CEGUERA	1	0,12	0	0	0	0	0,04
PROCESOS DEGENERATIVOS NO CODIFICADOS	10	1,28	0	0	3	0,51	0,59
TOTAL SINIESTROS	777 CASOS		861 CASOS		587 CASOS		

ducción como dos de las causas principales de desecho en los rebaños lecheros, Bascom, & Young (1998), Gröhn et al. (1998), Whiaker et al (2000), Vitela et al (2004), Pinedo et al (2010), por delante de las neumonías, mamitis, problemas digestivos, partos, desplazamientos de abomaso, traumatismos del sistema locomotor, y aún así, nosotros no recogemos esas dos causas de desecho al no estar contempladas en las garantías cubiertas por la póliza. Sin embargo, nuestros datos nos parecen suficientemente llamativos como para que intentemos investigar cuales pueden ser las causas de los hechos observados.

Si hablamos de los traumatismos del sistema locomotor como causa principal de desecho involuntario en nuestros rebaños de media-alta producción láctea, (media interanual de 22,25% del total de animales siniestrados), debemos señalar que los hallazgos a la exploración y/o necropsia que venimos observando son: paresias traumáticas del tercio posterior a consecuencia de lesiones en las articulaciones coxo-femoral, femoro-tibio-rotuliana, lesiones en tarso, metatarso-falange, fracturas de fémur, o lesiones en músculos abductores con hiperabducción no fisiológica ("vaca abierta"), rotura tendón de Aquiles y gastrocnemios, o lesión/luxación escapulo-humeral etc...

Y es curioso que a la vez que venimos comprobando este aumento de traumatismos en el sistema locomotor de los animales de estas granjas, con un sistema intensivo de explotación, de estabulación permanente, hemos visto como en muchas de ellas, se han abordado reformas en sus instalaciones o en su sistema de manejo: ya sea para responder al estrecho margen de beneficios que había en estos últimos años, (con unas materias primas muy caras, y un precio del Kg de leche muy bajo), o debido a un intento de adaptación de un nuevo horizonte del mercado de la leche sin cuotas lácteas, que hacían necesarias más vacas en la explotación, para aumentar la producción.

Para nosotros esta estrategia ha podido traer como consecuencia el limitar el espacio disponible por animal, ya sea por un cambio en el sistema de parques de cama caliente a sistema de cubículos sin área de descanso, donde los animales tienen muy limitados sus movimientos, lo que les lleva a tener "menor entrenamiento", menor flexibilidad, sobre todo en momentos de mayor actividad física, como son días de proestro y estro o porque pueden darse con mayor facilidad relaciones de dominancia, lo que puede llegar a aumentar de forma importante los traumatismos en la explotación. Y ante estas observaciones nos preguntamos, ¿pueden estos supuestos ser la causa de que los animales sean más proclives, más sensibles, a sufrir lesiones en su aparato locomotor?

Es por ello, que este trabajo pretende llamar la atención de los profesionales del sector hacia la casuística de traumatismos del sistema locomotor en rebaños lecheros de alta producción, intentando ampliar el estudio sobre el tema, y de confirmarse, hacernos conscientes de su dimensión con el fin una vez más, de optimizar los resultados económicos de las granjas que atendemos.

BIBLIOGRAFÍA

-Bascom, S.S. & Young, A.J. (1998) A Summary of the Reasons Why Farmers Cull Cows Journal of Dairy Science , Vol 81, Pages 2299-2305

-Gröhn, Y.T. Eicker, S.W. Ducrocq, V. Hertl, J.A. (1998) Effect of Diseases on the Culling of Holstein Dairy Cows in New York State Journal of Dairy Science Vol. 81, Issue 4, Pages 966-978

- Pinedo, P.J. De Vries, A. Webb, D.W. (2010) Dynamics of culling risk with disposal codes reported by Dairy Herd Improvement dairy herds. Journal of Dairy Science Vol. 93, Issue 5, Pages 2250-2261

-Smith, J.W., Ely, L.O., Chapa, A.M. (2000) Effect of Region, Herd Size, and Milk Production on Reasons Cows Leave the Herd Journal of Dairy Science Vol. 83, Issue 12, Pages 2980-2987.

-Vitela, I, Cruz-Vazquez, C, Ramos, M. (2004). Identificación de las causas de desecho en cinco establos en cinco establos lecheros de Aguascalientes, México. (2004). Téc. Pecu Méx 42(3):437-444.- Whiaker, DA, Kelly, J.M., Smith, S. (2000) Disposal and disease rates in 340 British dairy herds. Vet. Rec 2000: 146, pag. 363-367.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

MONITORING WELFARE IN PRACTICE ON DUTCH DAIRY FARMS

Frank van Eerdenburg[a], Jan Hulsen[b], Bert Snel[c]and Arjan Stegeman[a]

a Dept Farm animal health, Faculty of Veterinary Medicine, Utrecht University, Yalelaan 7, 3584 CL Utrecht, the Netherlands;F.J.C.M.vanEerdenburg@uu.nl
b Vetvice, Bergharen, the Netherlands
c DLV, Deventer, the Netherlands

ABSTRACT

The results of three welfare assessment protocols have been correlated with the Welfare Quality® assessment protocol on 60 dairy farms in the Netherlands. After adaptations to the WQ protocol, an alternative assessment protocol could be constructed of components of the other three. This had a correlation with the adapted WQ of 0.88. Execution of this new welfare monitor takes approximately 1.5 h for a farm with 100 dairy cows. This protocol is now being integrated in the Koekompas (=Cow Compass), a management assistance tool.

INTRODUCTION

On a dairy farm, welfare is a main issue. An increase in welfare is correlated with a higher milk yield (Van Eerdenburg et al., 2013). Measuring welfare in an overall, objective, way has been the subject of discussion for a long period of time and still is. The Welfare Quality welfare assessment protocol® (WQ) was published in 2009 and should solve this issue. However, the protocol is quite intensive and it takes a long time (up to a day) to assess a farm. Several other protocols haven been designed and published that do not require a full day for a single farm and these have been compared with WQ.

MATERIALS & METHODS

In this project 3 other welfare measuring protocols: Welzijnswijzer (=Welfare Indicator), Koekompas (=Cow Compass) and the Continue welzijns monitor (=Continuous Welfare Monitor), have been compared with WQ on 60 dairy farms in the Netherlands. In order to have the full range in welfare status, 4 veterinary practices, spread over the country, were asked to make a list of their dairy farmer clients. Each was given a score from good to bad, based on the availability of good quality food & water, quality of housing, health and behaviour. This score was based on the impression of the vets, no assessment was done at this time. Out of the lists, randomly, 60 farms were selected in such a way that in each practice there were 5 good-, 5 average- and 5 bad farms. The selected farmers were asked if they would be willing to participate in the project and, if not, the next farmer on the list was addressed. Of

each practice at least one vet was trained during a two day course in order to execute the WQ protocol. Other vets were trained to execute the other protocols. The farms were visited within 2 weeks for all protocols in order to avoid changes in welfare status over time. The result of the WQ protocol was considered to be the reference and the other three were correlated with WQ (Pearson correlation in SPSS version 20.0). Not only at the level of the end score, but also at principle, criteria and indicator level.

RESULTS & DISCUSSION

The results for WQ were: 3 farms with score Not Classified, 52 with score Acceptable and 5 Enhanced, no farm was scored Excellent. This implies that WQ does not have a proper discriminative capacity. Because of this, the correlations with the other protocols were very low and not statistically significant. In relation to the WQ endscore the Pearson correlation was calculated for the principle of Feeding 0.46; Housing 0.15; Health -0.07 and Behavior 0.47. It appeared that mainly the principles Feeding and Behavior were determining the WQ end score. Therefore, the original WQ was adapted in 3 ways: 1) Drinkers: If one of the drinkers is dirty, all drinkers are considered to be dirty. This is not logical because a farm with 10 drinkers will have a lower score than a comparable farm with 5 clean ones just because one of the drinkers is dirty. However, 9 clean drinkers are available for the cows. In the adapted protocol, therefore, a weighted score for cleanliness was introduced. A clean drinker scored 1, partially dirty 2 and dirty 3 points. After giving the score for the rest of the parameters measured, the total is divided by the average score for the cleanliness. 2) Integument alterations: If a cow has one hairless patch (HP) or lesion/swelling, she is taken in the calculations as a cow with a HP or a lesion/swelling, not taking into account how many HP or lesions/swellings she has. In the adapted protocol, therefore, the average number of HP, lesions and swellings per cow is used in the calculations. 3) Qualitative Behaviour Assessment (QBA): The QBA is seriously disputed (Bokkers et al., 2012) and, in the experience of the present study, very difficult to explain to the farmers. Since the aim of WQ is improvement of animal welfare, one has to motivate the farmer to improve the situation on his farm. With the use of the QBA, farmers do not consider WQ a proper way of determining the welfare of their animals, and are not convinced that the result is something to be taken seriously. Therefore, the QBA was omitted.

After these adaptations a new score was calculated for the 60 farms and resulted in 22 farms with score Not Classified, 31 with score Acceptable and 7 Enhanced, no farms were scored Excellent. Now all 4 WQ-principles were influencing the endresult. The Pearson correlations of the 4 principles were: Feeding: 0.85; Housing: 0.45; Health: 0.99 and Behaviour: 0.99. After these alterations to the WQ protocol correlations with the other three protocols were calculated. These were still very low at end result level. However, it was possible to construct a shorter protocol out of the components of the three other protocols tested (table 1), with a correlation of 0.88. Furthermore, the number of animals that need to be assessed on an individual basis could be reduced substantially as well. Thus reducing the time required for the execution of the protocol substantially (table 2). Assessing welfare of a group of animals can be done with animal based measures and environmental measures. WQ uses mainly animal based measures, like behavior. These measures reflect better what the status of the cow is, but need a substantial amount of time to assess, whereas measuring the environment can be done relatively fast. For some parameters there was a high correlation between the animal based and environmental measures. For example, the number of collisions of the cow with the dividers (during the lying down movement) correlated well with the width of the freestall (r^2 = 0,63; p= 0,03). Measuring the width of the freestall takes just a few minutes, whereas to estimate the number of collisions in a reliable way one needs at least two hours watching cows that lie down. In the new welfare monitor, therefore, the number of collisions is replaced by the width of the freestalls.

Principle	Parameters measured
Feed & water	Body condition
	Water supply
Housing	Freestall dimensions
	Softness of bedding
	Cleanliness of the cows
	Access to pasture
	Cows lying outside freestall
Health	Locomotion score
	Skin lesions
	Mastitis
	Other diseases (respiratory/metabolic/fertility)
Behaviour	Avoidance distance at the feedrack
	Possibilities for expression of normal behaviour

Table 1. Parameters measured in the new welfare monitor

	75%	66%	50%
Lameness	5,5	6,8	9,9
Skin Lesions	5,2	6,1	9,3
Diseases	5,9	3,9	8,8
Health (principle)	4,9	4,5	7,9

Table 2: Average deviation in % of the original score for items in the WQ protocol when 75%, 66% or 50% of the animals was scored individually.

CONCLUSIONS

It is proposed to change the WQ protocol according to the 3 adaptations described above.The newly developed protocol can be used as a screening tool for welfare problems and to improve the management on a dairy farm. Further studies with the newly developed protocol are ongoing and the farmers receive advice to improve the welfare of their cattle over a period of 2 years.

REFERENCES

Bokkers, EAM, M de Vries, ICMA Antonissen and IJM de Boer (2012) Inter- and intra-observer reliability of experienced and inexperienced observers for the Qualitative Behaviour Assessment in dairy cattle. Animal Welfare, 21: 307-318

F.J.C.M. van Eerdenburg, S. Vázquez-Flores, J. Saltijeral-Oaxaca and E.N. Sossidou(2013) A cow comfort monitoring scheme to increase the milk yield of a dairy farm. In: A. Aland and T. Banhazi (Eds.), Livestock Housing, Wageningen Academic Publishers, Wageningen, pp. 55-74.

Welfare Quality® (2009). Welfare Quality® assessment protocol for cattle. Welfare Quality® consortium, Lelystad, the Netherlands.

REASONS FOR CULLING HOLSTEIN IN DAIRY CATTLE HERDS OF DAIRY HERD IMPROVEMENT PROGRAM OF GALICIA

Laura Macías Niemeier[1], Ramiro Fouz Dopacio[2], Mª Luisa Sanjuán Hernán Pérez[1], EduardoYus Respaldiza[1], Fco. Javier Diéguez Casalta[1,3]

[1]Unidad de Epidemiología y Sanidad Animal (Facultad de Veterinaria), Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios, USC.

[2]Africor Lugo, Rondade Fingoi, 117, 27002, Lugo.

[3]Departamento de Anatomía y Producción Animal, Facultad de Veterinaria, USC.

ABSTRACT

The aim of the present study is to analyze the causes for culling Holstein dairy cattle using data from Galicia´s Dairy Herd Improvement Program (DHIP). The information of this survey was obtained and analyzed from the records system of dairy herds involved in this program, based on data concerning only Holstein cattle. To determine the main causes for culling cattle in herds, records of 22,177 animals (from 2,036 dairy farms) that have been culled in 2009 were analyzed. Results indicated that in nulliparous animals, "death" was the most frequent reason for elimination (64% of the cases). For the same age group, culling due to infertility represented 4% of the losses whereas mastitis accounted for 2%. In animals from their first to their third parity, infertility was the most common cause for culling (25, 26 and 23% of cases, respectively). From the fourth parity on, which covers 71% of the cases, mastitis was the most important cause (19%), followed closely by infertility (17%). This shows that the main factors for culling alter depending on calving, the stage of lactation and the conformation score of the animals, being reproductive problems the primary cause, followed by mastitis.

INTRODUCTION

Traditionally, the study of culling patterns has included "voluntary" culling (such as low production or management reasons) and "involuntary" culling (diseases, injuries, infertility or death). Disposal of animals for involuntary reasons limits the farmer's options to select the best specimens to use as stock animals, and it impairs the ability to sell the breeding. Knowing the reasons for culling is of great interest for profitability and management of dairy cattle production (1).

The objective of this study is to analyze the causes for culling Holstein dairy cattle using data from the Dairy Herd Improvement Program (DHIP) in Galicia on the basis of the calving and days in milk (DIM). More specifically, analysis of conformation score, milk production level and somatic cell counts (SCC) were carried out among cows between their first and their third calving prior to culling.

MATERIALS AND METHODS

All of the information in this study was analyzed based on the system records from the DHIP with data concerning only Holstein cattle. Records from the program included milk yield, and SCC. Birth date, calving date, lactation number and disposal codes were also available.

To determine the main causes for culling in the herds that were being studied, records from 22,177 animals culled during the year 2009 were analyzed. These records were collected from a population of 161,314 animals (distributed over 2,036 dairy farms) that were observed during that same year. 52,503 of them were

TABLE 1: Reasons for culling animals according to parity number

Reason for elimination Observed frequency (nº herds in which events were observed)		Parity nº (NP) Total animals in the group (% eliminated for each group in 2009/incidence rate -per 1000 animals-month at risk-)					
		Nulliparous 52,503 (2.1%/1.8)	Primiparous 24,599 (10.7%/9.4)	Second parity 26,738 (16.3%/ 14.7)	Third parity 21,049 (20.1%/ 18.6)	Four or more parity 36,425 (27.0%/ 26.1)	Total 161,314 (13.8%/ 12.3)
Death	Cows (herds)	705 (461)	528 (399)	694 (499)	684 (501)	1,194 (761)	3,805 (1.369)
	% of NP*	63.8%	20.0%	16.0%	16.2%	12.1%	17.2%
Urgent sacrifice	Cows (herds)	80 (75)	213 (191)	260 (214)	238 (202)	521 (405)	1.312 (765)
	% of NP	7.2%	8.1%	6.0%	5.6%	5.3%	5.9%
Lack of productivity	Cows (herds)	0 (0)	191 (147)	301 (209)	283 (211)	820 (520)	1.595 (757)
	% of NP	0.0%	7.2%	6.9%	6.7%	8.3%	7.2%
Mastitis	Cows (herds)	27 (26)	255 (213)	583 (431)	706 (505)	1,881(1,030)	3,452 (1,352)
	% of NP	2.4%	9.7%	13.4%	16.7%	19.1%	15.6%
Infertility	Cows (herds)	47 (44)	652 (451)	1,144 (671)	977 (645)	1,670 (954)	4,490 (1,456)
	% of NP	4.3%	24.7%	26.3%	23.1%	16.9%	20.2%
Official disease eradication program	Cows (herds)	1 (1)	1 (1)	3 (3)	1 (1)	9 (9)	15 (9)
	% of NP	0.1%	0.0%	0.1%	0.0%	0.1%	0.1%
Others	Cows (herds)	226 (166)	640 (426)	1,057 (590)	954 (611)	2,844 (1,288)	5,721 (1,584)
	% of NP	20.5%	24.3%	24.3%	22.6%	28.8%	25.8%
Lameness	Cows (herds)	19 (19)	159 (140)	303 (248)	383 (298)	923 (623)	1,787 (949)
	% of NP	1.7%	6.0%	7.0%	9.1%	9.3%	8.0%
Total	Cows	1,105	2,639	4,345	4,226	9,862	22,177
	% of NP	100%	100%	100%	100%	100%	100%

nulliparous cows (from 3 months to first calving). The minimum number of animals per farm in this study was 21 animals, with an average of 79 animals per herd, and maximum of 179. The average production of the studied herds was 8,755 kg per lactation.

The number of parity, the date of culling, the individual conformation score and the conformation score of the other animals in the herd from the same calve, were collected for all of the culled animals. If the animals were lactating, the following information was included: DIM at the time of culling, production level and SCC of the three dairy tests prior to culling.

RESULTS AND DISCUSSION

The annual culling rate was 13.8% (from 2.1% in nulliparous to 27% in cows with four or more parities), whereas the replacement rate was 26%. A 67% of cullings were classified as involuntary. The culling rate was 12.3 losses per 1000 animals and month at risk (from 1.8 in nulliparous to 26.1 in cows with four or more parities).

The reasons for losses were death, urgent sacrifice, lack of productivity, mastitis, infertility, loss in official disease eradication programs, others and lameness.

Distribution of reasons for culling was significantly different comparing all parity groups with each one ($p<0.001$ for all comparisons) (Table 1).

Regarding the study of DHIP (data prior to culling) it is important to highlight several observations. SCC of animals culled due to mastitis were significantly higher than those from animals culled for any other reason when observing either data from the last check, or changes in the last three checks. However, the farms where these animals were found did not have significantly higher SCCs than the rest. Cows culled for "mastitis" seemed to have higher production level than animals culled for other reasons. This was observed more clearly in animals in the third parity, whereas, for the same number of DIM, the animals culled due to lameness produced significantly less than those culled due to mastitis, and this trend was observed from the last three checks.

Animals culled due to infertility were found in more advanced stages of lactation. Furthermore, there was a tendency to maintain younger infertile animals for longer in production. Therefore, the average of days in lactation at which these losses were recorded exceeded 458 days in primiparous animals, but only 402 days in animals in their third parity (differences were significant at level 0.05).

Regarding conformation classifications, there was a significant tendency for culled animals to have lower scores than the mean for the herd. This tendency was particularly noted in primiparous animals where there were significant differences in the classification between culled animals and the average for the herd in all of the reasons for culling except for "death".

The results showed are from the year 2009, but nowadays we are analyzing records from 2010 on that will be exposed in June as a continuation of this study (to see if there is a tendency of the results or the reasons for culling are changing).

Our results showed partial agreement with the results from other recent studies that cited injuries/others as the main cause for culling, followed by reproductive changes, mastitis and poor production (2). In earlier studies conducted in England and France, infertility was the main cause for culling, followed by mastitis alternating with poor production and lameness (1, 2, 3). The differences between various studies may exist on the one hand because of the own evolution of the management in dairy herds, where there are a greater tendency to intensive production systems (for example it is observed more frequently postpartum metabolic problems); on the other hand, there are differences between the coding used, producing a better collected information because of higher modernization and a higher level of professionalization in farms.

CONCLUSIONS

Infertility, death and mastitis were the most frequent reasons for culling among cows in their first to third parity. Their effects were varied according to the parity, the stage of lactation and the conformation score of animals. Effects of lameness and poor production also affected culling.

REFERENCES

1.-Fetrow J, Nordlund KV, Norman HD. Invited review: Culling: Nomenclature, definitions, and recommendations. Journal of Dairy Science. 2006; 89(6): 1896-905.

2.- Pinedo PJ, De Vries A, Webb DW. Dynamics of culling risk with disposal codes reported by dairy herd improvement dairy herds. Journal of Dairy Science. 2010; 93(5): 2250-61.

3.-Whitaker DA, Kelly JM, Smith S. Disposal and disease rates in 340 British dairy herds. Veterinary Record. 2000; 146(13): 363-6.

NUTRICIÓN // FEED EFFICIENCY

ECBHM
European College of Bovine Health Management

EVALUATION OF THE NEED OF ANTIOXIDANT SUPPLEMENTATION IN ORGANIC DAIRY CATTLE DURING THE TRANSITION PERIOD: A COMPARATIVE STUDY WITH THE INTENSIVE FARMING SYSTEM.

Ángel Abuelo†*, Joaquín Hernández‡, José L. Benedito and Cristina Castillo

Department of Animal Pathology. College of Veterinary Medicine. University of Santiago de Compostela. Campus Universitario s/n. 27002 – Lugo (Spain).

** angel.abuelo@usc.es.* †ECBHM Resident. ‡ECBHM Diplomate.

When the production of Reactive Oxygen Species (ROS) overwhelms the neutralizing capacity of antioxidants, Oxidative Stress (OS) can develop. This plays a key role in the initiation, progression and maintenance of several pathological conditions connected with animal production, reproduction and welfare.[1, 2] Dairy cattle have been reported to suffer OS during the transition period [3-5]; although the majority of these studies have been performed with intensively managed cattle. In Europe, organic farming systems are under a strict regulation that prevents systematic antioxidant supplementation[6]. Hence, organic dairy cattle may also suffer OS during the transition period. Therefore, the aim of this study was to characterize the degree of OS suffered by organic dairy cattle in comparison to the intensively managed.

For this purpose, 45 multiparous cows from two organic farms and 22 from an intensive one were sampled every 2 to 3 weeks from 2 months before the expected calving date until 2,5 months after calving and the data obtained were grouped *ex-post* into four groups: Late lactation (-2 to -1 months), Prepartum (-1 month to

calving), Postpartum (calving to +1 month) and Peak of lactation (+1 to 2,5 months). The determinable reactive oxygen metabolites were quantified as an indicator of ROS [7, 8], for which the d-ROMs Test (Diacron International) was used; whereas the Serum antioxidant capacity (SAC) was estimated as described by Trotti et al.[8] using the OXY-Adsorbent Test (Diacron International). The Oxidative Stress index (OSi)[5] was calculated as ROS/SAC. Repeated measurements ANOVAs with Bonferroni post hoc corrections were used to assess the differences in the redox balance within each farming system throughout the study period; whereas the Student-*t* test was used to compare the two farming systems at each studied stage. All statistical analysis were performed with IBM SPSS for Windows v.20 and the criterion for statistical significance was established at $P < 0,05$.

Our results showed that organic dairy cattle have lower levels of pro-oxidants than the intensively managed one at all the studied stages. In organic cattle there was also a significant increase in the concentration of ROS after calving compared to when the cows were dried off, which was not observed in the intensive farmed animals. However, SAC was lower at all the studied stages in organic cattle, showing levels that did not exceed half of the value obtained in intensively managed cattle at the same stage.

As it was previously shown by our research group[5], a combined evaluation of pro- and antioxidants indicates more accurately the oxidative status of the animals and therefore OSi was calculated. These results reported that even though organic cattle had a lower oxidative challenge, as shown by the levels of ROS, they are more prone than the intensively farmed ones to develop OS before calving, as they have higher levels of OSi; as a consequence of a lower antioxidant activity. After calving, again due to a poor antioxidant capacity, organic cattle are at the same risk of developing OS than the animals managed according to the intensive system; although the metabolic demands for milk production are lesser for the former ones.

These findings, alongside with the European legislation[6] that prevents supplementation with synthetic vitamins in organic farms[1], highlight the importance of incorporating feedstuffs in organic cattle diets that besides fulfilling the requirements of the legislation, could be a source of natural antioxidants, in order to prevent the harmful effects of excessive ROS production.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Lucía Casanova Iglesias for her technical assistance, as well as the farmers that allowed us to use their animals for this study. This study was supported by the Galician Government grant # 10MRU261004PR. A. Abuelo is a FPU fellowship holder (Ref. AP2010-0013) from the Spanish Ministry of Education.

REFERENCES

1. Lykkesfeldt J, Svendsen O. Oxidants and antioxidants in disease: Oxidative stress in farm animals. Vet J. 2007;173(3):502-11.
2. Sordillo LM, Aitken SL. Impact of oxidative stress on the health and immune function of dairy cattle. Vet Immunol Immunopathol. 2009;128(1-3):104-9.
3. Bernabucci U, Ronchi B, Lacetera N, Nardone A. Influence of body condition score on relationships between metabolic status and oxidative stress in periparturient dairy cows. J Dairy Sci. 2005;88(6):2017-26.
4. Castillo C, Hernández J, Bravo A, López-Alonso M, Pereira V, Benedito JL. Oxidative status during late pregnancy and early lactation in dairy cows. Vet J. 2005;169(2):286-92.
5. Abuelo A, Hernández J, Benedito JL, Castillo C. Oxidative stress index (OSi) as a new tool to assess redox status in dairy cattle during the transition period. animal. 2013;7(8):1374-8.
6. Commission Regulation (EC) No 889/2008 of 5 September 2008 laying down detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) No 834/2007 on organic production and labelling of organic products with regard to organic production, labelling and control. Official Journal of the European Union. L250, 1 - 84.
7. Alberti A, Bolognini L, Macciantelli D, Caratelli M. The radical cation of N,N-diethyl-*para*-phenylendiamine: A possible indicator of oxidative stress in biological samples. Research on Chemical Intermediates. 2000;26(3):253-67.
8. Trotti R, Carratelli M, Barbieri M, Micieli G, Bosone D, Rondanelli M, et al. Oxidative stress and a thrombophilic condition in alcoholics without severe liver disease. Haematologica. 2001;86(1):85-91.

1 With the exception considered in the Regulation for vitamins A, D and E in specific areas, that requires the approval of the Member State.

EFFECT OF SUPPLEMENTATION WITH SODIUM BICARBONATE TO LACTATING DAIRY COWS DURING SUMMER

Baucells Joaquim[1,2] ; Torrellardona Josep[1] ; Moreira Bruno[1,3]

(1)Centre Veterinari Tona S.L.; (2) Associate Professor, Department of Medical Pathology, University Autónoma of Barcelona; (3) Student of the 6th year of the MSc in Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine - University of Lisbon, Portugal.

BACKGROUND

Heat stress in dairy cattle is a common problem in many areas of the world at least in some months of the year. The main consequences of heat stress are a reduction in dry matter intake, milk production and reproductive performance (Rejeb et al., 2002).

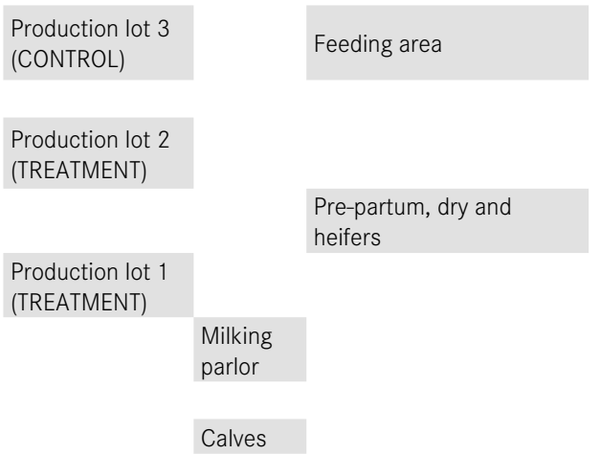
High temperatures may activate the hipothalamic-suprarrenal axis resulting in compensatory mechanisms to help maintain normal body temperature (Rejeb et al., 2002). This often results in the loss of some electrolytes and bicarbonate. It has been suggested that cows under heat stress may find a benefit of being supplemented with additional sodium bicarbonate, resulting in improved productive performance (Beede et al., 1986; Scheneider et al., 1986)

The objective of this study was to evaluate the effectiveness of a product incorporating sodium bicarbonate (BICAR Z® by Solvay chemicals) on milk production during heat stress.

MATERIAL AND METHODS

The study was conducted in a farm located in La Garrotxa (Girona, Spain).

Figure 1: Schematics of the distribution of lots within the farm



A total of 197 lactating Holstein cows were used. Animals were distributed in three groups, two for the treatment (treatment group) and one for the control (control group) (see figure 1). Control cows (n=87) cows) were fed a TMR diet once daily (See Table 1) and treatment cows (n=111) received the same diet but with the addition of 250 g per cow per day of sodium bicarbonate (BICAR Z®). The ingredient and chemical composition (average of 4 analyses) of the TMR diet offered as basal diet to all cows is presented in Table 1. The diet was design to meet or exceed dietary and nutritional recommendations for dairy cows in the farm following NRC (2001).

Table 1: Ingredient and chemical composition of basal diet (dry matter base).

Item	(% DM)
Triticale silage	22.9
Corn silage	7.5
Straw	3.1
Corn grain	21.7
Soybean meal	9.9
Brewer's grains	9.0
Barley	9.0
Corn gluten feed	7.7
Linseed meal	3.1
Cottonseed	1.5
Beet molasses	1.0
Calcium soaps	1.1
Soy hulls	0.45
Calcium carbonate	0.79
Bicarbonate (BICAR Z®)	(+ 250 g/cow for treatment group)
Urea	0.50
NaCl	0.20
Vit-Min Mix	0.90
MgO	0.15
Dry matter, %	36.2
UFL, /kg DM	0.99
NE_L Mcal/kg	1,71
Crude protein, %DM	16.9
NDF, %DM	39.6
Fat, %DM	5.19
Ash, %DM	7.86

The study was conducted in two periods: period 1 (1st to 31st July) and period 2 (1st to 31st of August). Temperature, humidity and rainfall were collected daily (Meteorological Service of Catalunya, Vall d'Enbas Station; Meteocat) and the Temperature-Humidity-Index (THI) was calculated using the following formula:

THI= (1.8xT+32) - ((0.55-0.0055xRH) x (1.8xT-26))

T=Temperature; RH=Relative Humidity.

Daily milk production and dry matter intake by group were determined daily. At the end of each period, respiration rate, rectal temperature and urine samples from a subset of cows (n=14 per treatment group) were collected. Respiratory rate and body temperature were determined between 10:00 and 12:00 h of sampling days, which represent a time of high temperature during the day. Urine samples were analyzed for urinary pH, potassium and bicarbonate concentrations.

Urine samples were collected by spontaneous urination, and pH was determined immediately with a portable pH-meter. The remaining of the sample was frozen at -20ºC for further analysis of bicarbonate and potassium concentrations. Bicarbonate was analyzed by volumetric techniques and potassium by potentiometry at Laboratorios Echevarne (Barcelona, Spain).

Respiratory rate, rectal temperature and urinary pH were analyzed by use of PROC MIXED (SAS, Institute, Inc., Cary, NC, V.9.2). The model included treatments and period as fixed effects and animal addict per group as random effect. For the analysis of milk production and dry matter intake data PROC MIXED was used with day as repeated measure and the treatment group as SUBJECT.

When significant differences were observed between LSMEANS option was used, using TUKEY mean determination.

A significant differences was considered when $P<0,05$.

RESULTS AND DISCUSSION

The experiment was conducted in July and August in La Garrotxa (Girona), because these tend to be the two hottest months of the year. Table 2 summarizes weather conditions in the last 15 days of each period to account for long-term effects of temperature over the measurements in sampling days.

Results indicate that the THI index average was just under the threshold of heat stress. However, at the hottest times of the day, the THI was at 86 and 88 for period 1 and 2, respectively. These THI are moderate to severe, and may result in an increase in respiratory rate and body temperature, and result in reduced milk production ranging from 3 to 7 kg of milk daily. These results suggest that cows were at least during part of the day under heat stress conditions, which justifies the use of prevention measures and provide an adequate set-up for the test of feeding bicarbonate in heat-stressed cows.

Table 2: Average temperature, humidity, rainfall and Temperature-Humidity Index in the wheather station of La Garrotxa in July (Period 1) and August (Period 2).

	Period 1	Period 2
Temperature, ºC		
Average	20.6	20.5
Maximum	33.3	34.7
Minimum	13.9	12.7
Relative Humidity, %	73	75
Rainfall, mm	142.4	129.2
Temperature-Humidity-Index		
Average	67	67
Maximum	86	88

Respiration rate was high in both control and treatment cows, compared with normal breathing rates that range from 30 to 50 breaths per minute, but the addition of Bicarb-Z did not affect this frequency. Rectal temperature was below normal ranges (generally suggested between 38.0 and 39.3 for lactating dairy cows), which may be associated with methodological processes. However, rectal temperature was reduced by 0.52 ºC on average in cows fed BICAR Z®. This reduction is relevant for dairy cows and has been associated with a reduction of milk production (Zimbelman et al., 2009). Urinary pH was within normal range for lactating dairy cows, but tended to decrease in the BICAR Z® treatment. Bicarbonate concentration in the urine was also reduced with the BICAR Z® treatment, but potassium concentration was not affected. Overall, data suggest that animals had some degree of heat stress, and that the addition of BICAR Z® appear to reduce some of the.

Table 3: Respiratory frequency (breaths per minute), rectal temperature and urine profile of cows fed a TMR with and without Bicarbonate (BICAR Z®).

	Control	BICAR Z®	SEM	P<
Respiratory rate, (min)	62.6	59.6	3.00	0.49
Rectal Temperature ºC	37.76	37.24	0.082	<0.001
Urinary				
pH	7.97	7.80	0.056	0.10
Bicarbonate	262.1	229.5	12.6	0.05
Potassium	186.8	178.8	7.76	0.47

Table 4: Milk production, dry matter intake and days in milk of cows fed a control diet with and without BICAR Z®

Variable	Treatment		SEM	P <
	CTR	TRT		TRAT
Milk production (MP), Kg/d	26.2	30.5	0.199	<.0001
Dry Matter Intake (DMI), Kg/d	18.6	20.2	0.173	<.0001
Days in milk (DIM), d	204	205	0.341	0.640
Ratio MP/DMI L/ kg MS	1.41	1.51		

While the physiological reaction of cows indicate that they were under heat stress, at least part of the day, and that cows reacted towards a better condition when fed BICAR Z®, production performance followed the same direction, likely with a above-average response (Table 4). Milk production increased 4.3 kg of milk, likely due to higher dry matter intake for the treatment group compared with control group (reduction of 2.2 kg of dry matter daily). This difference of milk production could not be attributed to differences in days in milk (very similar between groups). It should be noted, however, that the control and treatment groups were about 2 kg of milk difference before the trial started, and that the major differences were observed in August. However, even if the initial difference is subtracted from the overall difference, the effect in milk production is highly relevant. The reason for the sharp change at the beginning of August and the persistent different along that month has no obvious explanation. The above average response is difficult to explain because heat stress only occurred during the day, and it is well documented (West, 2003) that when night temperatures are below heat stress levels, this relieves part of the heat stress suffered during the day.

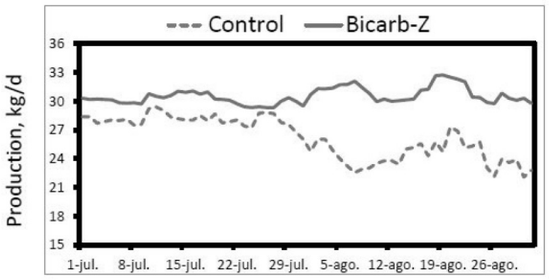


Figure 2: Effect of BICAR Z® on milk production under heat stress conditions

CONCLUSIONS

The experiment was conducted under heat stress conditions justified by weather measurement and animal measurements. The addition of BICAR Z® reduced some of the indicators of heat stress (rectal temperature, urinary bicarbonate and pH), and improved dry matter intake and milk production compared with control animals not fed bicarbonate.

REFERENCES

Zimbelman, R.B., R.P. Rhoads, M.L. Rhoads, G.C. Duff, L.H. Baumgard, y R.J. Collier. *A re-evaluatio of the impact of temperature humidity index (THI) and black globe temperature humidity index (BGHI) on milk production in high producing dairy cows.* Proc. 24th Southwest Nutrition and Management Conference, Tempe, AZ. 2009; 158-168.

West, J. W. *Effects of heat-stress on production in dairy cattle*. J Dairy Sci. 2003; 86(6), 2131–44.

Rejeb N, Najar T, Ben M. *The effect of the heat stress on dairy cow's performance and animal behaviour.* 2002; 2231-4490.

Scheneider PL, Beede DK, Wilcox CJ. *Responses of lactating cows to dietary sodium source and quantity and potassium quantity during heat stress*. J Dairy Sci. 1986; 69:99-110.

Beede DK, Collier R. *Potential nutritional strategies for intensively managed cattle during thermal stress*. J Animal Sci. 1986; 62:543-554.

http://www.dairynz.co.nz/page/pageid/2145857378/Temperature_Humidity_Index_THI_Calculator

ECBHM
European College of Bovine Health Management

THE INFLUENCE OF PREPARTUM ENERGY LEVEL ON MILK YIELD, KETOSIS AND DRY MATTER INTAKE IN TRANSITION DAIRY COWS

Mann S.[1*], Leal Yepes F.[2], Overton T.R.[2], Wakshlag J.J[1], Nydam D.V.[1]

[1]College of Veterinary Medicine, [2]College of Agricultural and Life Sciences, Cornell University, Ithaca, NY, USA

Several different nutritional strategies are employed for dry cows in order to prepare them for lactation. The primary objective of this study was to compare 3 different strategies and measure their influence on peripartal concentrations of betahydroxybutyrate (BHB) as a measure of negative energy balance. Elevated concentrations of BHB have been strongly linked to negative

downstream health events and worse milk production. Related outcomes were the influence of diet on body condition loss after calving, production of non-esterified fatty acids, dry matter intake, milk production and composition.

In a randomized block design, cows were dried off 57 days before expected calving and assigned to one of three dry period diets: a controlled energy diet **(L)** which was formulated to meet, but not exceed energy requirements; an intermediate step-up diet **(I)** where animals received the controlled energy diet for the first four weeks of the dry period and were switched to a diet formulated to supply 125% of energy requirements for the rest of the dry period; and a higher energy diet **(H)** formulated to contain 150% of requirements. All diets were formulated for ad libitum feeding and equal metabolizable protein.

From eight weeks before expected parturition until 42 days in milk, dry matter intakes were measured daily; blood samples for NEFA and BHB analysis, milk composite samples, weight and body condition score measurements were taken weekly. Subclinical ketosis was defined as a BHB concentration of 1.2-2.4 mmol/L and clinical ketosis as BHB ≥2.5 mmol/L. Descriptive statistics were generated with PROC FREQ and PROC ANOVA of SAS. Data measured over time were subjected to ANOVA by using the REPEATED statement in PROC MIXED. Prepartum BHB concentrations were different among groups over time (L: 0.29± 0.01 mmol/L, I: 0.30 ± 0.01 mmol/L, H: 0.33 ± 0.01 mmol/L, p=0.03). Postpartum BHB were most different at 9 to 11 DIM when mean BHB concentrations were 0.64, 0.83 and 1.12 mmol/L in the L, I and H groups respectively (p=0.05). Of all cows, 25, 36 and 43% in groups L, I and H had at least one episode BHB ≥ 1.2 mmol/L in the first three weeks after calving. In the first 21 DIM, 0, 4 and 5 cows in L, I and H group respectively had clinical ketosis and required treatment (p=0.07).

Average daily milk weights during the first 70 DIM were 43.84± 1.29 kg, 43.21 ±1.23 kg and 43.96 ± 1.26 kg in the L, I and H groups, respectively (p=0.89). Repeated measures ANOVA showed that energy corrected milk was not different among groups (L: 46.09 ± 1.34 kg, I: 46.99 ± 1.3 kg, 48.31 ± 1.4 kg; p=0.51).

Prepartal dry matter intake was highest for group H and lowest for group L (L: 14.19 ±0.28 kg, I: 15.33 ± 0.29 kg, H: 16.39 ±0.29 kg, p<0.001). Postpartum dry matter intakes were not different among groups (L: 22.33 ± 0.6 kg, I: 22.38 ± 0.6 kg, H: 22.40 ± 0.6 kg, p=0.99).

Animals fed the L diet showed less ketone production in the postpartum period while having equivalent milk production compared to the two other groups, although numerically higher ECM yields. Dry matter intake was similar among groups after calving. Although study size did not allow us to investigate the effect of the diets on disease outcomes, when considering the well documented negative health effects of increased BHB concentration postpartum, a controlled energy diet fed ad libitum during the dry period can be recommended from a health as well as production point of view.

EVALUATION OF THE FEEDING PROCESS IN A LARGE DAIRY IN CALIFORNIA

Y. Trillo[1], A. Lago[2], N Silva-del-Río[1]

UC Davis School of Veterinary Medicine, VMTRC, Tulare, CA[1]

DairyExperts, Tulare, CA[2]

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the feeding process based on-farm observations and software data in one farm located in Tulare County (CA, US). The on-farm assessment study was conducted on August 2013, and included the evaluation of commodities, mixer wagon, and feedbunk. Furthermore, high production cow ration and premix recipe records from July 2013 were extracted from the feeding management software (FW 7.0). There was a high disagreement between the formulated ration (CP=17.8% and NDF=25.0%) and the analyzed ration (CP= 16.5% and NDF=33.3%). Dry matter [mean and CV (%)] of green chop alfalfa was widely variable within the alfalfa pile in three different sampling days [72.7% (8.9), 62.6% (22.2), 47.2% (22.6)]. On sampling days, FW records of green chop alfalfa indicated that DM was 48%, 52%, and 58% respectively. Mixer wagon clean out was incomplete after a premix. A total of 455 kg of feed were still left in the mixer, representing a $100 value. Based on July FW records, subsequently after a premix was done, either a premix (60%), a high cow ration (35.1%) or a heifer ration (4.9%) was prepared. Ingredients included in both premix and high cow ration were assigned a high tolerance level, ranging from 45 to 135 kg. This represented a deviation for the ingredient's targeted weight of < 2% (n=4), between 2 to 6% (n=6), or more than 10% (n=3).

Approximately 48% of the time, the CV of Kg/cow/day across pens was >30%. Based on our observations, we found important opportunities to improve the efficiency of the feeding process.

INTRODUCTION

Research advances in the past decades have facilitated the development of computer models that accurately predict the performance of dairy cows based on the nutrient composition of the ration fed. These tools enable dairy nutrition consultants to formulate least cost rations while maximizing the efficiency of feed to milk conversion. However, the nutrient composition of the fed ration often differs from the formulated ration as a result of errors associated with weighing ingredients into the mixer wagon, uncertainties in dry matter (DM) content and nutrient composition of the ingredients.

OBJECTIVES

The objective of this study was to identify opportunities to improve feed efficiency through management.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted on a 4,000 cow free-stall Holstein herd located in Tulare County (CA, US) with a rolling herd average of 11,522 Kg/year. Lactating cows were fed a total mix ration (TMR) twice a day and milked twice a day. The feeding assessment was based on on-farm observations and data analysis of feeding management software records from July 2013.

On-farm observations

The dairy was visited two times in August, 2013. All commodities were sampled for DM determination. For green chop alfalfa ten grab samples were collected thrice throughout a two month period. Dry matter was determined for each of the individual grab samples. Feed samples were dried for 48 h at 60°C in a ventilated oven. Lab results were compared with DM results as recorded on FW.

To evaluate mixing uniformity of high cow ration and premix, ten equidistant samples were collected at the feedbunk and at the premix pile. Samples were sent to CVAS Inc (Hagerstown, MD) for wet chemistry analysis (CP, ADF, NDF, Ash, Ca, P, Mg, K, Na, Fe, Mn, Zn, Cu). Mixing uniformity of the high cow ration was

also evaluated with a Penn State Particle Separator using on-farm guidelines by Oelberg (2011). The nutrient composition of the formulated ration was provided by the nutritionist and compared with wet chemistry results from the analyzed high cow ration.

Feeding management software data

Premix and high cow ration records from July 2013 were extracted from the feeding management software, FeedWatch v 7.0 (FW 7.0). The variables extracted included: date, drop number, feeder, recipe, ingredient, loading sequence, loading start-time, loading end-time, pen, dropping sequence, target weight, and as-fed weight. Seven pens were fed the high cow ration by the primary, the relief or the sporadic feeder. A total of 111 premixes (six ingredients) and 191 high cow ration (seven ingredients) were made with a 2007 Peecon trailer model, 18 tons capacity and three vertical augers.

To evaluate if during the recipe preparation, the feeder was taking time to drop leftover feed in the commodity barn, the frequency of loading time between ingredients below 45 s was evaluated. All commodities had an assigned tolerance level (kg) below the formulated target to avoid overloading. The percentage that the tolerance level represents out of the average weigh loaded for each ingredient was calculated.

The feeding frequency of the high cow ration was evaluated per pen per day. The frequency of loads prepared overcapacity (above 100% of the mixer capacity) and undercapacity (under 80% of the mixer capacity) was calculated. Mixer capacity was defined based on the mixer wagon description recorded on FW.

DATA ANALYSIS

The data analysis undertaken in this study was for descriptive purposes only. Descriptive statistics were conducted with SAS 9.3. Categorical variables are presented as the frequency (%) and continuous variables as the mean and coefficient of variation [CV (%) = (std/mean)*100].

RESULTS AND DISCUSSION

There was a high disagreement between the formulated ration (CP=17.8% and NDF=25.0%) and the analyzed ration (CP= 16.5% and NDF=33.3%). Dry matter [mean, CV (%)] of green chop alfalfa for the three sampling days was 72.7% (8.9), 62.6% (22.2) and 47.2% (22.6). These results indicated a high variation in DM within the alfalfa pile, for all the sampling days. That can make difficult the feeder's task to obtain a representative sample. Based on FW records, green chop alfalfa DM as determined by the feeder was 48%, 52% and 58% respectively on those days. For all the other commodities dry matter ranged from 37.0% to 98.0%. The units of dry matter (%) difference between our lab results and FW records ranged from 1.4 to 6.6%.

Feed build-up was observed in the upper part of the lateral wall and under the augers. It was attributed to the stickiness of wet distillers included in the premix that represented 30.4% of as-fed ration with a 37.0% DM. However, this feed built-up did not affect mixing uniformity of high cow ration and premix based on wet chemistry analysis. The particle size distribution [mean, CV (%)] of the high cow ration was 14.2% (11.1) for the upper sieve, 37.7% (4.5) for the middle, 29.0% (3.1) for the lower and 19.1% (8.5) for the bottom. Based on guidelines developed by Oelberg et al. (2011) might suggest some issues in mixing uniformity in the bottom sieve but not in the middle and lower sieve.

Mixer wagon clean out was incomplete after a premix. A total of 455 kg of feed were still left in the mixer, representing a $100 value. Based on July FW records, subsequently after a premix was done, either a premix (60%), a high cow ration (35.1%) or a heifer ration (4.9%) was prepared. Occasionally, premixes and high cow rations loads were prepared over the mixer wagon capacity (4.5% and 1.1%. respectively) or under (0.9% and 6.9% respectively).

Ingredient included in both premix and high cow ration were assigned a high tolerance level, ranging from 45 to 135 kg. This represented a deviation for the ingredient's targeted weight of < 2% (n=4), between 2 to 6% (n=6), or more than 10% (n=3). The tolerance level assigned to a very expensive energy supplement (733 $/ton) was 45 kg and the mean inclusion weigh in the ration was 60 kg. The high tolerance level hinders the ability of the feeder to reach the target set based on the formulated ration.

Based on our on-farm observations, after loading each ingredient, the feeder never skipped the step to return the leftovers from the loading bucket to the commodity barn. The observed time elapsed between loads (n=11) for premix and high cow ration ranged from 60 to 150 s. However, based on FW records, the frequency of loading time between ingredients below 45 s was 0.9 - 6.3% (n=6), 17 - 35% (n=4), and as high as 72.5% (n=1).

More than 80% of the days, feed was delivered two times a day (n=2), three times a day (n=2), a combination of two to three times a day (n=2) or a combination of three to four times a day (n=1). Over the month of July, 31.0% of the days the CV of Kg/cow/day across pens was <10% and 47.9% of the days the CV of Kg/cow/day across pens was >30%.

CONCLUSION

Through our feeding management assessment, based on-farm observations and feeding management software records, we were able to identified opportunities to improve the feeding process that might reduce the difference between the formulated and the analyzed ration and minimize shrink losses at the dairy.

REFERENCES

Oelberg, T. 2011. TMR audits improve TMR consistency. Penn State Dairy Cattle Nutrition Workshop. Grant Ville, PA

REPERCUSIONES DEL NIVEL DE ALIMENTACIÓN DURANTE LA LACTACIÓN Y LA RECRÍA SOBRE LOS RENDIMIENTOS DE NOVILLAS DE RAZA PARDA DE MONTAÑA

Rodríguez-Sánchez, J.A., Casasús I. y Sanz, A.

Centro de Investigación y Tecnología Agroalimentaria del Gobierno de Aragón.

Avda. Montañana 930, 50059 Zaragoza. jarodriguezs@aragon.es

RESUMEN

En este ensayo se analizaron las repercusiones del nivel de alimentación durante la lactación y la recría sobre el crecimiento y la entrada en pubertad y sobre los rendimientos productivos y reproductivos al primer parto, en torno a los dos años, de novillas de raza Parda de Montaña. A la vista de los resultados obtenidos se concluye que las novillas son capaces de compensar crecimientos bajos ocurridos en fases previas. En sistemas extensivos se podría adelantar la primera cubrición a los 15 meses de edad, sin perjuicio de los rendimientos productivos y reproductivos, si se puede garantizar unos crecimientos cercanos a 1 kg/d en lactación o en recría.

INTRODUCCIÓN

Los sistemas de producción de vacuno de carne basan su eficiencia en la productividad del rebaño de vacas madres, considerando su entrada en pubertad, rendimiento reproductivo, capacidad de criar terneros y vida útil, aspectos que pueden estar influidos por el manejo que las novillas reciben durante la fase de lactación y recría. Por tanto, las novillas deberían seguir un programa de recría específico que les permita llegar púberes a la época de cubrición, alcanzar un primer parto a edad temprana con desarrollo suficiente para no presentar complicaciones al parto y que garantice una larga y eficiente vida productiva (1). Sin embargo, debido, en parte, a la extensificación de los sistemas productivos (2), en algunas ocasiones, no se lleva a cabo este manejo diferenciado de las novillas.

En este contexto, el objetivo de este ensayo fue analizar las repercusiones del nivel de alimentación durante la lactación (0-6 meses (m)) y la recría (6-15 m) sobre el crecimiento y la entrada en pubertad y sobre los rendimientos productivos y reproductivos al primer parto, en torno a los dos años, de novillas de raza Parda de Montaña nacidas en otoño.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizaron 29 terneras de raza Parda de Montaña nacidas en otoño de 2009. El ensayo comprendió desde el nacimiento de las terneras hasta el destete de sus primeras crías (30 meses), y se desarrolló en las instalaciones del CITA en Montañana (Zaragoza) (6-20 m) y en la Finca Experimental "La Garcipollera" (Pirineo oscense) (0-6 y 20-30 m). Las terneras se dividieron en cuatro lotes homogéneos, en peso y fecha de nacimiento, para aplicar un diseño factorial de dos objetivos de crecimiento en lactación (LACT 0-6 m: 1000 *vs.* 700 g/d, alto (A) y bajo (B), respectivamente) y en recría (RECR 6-15 m: 1000 *vs.* 700 g/d, alto (A) y bajo (B), respectivamente) (Lotes: AA, AB, BA y BB).

Los lotes LACT alto dispusieron a voluntad de un preparado comercial de arranque (FND: 24%; PB: 18,6%) suministrado diariamente en tolva, mientras que los lotes LACT bajo recibieron únicamente la leche de las madres.

En la fase de recría todas las novillas recibieron heno de alfalfa a voluntad (FND: 53,2%; PB: 11,9%) y se suplementaron con 12 y 6 g de pienso de crecimiento/kg de peso vivo (PV) (FND: 27,2%; PB: 15,7%) los lotes RECR alto y bajo, respectivamente.

A los 15 meses se inició un protocolo de sincronización de celos seguido de una inseminación artificial a tiempo fijo a partir de la cual todas las novillas dispusieron de una dieta basada en forraje y estimada para cubrir las necesidades de crecimiento y gestación

Las novillas se pesaron semanalmente durante los 30 meses de ensayo para estimar la ganancia media diaria (GMD) en cada fase.

Tras el primer parto las novillas y sus terneros permanecieron en estabulación libre durante los cuatro meses de lactación. Las madres recibieron una ración completa comercial (FND: 58%; PB: 9,9%), calculada para cubrir sus necesidades teóricas de mantenimiento, desarrollo y lactación. Los terneros se alimentaron sólo con leche materna y se pesaron semanalmente para controlar su GMD; se llevaron a cabo ordeños mensuales mediante la técnica descrita por Le Du (3) para estimar la cantidad y calidad de leche producida.

El inicio de pubertad y la duración del anestro posparto (app) se determinaron analizando la concentración de progesterona circulante mediante enzimoinmunoensayo (Ridgeway Science, Reino Unido) de una y dos muestras de sangre semanales, respectivamente.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante la fase de lactación, con un consumo de leche similar (7,2 kg/d), la provisión de pienso a voluntad (consumo individual de 1,37 kg/d) permitió a las terneras de los lotes LACT alto una mayor ganancia de peso (1,063 *vs.* 0,671 kg/d para alto y bajo, respectivamente, P<0,001) (Tabla 1). Las ganancias registradas en la fase de recría estuvieron influidas por los rendimientos obtenidos en lactación (0,758 *vs.* 0,870 kg/d para LACT alto y bajo, respectivamente, P<0,001) y por el nivel de alimentación aplicado en recría (0,961 *vs.* 0,667 kg/d para RECR alto y bajo, respecti-

Tabla 1. *Parámetros estudiados a lo largo del ciclo productivo*

LACT (0-6 m)	**Bajo**				**Alto**				***e.e.m***	***LACT***	***RECR***	***LxR***
RECR (6-15 m)	**Bajo (BB)**		**Alto (BA)**		**Bajo (AB)**		**Alto (AA)**					
Rendimientos Novillas												
GMD lactación (0-6 m)	0,643	b	0,699	b	1,046	a	1,079	a	0,07	***	NS	NS
GMD recría (6-15 m)	0,742	c	0,997	a	0,592	d	0,924	b	0,05	***	***	NS
GMD gestación (15 m-parto)	0,330	a	0,244	a	0,327	a	0,066	b	0,07	**	***	*
GMD lactación (120 d)	-0,063		-0,110		0,012		-0,120		0,18	NS	NS	NS
Rendimientos Terneros												
PV al nacimiento, kg	36,6	b	41,4	a	35,5	b	36,3	b	3,03	0.05	0.07	NS
PV al destete, kg	130,5		127,5		125,3		148,5		17,30	NS	NS	NS
GMD en lactación, kg/d	0,779		0,718		0,737		0,910		0,14	NS	NS	NS
Pubertad												
Edad a la pubertad, m	13,6	a	10,4	bc	11,3	b	9,3	c	1,00	**	***	NS
Peso a la pubertad, kg	333,5		319,7		326,2		328,7		26,23	NS	NS	NS
GMD nacimiento_pubertad, kg/d	0,683	c	0,871	b	0,834	b	1,079	a	0,04	***	***	NS
Nº Inseminaciones necesarias	1,20		2,25		2,00		1,67		0,96	NS	NS	NS
Fertilidad	6/7		8/8		7/7		5/7			NS	NS	
Anestro Postparto, d	112,6		78,6		100,3		76,8		25,75	NS	*	NS

NS*: P>0,05; *****: P<0,05; ******: P<0,01; *******: P<0,001; Letras distintas en una misma línea indican diferencias significativas (P<0,05);* ***GMD****: Ganancia Media Diaria*

vamente, P<0,001) sin observarse interacciones entre los niveles aplicados en ambos periodos. Los lotes LACT bajo presentaron un crecimiento compensador en la recría; los lotes RECR bajo intentaron compensar el menor consumo de pienso (4,2 *vs.* 1,7 kg/d RECR alto y bajo, respectivamente) con una mayor ingestión de heno de alfalfa (5,2 *vs.* 6,8 kg/d RECR alto y bajo, respectivamente). A pesar de este mayor crecimiento, debido a la acusada diferencia de peso al destete (226 *vs.* 162 kg para LACT alto y bajo, respectivamente, P<0,001) (Figura 1), la compensación no fue completa, y a los 15 meses de edad persistían diferencias de peso entre lotes (456 *vs.* 415 kg LACT alto y bajo, respectivamente, P<0,01).

Durante la gestación, a pesar de que todas las novillas dispusieron de la misma dieta, el lote AA presentó una GMD inferior al resto de lotes (P<0,05). Esto propició que se igualara el peso de todas las novillas al parto, excepto las del lote BB. El peso medio al parto (475 kg PV) fue similar al descrito por Revilla *et al. (4)* para novillas de esta misma raza con parto a los 2,5 años (483 kg PV), por lo que no se vio afectado por el adelanto del parto en torno a los dos años. La GMD de las novillas durante la gestación estuvo influida tanto por la fase de lactación (P<0,01) como por la fase de recría (P<0,001).

Todas las novillas mantuvieron su peso a lo largo de su primera lactación. Ni la producción ni la calidad de la leche se vieron afectados por los distintos manejos recibidos a lo largo del ciclo productivo. De igual modo, el adelanto del parto a los dos años no afectó a la producción media de leche (7,1 kg), puesto que Blasco (7) describió una producción lechera similar (7,2 kg), para novillas de esta misma raza y con parto a 2,5 años. El peso al nacimiento de los terneros tendió a verse influido tanto por el manejo que recibió la madre como ternera lactante (35,9 *vs.* 39,0 kg PV para los lotes LACT alto y bajo, respectivamente, P=0,05) como por el que recibió en la recría (38,9 *vs.* 36,1 kg PV para los lotes RECR alto y bajo, respectivamente, P=0,07). Sin embargo, ni la GMD (0,786 kg/d) en la lactación ni el peso medio al destete (132,5 kg) de los terneros se vieron influidos por el manejo recibido por sus madres.

Con relación a los parámetros reproductivos de las novillas, el inicio de la pubertad se alcanzó con un PV medio de 327 kg sin mostrar diferencias significativas entre lotes. De este modo se confirma que la pubertad se alcanza a un peso crítico para cada raza (5) y éste se encuentra en torno al 56% del peso adulto (6) (328 kg PV en Parda de Montaña). En este ensayo se observó una marcada relación entre la edad a la pubertad y el ritmo de crecimiento desde el nacimiento (r = -0,77, P<0,001). Las diferencias encontradas en la edad al inicio de pubertad fueron debidas al manejo aplicado en la fase de lactación (10,3 *vs.* 12,0 m para los lotes LACT alto y bajo, respectivamente, P<0,01) y al ritmo de crecimiento registrado en la fase de recría (9,8 *vs.* 12,5 m para los lotes RECR alto y bajo, respectivamente, P<0,001).

Ni la fertilidad ni el número de inseminaciones necesarias se vieron influidas por el manejo recibido por las novillas, quedando únicamente tres novillas vacías al final de la cubrición (2 del lote AA y 1 del lote BB).

El ritmo de crecimiento en recría hizo que tras el primer parto los lotes RECR alto se encontraran cíclicos 29 días antes que los lotes REC bajo (77,7 *vs.* 106,5 d, respectivamente, P<0,05). A pesar de esto no encontraron diferencias significativas en la duración del app entre lotes, debido entre otros motivos a la gran variabilidad encontrada en este parámetro.

A la vista de estos resultados se podría concluir que en función de la disponibilidad alimenticia, las novillas son capaces de compensar crecimientos bajos ocurridos en fases previas. En sistemas extensivos, si se pretende adelantar la primera cubrición a los 15 meses de edad, los resultados apuntarían a la necesidad de garantizar crecimientos cercanos a 1 kg/d en lactación o en recría, siendo la primera opción, *a priori*, más económica aunque la segunda reduciría la duración del app. Este adelanto favorecería aumentar el número de terneros por vaca a lo largo de su vida productiva sin perjudicar la fertilidad ni los rendimientos productivos de las primíparas

BIBLIOGRAFÍA

1. Patterson DJ, Perry RC, Kiracofe GH, Bellows RA, Staigmiller RB, Corah LR. (1992). Management considerations in heifer development and puberty. J Anim Sci. 70:4018-4035.
2. García-Martínez A, Olaizola A, Bernués A. (2009). Trajectories of evolution and drivers of change in European mountain cattle farming systems. Animal. 3:152-165.
3. Le Du YLP, Baker RD. Milk-fed calves. (1979). The effect of a change in milk intake upon the herbage intake and performance of grazing calves. J. Agr. Sci. 92:457-69.
4. Revilla R, Olleta JL, San Juan L, Blasco I (1992). Recría y manejo de novillas en zonas de montaña. Bovis. 46: 45-65.
5. Olleta JL, Revilla R, Blasco L, San Juan L. (1991). Inicio de la pubertad en novillas de montaña: efecto de la raza y del crecimiento durante la recría. Jornadas AIDA Producción Animal. 11:94-96.
6. Freetly HC, Kuehn LA, Cundiff LV. (2011). Growth curves of crossbred cows sired by Hereford, Angus, Belgian Blue, Brahman, Boran, and Tuli bulls, and the fraction of mature weight and height at puberty. J Anim Sci. 89: 2373-2379.
7. Blasco I. Influencia de diversos factores de explotación sobre las características reproductivas del periodo post-parto en ganado vacuno de montaña. Tesis Doctoral.

ABSTRACT

This study analysed the effects of different nutrition levels from heifers' birth to first mating at 15 months, on their growth patterns, puberty onset and productive and reproductive performance at first calving at two years old. Twenty-nine Parda de Montaña heifers, born in autumn, were assigned to two nutrition levels during lactation (0-6 months: High *vs.* Low) and rearing (6-15 months: High *vs.* Low). Productive and reproductive parameters were controlled from heifers' birth until weaning of their first calves (30 months). It can be concluded that, depending on the food availability, heifers would be able to compensate lower growth rates in previous phases. In extensive systems could be feasible to advance the first mating at 15 months of age without impairing productive and reproductive parameters guaranteeing growth rates close to 1 kg/d during lactation or rearing.

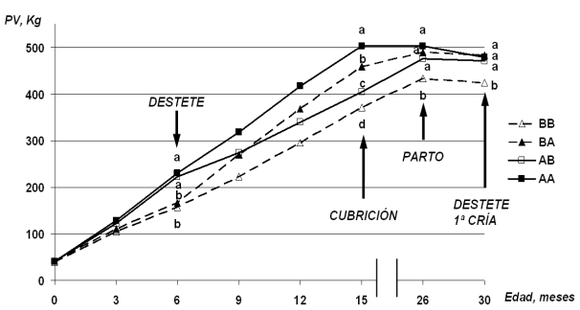


Figura 1. *Evolución del peso de las novillas a lo largo del ensayo*

PRODUCCIÓN DE BUEY JOVEN DE RAZAS AUTÓCTONAS ASTURIANAS BAJO DOS ESTRATEGIAS DE MANEJO EN EXTENSIVO

Román-Trufero A, García-Prieto V, Martínez A, Castro P, Osoro K, Celaya R

Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Villaviciosa, Asturias.

RESUMEN

En este estudio se evalúa la producción de carne de buey joven, comparando las dos razas autóctonas de Asturias, la Asturiana de los Valles (AV) y la Asturiana de la Montaña (AM). También se comparan dos sistemas de producción; tras el primer año de vida, en el que los terneros suben a puerto con sus madres durante el verano, en el segundo año, la mitad de los bueyes suben a puerto, mientras que la otra mitad permanece en pastos mejorados de valle. Los animales se sacrifican alrededor de los 33 meses de edad. Las ganancias de peso resultaron mayores en los bueyes AV que en los AM, dando lugar a mayores pesos al sacrificio y de la canal en los primeros. Independientemente de la raza, los bueyes manejados en puerto en su segundo año de vida presentaron ganancias menores que los manejados en praderas de valle, pero estas diferencias se compensaron al año siguiente durante el tercer año de vida, con lo que no hubo diferencias ni en el peso final al sacrificio ni en el de la canal y su rendimiento entre los dos manejos.

ABSTRACT

This study aimed to assess the meat production of castrated steers comparing two local Asturian breeds, 'Asturiana de los Valles' (AV) and 'Asturiana de la Montaña' (AM), and two management strategies: one consisting in yearling steers utilizing mountain pastures during the summer in the second year of life, and another consisting in yearling steers grazing on lowland improved pastures. Animals were slaughtered at an age of aproximately 33 months. Live weight gains were higher in AV breed than in AM, resulting in greater slaughter and carcass weights in the former. The steers utilizing mountain pastures in their second year of life had lower gains than those managed at lowland pastures regardless of breed, but such differences were counterbalanced in the next year, so there were no differences between managements in the final weight at slaughter and carcass weight and yield.

INTRODUCCIÓN

La carne de buey es un producto muy demandado, tanto por el consumidor como por el sector de la restauración. A pesar de ser un producto de alto valor por su calidad y características organolépticas, su producción en Asturias es muy baja, ya que la obtención de carne de vacuno está enfocada mayoritariamente a la producción de carne de ternera joven o de añojo (datos del Consejo Regulador de la IGP "Ternera Asturiana"). En este trabajo, estudiamos la producción de carne de buey joven, sacrificado alrededor de los 33 meses de edad, basada en una alimentación en régimen extensivo. Estos sistemas de manejo pueden ser económicamente más sostenibles para el ganadero, debido a menores costes de producción y a la menor dependencia de alimentos comprados fuera de la explotación, además de ser beneficiosos desde un punto de vista medioambiental, propiciando un mejor aprovechamiento de los pastos y menor consumo de combustibles fósiles. En este sentido, la transtermitancia de ganado entre valles y puertos de montaña que tradicionalmente se practica en la región supone una utilización más eficiente de los recursos pastables disponibles.

El objetivo de este trabajo es evaluar la producción de carne de buey joven, comparando dos razas autóctonas, la Asturiana de los Valles y la Asturiana de la Montaña, comparándose además dos sistemas extensivos de producción: uno, en el que los añojos ya castrados suben a los puertos en su segundo año de vida para aprovechar los pastos naturales de montaña en verano, frente a otro en el que los terneros solo suben a puerto el primer año, permaneciendo el segundo año en pastos mejorados de valles.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se utilizaron un total de 40 terneros machos nacidos en invierno-primavera de los años 2010 y 2011, la mitad de raza Asturiana de los Valles (AV), y la otra mitad de raza Asturiana de la Montaña (AM). Los terneros permanecen desde su nacimiento hasta mediados de junio junto a sus madres en prados de la zona costera asturiana (Villaviciosa, 50–150 m s.n.m.). En junio se suben a puertos de montaña situados en el Parque Natural de las Ubiñas-La Mesa (Quirós, a 1600–1800 m de altitud), donde permanecen todo el verano junto a sus madres. Al bajar del puerto son destetados y pastan en los prados de Villaviciosa durante el otoño, hasta que son estabulados en invierno y alimentados a base de pulpa de remolacha, pienso concentrado y heno de hierba. En febrero, cuando tienen un año de edad aproximadamente, se les realiza una castración quirúrgica, y en marzo comienzan el pastoreo de primavera en praderas de valle (Grado, 60–65 m s.n.m.). Al llegar el verano, la mitad de los bueyes (5 AV y 5 AM) suben al puerto, mientras que la otra mitad permanecen en dichas praderas. Tras el pastoreo de verano, todos los bueyes permanecen en la finca de Grado hasta su sacrificio, realizando allí el pastoreo de otoño, la invernada, el pastoreo de primavera-verano y la fase de acabado. La alimentación durante el acabado consiste en silo de maíz *ad libitum* y concentrado (4 kg/buey/día).

Los animales se pesaron regularmente. Para este trabajo se han calculado las ganancias de peso vivo (PV) anuales, desde el inicio del pastoreo de primavera (1º año) o desde la invernada (2º y 3º año) hasta la siguiente invernada (1º y 2º año) o el sacrificio (3º año). Los datos se han sometido a análisis de varianza. Para las ganancias durante el primer año de vida, se han examinado los efectos de la raza (AV o AM), del año (nacidos en 2010 o en 2011) y de su interacción. Para las ganancias del segundo y tercer año, se han examinado los efectos de la raza, manejo (en valle o en puerto en el 2º año de vida) y el año, junto con las interacciones entre los factores principales. El PV al sacrificio, peso y rendimiento de la canal se han analizado con el mismo modelo, introduciendo la edad (en días) al sacrificio como covariable.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el primer año de vida se observa que hay un efecto significativo ($P < 0,05$) de la raza sobre la variación de PV, siendo mayores las ganancias en los terneros AV que en los AM (776 *vs*. 679 g/día), debido al mayor potencial de crecimiento de la raza AV frente a la más rústica, AM (Martínez *et al*., 1999; Osoro *et al*., 2003). En general, los animales nacidos en 2010 presentaron mayores ganancias frente a los nacidos en 2011 (780 *vs*. 674 g/día; $P < 0,01$; Tabla 1). En el segundo año de vida, una vez castrados los animales, las ganancias de PV resultaron mayores ($P < 0,01$) en los bueyes que permanecían en praderas de valle durante el verano frente a los que subían al puerto (536 *vs*. 402 g/día), sin que hubiera diferencias significativas entre las dos razas. Los peores rendimientos observados en puerto pueden deberse a varias causas, como la menor producción y calidad nutritiva de los pastos de montaña frente a las praderas, o las mayores inclem-

encias meteorólogicas en montaña, junto con los mayores gastos energéticos de los animales en un terreno más difícil.

Durante el tercer año de vida se observa que hay un efecto significativo ($P < 0,05$) debido al manejo recibido el año anterior, pero en este caso, los bueyes que habían subido a puerto durante el verano del año anterior ganaron más peso que los que permanecieron en valle (715 *vs*. 634 g/día). Por tanto, los bueyes manejados en puerto el año anterior mostraron un crecimiento compensatorio respecto a los manejados en praderas de valle. Es bien conocida la capacidad del ganado vacuno, tanto de las vacas como de los terneros en desarrollo, para mostrar un crecimiento compensatorio cuando previamente se les ha sometido a una alimentación restringida (Wright *et al*., 1986, 1989; Osoro *et al*., 1993, 2003). En este tercer año de vida las diferencias entre razas en la ganancia de PV no llegaron a ser estadísticamente significativas (702 g/día en AV *vs*. 648 g/día en AM; $P = 0,12$).

El PV final se vio afectado de forma significativa por la raza, llegando al sacrificio los bueyes AV con mayor peso que los AM (696 *vs*. 606 kg; $P < 0,001$). Los bueyes nacidos en 2011 presentaron mayores pesos al sacrificio que los nacidos en 2010 (678 *vs*. 624 kg; $P < 0,05$). De igual modo, el peso de la canal y su rendimiento resultaron mayores en los bueyes de raza AV que en los AM (376 *vs*. 310 kg y 54 *vs*. 51% respectivamente; $P < 0,001$). Es de resaltar que el manejo del verano anterior no afectó ni al PV al sacrificio ni al peso de la canal, si bien se observó una interacción entre manejo y año en el rendimiento de la canal (Tabla 1). Por tanto, las menores ganancias durante el segundo año de vida en los bueyes manejados en puerto se vieron en gran parte compensadas durante el tercer año de vida, produciendo canales de pesos similares a los manejados en valle.

Tabla 1. Ganancias de peso vivo (PV) durante los tres años de vida, PV al sacrificio, peso y rendimiento de la canal de bueyes de raza Asturiana de los Valles (AV) o Asturiana de la Montaña (AM) según el manejo (pastoreo en praderas de valle o en puertos de montaña durante el verano de su 2º año de vida).

Manejo	Valle		Puerto			Significación				
Raza	AV	AM	AV	AM	e.s.m.	M[1]	R[2]	A[3]	M x A	Edad
Ganancia PV (g/día)										
1º año			776	679	33		*	**		
2º año	532	540	418	387	53	**	ns	ns	ns	
3º año	686	583	717	712	39	*	ns	ns	ns	
PV sacrificio (kg)	707	596	684	616	26	ns	***	*	ns	*
Peso canal (kg)	382	304	369	315	15	ns	***	*	ns	+
Rdto. canal (%)	54,1	50,9	53,9	51,1	0,8	ns	***	ns	*	ns

[1]Manejo; [2]Raza; [3]Año de nacimiento; e.s.m. error estándar de la media; ns no significativo ($P > 0,1$); + $P < 0,1$; * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$. Las interacciones M x R, R x A y M x R x A no eran significativas ($P > 0,1$) para ninguna de las variables analizadas.

CONCLUSIONES

Los bueyes de raza AV presentan mayores rendimientos que los de raza AM. El crecimiento compensatorio que muestran en el tercer año de vida los bueyes previamente manejados en pastos de puerto, hace que no haya diferencias en el peso final y de la canal respecto a los manejados en praderas de valle.

REFERENCIAS

Martínez A, García J, Noval G, de Diego V, Castro P, Osoro K. Efecto de la castración en los crecimientos y características de la canal en terneros de raza Asturiana de los Valles y raza Asturiana de la Montaña manejados en pastoreo. En: ITEA, VIII Jornadas sobre Producción Animal, Vol. Extra Nº 20. Zaragoza: AIDA; 1999. p. 26-28.

Osoro K, Oliván M, Martínez A, Barriada M. Ingestión, conducta de pastoreo y crecimiento compensatorio en vacunos añojos de raza Asturiana de Valles. En: ITEA, V Jornadas sobre Producción Animal, Vol. Extra Nº 12. Zaragoza: AIDA; 1993. p. 45-47.

Osoro K, Martínez A, Castro P. Desarrollo de sistemas eficientes de producción de carne de calidad en zonas bajas. Oviedo: SERIDA-KRK; 2003.

Wright IA, Russel AJF, Hunter EA. The effect of winter food level on compensatory growth of weaned, suckled calves grazed at two sward heights. Anim. Prod. 1986; 43: 211-223.

Wright IA, Russel AJF, Hunter EA. Compensatory growth in cattle grazing different vegetation types. Anim. Prod. 1989; 48: 43-50.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio se enmarca dentro del proyecto INIA RTA2011-00122-00-00 cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). Alicia Román Trufero disfruta de una beca FPI-INIA.

ASOCIACIÓN ENTRE NIVELES DE ÁCIDO β-HIDROXIBUTÍRICO EN SANGRE EN VACAS DURANTE EL POSTPARTO Y LA INCIDENCIA DE ENFERMEDADES CLÍNICAS, PRODUCCIÓN Y COMPONENTES DE LA LECHE, REPRODUCCIÓN Y DESECHO

Alfonso Lago[1], José Manuel Valle[2], José Antonio Pico [3], Cándido Rodríguez[4], Manuel Morales[5], Agustín Martín[6]

[1]DairyExperts, Tulare, California; [2]Serivet, Lugo, España; [3]Pico Veterinario, Asturias, España; [4]Icos Sociedad Cooperativa, Lugo, España; [5]Centro Veterinario Oceva, Zamora, España; [6]Villa y Agustín Veterinarios, Segovia, España

SUMMARY

The overall prevalence of subclinical ketosis after calving was 31% across 47 herds. Cows with subclinical ketosis had a higher risk of clinical ketosis (2.8x), displaced abomasum (5.4x), higher milk fat content at first test (+0.3%), tendency to lower milk protein content at first test (-0.2), higher risk to a fat:protein ratio ≥1.4 at first test (1.4x), tendency to lower conception at first breeding (0.7x), and higher culling risk in the first 60 DIM (2.5x). Had more subclinical ketosis cows with retained placenta (1.9x), clinical ketosis (1.4x), and, displaced abomasum (1.6x).

RESUMEN

La prevalencia de vacas con cetosis subclínica durante el postparto en los 47 rebaños evaluados fue del 45%. Vacas con cetosis subclínica tuvieron un riesgo mayor a tener cetosis clínica (2.8x), desplazamiento de abomaso (5.4x), mayor contenido graso en la leche al primer control (+0.3%), tendencia a menor contenido proteico al primer control (-0.2), riesgo mayor a una relación grasa:proteína ≥1.4 al primer control (1.4x), tendencia a una menor tasa de concepción al primer servicio (0.7x), y mayor eliminación en los primeros 60 DEL (2.5x). Tuvieron más cetosis subclínica vacas con retención de placenta (1.9x), cetosis clínica (1.4x), y desplazamiento de abomaso (1.6x).

INTRODUCCIÓN

Numerosos estudios han descrito la incidencia de la cetosis subclínica (CS) durante el postparto en rebaños lecheros en Norteamérica y su asociación con salud y producción durante el resto de la lactación (Duffield *et al*., 2009; McArt *et al.*, 2013). Sin embargo, no disponemos de estudios evaluando la enfermedad en rebaños Españoles. Además, estos estudios cuando evaluaron la asociación entre la CS y enfermedades del postparto no consideraron si el episodio clínico ocurrió antes o después de medir los niveles de ácido β-hydroxibutírico (ABHB) en sangre. Algunos de estos estudios sugirieron usar un punto de corte de 1400 mmol/L para el ABHB para definir CS. El medidor de ABHB Optium Xceed™ (Abbott Laboratories, IL) ha sido validado y considerado adecuado para medir niveles de ABHB a pie de vaca (Oetzel *et al*., 2008; Iwersen *et*

al., 2009).

El primer objetivo de este estudio fue evaluar la asociación entre CS y la incidencia de enfermedades clínicas después del diagnóstico de la CS; producción de leche, contenido graso de la leche, relación grasa:proteína y células somáticas al primer control; concepción al primer servicio; y, desecho en los primeros 60 días en leche. El segundo objetivo fue evaluar la asociación entre diferentes enfermedades clínicas del postparto y la incidencia de CS después del diagnóstico de la enfermedad.

MÉTODOS

Se recogieron muestras de sangre extraídas en la vena coxígea de 834 vacas una vez en algún punto entre los 1 y 30 DEL en 47 rebaños con un tamaño entre 30 y 300 vacas del noroeste de España. Las muestras fueron recogidas por cuatro veterinarios durante sus visitas regulares cada dos semanas o mensuales a la explotación y usaron el Optium Xceed™ para medir los niveles de ABHB. Se compararon dos grupos de vacas: a) vacas con CS (CS1) cuando ABHB ≥1,400 mmol/L; y, b) vacas sin CS (CS0) cuando ABHB <1,400 mmol/L. Los casos clínicos fueron registrados por los ganaderos; producción de leche y componentes se obtuvieron de las asociaciones regionales de control lechero; y datos reproductivos y de desecho fueron recogidos por los veterinarios.

Para evaluar el riesgo relativo de las vacas con CS en tener enfermedades del postparto (metritis, cetosis clínica y desplazamiento de abomaso) y para evaluar el riesgo relativo de las vacas con enfermedad clínica en tener CS a posteriori; las medidas de ABHB se clasificaron dependiendo si fueron colectadas antes o después del caso clínico.

Se usó regresión logística para el cálculo de RR y modelos de supervivencia Cox para el análisis de variables tiempo-a-evento (incidencia de metritis, cetosis clínica y subclínica, desplazamiento de abomaso, tasa de concepción a la primera inseminación y tasa de desecho en los primeros 60 días del postparto). Rebaño se incluyó como un efecto aleatorio.

RESULTADOS

La media de DEL a la toma de muestra de leche fue de 8±5 (media±desviación estándar) con el 89% de las vacas muestreadas en las dos primeras semanas después del parto. La media del ABHB en sangre fue de 1,081±1,023 mmol/L y 31% de las vacas tenían CS.

El riesgo relativo de tener CS fue 1.9 veces mayor para vacas con retención de placenta (RP1) [RR_{RP0} = 1.9, IC 95%$_{RP0}$ = (1.4, 2.6), P < 0.01]. La incidencia de CS fue 38.7% y 28.0% para RP1 y RP0, respectivamente.

Para vacas muestreadas antes de ser diagnosticada con metritis (MET), el riesgo de tener MET no fue mayor para CS1 [RR_{CS0} = 1.1, IC 95%$_{CS0}$ = (0.4, 2.6), P = 0.88]. La incidencia de MET fue 12.6% y 12.0% para CS1 y CS0, respectivamente. Para vacas muestreadas después de tener MET, el riesgo de tener CS fue numéricamente mayor pero no significativo para vacas con MET (MET1) [RR_{MET0} = 1.4, IC 95%$_{MET0}$ = (0.8, 2.2), P = 0.16]. La incidencia de CS fue 50.0% y 29.2% para MET1 y MET0, respectivamente.

Para vacas muestreadas antes de tener cetosis clínica (CC), el riesgo de tener CC fue 2.8 veces mayor para CS1 [RR_{CS0} = 2.8, IC 95%$_{CS0}$ = (1.2, 6.6), P = 0.01]. La incidencia de CC fue 10.8% y 4.2% para CS1 y CS0, respectivamente. Para vacas muestreadas después de tener CC, el riesgo de tener CS fue 1.4 veces mayor para vacas con CC (CC1) [RR_{CC0} = 1.4, IC 95%$_{CC0}$ = (1.0, 2.0), P = 0.04]. La incidencia de CS fue 78.1% y 25.9% para CC1 y CC0, respectivamente.

Para vacas muestreadas antes de tener desplazamiento de abomaso (DA). El riesgo de tener DA fue 5.4 veces mayor para CS1 [RR_{CS0} = 5.4, IC 95%$_{CS0}$ = (2.6, 11.0), P < 0.01]. La incidencia de DA fue 6.6% y 1.2% para CS1 y CS0, respectivamente. Para vacas muestreadas después de tener DA, el riesgo de tener CS fue 1.6 veces mayor para vacas con DA (DA1) [HR_{DA0} = 1.6, IC 95%$_{DA0}$ = (1.2, 2.2), P < 0.01]. La incidencia de CS fue 68.0% y 28.9% para DA1 y DA0, respectivamente.

La producción de leche no fue diferente para CS1 [Dif_{CS0} = 0.1 kg, IC 95%$_{CS0}$ = (-0.8, 1.0), P = 0.97]. Fue de 35.8 y 35.7 kg para CS1 y CS0, respectivamente.

El contenido graso de la leche fue mayor para CS1 [Dif_{CS0} = 0.3%, IC 95%$_{CS0}$ = (0.1%, 0.5%), P = 0.01]. El porcentaje de grasa fue 4.1% y 3.8% para CS1 y CS0, respectivamente.

El contenido proteico tuvo una tendencia a ser menor para CS1 [Dif_{CS0} = -0.1%, IC 95%$_{CS0}$ = (-0.2%, 0.0%), P = 0.08]. El porcentaje de proteína fue 3.1% y 3.2% para CS1 y CS0, respectivamente.

El riesgo relativo para una relación grasa:proteína ≥1.4 fue 1.4 mayor para CS1 [RR_{CS0} = 1.4, IC 95%$_{CS0}$ = (1.3, 1.6), P < 0.01]. El porcentaje de vacas con una relación grasa:proteína≥1.4 al primer control fue 58.4% y 41.6% para CS1 y CS0, respectivamente.

El logaritmo de base 10 del contaje de células somáticas no fue diferente para CS1 [Dif_{CS0} = 0.02, IC 95%$_{CS0}$ = (0.01, 0.03), P = 0.73]. El log 10 del contaje de células somáticas fue 4.9 para ambos CS1 y CS0.

La tasa de concepción a la primera inseminación tuvo una tendencia a ser menor para CS1 [RR_{CS0} = 0.7, IC 95%$_{CS0}$ = (0.4, 1.0), P = 0.08]. El porcentaje de vacas preñadas a la primera inseminación fue 21.7% y 29.7% para CS1 y CS0, respectivamente.

La tasa de desecho en los primeros 60 días del postparto fue 2.5 veces mayor para CS1 [RR_{CS0} = 2.5, IC 95%$_{CS}$ = (1.1, 5.0), P < 0.01]. El porcentaje de vacas eliminadas en los primeros 60 días fue 5.9% y 2.4% para CS1 y CS0, respectivamente.

CONCLUSIÓN

La fuerte asociación entre CS con la salud durante la lactación temprana indica que hay oportunidades importantes para reducir la incidencia y el impacto de la enfermedad.

AGRADECIMIENTO

Bayer Hispania financió parcialmente este trabajo.

REFERENCIAS

1. Duffield, T.F., Lissemore, K.D., McBride, B.W., Leslie, K.E., 2009. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. Journal of Dairy Science 92:571-580.

2. Iwersen I., Falkenberg U., Voigtsberger R., Forderung D., Heuwieser W. 2009. Evaluation of an electronic cowside test to detect subclinical ketosis in dairy cows. Journal of Dairy Science 92:2618-2624.
3. McArt, J.A., Nydam D.V., Oetzel, G.R., Overton T. R., Ospina, P.A., 2013. Elevated non-esterified fatty acids and b-hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance. The Veterinary Journal 198:560-570.
4. Oetzel, G.R., and S.M. McGuirk. 2008. Evaluation of a handheld meter for cowside evaluation of blood beta-hydroxybutyrate and glucose concentrations. Proceedings of the 41st Conference of the American Association of Bovine Practitioners. pg. 234.

SANIDAD // ANIMAL HEALTH

DIAGNÓSTICO DE LA PARATUBERCULOSIS BOVINA: COMPARACIÓN ENTRE CULTIVO FECAL Y QPCR SOBRE MUESTRAS DE CAMPO

Prieto A[1*], Lago N[1], Díaz JM[1], Pérez I[1], Guarddon M[2], Díaz P[1], López C[1], Fernández G[1].

1. Investigación en Sanidade Animal de Galicia (Grupo INVESAGA). Departamento de Patoloxía Animal. Facultade de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.

2. Laboratorio de Hixiene, Inspección e Control de Alimentos (LHICA). Departamento de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía. Facultade de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.

* alberto.pri@hotmail.com

ABSTRACT

During 2012, 91 faecal samples were collected from 15 dairy herds with known sanitary status, and analysed by faecal culture and qPCR in parallel for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. Sensitivity, specificity, positive and negative predictive values of qPCR related to faecal culture were 95,8%, 92,5%, 82,1% and 98,4% respectively, with a very good agreement between both techniques (*kappa*= 0,84). These results support the use of direct qPCR in faeces as a effective method for paratuberculosis diagnosis.

RESUMEN

Durante el año 2012 se recogieron 91 muestras fecales de 15 rebaños de vacuno lechero con historial sanitario conocido, siendo analizadas mediante cultivo fecal y qPCR en paralelo para la detección de *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. La sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo de la qPCR obtenidos en relación al cultivo fecal fue de 95,8%, 92,5%, 82,1% y 98,4% respectivamente, con una concordancia entre ambas pruebas muy buena (*kappa*= 0,84). Estos resultados apoyan el empleo de la qPCR directa en heces como un método eficaz en el diagnóstico de la paratuberculosis.

INTRODUCCIÓN

La paratuberculosis es una enteritis crónica caquectizante provocada por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (*Map*), que presenta una distribución mundial y afecta fundamentalmente a rumiantes (1, 2). La importancia de este proceso en el vacuno lechero radica en el impacto económico que produce en las explotaciones afectadas, debido a la reducción de la producción de leche, aumento de la tasa de reposición, disminución del peso al sacrificio y un mayor gasto veterinario y de diagnóstico (1).

Aunque no existe ninguna prueba diagnóstica *antemortem* que permita identificar la enfermedad en todos sus estadios (3), tradicionalmente se ha considerado como *gold standard* el cultivo microbiológico de muestras fecales. Sin embargo, esta es una técnica lenta, laboriosa y con una sensibilidad variable en función de la fase de la enfermedad. Estas limitaciones impiden una rápida identificación de los animales infectados por *Map*, lo que retrasa la toma de decisiones y permite una mayor diseminación del agente en la explotación (4). Las alternativas serológicas como el ELISA son rápidas y de bajo coste, pero su especificidad se ve comprometida por las reacciones cruzadas que se producen con otras micobacterias antigénicamente similares (5). No obstante, las nuevas herramientas de diagnóstico molecular como la PCR, que poseen una mayor especificidad, permiten una detección directa del patógeno en muestras clínicas reduciendo el tiempo de diagnóstico (6).

El objetivo de este trabajo fue comparar la validez diagnóstica de un qPCR basado en la detección del gen f57 de *Map* en relación al cultivo microbiológico empleando muestras fecales de granjas de vacuno lechero con historial sanitario conocido frente a la paratuberculosis.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para la realización de este estudio se recogieron 91 muestras fecales pertenecientes a 15 explotaciones bovinas de aptitud lechera de la provincia de Lugo. Como muestras teóricamente negativas se tomaron heces de animales procedentes de 2 explotaciones cerradas con un historial libre de paratuberculosis. Estos rebaños fueron analizados en los tres años anteriores a este trabajo mediante ELISA indirecto y cultivos fecales anuales de toda la cabaña mayor de 2 años. Como muestras positivas se emplearon heces de animales de diferentes explotaciones que, previamente, habían resultado positivas mediante cultivo fecal.

Las heces recogidas se emplearon para la realización de los cultivos fecales según el protocolo del *National Animal Disease Center* de EE.UU. (7), y también para la extracción de ADN mediante un kit comercial basado en lisis química y mecánica en combinación con purificación en columnas de silica (DNAExtract-VK, Vacunek, S.L.). Para la realización de la qPCR se empleó un kit comercial (ParaTB Kuanti-VK, Vacunek, S.L.) y un termociclador ABI Prism® 7500 (Applied Biosystems). Los cultivos positivos se confirmaron primero mediante tinción de Ziehl-Neelsen y posteriormente mediante qPCR utilizando el mismo kit descrito. Tras la obtención de resultados, se procedió al cálculo de la sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo de la qPCR en relación al cultivo fecal, así como de la concordancia existente entre ambas pruebas mediante el empleo del estadístico *kappa* (Epidat 3.1).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La clasificación de las muestras fecales obtenida mediante cultivo fecal y qPCR se recoge en la tabla 1. El valor de kappa obtenido entre ambas pruebas fue de 0,84 (IC95% = 0,72-0,96), lo que significa una concordancia casi perfecta según la clasificación de Landis y Koch (8). Los valores de sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo obtenidos para la qPCR se muestran en la tabla 2.

Tabla 1. Clasificación de las muestras fecales según qPCR y cultivo fecal.

		Cultivo fecal		
		Positivo	Negativo	
qPCR	Positivo	23	5	28
	Negativo	1	62	63
24	67	91		

Tabla 2. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos positivo y negativo de la qPCR en relación al cultivo fecal (entre paréntesis intervalo de confianza al 95%).

Sensibilidad	**95,83** (85,76-100,00)
Especificidad	**92,54** (85,50-99,58)
Valor predictivo +	**82,14** (66,17-98,11)
Valor predictivo -	**98,41** (94,53-100,00)

Aunque varios estudios han comparado el cultivo fecal con técnicas de qPCR, resulta difícil establecer relaciones entre ellos debido al diseño del estudio y a la metodología empleada, como pueden ser diferentes métodos de cultivo, métodos de extracción de ADN o dianas moleculares utilizadas. Un trabajo similar al nuestro describe una sensibilidad del 93% y una especificidad del 100% para la qPCR en relación al cultivo (6), si bien la diana molecular empleada fue el elemento de inserción IS900 que, aunque se considera específico de *Map*, presenta problemas de especificidad debido a la existencia de elementos de inserción muy similares en otras micobacterias (9). En nuestro trabajo, 5 muestras teóricamente negativas resultaron positivas a la qPCR, aunque el número de copias de f57 detectado fue bajo (x = 639 copias/g heces). Al igual que en este caso, se ha observado que explotaciones clasificadas como libres de infección tras tres años de seguimiento por cultivo, tuvieron en controles posteriores resultados positivos (2). Debe tenerse en cuenta que las técnicas de PCR son capaces de detectar ADN independientemente de si el microorganismo es viable o no; además los procesos de descontaminación empleados para la realización de los cultivos reducen de manera notable la viabilidad de las micobacterias, por lo que muestras con un bajo número de *Map* pueden resultar negativas al cultivo fecal aún tratándose de animales infectados (10). La diana f57, utilizada en este estudio, se considera 100% específica de *Map* (11), por lo que estos resultados no parecen ser consecuencia de un problema de especificidad, sino más bien de una mayor sensibilidad de la técnica en muestras con niveles bajos de Map, lo que permitiría detectar la eliminación de micobacterias de forma más precoz que utilizando técnicas serológicas o de cultivo fecal.

CONCLUSIONES

La técnica de qPCR f57 es adecuada para el diagnóstico de la paratuberculosis a partir de muestras de heces, presentando una validez y concordancia muy buenas en relación al cultivo fecal y disminuyendo en gran medida el tiempo hasta la obtención de resultados. Además, en el caso de una eliminación muy baja de *Map* podría ser incluso más sensible que el cultivo.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado por el proyecto CN2012/326 de la Xunta de Galicia.

REFERENCIAS

1. Manning EJB, Collins MT. *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*: pathogen, pathogenesis and diagnosis. Rev Sci Tech 2001; 20: 133–150.
2. Kalis CHJ, Collins MT, Barkema HW, Hesselink. Certification of herds as free of *Mycobacterium paratuberculosis* infection: actual pooled faecal results versus certification model predictions. Prev Vet Med 2004; 65: 189-204.
3. Nielsen SS, Toft N. Ante mortem diagnosis of paratuberculosis: a review of accuracies of ELISA, interferon-gamma assay and faecal culture techniques. Vet Microbiol 2008; 129: 217-235.
4. Wells SJ, Whitlock RH, Lindeman CJ, Fyock T. Evaluation of bacteriologic culture of pooled fecal samples for detection of *Mycobacterium paratuberculosis*. Am J Vet Res 2005; 63 (8): 1207-1211.
5. Osterstock JB, Fosgate GT, Norby B, Manning EJB, Collins MT, Roussel AJ. Contribution of environmental mycobacteria to false-positive serum ELISA results for paratuberculosis. J Am Vet Med Assoc 2007; 230: 896-901.
6. Christopher-Hennings J, Dammen MA, Weeks SR, Epperson WB, Singh SN, Steinlicht GL, *et al*. Comparison of two DNA extractions and nested PCR, real-time PCR, a new commercial PCR assay, and bacterial culture for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* in bovine feces. J Vet Diagn Invest 2003; 15: 87-93.
7. Stabel JR. An improved method for cultivation of *Mycobacterium paratuberculosis* from bovine fecal samples and comparison to three other methods. J Vet Diagn Invest 1997; 9: 375-380.
8. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. Biometrics 1977; 33: 159-174.
9. Cousins DV, Whittington R, Marsh I, Masters A, Evans RJ, Kluver P. Mycobacteria distinct from *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* isolated from the faeces of ruminants possess IS900-like sequences detectable by IS900 polymerase chain reaction: implications for diagnosis. Mol Cell Probes 1999; 13: 431-442.
10. Whittington R. Cultivation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis*. En: Behr MA, Collins DM. editors. Paratuberculosis: organism, disease, control. Reino Unido: CAB International; 2010. p. 244-266.
11. Vansnick E, De Rijk P, Vercammen F, Geysen D, Rigouts L, Portaels F. Newly developed primers for the detection of *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis*. Vet Microbiol 2004; 100: 197-204.

FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A RESULTADOS FALSOS NEGATIVOS EN LAS PRUEBAS IN-VIVO DE DIAGNÓSTICO DE TUBERCULOSIS BOVINA EN EL GANADO INFECTADO.

Julio Álvarez1,2, Andrés Perez3,4, Sergio Marqués5, Javier Bezos2, Anna Grau5, Maria Luisa de la Cruz2, Beatriz Romero2, Jose Luis Saez6, Maria del Rosario Esquivel5, Maria del Carmen Martínez5, Olga Mínguez5, Lucía de Juan2,7§, Lucas Domínguez2,7

1 Servicio de Microbiología, Instituto Ramón y Cajal de Investigación Sanitaria (IRYCIS),

2 Centro de Vigilancia Sanitaria Veterinaria (VISAVET).

3 Center for Animal Disease Modeling and Surveillance (CADMS)

4 CONICET/Facultad de Ciencias Veterinarias UNR, Casilda, Santa Fe, Argentina

5 Dirección General de Producción Agropecuaria y Desarrollo

Rural, Servicio de Sanidad Animal, Junta de Castilla y León.

6 Subdirección General de Sanidad e Higiene Animal y Trazabilidad, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente.

7 Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense de Madrid.

INTRODUCCIÓN:

La tuberculosis bovina (TBb) es una enfermedad zoonótica del ganado bovino causada por bacterias pertenecientes al *Complejo Mycobacteriumtuberculosis (CMT)*. Entre los factores asociados a la persistencia de la enfermedad, estan las pruebas diagnósticas utilizadas [1,2].

En el contexto de una campaña de erradicación, el fallo diagnóstico más peligroso, está relacionado con la aparición de los denominados animales falsos negativos.

Las pruebas de intradermotuberculinización simple (SIT) y comparada han sido las técnicas más utilizadas para el diagnóstico de la TBb y han sido aplicadas con éxito en la erradicación de la TBb en varias regiones del mundo. Por contra, en España y en otros países, estas técnicas sólo han tenido éxito en la disminución de la prevalencia de la TBb [3], posiblemente debido, entre otros factores, a fallos en la sensibilidad de las mismas. El uso de la prueba de interferón-gamma (IFN-γ) como prueba auxiliar, ha producido un aumento de la sensibilidad diagnóstica en los rebaños infectados en los que se utiliza [4].

Este estudio pretende cuantificar el número de animales no reactores a las pruebas de diagnóstico *in-vivo* (SIT y IFN- γ), que posteriormente obtienen resultados *post mortem* que confirman la presencia de infecciones tuberculosas, y la identificación de posibles factores asociados a estos resultados falsos negativos en las pruebas *in -vivo*.

MATERIALES Y MÉTODOS:

Se han utilizado los resultados de las pruebas diagnósticas *in vivo* para la detección de TBb (SIT y IFN-γ), así como los análisis *post-mortem* de 3.614 reses (152 rebaños) con infección confirmada a TBb, detectados entre 2007-2010 en Castilla y León.

Las pruebas de diagnóstico *in vivo* se aplicaron en paralelo. Todos los reactores positivos se sacrificaron y sometieron a un análisis *post-mortem*. También se sometió a análisis *post-mortem* a un número de animales negativos a las pruebas *in vivo* procedentes de esos mismos establos, que procedian de desviejes de la explotacion, bajas, sacrificio para matadero o de vaciados sanitarios.En la primera repetición después de la detección de TBb en el rebaño, realizada en los siguientes 2-6 meses, todos los animales mayores de 6 semanas fueron diagnosticados mediante la prueba SIT. Los animales con un incremento> 2 mm de espesor de la piel y / o presencia de signos clínicos en el punto de inoculación se definieron como positivos (interpretación severa). Los animales mayores de 6 meses de edad, fueron sometidos al IFN-γ. Todos los animales en los que la densidad óptica (DO) de la muestra estimulada con PPD bovina menos la DO de la muestra blanco (PBS) era mayor que 0,05 y mayor que la DO de la muestra

Tablas

Non-reactors in the severe SIT test N= 3,161	Age	1st Q: 0.2-1.7	790	88 (11.1%)	1
		2nd Q: >1.7-4.9	790	154 (19.5%)	1.42 (0.75-2.66)
		3rd Q: >4.9-8.7	791	208 (26.3%)	**3.68 (2.16-6.26)**
		4th Q: >8.7-33.6	790	318 (40.3%)	**6.59 (3.92-11.08)**
	Productive type	Beef	1776	255 (14.4%)	1
		Dairy	512	30 (5.9%)	0.27 (0.06-1-17)
		Bullfighting	873	483 (55.3%)	**11.1 (5.10-24.1)**
	Interaction Age*Productive type	Bullfighting *1st Q	164	58 (35.4%)	1
		Bullfighting *2nd Q	208	97 (46.6%)	1.28 (0.58-2.81)
		Bullfighting *3rd Q	205	85 (41.5%)	0.53 (0.26-1.09)
		Bullfighting *4th Q	296	102 (34.5%)	**0.50 (0.25-0.99)**
	Number of herd tests	1	1268	534 (42.1%)	1
		2	850	134 (15.8%)	**0.33 (0.25-0.44)**
		3	641	46 (7.2%)	**0.16 (0.11-0.24)**
		4 or more	402	54 (13.4%)	**0.23 (0.15-0.34)**
Non-reactors in the 0.05 IFN-γ assay: N= 1,129	Age	1st Q: 0.5-1.8	281	14 (5.0%)	1
		2nd Q: >1.8-4.6	284	31 (10.9%)	1.45 (0.68-3.08)
		3rd Q: >4.6-8.1	281	41 (14.6%)	**2.20 (1.07-4.51)**
		4th Q: >8.1-33.6	283	60 (21.2%)	**2.86 (1.37-5.96)**
	Productive type	Beef	595	51 (8.6%)	1
		Dairy	324	22 (6.8)	**0.25 (0.08-0.77)**
		Bullfighting	210	73 (34.8)	**3.13 (1.49-6.54)**
	Number of herd tests	1	260	80 (30.8%)	1
		2	306	39 (12.7%)	0.55 (0.30-1.04)
		3	387	18 (4.7%)	**0.18 (0.09-0.36)**
		4 or more	176	9 (5.1%)	**0.09 (0.04-0.23)**
Non-reactors if the severe SIT test and 0.05 IFN-γ assay are used in parallel: N=927	Age	1st Q: 0.2-2	231	10 (4.3%)	1
		2nd Q: >2-4.8	231	22 (9.5%)	1.52 (0.61-3.78)
		3rd Q: >4.8-8.5	233	29 (12.4%)	2.32 (0.97-5.53)
		4th Q: >8.5-33.6	232	49 (21.1%)	**3.89 (1.62-9.30)**
	Productive type	Beef	456	33 (7.2%)	1
		Dairy	286	18 (6.3%)	0.26 (0.07-1.06)
		Bullfighting	185	59 (31.9%)	**3.64 (1.38-9.59)**
	Number of herd tests	1	190	59 (31.1%)	1
		2	253	30 (11.9%)	0.58 (0.27-1.25)
		3	342	14 (4.1%)	**0.18 (0.08-0.43)**
		4 or more	142	7 (4.9%)	**0.07 (0.02-0.21)**

de PPD aviar, se consideraron positivos.

De todos los animales sacrificados se tomaron muestras en el matadero (pulmón, ganglios retrofaríngeos, bronquiales y mediastínicos). Los medios de cultivo fueron controlados por el BACTEC 960 durante un período de 42 días. La Identificación de los cultivos positivos se realizó con un PCRrt específico para los miembros del *CMT.*

Posteriormente, la asociación entre las características epidemiológicas de los animales (edad, tipo de producción y el número de pruebas realizadas en el rebaño durante el brote de TBb antes de ser sacrificados) y la probabilidad de existencia de cultivo de *M. bovis* o *M. caprae,* se cuantificó en los animales que presentaron resultados negativos en cada una de las pruebas *in vivo*. La edad se incluyó dividida en cuartiles, siendo el primer cuartil utilizado como categoría de referencia. El número de pruebas realizadas desde la aparición del brote fueron también clasificadas en cuatro categorías (una, dos, tres y cuatro o más pruebas) con la primera categoría como referencia. Para el tipo de producción, la categoría con el mayor número de explotaciones (carne) se utilizó como categoría de referencia.

Para el calculo de odds ratio (OR) y los IC del 95% se estimaron y se consideraron los valores de $p \leq 0,05$ (probabilidad estadísticamente significativa).

RESULTADOS:

Se realizó el estudio sobre 3614 animales (2.687 reactores a la SIT y / o las pruebas de IFN-γ y 927 animales negativos tanto a SIT como a IFN-γ)

Animales negativos a SIT "severa": (3161 animales): La mayor proporción de animales con cultivo positivo entre los no reactores se observó entre los animales de edad avanzada (11.1 % en el 1º cuartil , el 19,5% en el 2º, el 26.3% en el 3º y 40.3% en el 4º cuartil) Estos datos se confirman al calcular los OR en los animales más viejos (3º categoría> 4.9-8,7 años , OR=3,7 (IC 95 % 2.2-6.3) ;4º categoría > 8,7 años , OR=6,6 (IC 95 % 3.9-11.1)).

La proporción de animales con cultivo positivo entre los no reactores también fue mayor para el ganado de lidia (55.3%), (OR=11,1) en comparación con el vacuno de carne (14.4%) y el vacuno lechero (5.9%), mientras que disminuyó cuando el número de pruebas realizadas en el rebaño antes de que el animal fuera sacrificado aumento (del 42,1% después de la primera prueba a menos del 14 % después de 3 o más pruebas)

Animales de IFN - γ - negativos: (1129 animales): Punto de corte 0,05 (DO). La mayor proporción de cultivos positivos entre los no reactores se dio en las reses de más edad (del 5 % en el 1º cuartil, al 21.2 % en el 4º cuartil), también comprobable en los OR (3º categoría> 4.6-8.1 años, OR=2,2 (IC 95% 1.1-4.5); 4º categoría> 8,1años, OR=2,86 (IC 95% 1,37-5.96).

En el ganado de lidia se dio también una mayor proporción de cultivos positivos entre los no reactores (34.8 %) y OR = 3,1, (IC 95 % 1.5 a 6.5) en comparación con el vacuno de carne (8,6%) o el vacuno de leche (6,8%). Se aprecia también una disminución de la probabilidad de obtener cultivos positivos en los animales sacrificados después del segundo test (del 30% después de la primera prueba a menos del 6 % después de 3 o más pruebas)

Animales de IFN - γ y SIT negativos: (927 animales):

La mayor proporción de ganado con cultivo positivo entre los no reactores se observo entre los animales de más edad (del 4.3 % en el 1º cuartil al 21.1 % en el 4º cuartil), también comprobable en el OR (> 4.8 a 8.5 años, OR = 2,32, IC 95 % 0,97 a 5,53; > 8,5 a 33,6 años, OR = 3,89, IC 95 % 1,62-9,30).

El ganado de lidia tenía también una mayor proporción de ganado con cultivos positivos entre los no reactores (31,9 %). (OR = 3,64, IC 95 % 1,38 a 9,59) en comparación con el vacuno de carne (7,2 %) o el vacuno de leche (6,3 %). Se aprecia también una disminución de la probabilidad de obtener cultivos positivos en los animales sacrificados después del segundo test (con menos del 5 % de los animales con cultivo positivo en los grupos en comparación con el 31,1% de la primera prueba)

CONCLUSIONES:

Nuestros resultados muestran que los animales de mayor edad (5 años) y el ganado de lidia deben ser cuidadosamente examinados en el transcurso de las pruebas *in vivo* para la detección de tuberculosis bovina utilizadas en la actualidad, debido a su mayor probabilidad de estar infectados con *M. bovis* o *M.caprae* y dar reacciones débiles o inexistentes a las pruebas. Se constata la disminución del porcentaje de animales falsos negativos cuando la prueba de IFN-γ se utiliza como una prueba complementaria. Disminución observada especialmente , si utilizamos IFN-γ, a partir de la tercera prueba en comparación con lo que se observa después de la primera prueba, lo que sugiere que ambas técnicas deben aplicarse simultáneamente al menos en dos ocasiones consecutivas en los rebaños con tuberculosis confirmada, con el fin de asegurar la fiabilidad de los resultados diagnósticos en animales negativos.

REFERENCIAS:

1. de la Rua-Domenech, Goodchild, AT, Vordermeier, HM, Hewinson, RG, Christiansen, KH, Clifton-Hadley, RS: **Ante mortem diagnosis of tuberculosis in cattle: a review of the tuberculin tests, gamma-interferon assay and other ancillary diagnostic techniques**. *Res Vet Sci* 2006, **81**:190-210.
2. Schiller, I, Oesch, B, Vordermeier, HM, Palmer, MV, Harris, BN, Orloski, KA, Buddle, BM, Thacker, TC, Lyashchenko, KP, Waters, WR: **Bovine tuberculosis: a review of current and emerging diagnostic techniques in view of their relevance for disease control and eradication**. *Transbound Emerg Dis* 2010, **57**:205-220.
3. More, SJ: **What is needed to eradicate bovine tuberculosis successfully: An Ireland perspective**. *Vet J* 2009, **180**:275-278.
4. Anon.: **Working Document on Eradication of Bovine Tuberculosis in the EU accepted by the Bovine tuberculosis subgroup of the Task Force on monitoring animal disease eradication**. *SANCO/10200/2006* 2006,

RELACIÓN ENTRE SEROPOSITIVIDAD A PARATUBERCULOSIS BOVINA Y ELIMINACIÓN DE ANIMALES EN EXPLOTACIONES LECHERAS.

Jorge González Fernández[2], Luís E. Reyes Ávila[1], Valentín Pérez Pérez[1], Silvia Morales[1], Pablo Llorente[3], Roberto Álvarez[4], Juan Francisco García Marín[1].

[1]Dpto Sanidad Animal (Anatomía Patológica).Facultad de Veterinaria. Universidad de León

[2]Micros Veterinaria. INDEGSAL. Campus de Vegazana, 24071 León. [3]Inatega. León. [4]Serclivet. Zamora. jfgarm@unileon.es

RESUMEN

Se ha estudiado en 8 granjas de vacuno lechero la relación entre animales seropositivos a PTB y su eliminación posterior por cualquier causa a lo largo de un año. El 47% de positivos en el test ELISA y el 19% de los negativos fueron desechados, existiendo una relación significativa entre seropositividad y riesgo de eliminación del animal.

SUMMARY

The possible relationship between PTB seropositivity and culled cows due to any cause was studied on 8 dairy farms. 47% of ELISA test positive and 19% of seronegatives were culled. A significant relation between PTB seropositivity and cows elimination was established.

INTRODUCCIÓN

La Paratuberculosis (PTB) bovina es una enfermedad infecciosa causada por *Mycobacterium avium* sub. *paratuberculosis* (Map) que produce una enteritis crónica granulomatosa, presentándose la enfermedad generalmente en animales adultos, aunque la infección se produzca en edades tempranas. Una de las características de la PTB es la relación que existe entre la respuesta a los test diagnósticos "in vivo" como el test serológico de ELISA, el test de -interferón en sangre o la intradermoreacción, y el tipo de lesión y número de micobacterias presente en la misma (González, 2003, Pérez y cols, 1997, 1999). Solo un número limitado de animales infectados presenta respuesta en el test ELISA de detección de anticuerpos séricos, siendo esta prueba la mas ampliamente utilizada. Esta respuesta está relacionada con aquellos animales que muestran lesiones intestinales moderadas a graves con un elevado número de bacilos en las mismas (preclínicos y clínicos). En el otro extremo estarían los animales infectados con tipos de lesiones focales, iniciales o latentes, y con respuestas positivas en test de inmunidad celular como la intradermoreacción y el test de -interferon (González, 2003, Pérez y cols, 1999).

Es aceptado que gran parte de los bovinos infectados no desarrollan nunca la enfermedad clínica, pero sin embargo podrían presentar una disminución de la producción láctea, pérdida de peso, problemas reproductivos e incremento de susceptibilidad a padecer, derivándose su importancia económica, además de por las pérdidas directas ocasionadas por el desarrollo de la enfermedad y mortalidad de animales, por las pérdidas indirectas en los animales infectados de forma subclínica (Aly y cols, 2010; Benedictus y cols., 1987; Jhonson y cols., 2001; Johnson-Ifearulundu y cols., 1999; Kudahl y col., 2009; Merkal y cols., 1975). En este trabajo, nos proponemos valorar la posible relación entre la respuesta serológica al test ELISA de paratuberculosis y la eliminación o desecho de animales durante el año siguiente a la realización de la prueba, evaluando si este grupo de animales seropositivos serían los más afectados o no por esta circunstancia.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 8 explotaciones de ganado vacuno lechero en las cuales se había diagnosticado algún caso clínico de PTB confirmado postmortem. Se realizó un test ELISA (antígeno protoplasmático PPA-3) en los animales mayores de 10-12 meses de edad. El número de animales muestreados osciló entre 40 y 251 en cada explotación, siendo el total de 1.047 (ver Tabla 1). A los 11-13 meses de la realización del test se comprobó el número de animales eliminados de la granja por cualquier motivo y su relación con la respuesta que habían tenido en le test ELISA. Durante este periodo no se introdujo ninguna medida de control.

RESULTADOS

De los 1.057 animales muestreados 267 (25,2%) fueron desechados o eliminados por cualquier causa a lo largo del año de estudio, oscilando entre el 18,5% y el 28,5% en cada explotación. El total de dudosos y positivos al test ELISA de PTB fue de 243 que suponen el 22,9% del total de animales muestreados (10,5% dudosos y 12,4% positivos), variando entre el 10,8% y el 37,0% en cada explotación. Si se valoran los animales desechados en relación con los resultados de esta prueba serológica, se eliminaron el 46,9% de los dudosos/positivos y tan solo el 18,8% de los seronegativos, observándose una relación significativa entre la respuesta al test ELISA y la eliminación de animales (ver Tabla 1).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Se observó una clara y significativa relación entre la positividad al test ELISA de PTB y la eliminación por cualquier causa de animales a lo largo de un año en todos los rebaños estudiados. La presencia de un número apreciables de animales que siendo dudosos/positivos permanecen en el rebaño un año después podría deberse al desarrollo lento y progresivo de la lesión y enfermedad, así como al hecho de que algunos animales en fase subclínica son capaces de controlar esta progresión permaneciendo seropositivos largos periodos de tiempo o incluso seronegativizando (González, 2003). Si bien no se ha realizado un seguimiento exhaustivo de las bajas, éstas podrían ser debidas tanto a animales que habrían desarrollado clínica grave o bien a otras alteraciones asociadas como el descenso de peso y en la producción láctea, mamitis, trastornos reproductivos, etc., que hubieran motivado su eliminación del rebaño (Benedictus y cols., 1987; Johnson y cols., 2001; Johnson-Ifearulundu y cols, 1999; Kudahl y col., 2009; Merkal y cols., 1975), confirmando la importancia de la PTB en el ganado vacuno lechero. La respuesta humoral (seropositivos) está relacionada mayoritariamente con fases clínicas o preclínicas y con la elevada presencia de bacilos en la lesión, constituyendo estos animales los de mayor riesgo de transmitir la infección (González, 2003), demostrándose además en este trabajo que constituyen el grupo con mayor posibilidad de ser eliminado por diferentes causas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aly SS, Anderson RJ, Adaska JM, Jiang J, Gardner IA (2010): "Association between *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection and milk production in two California dairies".*J Dairy Sci*. **93**:1030-1040
2. Kudahl AB, Nielsen SS. (2009): "Effect of paratuberculosis on slaughter weight and slaughter value of dairy cows".*J Dairy Sci.* **92**:4340-4346.
3. Johnson-Ifearulundu Y, Kaneene JB, Lloyd JW (1999) : "Herd-level economic analysis of the impact of paratuberculosis on dairy herds".*J Am Vet Med Assoc*. **214**: 822-825.
4. Benedictus G, Dijkhuizen AA, Stelwagen J. (1987): "Economic losses due to paratuberculosis in adult dairy cattle". *Vet. Rec*., **121**: 142-146
5. González J. (2003): "Caracterización lesional y evaluación de técnicas diagnósticas de la paratuberculosis bovina". Tesis doctoral. Universidad de León.
6. Jonhson Y, Kaneene JB, Gardinner JC, Lloyd JW, Sprecher DJ, Coe PH (2001): "The effect of subclinical *Mycobacterium paratuberculosis* infection on milk production in Michigan dairy cows". *J. Dairy Sci*., **84**: 2188-2194
7. Merkal RS, Larsen AB, Booth GD (1975): "Analysis of the effects of inapparent bovine paratuberculosis" *Am. J. Vet. Res*.,

31: 837-838.

8. Pérez V, Tellechea J, Corpa JM, Gutierrez M, García Marín JF (1997): " Relation between serologic response and pathologic findings in sheep with naturally acquired paratuberculosis". *Am. J. Vet. Res*., **58**: 799-803.
9. Pérez V, Tellechea J, Badiola JJ, Gutiérrez M, García Marín JF (1999): "Relation between pathologic findings and cellular immune responses in sheep with naturally acquired paratuberculosis".*Am J Vet Res*. **60**:123-127.

Tabla1:

Granja	Nº animales muestreados	Resultados test ELISA[a]		Total animales eliminados[b]	Eliminados (Nº y %) en los grupos "dud/positiv" y negativos[c]	
		Positivos y dudosos	Negativos		Positivos y dudosos	Negativos
A	189	60 (32%)	129 (68%)	46 (24%)	22 (37%)	24 (19%)
B	200	74 (37%)	126 (63%)	57 (29%)	29 (39%)	28 (22%)
C	85	20 (24%)	65 (76%)	16 (19%)	8 (40%)	8 (13%)
D	40	7 (18%)	33 (82%)	9 (23%)	6 (86%)	3 (9%)
E	112	20 (18%)	92 (82%)	30 (27%)	14 (70%)	16 (17%)
F	60	8 (13%)	52 (87%)	13 (22%)	6 (75%)	7 (13%)
G	120	13 (11%)	107 (89%)	27 (23%)	11 (85%)	16 (15%)
H	251	41 (16%)	210 (84%)	69 (28%)	18 (44%)	51 (26%)
Total	**1.057**	**243 (23%)**	**814 (77%)**	**267 (25%)**	**114 (47%)**	**153 (19%)**

a→ Número total de animales positivos o negativos a la prueba de ELISA, y porcentaje en relación al total de animales muestreados

b→ Número total de animales que causaron baja en el rebaño por cualquier causa, en el año siguiente a la realización de la prueba. Relación con el número total de animales presentes en el rebaño al realizar la prueba.

c→ Número total de animales eliminados dentro de cada grupo (grupo de positivos/dudosos y grupo negativos a la prueba de ELISA), y porcentaje en relación a los mismos..

DIAGNÓSTICO DE PARATUBERCULOSIS BOVINA MEDIANTE MÉTODOS INMUNOLÓGICOS EN SANGRE Y LECHE Y SU RELACIÓN CON LA EXCRECIÓN DE *MYCOBACTERIUM AVIUM* SUBSP *PARATUBERCULOSIS*

Fernández, M.; Benavides, J.; Royo, M.; Fuertes, M.; Castaño, P.; Ferreras, M.C.; Pérez, V.

Dpto. de Sanidad Animal, Instituto de Ganadería de Montaña, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n, 24071 León.

Correo electrónico: valentin.perez@unileon.es

RESUMEN

En este estudio se lleva a cabo una valoración de pruebas de diagnóstico inmunológico de paratuberculosis (ELISA indirecto para la detección de anticuerpos y prueba de liberación del IFN-γ) en una explotación de vacuno de leche formada por 34 animales, en muestras de suero y leche, y su relación con la excreción de *M. a. paratuberculosis* (MAP) en heces y leche determinada mediante una técnica de PCR cuantitativa. Un 14,7% de los individuos, todos ellos mayores de 2 años, fueron positivos a la presencia de anticuerpos en suero, mientras que el 51,5% fue positivo al test de IFN-γ. Existió una concordancia absoluta entre la detección de anticuerpos en sangre y leche. Solamente se detectó excreción fecal de MAP de carácter débil en una vaca que mostraba signos clínicos y era positiva a la técnica ELISA con un índice elevado. Todas las muestras de leche fueron negativas. El hecho de que no se detectara MAP en heces del resto de vacas positivas a la presencia de anticuerpos en sangre permitiría concluir que la positividad al ELISA precedería a la excreción fecal de MAP.

SUMMARY

Immunological diagnostic test for paratuberculosis (indirect ELISA and IFN-γ release) have been assesses in a dairy herd formed by 34 cattle, in serum and milk samples. The relationship with the excretion of *M. a. paratuberculosis* (MAP) in feces and milk samples was evaluated by a qPCR method. A 14.7% of the animals, all older than 2 years, where positive to serum indirect ELISA, while a 51.5% was positive to IFN-γ test. A total agreement was found between the presence of antibodies in serum and milk. Low levels of fecal shedding were detected in a cow with clinical signs and positive to indirect ELISA with a high index. All the milk samples were negative. The absence of MAP in fecal samples from the rest of cows positive to indirect ELISA would suggest that antibodies are detected prior to start of bacterial shedding.

INTRODUCCIÓN

La paratuberculosis es una enfermedad infecciosa crónica de los rumiantes, causada por *Mycobacterium avium* subespecie *paratuberculosis* (MAP), en los que provoca un adelgazamiento progresivo, acompañado o no de diarrea y descenso en las producciones. Esta infección está ampliamente distribuida por todo el mundo. En España, su importancia en el ganado bovino, especialmente lechero, es creciente. En este momento, su control mediante vacunación no está permitido, por lo que todas las estrategias posibles se basan en la identificación de los individuos infectados.

Las técnicas de diagnóstico inmunológico se basan en la detección de la respuesta inmune, tanto celular (prueba del IFN-γ) como humoral (ELISA indirecto), que ofrece el animal infectado frente a MAP. Su eficacia en la detección de animales infectados es variable y está condicionada por la fase de la enfermedad en la que se encuentra el animal (Gilardoni et al., 2012). Aunque los animales positivos a ELISA indirecto tendrían una mayor posibilidad de ser excretores fecales de MAP, no existen datos concluyentes que permitan relacionar la respuesta a las pruebas inmunológicas con la eliminación de bacterias.

Como alternativa a la técnica de ELISA indirecto en suero, se planteó hace unos años la posibilidad de emplear muestras de leche, que serían de más fácil obtención al poderse aprovechar las obtenidas en las obtenidas de forma rutinaria en las explotaciones lecheras. Asimismo, la posible relación de la paratuberculosis con la enfermedad de Crohn humana ha incrementado el interés por conocer la posible eliminación de MAP a través de la leche.

En este trabajo se presentan los resultados de un estudio preliminar que tiene como objetivos valorar pruebas de diagnóstico

inmunológico de paratuberculosis (liberación de IFN-γ y dos técnicas de ELISA indirecto) en suero y leche de una explotación de vacuno lechero con paratuberculosis, y estudiar su relación con la excreción de MAP en heces y leche evaluada con una técnica de PCR cuantitativa.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron muestras de heces, suero y sangre completa de un total de 34 animales adultos (14 de ellos eran menores de 2 años) en una explotación de vacuno de leche con antecedentes de paratuberculosis. Además, se analizaron 12 muestras de leche. En todos los casos se llevó a cabo una técnica de ELISA indirecto de elaboración propia para la detección de anticuerpos séricos, empleando el antígeno protoplasmático PPA-3 y un test comercial (Idexx Lab). En las muestras de sangre completa (únicamente en 33 animales) se valoró la respuesta inmune celular mediante el test de liberación de IFN-γ (Bovigam, Prionics). Únicamente una vaca adulta de las muestreadas mostraba signos clínicos evidentes de adelgazamiento.

La excreción de MAP se valoró en muestras de heces y de leche mediante una técnica de PCR a tiempo real (ParaTB Kuanti-VK; Vacunek SL), llevando a cabo la extracción de ADN mediante el kit comercial DNAExtract-VK (Vacunek SL). Con los resultados obtenidos, se calculó el índice κ de concordancia entre pruebas, empleando el programa Win Episcope ver. 2.0. Las comparaciones de los resultados de las distintas pruebas se efectuaron mediante la prueba de Chi-cuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Un total de 5 (14,7%) vacas fueron positivas mediante ambas técnicas de ELISA indirecto, que mostraron una concordancia perfecta. Respecto a la prueba de INF-γ, 17 de los 33 animales (51,5%) fueron positivos, de los que 9 correspondían al grupo de individuos menores de 2 años. Tomando los valores de sensibilidad y especificidad para la técnica ELISA y la prueba de IFN-γ obtenidos por van Weering et al. (2007) y González (2003) respectivamente, la prevalencia real sería del 56,2 o 45,9 % según la prueba diagnóstica considerada. Estas cifras se encontrarían dentro de lo encontrado en España en la especie ovina (Pérez et al., 1996) o en estudios en matadero en bovino que han citado prevalencias del 28%, considerando que se incluían animales provenientes de explotaciones libres (Vázquez et al., 2009).

La detección de anticuerpos en leche se puso a punto, empleando tanto leche completa como suero lácteo, encontrándose los mejores resultados cuando el ELISA se realizó en suero a una dilución 1:2. Se observó una concordancia total con los resultados en suero sanguíneo, siendo tres los animales positivos en ambas muestras con las dos técnicas empleadas.

Cuando se estudió la relación entre la edad de los animales y los resultados a pruebas diagnósticas, aunque el porcentaje de positivos a IFN-γ fue superior en el grupo de animales jóvenes que en las vacas adultas (64,2% vs 52,6%), las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Respecto al ELISA indirecto, todos los animales positivos correspondían al grupo de vacas mayores de 2 años, lo que estaría de acuerdo con el esquema general de patogenia de la paratuberculosis, por el cual la respuesta inmune humoral aparecería en las fases más tardías de la infección. En este sentido, cuando se evaluó la concordancia entre ambas pruebas, el índice kappa fue de 0,11 (concordancia débil).

En cuanto a la excreción de MAP valorada mediante qPCR, todas las muestras de leche fueron negativas. En heces, solamente una vaca fue claramente positiva. Se trata del animal que mostraba signos clínicos, era positivo a ELISA con un índice de 1400 (el umbral de positividad está en 900) y era también positivo a la técnica de IFN-γ. Asimismo, una novilla negativa a todas las pruebas ofreció un resultado dudoso. Teniendo en cuenta que la técnica de qPCR empleada muestra una muy elevada correlación con el cultivo (Elguezabal et al., 2011), la vaca positiva estaría excretando unas 2000 UFC/gramo de heces. Se considera que un animal infectado puede excretar entre 10^{8-12} UFC/g de materia fecal, por lo que este animal se consideraría un excretor débil (Gilardoni et al., 2012). Es de destacar que el resto de animales positivos a ELISA (todos con índices entre 903-966) no presentaron MAP en heces. A pesar de que el número de animales en el estudio es bajo y de que hay que tener en cuenta que la excreción puede ser intermitente, estos resultados indicarían que la presencia de anticuerpos detectados por la técnica de ELISA indirecto sería previa a la excreción fecal de MAP, tal y como ya se ha señalado (Nielsen, 2008).

CONCLUSIONES

Se ha encontrado una prevalencia aparente de paratuberculosis en una explotación de pequeño tamaño, de un 14,7% y de un 51,5% empleando una técnica de ELISA indirecto y la prueba de liberación de IFN-γ respectivamente. La detección de anticuerpos frente a MAP en muestras de leche ha mostrado una concordancia perfecta con las muestras de suero, por lo que la leche es una muestra útil cuando se quiere llevar a cabo estudios serológicos.

La excreción fecal o en leche de MAP en las formas subclínicas sería de escasa importancia, mientras que se produciría en heces en animales con signos clínicos. La técnica de ELISA indirecto ofrecería resultados positivos antes de que comenzara la excreción fecal de MAP.

REFERENCIAS

Elguezabal N, Bastida F, Servilla IA, Gonzalez N, Molina E, Garrido JM, Juste RA. Estimation of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* growth parameters: strain characterization and comparison of methods. Appl Environm Microbiol, 2011; 77:8615-8624.

Gilardoni LR, Paolicchi FA, Mundo SL. Bovine paratuberculosis: A review of the advantages and disadvantages of different diagnostic tests. Rev Argent Microbiol, 2012; 44:201-215.

González J. Caracterización lesional y evaluación de técnicas diagnósticas de la paratuberculosis bovina [tesis doctoral]. Universidad de León; 2003.

Nielsen SS. Transitions in diagnostic tests used for detection of *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* infectionis in cattle. Vet Microbiol, 2008; 132:274-282.

Pérez V, García Marín JF, Badiola JJ. Description and classification of different types of lesion associated with natural paratuberculosis infection in sheep. J Comp Pathol, 1996; 114: 107-122.

van Weering H, van Schaik G, van der Meulen A, Waal M, Franken P, van Maanen K. Diagnostic performance of the Pourquier ELISA for detection of antibodies against *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* in individual milk and bulk milk samples of dairy herds. Vet Microbiol, 2007; 125:49-58.

Vázquez P, Molina E, Alonso-Hearn M, Geijo MV, Sevilla IA, Estonba A, Ruiz O, Garrido JM, Juste RA. Age structure of *Mycobacterium avium* subsp *paratuberculosis* infection in culled Freisian cattle. En: Proceedings 10th International Colloquium on Paratuberculosis; Minneapolis. Minnesota. EE. UU. p. 185-188.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

ESTUDIO DE PREVALENCIA DE *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM, ANAPLASMA MARGINALE* Y *THEILERIA ANNULATA* MEDIANTE TÉCNICAS MOLECULARES EN GANADO BOVINO EN EXTENSIVO EN LA ZONA CENTRO DE ESPAÑA

Lydia Calleja Bueno, Alejandra Villaescusa Fernández, Ángel Sainz Rodríguez, Juan Vicente González Martín

Departamento de Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense de Madrid

RESUMEN

Las anaplasmosis, ehrlichiosis, babesiosis y theileriosis son las enfermedades transmitidas por garrapatas más importantes en ganado vacuno. En este estudio se ha evaluado mediante diferentes ensayos de reacción en cadena de la polimerasa la prevalencia de *Anaplasma phagocytophilum, Anaplasma marginale* y *Theileria annulata* en 128 bovinos en extensivo de la zona centro de España (norte de Madrid y este de Ávila), así como la asociación entre la amplificación de ADN de estos agentes y diferentes datos epidemiológicos de los animales. El patógeno más prevalente fue *T. annulata,* con un 29,7%, seguido por *A. marginale,* con un 16,4%. Las prevalencias encontradas fueron mayores para *A. marginale* y menores para *T. annulata* en los animales procedentes de Ávila que en los procedentes de Madrid. Se amplificó ADN de *A. phagocytophilum* en un único ternero (0,8%). En base a la bibliografía consultada, esta es la primera descripción de *A. phagocytophilum* en ganado bovino de la Comunidad de Madrid.

ABSTRACT

Anaplasmosis, ehrlichiosis, babesiosis and theileriosis are the most important tick-borne diseases of cattle. The objectives of the current study were: to determine the molecular prevalences of *Anaplasma phagocytophilum, Anaplasma marginale* and *Theileria annulata* in 128 extensive bovines from central Spain (northern Madrid and eastern Avila) using polymerase chain reaction; and to evaluate the existence of associations between DNA amplification of these pathogens and epidemiologic data. The most prevalent tick-borne pathogen was *T. annulata* at 29.7%, followed by *A. marginale* at 16.4%. A higher prevalence of *A. marginale* and a lower prevalence of *T. annulata* were found in bovines from Avila in comparison with bovines from Madrid. *A. phagocytophilum* DNA was amplified from one calf (0.8%). To our knowledge, this is the first report of *A. phagocytophilum* infection in cattle in the region of Madrid.

INTRODUCCIÓN

Se ha estimado que las enfermedades transmitidas por garrapatas afectan al 80% de la población mundial de ganado vacuno. En concreto, las anaplasmosis, ehrlichiosis, babesiosis y theileriosis causan importantes problemas de salud que resultan en pérdidas económicas estimadas en 1997 entre 13,9 y 18,7 billones de dólares anuales (1). A pesar de la importancia de las infecciones por estos agentes patógenos en el ganado vacuno, no se conoce con exactitud la prevalencia de la infección por *A. phagocytophilum, A. marginale* y *T. annulata* en los bóvidos de la zona centro de España. Este hecho nos llevó a plantearnos como principal objetivo de este estudio la evaluación de la prevalencia de estos agentes en ganado vacuno de extensivo de la zona centro de España. Asimismo, se ha tratado de evaluar la asociación entre la prevalencia frente a estos agentes y diferentes datos epidemiológicos de los animales incluidos en el estudio.

MATERIALES Y MÉTODOS

En este estudio fueron incluidos 128 animales asintomáticos que se encontraban en extensivo en cuatro explotaciones del centro de España, tres de ellas del norte de la Comunidad de Madrid (de los municipios de Moralzarzal, Pedrezuela y Prádena del Rincón) y una del este de Ávila (de Casasola). Se recogieron datos de cada animal referentes a procedencia, sexo, edad, presencia de garrapatas, desparasitaciones y hábitat. Los animales se dividieron en 4 grupos en función de su edad (<1 año, 1-3 años, 4-8 años y > 8 años).

A partir de muestras de sangre en EDTA de cada uno de los animales del estudio se realizó la extracción de ADN para su posterior procesado mediante PCR especie-específicas para *A. phagocytophilum, A. marginale* y *T. annulata*. Para la PCR de *A. phagocytophilum* se emplearon los cebadores msp2-3f (5´CCA GCG TTT AGC AAG ATA AGA G 3´) y msp2-3r (5´GCC CAG TAACAA CAT CAT AAG C 3´), que amplifican el gen msp-2 (2); para *A. marginale* se emplearon los cebadores AM1 (5´ TGT CTA ACC TTC TGC TGT TCG TTG C 3´) y AM2 (5´ACA CGA AAC TGT ACC ACT GCC ATG C 3´) que amplifican el gen msp5 (3); para la PCR de *T. annulata* se usaron los cebadores N516 (5´ GTA ACC TTT AAA AAC GT 3´) y N517 (5´ GTT ACG AAC ATG GGT TT 3´) que amplifican el gen TamS1 (4).

Con el fin de conocer la tasa de prevalencia molecular de los agentes estudiados y la presencia de asociaciones estadísticas entre la positividad a estos agentes y las variables analizadas se realizó un estudio estadístico de los datos obtenidos y resultados de las PCR de cada animal, empleando para ello el programa SPSS 17.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvo amplificación de ADN de *A. phagocytophilum* mediante PCR en un único animal, lo que supondría una prevalencia del 0,8%. Se trata de la primera descripción de detección de ADN de *A. phagocytophilum* en un bovino de la Comunidad de Madrid. Este animal pertenecía al municipio de Prádena del Rincón (Madrid), era un macho mestizo de 6 meses de edad, no presentaba signos clínicos y tenía garrapatas en el momento de la toma de muestras. En nuestro país se han reportado prevalencias de este agente en ganado vacuno de hasta un 19% (5), valor muy superior al obtenido en este trabajo, probablemente debido a la escasez del vector principal de *A. phagocytophilum* (*Ixodes ricinus*) en la zona de estudio. No obstante, se ha sugerido que este patógeno podría ser transmitido por otras especies de garrapatas (6) y se ha descrito la presencia de este agente en un 2,2% de diferentes especies de garrapatas en Madrid y Toledo (7). *A. phagocytophilum* es capaz de producir enfermedad en vacas, destacando la aparición de fiebre, caída en la producción láctea, abortos y leucopenia. Sin embargo, se ha descrito que los animales menores de 6 meses de edad son menos susceptibles a padecer la enfermedad, lo que podría justificar la ausencia de signos clínicos en este caso. Asimismo, debe tenerse en cuenta que en nuestro país se ha identificado una variante de *A. phagocytophilum* no patógena.

En la PCR específica para *A. marginale* se obtuvo amplificación en un 16,4% de los animales (21 de 128). Se encontró que el grupo de edad estaba asociado estadísticamente con la amplificación para este agente (p=0,005), con una mayor prevalencia en los

animales de 1 a 3 años de edad (38,5%), seguido de los animales de 4-8 años (13%) y de los mayores de 8 años (8,7%), sin amplificación en los terneros menores de 1 año. Estos datos, junto con la ausencia de signos clínicos, parecen sugerir la existencia en la zona de una estabilidad enzoótica, con un alto porcentaje de ganado infectado, pero con la rara ocurrencia de la enfermad clínica, gracias a la primoinfección de los animales más jóvenes y el mantenimiento de una inmunidad pasiva que evitaría la enfermedad en los animales mayores, más susceptibles (8). Por otra parte, se encontró asociación estadística entre la zona de origen de los animales del estudio y la amplificación de *A. marginale*. Concretamente, el 25% de los animales de Ávila fueron positivos a *A. marginale*, mientras que en Madrid el 11,3% fueron positivos. Dentro de la Comunidad de Madrid, el 50% de los animales del municipio de Pedrezuela fueron positivos, frente al 0% encontrado en el municipio de Moralzarzal. Estas diferencias podrían explicarse por diferencias en la distribución de los vectores, debidas tanto a las características del hábitat como a las medidas preventivas frente a ectoparásitos empleadas, así como a la presencia de fauna silvestre que actúe como reservorio del agente. Así, en las explotaciones de Ávila y de Pedrezuela desparasitaban 1 vez al año, mientras que en Moralzarzal lo hacían 2 veces al año, y en la zona de mayor prevalencia, Pedrezuela, se encuentra con frecuencia fauna silvestre capaz de actuar como reservorio.

En cuanto a la PCR de *T. annulata,* se obtuvo amplificación en un 29,7% de los animales (38 de 128). La amplificación de ADN de este agente se asoció estadísticamente con la presencia de garrapatas en el momento del muestreo (p=0,015) y con la zona de procedencia de los animales (p<0,001). La prevalencia de *T. annulata* fue de un 42% en los animales que presentaban garrapatas frente al 21,8% en los animales que no tenían garrapatas. En cuanto a la zona de procedencia de los animales, la mayor prevalencia se obtuvo en los municipios de Madrid (Pedrezuela, con un 100%; Prádena del Rincón, con un 42%; y Moralzarlzal, con un 29,2%), siendo la prevalencia en Casasola (Ávila) muy inferior (8,3%).

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo han permitido confirmar mediante métodos moleculares la presencia de *Anaplasma phagocytophilum, Anaplasma marginale* y *Theileria annulata* en ganado vacuno de la zona centro de España, con prevalencias en la población estudiada de 0,8%, 16,4% y 29,7% para estos agentes, respectivamente. Los animales procedentes de Ávila mostraron mayores prevalencias de *A. marginale* y menores de *T. annulata* que los procedentes de Madrid.

REFERENCIAS

1. de Castro JJ, James AD, Minjauw B, Di Giulio GU, Permin A, Pegram RG, Chizyuka HG, Sinyangwe P. Long-term studies on the economic impact of ticks on Sanga cattle in Zambia. Exp Appl Acarol 1997 Jan;21(1):3-19.

2. Massung RF, Slater KG Comparison of PCR assays for detection of the agent of human granulocytic ehrlichiosis, *Anaplasma phagocytophilum*. J Clin Microbiol 2003 Feb;41(2):717-22.

3. Zhang L, Wang Y, Cai D, He G, Cheng Z, Liu J, Meng K, Yang D, Wang S. Detection of *Anaplasma marginale* in *Hyalomma asiaticum* ticks by PCR assay. Parasitol Res 2013 Jul;112(7):2697-702.

4. Almería S, Castellà J, Ferrer D, Ortuño A, Estrada-Peña A, Gutiérrez JF. Bovine piroplasms in Minorca (Balearic Islands, Spain): a comparison of PCR-based and lightmicroscopy detection. Vet Parasitol 2001 Aug20;99(3):249-59.

5. de la Fuente J, Naranjo V, Ruiz-Fons F, Höfle U, Fernández De Mera IG, Villanúa D, Almazán C, Torina A, Caracappa S, Kocan KM, Gortázar C. Potential vertebrate reservoir hosts and invertebrate vectors of *Anaplasma marginale* and *A. phagocytophilum* in central Spain. Vector Borne Zoonotic Dis 2005 Winter;5(4):390-401.

6. de la Fuente J, Naranjo V, Ruiz-Fons F, Vicente J, Estrada-Peña A, Almazán C, Kocan KM, Martín MP, Gortázar C. Prevalence of tick-borne pathogens in ixodid ticks (Acari: *Ixodidae*) collected from European wild boar (*Sus scrofa*) and Iberian red deer (*Cervus elaphus hispanicus*) in central Spain. Eur J Wildl Res 2004 50:187–196.

7. Toledo A, Olmeda AS, Escudero R, Jado I, Valcárcel F, Casado-Nistal MA, Rodríguez-Vargas M, Gil H, Anda P. Tick - borne zoonotic bacteria in ticks collected from central Spain. Am J Trop Med Hyg 2009 Jul;81(1):67-74.

8. Aubry P, Geale DW. A review of bovine anaplasmosis. Transbound Emerg Dis 2011 Feb58(1):1-30.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

EARLY DETECTION OF BOVINE RESPIRATORY DISEASE (BRD) IN FEEDLOT CATTLE USING MULTIPLE HEALTH-MONITORING SYSTEMS

Afra-Verena Mang[1], DVM; Calvin Booker[2], DVM, MSc; René Quiniou[3], PhD;
Edouard Timsit[1, 2] DVM, PhD, Dip. ECBHM
[1]University of Calgary, Faculty of Veterinary Medicine (UCVM), Calgary, Canada
[2]Feedlot Health Management Services Ltd. (FHMS), Okotoks, Canada
[3] Institute for Research in Computer Science and Random Systems (IRISA), Rennes, France

ABSTRACT

Early, accurate identification of diseased cattle is key for effective control of Bovine Respiratory Disease (BRD) in feedlots. Unfortunately, current methods of disease detection based on visual appraisal are not accurate enough for early BRD detection. Health-monitoring systems enabling real-time monitoring of body temperature, feeding behaviour, or physical activity could overcome this problem. However, each system suffers from a lack of specificity, thus resulting in false-positive detections. We hypothesized that combining multiple health monitoring systems will improve the specificity of BRD detection. The objectives were, therefore, to describe changes in body temperature, feeding behaviour, and physical activity of feedlot cattle associated with BRD and to identify patterns that are both sensitive and specific for BRD, based on simultaneous and/or successive changes in body temperature and/or feeding behaviour and/or physical activity. For this purpose, two successive groups of 280 steers at high-risk of developing BRD were studied during the first 50 days following their arrival at a commercial Canadian feedlot (from October 2013 to February 2014). They were equipped (*i*) with rumen temperature boluses to monitor their body temperature and (*ii*) with three-axis accelerometers to monitor their physical activity and feeding behaviour (specific system that detects the presence of accelerometers at the feedbunk). Results, detailed methods and conclusions will be presented.

INTRODUCTION

Bovine respiratory disease (BRD) is the most significant health problem in the beef industry (Miles, 2009). Early detection of dis-

eased cattle is the key for effective control of BRD in feedlots (Apley, 1997). Unfortunately, current methods of disease detection based only on visual appraisal are not accurate enough for early BRD detection (Timsit *et al*., 2011a). Health-monitoring systems enabling real-time monitoring of body temperature, feeding behaviour or physical activity could overcome this problem. However, each system suffers from a lack of specificity, thus resulting in false-positive detections (Timsit *et al*., 2011b; Wolfger *et al.,* 2012). We hypothesized that combining multiple health monitoring systems will improve the specificity of BRD detection (*i.e.* identification of cattle that are truly affected with BRD). The objectives were, firstly, to describe changes in body temperature, feeding behaviour, and physical activity of feedlot cattle associated with BRD, and, secondly, to identify patterns that are both sensitive and specific for BRD, based on simultaneous and/or successive changes in body temperature and/or feeding behaviour and/or physical activity.

MATERIAL AND METHODS

Animals

Two successive groups of 280 mixed-breed steers at high-risk of developing BRD (*i.e.* recently weaned, commingled and auction-market derived) were studied during the first 50 days following their arrival at a Canadian commercial feedlot (from October 2013 to February 2014). Upon arrival, all cattle received long-acting antibiotics and vaccines for common BRD pathogens and clostridia, in accordance with standard disease prevention and control programs used by Canadian commercial feedlots.

Study design

At arrival, all cattle were equipped with rumen temperature boluses (Medria, Chateaugiron, France) to assess body temperature. They were also equipped with three-axis accelerometers (ENGS, Rosh Pina, Israel) to monitor physical activity and feeding behaviour. Finally, cattle were fed in a pen equipped with a line in front of the bunk that automatically detects the presence of accelometers. This line, combined with accelerometers, enabled monitoring of feeding behaviour (*i.e.* individual frequency and duration of bunk attendance).

During the study period, neither staff nor investigators had access to the data measured by the health-monitoring systems (blinded study). Cattle were observed daily by feedlot staff for detection of clinical illness. Cattle with one or more of the following signs were removed from the pen: depression, decreased rumen fill compared to pen-mates, nasal or ocular discharge, cough, and increased respiratory rate. Identified cattle were then examined by a veterinarian. Cattle with signs of respiratory disease (e.g. abnormal pulmonary sounds, coughing, polypnea/dyspnea, or nasal or ocular discharge) were treated for BRD according to the feedlot's standard procedures. Before BRD treatment, a blood sample and a trans-tracheal aspirate were collected from each diseased animal to confirm the presence of inflammation (serum haptoglobin (Hap)), and pulmonary infection (presence of major BRD pathogens were assessed by bacterial culture and PCR). For each BRD case, an apparently healthy steer in the same pen was randomly selected as a contemporary control. This control steer was also physically examined and, if determined healthy (no BRD signs and rectal temperature <39.5°C), was sampled by venipuncture (*i.e.* blood sample) and trans-tracheal aspiration (TTA).

DATA ANALYSIS

At the end of the 50-day study period, data recorded by health-monitoring systems were retrieved and pre-processed. Reticulo-rumen temperatures were analyzed using software that eliminates the effects of water drinking (*i.e.* large decrease in reticulo-rumen temperatures) as described (Timsit et al, 2011a).

Cattle with a rectal temperature ≥ 40°C, one other sign of BRD and a serum Hap concentration ≥ 0.25 g/L (Timsit et al., 2009) were defined as a true positive BRD case. Each pre-processed dataset associated with a particular sensor was then labeled with true positive BRD cases and changes in body temperature, feeding behaviour and physical activity associated with BRD were described. Afterwards, the labeled datasets were used to train and evaluate temporal pattern-based classifiers (*i.e.* supervised learning; Lee et al., 2011, Guyet et al., 2011). These temporal pattern-based classifiers identified patterns indicative of BRD and provided insights regarding temporal relationships among fever, abnormal feeding behaviour, and decreased physical activity in diseased animals. The classifiers were first trained on each individual dataset (*i.e.* monovariate classifiers). Then, these classifiers were trained on multiple datasets (*i.e.* multivariate classifiers) and the performance of monovariate classifiers were compared to the performance of multivariate classifiers to evaluate improvements in sensitivity, specificity and positive predictive value (PPV) to indicate BRD provided by the combination of multiple datasets.

RESULTS AND DISCUSSION

Preliminary results obtained from the first group of 280 steers studied between October and December 2013 showed that onset of fever always occurred first, from 2 to 9 days prior to detection/treatment (med=4d), followed by anorexia and decreased physical activity that occurred on average 2 days (min=0d; max=4d) after the onset of fever. Complete description of changes in body temperature, feeding behaviour, and physical activity of feedlot cattle associated with BRD and patterns that are both sensitive and specific for BRD detection will be presented. We anticipate that combining detection of simultaneous or successive changes in body temperature, feeding behaviour, and physical activity in feedlot cattle will improve the specificity of BRD detection without decreasing significantly its sensitivity.

REFERENCES

1. Apley M. 1997. Antimicrobial therapy of bovine respiratory disease. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 13:549-574.
2. Guyet T, Quiniou R. 2011. Extracting temporal patterns from interval-based sequences. International Joint Conference on Artificial Intelligence (IJCAI), Barcelona, Spain.
3. Lee CH, Tseng VS. 2011. PTCR-Miner: an effective rule-based classifier on multivariate temporal data classification. IJICIC 10: 5925-5938.
4. Miles D. 2009. Overview of the North American beef cattle industry and the incidence of bovine respiratory disease (BRD). Anim Health Res Rev. 10: 101-103.
5. Timsit E *et al*. 2011a: Early detection of bovine respiratory disease in young bulls using reticulo-rumen temperature boluses. Vet J. 190: 136-142.
6. Timsit E *et al.* 2011b: Fever episodes without visually apparent clinical signs in newly-received beef bulls at fattening operation: occurrence, duration and impact on performance J Anim Sci. 89: 4272-4280.
7. Timsit E, Assié S, Bareille N. 2009. Failure to detect bovine respiratory disease in newly received young beef cattle by visual appraisal. 12th ISVEE. Durban. South Africa. p 683.
8. Wolfger B *et al.* 2012. Pattern recognition of feeding and drinking behaviour as a tool in early identification of diseased feedlot animals. 13th ISVEE. Maastricht. Netherland.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

ABSENCE OF AN ACTIVE SHIFT FROM MATERNAL TO ACTIVE IMMUNITY AGAINST *CLOSTRIDIUM PERFRINGENS* ALPHA TOXIN IN VEAL CALVES COMPARED TO CONVENTIONAL BEEF CALVES

Valgaeren B.[a], Pardon B.[a], Verherstraeten S.[b], Goossens E.[b], Timbermont L.[b], Ducatelle R.[b], Van Immerseel F.[a], Deprez P.[a]

[a] Department of Large Animal Internal Medicine,

[b] Department of Pathology, Bacteriology and Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

Belgian Blue (BB) veal calves, which main dietary component is milk powder, are predisposed for enterotoxaemia. Up to 20% of the total mortality, especially in the last weeks of production, can be attributed to this disease. Historically, also in BB suckler calves high mortality rates due to enterotoxaemia have been reported, whereas enterotoxaemia is less frequent in individually housed BB calves, which receive concentrates at a young age (= conventional BB production systems). Given these field observations, it is believed that the marked management differences, most notably differences in feed management, between these rearing systems play a major role in the pathogenesis of enterotoxaemia in calves. Recently, it was confirmed that the alpha toxin of *Clostridium perfringens* is the uttermost important virulence factor in the development of enterotoxaemia in calves. In clostridial disease, maternal immunity is generally protective, and maternal antibodies last up to 60 days after birth. Specifically for alpha toxin, no information of the postnatal evolution from maternal immunity to active production of alpha toxin antibodies is known. Based on the differences in enterotoxaemia incidence and diet in between veal and conventional calves, and given the importance of alpha toxin, we hypothesized that a different postnatal alpha toxin antibody evolution might be present in veal compared to conventional BB calves. Therefore, the objective of the present study was to determine the seroepidemiology of alpha toxin in veal calves, which receive an all liquid diet, compared to conventional BB beef calves on milk, concentrates and roughage.

Nineteen herds (15 veal herds (5 BB, 5 HF and 5 crossbreeds) and 4 conventionally reared BB) were conveniently selected. On each herd, 25 calves were blood sampled in the jugular vein at the age of 2 and 26 weeks. The serum samples were analyzed using the blocking Elisa kit for serodiagnosis of *Clostridium perfringens* alpha toxin (BIO K 291, Bio-X, Jemelle, Belgium). A calf was considered seropositive if the inhibition percentage is higher than 40%.

At the age of 2 weeks, the mean prevalence of seropositives to alpha toxin was 45%, 43%, 49% and 66% in BB veal, HF veal, crossbred veal and conventional BB, respectively. No significant differences were present at that age. In contrast, at 26 weeks, sera from all veal production systems had significantly lower inhibition percentages than the sera from the conventionally reared Belgian Blue calves (P<0,01). Within the veal calves, no significant differences in alpha toxin inhibition percentage existed. When expressed in mean herd seroprevalence, at the age of 26 weeks, this was 16% and 85% in the veal and conventional herds, respectively.

These results confirm the hypothesis and the difference in alpha toxin antibody levels between veal calves and conventional calves may be one of the key reasons why veal calves are predisposed to enterotoxaemia. Further research is required to examine the exact role of the feed management in this observed difference in humoral immunity against enterotoxaemia. In the future this can contribute to preventive adaptations of the feed management of BB veal calves, leading to a decrease in enterotoxaemia cases.

DINÁMICA DE LA BESNOITIOSIS BOVINA EN GRANJAS UBICADAS EN UN ÁREA DONDE LA ENFERMEDAD ES ENDÉMICA

Gutiérrez-Expósito, D [1]., Ortega-Mora, L.M [1]., García-Lunar, P [1]., Rojo-Montejo, S [1]., Zabala, J [2]., Serrano, M [2]., Álvarez-García, G [1*].

[1] SALUVET, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, U.C.M., Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid.

[2] Albaikide. S.A. Servicios Veterinarios. Polígono Akaborro s/n, 31860 Navarra.

*Correspondencia: Gema Álvarez García. Tel.: +34-913944095; fax: +34-913944098. *E-mail*: gemaga@vet.ucm.es

RESUMEN

La besnoitiosis bovina es una enfermedad parasitaria re-emergente en Europa que origina pérdidas económicas considerables debido, entre otras causas, a las lesiones cutáneas, pérdida de peso, descenso de la producción lechera, esterilidad en los sementales y, ocasionalmente, al aborto. Al inicio, la enfermedad cursa de forma aguda con fiebre y edemas y, posteriormente, cronifica con presencia de hiperqueratosis, alopecia y quistes macroscópicos visibles en conjuntiva ocular y mucosa vulvar. El objetivo de éste trabajo fue estudiar la dinámica de la besnoitiosis (prevalencia e incidencia clínica y serológica) a lo largo de 4 años (entre 2009 y 2013) en 3 granjas de ganado bovino de aptitud cárnica localizadas en un área donde la enfermedad es endémica y dónde se había realizado un diagnóstico previo de la enfermedad. Para ello, se seleccionaron 3 granjas (A, B y C) localizadas en la Sierra de Urbasa-Andía (Navarra, España) y se tomaron muestras de sangre de todos los animales mayores de un año en cada uno de los muestreos. En total se realizaron entre 4-7 muestreos en cada granja. Asimismo se realizó una inspección clínica de los animales al principio y al final del estudio. Las muestras de suero se analizaron utilizando una técnica ELISA, previamente estandarizada y validada, para la detección de anticuerpos específicos anti-*Besnoitia besnoiti*. Se calculó la prevalencia serológica y clínica así como la incidencia acumulada entre muestreos.

En ausencia de medidas de control la seroprevalencia intra-rebaño se mantuvo elevada durante todo el estudio (A: 78.4-56.5%; B: 50.7-54.9%; C: 47.3-35.6%) con un porcentaje elevado de nuevos casos todos los años (A: 0-38%; B: 25-46%; C: 12-14%). La presencia de signos clínicos fue, en algunos casos, incluso más elevada que la seroprevalencia (A: 72.4-60.6%; B: 64-52.9%; C: 59.6-40.5%) con mayores valores de incidencia acumulada, ya que el tiempo de observación entre los muestreos fue mayor (A: 53%; B: 50%; C: 70%). No obstante, a pesar del prolongado tiempo de estudio, se observó la presencia de animales seronegativos y seropositivos sin signos clínicos, posiblemente debido a que: i) la transmisión de la infección no sea del 100%, ii) algunos animales podrían desarrollar premunición habiendo un equilibrio párasito-hospedador, iii) los animales infectados podrían estar protegidos frente a re-infecciones.

Los resultados obtenidos muestran la existencia de varios problemas en estas granjas: i) se desconoce el impacto económico de la enfermedad en estas granjas con una elevada prevalencia e incidencia de la infección y de la enfermedad; ii) el elevado por-

centaje de animales seronegativos con quistes macroscópicos en conjuntiva ocular y/o mucosa vulvar (25%) indica una falta de sensibilidad de las actuales técnicas de diagnóstico serológico; iii) bioseguridad, por un lado entradas que en el caso de que sean machos procedentes de zonas libres de la enfermedad podrían contraer la enfermedad y desarrollar esterilidad y, por otro lado, las salidas, ya que hay un elevado número de animales infectados que podrían contribuir a la diseminación de la infección a granjas o zonas libres. De hecho varios brotes de la enfermedad confirmados en España y en varios países de Europa se han originado a partir del movimiento de animales infectados. Por tanto, se recomienda hacer tanto un análisis serológico como una inspección clínica de las nuevas entradas.

SUMMARY

Bovine besnoitiosis is a protozoan and re-emergent disease responsible for significant economic losses due to poor body condition and sterility in males. Infected cattle develop an anasarca phase, characterized by fever and oedema, followed by a scleroderma stage, characterized by skin lesions and visible tissue cysts in sclera conjunctiva. The dynamics of besnoitiosis was studied in 3 beef herds located in a region where the disease is endemic (Urbasa-Andía mountains, Navarra, Spain) over 4 years. The presence of anti-*Besnoitia besnoiti* antibodies was investigated (4-7 samplings/ herd) and clinical inspections were carried out in the first and last samplings.

In the absence of control measures intra-herd seroprevalence rates (A: 78.4-56.5%; B: 50.7-54.9%; C: 47.3-35.6%) and cumulative incidence (A: 0-38%; B: 25-46%; C: 12-14%) remained high throughout the study. Moreover clinical prevalences (A: 72.4-60.6%; B: 64-52.9%; C: 59.6-40.5%) and cumulative incidence (A: 53%; B: 50%; C: 70%) were also very high.

The results evidence several problems: i) the economic impact of besnoitiosis is unknown; ii) there is a high percentage of seronegative animals with tissue cysts (25%); iii) biosafety, regarding the new entries, males could get infected and become sterile and, regarding animal trade from these herds, infected animals may favor the spread of the disease to besnoitiosis free herds or regions. Accordingly, serological testing together with clinical inspection of new entries is highly recommended.

ESTUDIO SOBRE LA PRESENCIA DE ENTEROPATÓGENOS CAUSANTES DE DIARREA EN TERNEROS EN GALICIA

García-Meniño, I.[1]; Díaz, P.[2]; Gómez, V.[1]; Prieto, A.[2]; Fernández, G.[2]; Díez-Baños, P.[2]; Morrondo, P.[2]; Mora, A.[1]

[1]*Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela. 27002 Lugo (España).* [2]*Departamento de Patología Animal: Sanidad Animal (Grupo INVESAGA). Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela. 27002 Lugo (España).*

RESUMEN

Con objeto de determinar la implicación de los enteropatógenos *C. parvum*, rotavirus, coronavirus y *E. coli* K99+ en la diarrea neonatal del ternero, se recogieron 133 muestras de heces de terneros menores de 45 días; 83 animales presentaban diarrea y 50 no mostraban sintomatología intestinal. Las muestras se analizaron mediante ELISA directo para estos cuatro patógenos; además, la presencia de *E. coli* K99+ se confirmó mediante PCR y para *Cryptosporidium* se usó la tinción con auramina. Un 70,7% de las muestras analizadas fueron positivas a alguno de los enteropatógenos estudiados, siendo la prevalencia superior en los animales con diarrea. *Cryptosporidium* fue el enteropatógeno más prevalente (60,2%), seguido de rotavirus (12,8%), *E. coli* K99+ (8,3%) y coronavirus (1,5%). Rotavirus y *Cryptosporidium* son patógenos asociados de forma significativa con la diarrea neonatal del ternero. Las infecciones por un único enteropatógeno fueron las más comunes (83,0%); las mixtas, posiblemente por la acción combinada y potenciadora de los diferentes agentes, están asociadas de forma significativa con la presencia de sintomatología clínica.

ABSTRACT

The importance of several entheropathogens (*C. parvum*, rotavirus, coronavirus and *E. coli* K99+) in neonatal calf diarrhoea was assessed. Faecal samples from 133 calves up to 45 days were collected; 83 animals presented diarrhoea and 50 showed no clinical symptoms. All samples were analysed by using a direct ELISA; *E. coli* K99+ was confirmed by PCR and *Cryptosporidium* by staining with auramine. Overall, 70.7% of samples were positive for any of the enteropathogens studied; higher prevalence was observed in those animals with diarrhoea. *Cryptosporidium* was the most prevalent pathogen (60.2%) followed by rotavirus (12.8%), *E. coli* K99+ (8.3%) and coronavirus (1.5%). Rotavirus and *Cryptosporidium* were significantly associated with neonatal calf diarrhoea. Single infections were the most common (83.0%); mixed infections were significantly related with the presence of clinical signs.

INTRODUCCIÓN

La diarrea neonatal es un problema muy frecuente en los terneros, en los que causa notables mermas económicas derivadas de la mortalidad, menor tasa de crecimiento y costes de tratamiento. Los principales enteropatógenos asociados con diarreas neonatales del ternero a nivel mundial son *Cryptosporidium parvum*, rotavirus, coronavirus y *Escherichia coli* enterotoxigénicos (*E. coli* K99+), cuya prevalencia varía con la edad del ternero; estos agentes detectarse por separado o bien asociados. El cuadro clínico es bastante parecido y se caracteriza por frecuente eliminación de heces acuosas y profusas, deshidratación progresiva, acidosis, y en casos severos sobreviene la muerte en pocos días. Por todo ello, alcanzar un correcto diagnóstico etiológico es especialmente importante a la hora de planificar las medidas preventivas y de control más adecuadas. Sin embargo, tras la identificación de uno de estos agentes es difícil determinar si realmente está implicado en el proceso, puesto que la mayoría de ellos también se detectan en animales aparentemente sanos.

El objetivo del presente trabajo consistió en determinar la implicación de los enteropatógenos *C. parvum*, rotavirus, coronavirus y *E. coli* K99+ en la diarrea neonatal del ternero, a través del estudio comparativo de un grupo de animales con diarrea y otro de animales sanos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Entre enero y mayo de 2013 se recogieron 133 muestras de heces de terneros menores de 45 días, procedentes de explotaciones localizadas en Galicia. 83 animales presentaban diarrea, mientras que los 50 restantes no mostraban sintomatología clínica. Las muestras se procesaron mediante un ELISA comercial de captura de antígeno (Digestive ELISA kit, Bio-X Diagnostics, Jemelle, Bélgica) para el diagnóstico de *C. parvum*, rotavirus, coronavirus y *E. coli* K99+, que se realizó de acuerdo a las instrucciones del fabricante. La detección de *E. coli* K99+ se confirmó mediante un

método estandarizado de PCR. Para ello, las muestras de heces se sembraron en medios MacConkey lactosa y MacConkey sorbitol con telurito y cefixima (Oxoid, Basingstoke, Reino Unido), y se incubaron a 37ºC durante 18-24 horas en condiciones de aerobiosis. El ADN se extrajo del crecimiento confluente y se determinó mediante PCR la presencia de cepas de *E. coli* portadoras del gen que codifica para la fimbria K99, asociada al grupo de *E. coli* enterotoxigénicos causantes de diarrea en terneros, empleando el protocolo y los cebadores descritos previamente (1). Además, los ooquistes de *Cryptosporidium* también se identificaron microscópicamente tras su tinción con auramina y previa concentración por sedimentación con acetato de etilo.

Para determinar el grado de asociación estadística entre la prevalencia de infección por los diferentes agentes y los diferentes factores estudiados, se aplicó el test exacto de Fisher, considerando como significativos valores iguales o menores a 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el 70,7% de las muestras analizadas se identificó alguno de los enteropatógenos estudiados (Tabla 1). El porcentaje de animales positivos fue significativamente superior en aquellos con diarrea respecto de los que no presentaban sintomatología (χ^2= 13,485; p< 0,001). En los terneros con diarrea, los resultados negativos podrían deberse a que los animales no estuviesen eliminando al patógeno en el momento de toma de muestras, a que los animales estuviesen siendo tratados, o a otras etiologías (nutricional, otros enteropatógenos no analizados, etc).

	Rotavirus	Coronavirus	*E. coli* K99+	*Cryptosporidium*	Total
Diarrea	18,1%	2,4%	10,8%	69,9%	81,9%
Sin diarrea	4,0%	0%	4,0%	44,0%	52,0%
Total	12,8%	1,5%	8,3%	60,2%	70,7%

Tabla 1. Prevalencia de enteropatógenos en relación con la diarrea

Al considerar el agente identificado, se comprobó que *Cryptosporidium* era el enteropatógeno más frecuente (Tabla 1); en menor proporción se hallaron rotavirus, *E. coli* K99+ y coronavirus. Este patrón se observó tanto en los animales con diarrea como en los que no mostraban signos clínicos, coincidiendo con los resultados obtenidos por varios autores (2, 3, 4). Las prevalencias de infección por los diferentes agentes fueron siempre superiores en los animales que presentaban diarrea (Tabla 1), aunque las diferencias fueron estadísticamente significativas únicamente para rotavirus (χ^2= 5,543; p= 0,029) y *Cryptosporidium* (χ^2= 8,719; p= 0,004). García et al. (2000) confirmaron la importancia de este virus como patógeno primario; del mismo modo, se ha descrito una asociación fuertemente significativa entre *C. parvum* y la diarrea neonatal (4).

Las infecciones por un único enteropatógeno fueron las más comunes (Tabla 2). La asociación de dos agentes más frecuente fue la integrada por *Cryptosporidium* y rotavirus, coincidiendo con la mayoría de los estudios publicados al respecto. No se hallaron asociaciones de más de dos agentes infecciosos. Cabe destacar que las infecciones dobles sólo se detectaron en aquellos animales con diarrea, siendo estas diferencias estadísticamente significativas (χ^2= 7,373; p= 0,005). La aparición de sintomatología podría estar favorecida por la acción sinérgica de varios enteropatógenos, de modo que las infecciones mixtas estarían asociadas a cuadros clínicos más graves (5).

		Diarrea	No diarrea	Total
Inf. 1 patógeno		76,5%	100%	83,0%
	Rotavirus	5,8%	7,7%	6,4%
	Coronavirus	1,7%	0%	1,3%
	E. coli K99+	9,6%	7,7%	9,0%
	Cryptosporidium	82,7%	84,6%	83,3%
Inf. 2 patógenos		23,5%	0%	17,0%
	Rota + *Crypto*	68,8%	0%	68,8%
	Rota + Corona	6,2%	0%	6,2%
	E. coli + *Crypto*	25,0%	0%	25,0%

Tabla 2. Asociaciones de enteropatógenos en relación con la presencia de diarrea

CONCLUSIONES

1. Los procesos diarreicos causados por *Cryptosporidium*, rotavirus y *E. coli* K99+ son muy prevalentes en los terneros de la Comunidad Gallega. Llevar a cabo una correcta identificación de los agentes patógenos implicados en un brote de diarrea neonatal permitirá aplicar las medidas de control y prevención más adecuadas.

2. Rotavirus y *Cryptosporidium*, conforme a nuestros resultados, pueden considerarse como patógenos primarios, asociados de forma significativa con las diarreas en los terneros investigados.

3. Las infecciones mixtas, posiblemente por la acción combinada y potenciadora de los diferentes enteropatógenos, están asociadas de forma significativa con la presencia de sintomatología clínica.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto de Investigación AGL2011-25210 (Ministerio de Ciencia e Innovación) y por la Ayuda para la Consolidación y Estructuración de Grupos de Investigación Competitivos (CN2012/326, Xunta de Galicia).

REFERENCIAS

1. García-Meniño, I. (2013). Implicación de *Escherichia coli* y otros enteropatógenos en la diarrea neonatal del ternero. Trabajo de Máster Universitario en Investigación en Medicina y Sanidad Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela.
2. de la Fuente R, García A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Luzón M, Cid D, García S, Orden JA, Gómez-Bautista M. Proportional morbidity rates of enteropathogens among diarrheic dairy calves in central Spain. Prev Vet Med. 1998; 36:145-52.
3. García A, Ruiz-Santa-Quiteria JA, Orden JA, Cid D, Sanz R, Gómez-Bautista M, de la Fuente R. Rotavirus and concurrent infections with other enteropathogens in neonatal diarrheic dairy calves in Spain. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2000; 23:175-83.
4. Trotz-Williams LA, Jarvie BD, Martin SW, Leslie KE, Peregrine AS. Prevalence of *Cryptosporidium parvum* infection in southwestern Ontario and its association with diarrhea in neonatal dairy calves. Can Vet J. 2005; 46: 349-351.
5. Reynolds DJ, Morgan JH, Chanter N, Jones PW, Bridger JC, Debney TG, Bunch KJ. Microbiology of calf diarrhoea in southern Britain. Vet. Rec. 1986; 119: 34-39.

PRESENCIA DEL HERPESVIRUS BOVINO-4 EN CASOS DE ABORTO BOVINO

Díaz J.M.*, Prieto, A., Pérez, I., Díaz, P., Díez-Baños, P., Morrondo, P., Fernández, G.

Investigación en Sanidade Animal de Galicia (Grupo INVESAGA). Departamento de Patoloxía Animal. Facultade de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.

* E-mail: jmdchh@gmail.com

RESUMEN

En los últimos años el herpesvirus bovino 4 (BHV-4) se ha relacionado con patologías reproductivas en varios estudios epidemiológicos. En este trabajo comunicamos la detección de BHV-4 en un porcentaje considerable (4/18) de casos de abortos en ganado vacuno de leche en los que parece estar asociado al establecimiento de patología reproductiva. La incidencia de esta infección y su frecuente asociación con otras infecciones sugieren la necesidad de estudiar el papel de este virus en brotes de abortos ya sea individualmente o en concomitancia con otras infecciones.

SUMMARY

In the last years, bovine herpesvirus 4 (BHV-4) has been related to reproductive pathologies in several epidemiological studies. In this study we report the detection of BHV-4 in a considerable percentage (4/18) of abortion cases in dairy cattle in which it seems to be associated with reproductive pathology. The incidence of this infection which is often associated with other infections suggests the need to study the role of this virus in abortion outbreaks whether individually or associated with other infections.

INTRODUCCIÓN

El herpesvirus bovino 4 (BHV-4) es un *gammaherpesvirus* perteneciente a la familia *Herpesviridae* capaz de producir infecciones latentes, pero que difiere antigénica y biológicamente de los otros herpesvirus bovinos (1). Tradicionalmente se ha aislado en una amplia variedad de manifestaciones clínicas, pero no se ha relacionado con ninguna en concreto ya que también es frecuente encontrarlo en animales sanos, lo que ha llevado a considerarlo como un posible patógeno oportunista en el ganado vacuno (2). No obstante, varios estudios han señalado la existencia de una asociación entre la infección con BHV-4 y la aparición de metritis en el postparto (3,4) y actualmente es considerado al menos como un cofactor en su desarrollo, aunque su rol patogénico es todavía incierto. En este contexto, también han aparecido diversos trabajos en los que se ha aislado el virus en fetos abortados y en el epitelio placental (5) y se ha relacionado con episodios de abortos. Teniendo en cuenta estas perspectivas, el objetivo de este estudio ha sido detectar la presencia de animales positivos a BHV-4 mediante PCR en casos de abortos en ganado bovino.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material de estudio está constituido por muestras de 18 explotaciones de ganado vacuno de leche en Galicia que presentaron casos de abortos durante el año 2013.

La presencia de BHV-4 fue detectada mediante PCR utilizando el kit de diagnóstico comercial TaqVet™ (LSI, Francia). La presencia de otros patógenos con capacidad abortiva: *Neospora caninum*, IBR, *Coxiella burnetii*, *Chlamydia abortus*, *Campylobacter* spp, *Salmonella enterica* spp., BVDV y *Leptospira* spp; fue analizada utilizando los correspondientes kits diagnósticos de PCR de la misma casa comercial. Los procedimientos de PCR se efectuaron sobre hisopos vaginales, contenido del estómago, pool de órganos fetales, encéfalo fetal y placenta (cuando estuvo disponible) según el patógeno a estudiar, empleando los kits de extracción Qiamp® DNA Mini kit y RNEasy® Mini kit (QIAGEN, Alemania) según las instrucciones de los fabricantes. Además se realizó el cultivo microbiológico del contenido del estómago fetal y de los hisopos vaginales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La PCR resultó positiva para BHV-4 en cuatro explotaciones (Tabla 1). En dos de ellas fue el único patógeno encontrado por PCR de los 9 analizados, detectándose ADN vírico en todos los hisopos vaginales de las madres abortadas, aunque estuvo ausente en los tejidos fetales.

Tabla 1. Datos epidemiológicos y resultados de la PCR y del cultivo microbiológico en los casos positivos a BHV-4.

Datos de la explotación				Datos de los abortos							
Explotación	Nº animales	Abortos/partos	Metritis[1]	Feto	Mes gestación	PCR hisopo	PCR feto	M[2]	RP[2]	Cultivo microbiológico Hisopo	Estómago fetal
A	94	13	50	1	7	+	-	Si	Si	CNS	A
				2	7	+	-	Si	Si	CNS	T
				3		+	-	Si	Si	T	T
B	159	16	15	4		+[3]	-			T	nr
C	70	21	50	6	7	+[3]	-	No	Si	S	AC
				7	7	+	-	No	Si	T	AC
D	nd	nd	nd	8	3	+	-	nr	nr	nr	CNS

[1] Porcentaje de metritis en los últimos 20 partos
[2] M = Metritis; RP = Retención placentaria
[3] También positivo a PCR frente *Campylobacter spp.*
CNS = crecimiento no significativo; AC = Ausencia de crecimiento; A = *Aeromonas caviae*; T = *Trueperella pyogenes;* S = *Streptococcus spp*. nr = no realizado

La presencia de hisopos vaginales positivos no indica por sí sola que el BHV-4 sea el agente etiológico responsable del aborto. Si bien en este trabajo no ha sido realizado estudio histopatológico, ante la ausencia de otros patógenos abortivos potencialmente responsables de la aparición de brotes en la mitad de las explotaciones estudiadas, parece posible que el BHV-4 esté involucrado en el establecimiento de los brotes de abortos estudiados. Además, en todos los fetos positivos a BHV-4 se encontró presencia bacteriana concurrente (Tabla 1). Las bacterias detectadas son capaces de provocar abortos esporádicos en vacuno (6), aunque raramente se asocian al establecimiento de brotes con altos porcentajes (salvo *Campylobacter*). La infección con este virus ha sido señalada como un factor de riesgo en la aparición de abortos (7) y de esta forma, el BHV-4 podría verse implicado en una sinergia con la acción patógena bacteriana contribuyendo a una mayor significación clínica de la patología reproductiva. En este sentido, en los últimos años, la infección con BHV-4 ha sido consistentemente asociada con la presencia de patología uterina postparto y en estos casos frecuentemente concurre con la presencia de bacterias que causan enfermedad uterina (3,8) de forma que, se le ha sugerido un rol secundario en el que la acción viral favorece la patogenia bacteriana incrementando la importancia clínica (2). En nuestro trabajo, todas las explotaciones positivas a BHV-4 de nuestro estudio presentaron porcentajes elevados de metritis en el rebaño, lo que concuerda con los estudios señalados anteriormente y los abortos frecuentemente se acompañaron de retención placentaria y metritis. De esta forma parece posible que

la infección con este virus pueda acentuar la acción patógena de otros microorganismos. En este contexto, parece necesario realizar estudios que concreten cuál es su papel en brotes de abortos, tanto de forma individual como concomitante con otras infecciones o patologías.

CONCLUSIONES

Aunque si bien es cierto que la patogenia del BHV-4 no está suficientemente aclarada, existen indicios de que su presencia puede exacerbar la patología reproductiva en el ganado vacuno y debiera ser tenida en cuenta en la evaluación diagnóstica de estos procesos.

AGRADECIMIENTOS

Este estudio ha sido financiado por el proyecto CN2012/326 de la Xunta de Galicia y una beca predoctoral a J. M. Díaz (Plan I2C) de la Xunta de Galicia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Markine-Goriaynoff N, Minner F, de Fays K, Gillet L, Thiry E, Pastoret P, et al. L ' herpèsvirus bovin 4. Ann. Méd. Vét. 2003; 147: 215–247.
2. Donofrio G, Cavirani S, van Santen V, Flammini CF. Potential secondary pathogenic role for bovine herpesvirus 4. J. Clin. Microbiol. 2005; 43 (7): 3421–3426.
3. Monge A, Elvira L, Gonzalez J V, Astiz S, Wellenberg GJ. Bovine herpesvirus 4-associated postpartum metritis in a Spanish dairy herd. Res. Vet. Sci. 2006 80 (1): 120–125.
4. Welchman DDB, Verkuijl a M, Pepper WJ, Ibata G, King S a, Davidson HM, et al. Association of gammaherpesviruses and bacteria with clinical metritis in a dairy herd. Vet. Rec. 2012; 170 (8): 207-209
5. Deim Z, Szeredi L, Tompó V, Egyed L. Detection of bovine herpesvirus 4 in aborted bovine placentas. Microb. Pathog. 2006; 41 (4-5): 144–148.
6. Kirkbride C A. Bacterial agents detected in a 10-year study of bovine abortions and stillbirths. J. Vet. Diagn. Invest. 1993; 5 (1): 64–68.
7. Czaplicki G, Thiry E. An association exists between bovine herpesvirus-4 seropositivity and abortion in cows. Prev. Vet. Med. 1998; 33 (1-4): 235–240.
8. Frazier KS, Baldwin C A, Pence M, West J, Bernard J, Liggett A, et al. Seroprevalence and comparison of isolates of endometriotropic bovine herpesvirus-4. J. Vet. Diagn. Invest. 2002; 14 (6): 457–462.

CARACTERIZACIÓN DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AISLADOS EN EXPLOTACIONES DE VACUNO LECHE. PATRONES DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS

Autores.- Espada Aguirre, Mónica[1,2]; Ortega Rodriguez, Carmelo[2]; Orós Espinosa, Jesús[2]; Lacasta Lozano, Delia[2]; Ferrer Mayayo, Luis Miguel[2]; Ramos Antón, Juan José[2]; González Sainz, Jose María[1]; Figueras Ara, Luis[1, 2]

1.- Gabinete Técnico Veterinario, S.L. (Zaragoza)

2.-Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Departamento de Patología Animal

RESUMEN

Se ha realizado el estudio de las cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas en diversas explotaciones de vacuno de leche de Aragón obtenidas a partir de muestras de tanque, superficie de ubre de vaca, entorno y personal encargado de los animales. A partir de esa información se ha valorado la prevalencia y distribución del microorganismo y se han estudiado los patrones de resistencia a antibióticos del mismo. A las cepas aisladas se les ha realizado el test de resistencias a antibióticos frente a doce antibióticos empleados en Sanidad Animal y a tres antibióticos de especial interés en Salud Pública. Una vez obtenidos los resultados se ha valorado la posible existencia de transferencia de aquellas resistencias entre *S. aureus* aislados en la leche de los animales y el entorno.

ABSTRACT

It has been performed the study of the strains of *Staphylococcus aureus* isolated in different dairy farms in Aragon, Spain, obtained from samples of bulkmilk surface of the udder of the cow, environment and personnel in charge of the animals. From that information has been assessed the prevalence and distribution of the micro-organism and the patterns of resistance to antibiotics. Isolated strains have been tested of resistance against twelve antibiotics used in Animal Health and three antibiotics of particular interest in public health. Once the results have been obtained, the possible existence of transfer of those resistances among *S. aureus* isolated from milk of animals and the environment have been assessed.

INTRODUCCIÓN

Las mamitis continúan siendo hoy en día uno de los dos principales factores, junto con la infertilidad, causantes de la eliminación de animales de una explotación. A pesar de que *S. aureus a priori* no supone en la zona un problema grave, sí que es un microorganismo causante de problemas en algunas explotaciones y caracterizado porque, ante su aparición, resulta altamente contagioso para animales y personas. Por otro lado, es un microorganismo que posee una alta tasa de resistencias a antibióticos, resistencia que puede transmitirse no sólo entre los propios animales sino también a las personas, constituyendo un problema potencial de Salud Pública.

Existen todavía muchas incógnitas acerca de los mecanismos por los que se produce la transmisión de la resistencia entre patógenos así como de la velocidad con la que este mecanismo se produce. En este estudio se presenta una primera aproximación a la situación actual planteando mantener dicho estudio a lo largo de los años a la espera de observar la evolución de los patrones de resistencias a antibióticos y poder utilizar esa información como herramienta de apoyo en la toma de decisiones ante tratamientos antibióticos en vacuno de leche.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio ha consistido en la toma de muestras de leche de tanque de 27 explotaciones de ganado vacuno lechero de la provincia de Zaragoza. En dichas muestras se han realizado cultivos microbiológicos con el objetivo de aislar los principales patógenos mamarios utilizando diversos medios de cultivo específicos. Entre todos los aislamientos obtenidos, se ha seleccionado como principal agente de interés *S.aureus*, para el cual se ha empleado como medio de cultivo selectivo el Manitol Agar. Tras el aislamiento y la identificación de las cepas de la muestra de leche se les realizó el test de resistencia a antibióticos mediante la prueba de difusión en disco de *Kirby Bauer* en placas de cultivo de Müeller Hinton Agar con una concentración bacteriana de 1,5 x

10^8 ufc/ml (0,5 McFarland) y discos de antibióticos de penicilina, ampicilina, amoxicilina, amoxicilina+ac.clavulánico, cloxacilina, cefalexina, cefoperazona, cefquinoma, lincomicina, kanamicina, penetamato, novobiocina, meticilina, oxacilina y vancomicina.
Posteriormente se ha procedido a la toma de muestras mediante hisopo del entorno (comederos, bebederos, pomos de puerta), manipuladores de animales (manos de ordeñador), y de superficie de los animales (ubres) con el fin de aislar los microorganismos existentes y especialmente las cepas de *S. aureus*. Los protocolos de aislamiento, identificación y test de resistencia a antibióticos han sido los mismos descritos en el párrafo anterior.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el estudio microbiológico de *S. aureus* en tanque el resultado obtenido ha sido de un **14,81%** de granjas positivas (resultados que según los datos históricos disponibles permanece estable en los últimos tres años). Dicho porcentaje se mantiene por debajo de los niveles medios analizados por otros autores en España. En los test de resistencias realizados se obtiene una tasa baja de resistencias con un resultado de 100% de resistencia a penetamato, 50% de resistencia a penicilina, ampicilina y kanamicina.

ANTIBIOTICOS	PORCENTAJE DE RESISTENCIA
Penicilina (PE)	**50%**
Ampicilina (AM)	**50%**
Amoxicilina	0%
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	0%
Cloxacilina (CX)	0%
Cefalexina (CN)	0%
Cefoperazona(CP)	0%
Cefquinoma (CQ)	0%
Lincomicina(LI)	0%
Kanamicina(K)	**50%**
Penetamato(P)	**100%**
Novobiocina (NB)	0%

En cada explotación positiva a *S.aureus* en tanque se han tomado muestras de comedero, bebedero, pomo de puerta, ubre y mano de ordeñador. Del total de muestras recogidas únicamente el **9,52%** ha tenido crecimiento a *S.aureus* y ambas coinciden con muestras tomadas de manos de ordeñador, en dos explotaciones diferentes. Tras realizar los test de resistencia los resultados han sido diferentes a los anteriores obteniéndose el 100% de resistencias a amoxicilina y a la combinación de ésta con ac. clavulánico y el 50% a penicilina, presentando el 100% de sensibilidad al resto, resistencia que no parece en ningún momento relacionada con lo observado en las muestras de leche, por lo que probablemente se trate de cepas propias y diferentes de las de la leche.

ANTIBIOTICOS	PORCENTAJE DE RESISTENCIA
Penicilina (PE)	**50%**
Ampicilina (AM)	0%
Amoxicilina	**100%**
Amoxicilina + Ac. Clavulánico	**100%**
Cloxacilina (CX)	0%
Cefalexina (CN)	0%
Cefoperazona(CP)	0%
Cefquinoma (CQ)	0%
Lincomicina(LI)	0%
Kanamicina(K)	0%
Penetamato(P)	0%
Novobiocina (NB)	0%

Por último se han realizado test de resistencia a antibióticos de referencia para *S. aureus* en Salud Pública, tales como meticilina, oxacilina y vancomicina, obteniéndose resultados negativos a dichos antibióticos en todas las cepas de *S. aureus* aisladas, lo que sugiere que, por el momento, la presencia de *S. aureus* con resistencia a antibióticos en vacas mamíticas no lleva asociada la presencia de resistencia a antibióticos clave para medicina humana.

CONCLUSIONES

1.- La prevalencia de *S. aureus* en leche de tanque es baja manteniéndose estable en los últimos años.

2.- Las cepas de *S. aureus* aisladas en muestras de leche de tanque presentan resistencia a las principales penicilinas empleadas en Sanidad animal siendo sensibles al resto de antibióticos testados salvo a la kanamicina.

3.- Se han aislado cepas de *S. aureus* en parte del personal de ordeño de explotaciones positivas observándose resistencias frente a amoxicilina. Sus patrones de resistencia son muy diferentes a los observados en cepas aisladas de tanque de leche, lo que sugiere que en este entorno no se están compartiendo resistencias entre personas y animales.

4- En ningún caso las cepas aisladas han presentado resistencia a meticilina, oxacilina y vancomicina, antibióticos de referencia en medicina humana.

REFERENCIAS

1. Daza P. Resistencia bacteriana a los antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. Inf Ter Sist Nac Salud 1998; 22: 57-67.
2. EFSA Q-2008-300. Evaluación de la importancia para la Salud Pública de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) en animales y alimentos. 2009.
3. European Food Safety Authority. Analysis of the baseline survey on the prevalence of methicilin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in holdings with breeding pigs, in the EU, 2008. EFSA journal 2009; 7(11):1376
4. Fox L.K. Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. Vet Microb.2009; 134:82-88.
5. Gil M. *Staphylococcus aureus*: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina. Rev Chil Infect. 2000; 17(2):145-152
6. Jordan D, Simon J, Fury S, Moss S, Giffard P, Maiwald M, Southwell P, Barton MD, Axon JE, Morris SG, Trott DJ. Carriage of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by veterinarians in Australia. Australian Vet. Journal 2011;89 (5): 152–159
7. Laboratory methodologies for bacterial antimicrobial susceptibility testing; Internacional Standard on antimicrobial resistance, OIE Paris 2003
8. Martin M. La resistencia a los antibióticos ¿es algo real?. Frisona Española 2006; 155:104-106.
9. Navascués A, Garcia-Irure JJ, Guillén F. Situación de *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en el Hospital de Navarra (2000-2002). Anales del Sistema Sanitario de Navarra 2004; 27: nº 1.
10. Performance standards for antimicrobial Disc. Susceptibility tests. Aproved standards 2006,9th ed:Appoved standards (M2-A9)CLSI
11. Russi N. Susceptibilidad a antibióticos de *Staphylococcus aureus* aislados de mastitis bovina. Master FCV(UNL). 2008.

THE ECONOMIC ANALYSIS OF A *SALMONELLA* SPP. OUTBREAK IN A WELSH DAIRY FARM

Angela Damaso[1]

[1]Department of Production and Population Health of the Royal Veterinary College, University of London

INTRODUCTION

Salmonellosis is a disease that affects cattle, among other species, including humans. Bovine salmonellosis has a prevalence in Wales and England of 12.1% to 24.7% (Davison et al., 2005). The disease can have an asymptomatic, mild clinical or fulminant bacteremia/septicemia or endotoxic presentation. It can be endemic in a herd, the cattle acting as reservoirs, or occur as an outbreak, depending on the virulence of the strain, infectious dose, and immunity of the host (Divers & Peek, 2007). *S. enterica* subspecies *enterica* serotype Dublin (more known as *S.* Dublin) is shown to be present in around 7% of the dairy farms in England and Wales (Davison et al., 2005).

Cost-benefit analyses of Salmonellosis have been made in the past, in order to understand the impact of these food-borne diseases in human health and in the control programmes. Sockett & Roberts (1991) estimated that the cost of the disease was, three decades ago, just under a million pounds, being half of it attributed to production losses due to sickness absence, and a third to health care and investigations from the public health authorities. The costs associated with the disease are not always calculated by the farmer and most of the times underestimated, for not considering farm-specific costs. Veterinary services are shifting from an individual medicine approach to a herd level approach in the last decades (Noordhuizen et al., 2008) and at the eyes of the farmer the prices to pay for the services have to be economically justifiable. The Veterinarian can have now a consultant role in the farm, and his advice is supported by the current financial context. In this sense, the Veterinarian needs to be skilled to analyse the balance sheets, together with the farmer, in order to understand the costs of production, gross margins and the cost of disease control and reproduction management programs and others.

AIMS OF THE STUDY

The aims of this study are to analyse and report the losses of an abortion storm caused by Salmonellosis in a dairy herd and discuss the return to investment of the vaccination as a measure to prevent an outbreak.

MATERIAL AND METHODS

The dairy farm, managed in an all-year-round calving system, comprising in October 162 milking cows, 20 dry cows, 23 in-calf heifers, 38 bullying heifers and 59 calves, was visited on the 5th of December 2013. 16 out of the 43 animals (dry cows and in-calf heifers) had aborted in a period of three weeks, all in the last month of gestation, including twelve cows and four heifers. Six other heifers showed clinical signs of the disease but did not abort.

Salmonellosis had just been diagnosed by the Veterinarian surgeon (Vet) in the farm, based on the samples from abortions sent to the Animal Health & Veterinary Laboratories Agency, which came back positive to *Salmonella* Dublin (type D). The Vet visited six times the farm in the sequence of this problem. The farmer had been advised to vaccinate the whole herd.

The data was collected during a conversation with the farmer, five weeks after the onset of the abortion storm, in order to obtain information about the number of abortions, of vaccinated animals, of treated animals, of visits paid by the Vet, and price of sexed semen. The farmer uses currently sexed semen to inseminate all animals, and recurs to a fixed contract of Reproduction Management System (RMS, Genus). Information about the milk contract, the purchased feedstuff, milk yield and conception rates was gathered, as well as the farmer's plan to inseminate the animals that aborted with Aberdeen Angus sire.

Costs of this outbreak were separated in two types: real and virtual costs. The **real costs** were those that resulted directly from the outbreak and were observed directly by the farmer: loss of sexed semen straws; diagnosis and treatment, including the veterinarian fees; vaccination; drop on milk yield in the milking herd; future purchase of replacement animals due to death of sick animals. The **virtual costs** were those that were not seen directly by the farmer: loss of the margins on the milk yield from the dead animals; drop on the conception rates, which lead to increased open days; loss of the margins from the milk yield from the six animals that died; maintenance of the animals that, after abortion, didn't perform adequately and had to be dried-off; extra dry-off treatments. The **Profits** were assumed to be the following: bull calves born from the inseminations post-abortions (estimated to be 50% of the newborns), and the milk produced by those animals that after abortion had to be dried off prematurely, therefore not performing a whole lactation. The animals that performed a whole lactation were excluded from the gains.

The margin resulting from the milk yield was then achieved to assess the repercussion of the outbreak in the financial status of the farm. It was calculated based only on the variable costs of feeding, namely the whole crop silage and grass silage, produced by the farmer, and the purchased nut blend, using the formula: **Margin=((SP*Y)-CF)*100, where** *SP is Sell price (based on the current milk contract, November 2013); Y is Yield (average of the 12 month period between Dec 2012 till Nov 2013); and CF is Cost of feeding (includes only these variable costs, excluding the fixed costs).* The losses of the outbreak were calculated with the following formula: **Losses = Costs – Profit**

RESULTS AND DISCUSSION

The costs, profits and total losses are summarized in Table 1.

Diagnosis of Salmonellosis was achieved by culture of abortion tissues at the AHVLA, with a cost of £452.48. All 16 animals that aborted were treated with *Combiclav* (Amoxicillin + Clavulanic acid) and 12 animals needed intrauterine administration of antibiotics, namely *Metricure* (Cefapirin). 243 animals were vaccinated with *Bovivac™ S* (vaccine containing inactivated cells of *Salmonella* Dublin and *Salmonella* Typhymurium), with a total cost of £2,429.31. The milking herd showed a milk yield drop on average of 1.5L per cow, in a timeframe of two weeks, at the same time that the abortions occurred, which was attributed to the same disease. The losses of the milk yield drop were calculated with the following formula: *Milk loss = 1.5kg (average milk drop/day)*162 (number of cows in milking herd)*14 (number of days)*0.32(ppL)*. Two cows and four heifers died due to systemic signs of Salmonellosis, which instigated the farmer to plan to purchase replacement animals in the near future. Three animals had to be dried off in the two months following the abortions, due to low or inexistent milk yield. The rest of the animals that aborted were yielding accordingly to the herd's average. Each sexed straw prices £30. The cows had a conception rate of 35% and the heifers a conception rate of 82%, which means that about 48 of straws were needed to get the 16 aborted animals in calf. This was considered a direct cost as the use of these straws did not have the return that was intended to, i.e., the heifer calves with high genetic potential. The

whole crop silage and grass silage were estimated to have a cost of production of £50 per ton, based on the invoices of the seeds and fertilizer. The margin over the feeding is 20 pence per Litre. Each extra day of maintenance of the four animals that aborted and had to be dried-off early costs £0.90 to the farm. Attending that the animals will be dry for a minimum of 280 days, the cost of its maintenance will result in £1,005. The average price of a replacement animal in the region is currently £1,700. The farmer will have to replace six animals that died.

Table 1: Summary of the costs, the profits, and the total losses of the abortion storm caused by Salmonellosis in a dairy farm, in Wales.

Real costs	**£**
Sexed semen	1466.7
Diagnosis / Treatments (incl. Vet fees)	1,363
Vaccination	2,429.3
Milk yield drop	1,088.6
Purchase of Replacement animals	10,200
Total	**16564.1**
Virtual costs	**£**
Drop on the conception rate (extra feed days)	2,664
Loss of the margins of six lactations	11,825
Dry cows maintenance	1,005
Extra dry-off procedures	16.8
Total	**15,494**
Profits	**£**
Milk yield from early dried-off cows	446
Beef cross-bred bull calves	1,050
Total	**1496**
TOTAL LOSSES	**£**
Costs - Profits	**£30,562**

The total costs of the Salmonella outbreak were £32364 and the total gains equaled to £1,494, which resulted in a total loss attributed to the outbreak of £30,562. This amount would have covered the vaccination costs of around 12 years in this farm (not considering increase of prices). Vaccination would have prevented some losses in this situation, namely most of the abortions, deaths, considerable milk yield and conception rate drop, along with others, however there were no indication of the disease in the farm. There were few risk factors present in this scenario, for example the fact that the animals were outdoors in late pregnancy, the weather was cold wet and muddy, which might have predisposed to a decreased immunity from a potential carrier of *S*. Dublin and potential shedding. The environment also might have predisposed to the transmission of the agent through water ponds and grass. Although these risk factors were present, there was nothing unusual compared to the last years in this farm.

Conclusion: The analysis of the costs of the disease in a herd is a useful tool to help the farmer to decide on the disease control programmes to implement in his farm. The Vet can and should help as a facilitator of the Farmer awareness, in order to prevent disease. Prevalence of the disease is of course a major decision factor, nevertheless, even in low prevalence areas, the risks of infecting a herd can be high.

Vaccination of a herd against Salmonellosis is a preventative measure that incorporates high costs, but should be seen as an investment to prevent higher losses.

REFERENCES

1. Bergevoet R.H.M., van Schaik G, Veling J., Backus G.B.C., Franken P. (2009). Economic and epidemiological evaluation of Salmonella control in Dutch dairy herds. Preventive Veterinary Medicine 89; pp. 1–7
2. Sockett P.N, Roberts J.A. (1991). The social and economic impact of salmonellosis. Epidemiol. Infect. 107; pp. 335-347
3. Davison H. C., Smith R. P., Pascoe S. J. S., Sayers A. R., Davies R. H., Weaver J. P., Kidd S. A., Dalziel R. W., Evans S. J. (2005). Prevalence, incidence and geographical distribution of serovars of *Salmonella* on dairy farms in England and Wales. Vet Record 157; pp. 703-711
4. Divers T.J, Peek S. Rebhun's Diseases of Dairy Cattle. Elsevier Health Sciences, 2007. ISBN 1437710832, 9781437710830
5. Noordhuizen J. Dairy Herd Health and Management: A Guide for Veterinarians and Dairy Professionals. Context Products. ISBN-10: 1899043365, ISBN-13: 978-1899043361

REPRODUCCIÓN // REPRODUCTION

ECBHM
European College of Bovine Health Management

ESTUDIO *ANTE Y POST-MORTEM* DE LAS CARACTERÍSTICAS FISIOPATOLÓGICAS DEL TRACTO GENITAL Y SUS FACTORES DE RIESGO EN VACAS LECHERAS EN EL SUD DE VIETNAM

N. Kien Cuong[1, 2], C. Tomàs Mulet[2], Okouyi-Mfoumou W.M[2], Ch. Hanzen[2*]

1. Faculty of Animal Science and Veterinary Medicine, Nong Lam University, Ho Chi Minh city, Vietnam

2. Faculty of Veterinary Medicine, Dept of Animal Theriogenology, University of Liège

* Corresponding author: E-mail: christian.hanzen@ulg.ac.be

ABSTRACT

The aim of this study was to describe the physiopathological features of the genital tract and the possible risk factors on Holstein-Friesian dairy cattle in Vietnam. A total of 507 culled cows and with average age of 8.5 years were subjected to *ante* and *post-mortem* examinations. The 44.4% of cows showed a poor body condition score (BCS < 2.5). The prevalence of pneumovagina, urovagina, abnormal vaginal and uterine discharges was 33.1%, 14.7%, 12.1% and 5.4%, respectively. The 44.6% of cows were in anœstrus. The prevalence of functional pathological (FP) (type 0, I and II), cystic, pyometral and pregnant anœstrus were 37.3%, 2%, 0.4% and 4.9%, respectively. A significant positive effect of age on prevalence of pneumovagina and a negative effect of BCS on prevalence of urovagina has been observed. Furthermore, the FP anœstrus of types 0 and I have most frequently been observed in cows with a low BCS and aged less than 6 years. Therefore, a negative impact of alimentary deficit on reproductive performance has been demonstrated in dairy cattle in Vietnam.

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue describir las características

fisiopatológicas del tracto genital y sus factores de riesgo de vacas Holstein-Frisona en Vietnam. Un total de 507 vacas lecheras de desvieje con un promedio de edad de 8,5 años se examinaron *ante* y *post-mortem*. El 44,4% de las vacas mostró una condición corporal baja (CC <2,5). La prevalencia de neumovagina, urovagina, descargas vaginales y uterinas anormales fue del 33,1%, 14,7%, 12,1% y 5,4%, respectivamente. El 44,6% de las vacas se encontraban en anestro. Las frecuencias de anestro patológico funcional (APF) (tipo 0, I y II), quístico, piometral y de gestación, fueron de 37,3%, 2%, 0,4% y 4,9%, respectivamente. La edad es un factor de riesgo para la aparición de neumovagina mientras que la prevalencia de urovagina disminuye con el aumento de la CC. La frecuencia observada de APF de tipo 0 y I fue más elevada en vacas con baja CC y menores de 6 años. Los resultados del estudio indican un impacto negativo del déficit alimentario sobre el rendimiento reproductivo de las vacas lecheras en Vietnam.

INTRODUCCIÓN

Conocer la frecuencia de las patologías del tracto genital constituye un paso indispensable para determinar los factores individuales responsables de la infertilidad en vacas lecheras. Varios estudios realizados *post-mortem* indican que la frecuencia de las anomalías del tracto genital de la vaca varía entre 13,6% y 31,5% (1-3), existiendo una falta de datos específicos en Vietnam. Por ello el objetivo del presente trabajo fue determinar las características fisiopatológicas del tracto genital e intentar establecer los factores de riesgo en vacas lecheras en el sur de Vietnam.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio fue realizado de Febrero a Agosto de 2012 en el matadero de An Ha, Vietnam. Fueron examinadas 507 vacas de desvieje Holstein-Frisonas. Cada vaca fue sometida a un examen *ante-mortem* para determinar la condición corporal (CC) y la edad, mediante la inspección de la dentición (4). La naturaleza de las secreciones vaginales y el diagnóstico de urovagina y neumovagina fue realizado mediante vaginoscopia (5). Después del sacrificio del animal se practicó una incisión en el útero para examinar el contenido del mismo (5). El examen *ex vivo* de los ovarios se realizó mediante ecografía, introduciéndolos en un recipiente con agua, usando una sonda lineal de 6.5MHz (KX5200VET, Echomedic, Gante, Bélgica). Se cuantificaron las estructuras ováricas (folículos, cuerpos lúteos y quistes) y se determinó el diámetro del folículo de mayor tamaño. La clasificación de los tipos de anestro patológico funcional (APF) (tipo 0, I y II), quístico, piometral y de gestación se realizó en función de las estructuras ováricas detectadas (6,7). Para la evaluación de los efectos de la edad y la condición corporal sobre la frecuencia de anomalías en el tracto genital se realizaron pruebas de χ^2, utilizando el paquete estadístico MINITAB (versión15.0).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La media de edad de las vacas estudiadas fue de 8.5 años. El 44,4% de las vacas presentaron una CC inferior a 2,5. Este porcentaje sugiere un aporte alimentario deficitario que no cubre las necesidades de producción lechera en la zona de estudio (8). De las 507 vacas estudiadas, 226 (44,6%) se encontraban en fase de anestro. Las frecuencias de anestro patológico funcional, quístico, piometral y de gestación, fueron de 37,3%, 2%, 0,4% y 4,9% respectivamente. La frecuencia de APF es notablemente más elevada que la que muestran otros estudios similares realizados en mataderos de Nigeria (4,4%) (1) y de Jordania (10,5%) (9). La baja CC, que constituye el mayor impacto sobre el crecimiento folicular (10,11) podría explicar las diferencias entre los trabajos. En el presente estudio se ha observado una relación significativa de la edad y la CC con la frecuencia de APF de tipo 0 y I (tabla I).

Tabla I: Efecto de la edad y la CC sobre la frecuencia de los tipos de APF

Grupos	Nº de vacas	% de tipo 0	% de tipo I	% de tipo II
Edad: < 6 años	175	9,1[a]	16,0	18,9
Edad: > 6 y ≤10	157	5,1[ab]	8,9[a]	14,0
Edad: > 10	175	2,9[b]	18,9	17,1
		P < 0,05	*P < 0,05*	*P > 0,05*
CC: < 2,5	224	11,1[a]	29,3[a]	28,8
CC: ≥ 2,5 y ≤3,5	149	2,7	6,0[b]	12,7
CC: >3,5	133	0	0[c]	18,1
		P < 0,01	*P < 0,001*	*P > 0,05*

La prevalencia de neumovagina y urovagina fue del 33,1% y 14,7%, respectivamente. Estas frecuencias son notablemente más elevadas que las descritas por otros autores en Irán (5,7% y 1,5%) (12) y en Turquía (19,2% y 3,1%) (13). La utilización de vacas de desvieje, con edades superiores a los 10 años y con una CC relativamente baja, factores reconocidos a la predisposición de la urovagina (14) podrían explicar estos resultados. La presencia de neumovagina aumenta con la edad mientras que la de la urovagina disminuye significativamente con el aumento de la CC (Tabla II).

Tabla II: Efecto de la edad y la CC sobre la frecuencia de la urovagina y la neumovagina.

Grupo	Nº de vacas	% de urovagina	% de neumovagina
Edad : ≤ 6 años	175	14,3	28,6
Edad : > 6 y ≤10	157	13,4	29,9
Edad : >10	175	16,6	40,6[a]
		P > 0,05	*P < 0,05*
CC : < 2,5	225	24,9[a]	34,7
CC : ≥ 2,5 y ≤3,5	149	10,1[b]	34,2
CC : >3,5	133	3,0[c]	29,3
		P < 0,001	*P > 0,05*

La presencia de secreciones vaginales ha sido de 12,1% y la de contenido uterino anormal de 5,4% (Tabla III), siendo esta última inferior a las registradas por otros autores en Jordania (10%) (9) y en Etiopía (10,7%) en condiciones similares de estudio (2). Estos resultados se podrian explicar por el desvieje de las vacas con un número muy elevado de días abiertos en el presente estudio lejos del periodo postparto.

Tabla III: Clasificación de las descargas vaginales y uterinas en función de sus características físicas.

Descargas Vaginales	Nº de vacas	%	Contenido útero	Nº de vacas	%
Mucosa	137	27,0	Mucoso	40	7,9
Purulenta	45	8,9	Purulento	8	1,6
Mucopurulenta	12	2,4	Mucopurulento	4	0,8
Sanguinolenta	4	0,8	Sanguinolento	15	3,0
Total	198	39,1	Total	67	13,3

CONCLUSIONES

El presente estudio ha permitido confirmar que el déficit alimentario ejerce un impacto fuertemente negativo sobre el rendimiento reproductivo de las vacas lecheras en Vietnam. Este impacto se traduce en una frecuencia muy elevada (37,7%) de vacas en APF y/o con presencia de urovagina (14,7%).

REFERENCIAS

1. Chaudhari SUR, Paul-Bokko B. Reproductive status, pregnancy wastage and incidence of gross genital abnormalities in cows slaughtered at Maiduguri abattoir, Nigeria. Pak Vet J. 2000;20(4):203 - 5.
2. Gebrekidan B, Yilma T, Solmon. Major causes of slaughtering of female cattle in Addis Ababa abattoir enterprise, Ethiopia. Indian J Anim Res. 2009;43(4):271-4.
3. Simenew K, Bekana M, Fikre L, Tilahun Z, Wondu M. Major gross reproductive tract abnormalities in female cattle slaughtered at Sululta Sloughterhouse in Ethiopia. Global Vet. 2011;6(6):506 - 13.
4. Ferguson JD, Galligan DT, Thomsen N. Principal descriptors of body condition score in Holstein cows. J Dairy Sci. 1994;77:2695-703.
5. Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GC, Noakes DE, Dobson H, et al. Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. Theriogenology. 2005;63(1):102-17.
6. Hanzen C. L'anoestrus pubertaire et du post-partum dans l'esspèce bovine [Cours théorique]. Université de Liège; 2012 [updated 27/08/2012]. 44]. Available from: URL: http://hdl.handle.net/2268/70545.
7. Peter AT, Vos PL, Ambrose DJ. Postpartum anestrus in dairy cattle. Theriogenology. 2009;71(9):1333-42.
8. Vu DD, Cuong LX, Dung CA, Hai PH. Use of urea-molasses-multinutritent block and urea-treated rice straw for improving dairy cattle in Vietnam. Prev Vet Med. 1999;38:187-93.
9. Fathalla M, Hailat N, Lafi SQ, Abu Basha E, Al-Sahli A. An abattoir survey of gross reproductive abnormalities in the bovine genital tract in Northern Jordan. Isr J Vet Med. 2000;55(3):83 - 8.
10. Lucy MC, Staples CR, Michel FM, Thatcher WW. Energy balance and size and number of ovarian follicles detected by ultrasonography in early postpartum dairy cows. J Dairy Sci. 1991;74:473-82.
11. Dominguez MM. Effet of body condition, reproductive status and breed on follicular population and oocyte quality in cows. Theriogenology. 1995;43:1405-18.
12. Farhoodi M, Nowrouzian I, Hovareshti P, Bolourchi M, Nadalian MG. Factors associated with rectovaginal injuries in Holstein dairy cows in a herd in Tehran, Iran. Prev Vet Med. 2000;46:143-8.
13. Goncagul G, Intas KS, Kumru IH, Intas DS. Prevalence and accompanying signs of pneumovagina and urovagina in dairy cows in the Southern Marmara region. Tierärztl Prax. 2012;40:359-66.
14. Gautam G, Nakao T. Prevalence of urovagina and its effects on reproductive performance in Holstein cows. Theriogenology. 2009;71(9):1451-61.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

PROGRAMACIÓN DEL DESARROLLO EN HOLSTEIN Y FACTORES ASOCIADOS A UNA MAYOR PRODUCCIÓN EN VACAS DESDE SU NACIMIENTO: LA EDAD DE LA MADRE PARECE SER UN FACTOR DETERMINANTE

Susana Astiz[1] Antonio Gonzalez-Bulnes[1], Francisco Sebastian[2], Octavi Fargas[3], Iagoba Cano[4], Pedro Cuesta[4]

1: Dpto Reproducción Animal (INIA), Madrid; 2: SAT More, Valencia; 3: VAPL SL, Barcelona; 4: Dtpo de Apoyo a la Investigación. UCM, Madrid.

ABSTRACT

Growth and performance of 404 high-yielding Holstein cows were studied from birth onwards and during two lactations. Management, environmental conditions, and parental genetics of the cows were known. Cluster analysis based on milk production identified four performance "types": high-yielding (HY) cows and persistently high-yielding cows (PHY), which accounted for 33% of the animals; medium-yielding (MY) cows, 41%; and low-yielding (LY) cows, 26%. The characteristics of each group were analyzed to identify determinants of the performance. Developmental and environmental factors were excluded as determinants of performance, including birth weight, level of passive immunity transfer, growth rate, age at first calving and reproductive efficiency. Life performance did show slight seasonal effects, but these were minor. Instead, the most important factor influencing performance of daughters was maternal parity (in effect, their age!). HY cows were born from the youngest mothers (1.89±1.14 calvings), while LY cows were born from the oldest (2.72±1.80 calvings; P<0.001). Metabolic and yield parameters correlated significantly between first and second lactations, suggesting the individuals' influence. The cluster-analysis was performed without daughters of heifers, to control the effect of the metabolic challenge during gestation with results being similar. Our results suggest that under optimal health, nutritional and environmental conditions, maternal parity is one of the greatest determinants of performance of progeny. These results may help the development of novel management guidelines for high-yielding dairy farms.

RESUMEN

Estudiamos en detalle los patrones de crecimiento y productividad de 404 vacas holstein de alta producción desde el nacimiento y durante dos lactaciones, considerando manejo, condiciones ambientales y la influencia individual de los progenitores. El análisis de los datos se efectuó mediante la metodología de tipologías o "cluster" que identificó cuatro "tipos" de vacas según su productividad: de alta producción (AP), de alta producción persistentes (APP), que eran el 33% de los animales estudiados; de producción media (PM; 41%) y de baja producción (BP; 26 %). Analizamos las características de cada grupo con el fin de identificar los posibles factores determinantes del comportamiento productivo. De los más de 15 factores ambientales y de desarrollo estudiados, ninguno de ellos resultó determinante de la productividad, ni siquiera el peso al nacer, el nivel de transferencia de inmunidad pasiva, la tasa de crecimiento, la edad al primer parto ni la eficiencia reproductiva. La productividad vital de los animales se veía influida levemente por la estación, pero siendo éste un factor menor. Sorprendentemente, el factor más significativo resultó ser el número de lactación o parto de la madre(la edad de la madre). Las vacas AP nacieron de las madres más jóvenes (1,89 ± 1,14 partos), mientras que las BP nacieron a partir de la más viejas (2,72 ± 1,80 partos, P < 0,001). Además, se detectó una correlación significativa entre los parámetros metabólicos (producción, grasa y proteína producidas) de la primera y segunda lactación, lo que sugiere la influencia de la individualidad de la vaca en sí (quizás, su genética). El análisis de *cluster* se realizó de nuevo sin las hijas de novillas, con el fin de controlar el efecto del desgaste metabólico durante la gestación y los resultados fueron similares. Nuestros resultados sugieren que en condiciones de buen manejo, salud óptima, condiciones ambientales controladas, la edad de la

madre es uno de los mayores determinantes de la productividad de las vacas. Estos resultados pueden ayudar a la gestión de las granjas de alto rendimiento lechero.

INTRODUCCIÓN

La productividad de los animales depende de un sinfín de factores, difíciles de controlar, pero de efecto decisivo. Así pues se han publicado distintas condiciones, medioambientales, de saludo, nutricionales y de manejo, como influyentes, pero con distinto peso según trabajos. El objetivo de este trabajo fue, bajo condiciones reales de granja, estables y controladas, y contando con infinidad de datos, concienzudamente recogidos, identificar los factores de los que más dependía el nivel de producción de las vacas de esta granja.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se realizó en una granja comercial del este de España con una media de 1216 vacas en lactación, un 37% de primíparas, una tasa de reposición media del 30% anual, media de edad al primer parto de 23,8m y una longevidad media de entre 2,6 y 3,2 partos.

En un principio se consideraron 782 terneras nacidas. De ellas, 20 (2,6%) murieron durante los primeros dos meses de vida, 16 (2,1%) murieron entre los 2-13m, 47 (6%) no quedaron gestantes, 117 (15%) se desecharon involuntariamente durante la primera lactación y 125 (16%) se desecharon involuntariamente durante la segunda lactación. Finalmente, 53 animales, no habían finalizado su segunda lactación el día de finalización del estudio. Así pues quedaron 404 animales incluidos en el estudio, manejados de manera similar, desde su nacimiento hasta finalizar su segunda lactación. Los datos y características recogidas se plasman en la tabla de resultados, con 18 características individuales y 4 productivas de cada lactación. También se tuvo en cuenta la paridad y la producción materna durante la gestación del animal estudiado (durante su desarrollo embrionario y fetal), así como el padre y la producción vital de la madre. Finalmente, también se controló la estación de nacimiento, clasificándola como estación fresca (octubre a junio) o calurosa (julio-septiembre).

Tabla. Características de desarrollo, productivas y reproductivas de vacas lecheras, desde su nacimiento y durante dos lactaciones, totales (Todas) y distribuidas en grupos según su producción (Alta producción AP; Alta producción, persistente APP; producción media PM; baja producción BP)

	Todas	AP	APP	PM	BP
N (%)	404	73 (18,1)	60 (14,8)	164 (40,6)	107 (26,5)
NL	2,364±1,5	**1,89±1,1**$^{-}$	2,18,±1,3	2,41±1,5	**2,72±1,8**$^{+}$
P-GestM (l)	9759±3020	9571±3298	10137±2330	9857±3136	9515±3010
P-TotalM (l)	11399±3095	11968±3600	11278±2465	11340±2801	11175±3462
PS (g)	5,3±0,6	5,3±0,6	5,4±0,6	5,3±0,6	5,3±0,6
PN (kg)	39,6±5,2	38,8±5,3	40,4±5,0	39,6±4,9	39,9±5,8
P1 (kg)	47,5±5,5	47,2±5,19	48,7±4,9	46,9±5,4	47,8±6,1
TC1 (g/d)	261,0±127	278,8±144	278,1±145	246,1±113	262,0±122
DD (d)	42,0±3,3	41,7±2,9	41,6±2,7	42,1±3,6	42,3±3,5
P2 (kg)	71,5±8,8	71,4±8,4	72,6±7,8	70,7±9,0	72,1±9,4
GR2 (g/d)	531,1±119	543,6±121	537,2±132	519,9±115	536,2±116
GRs (g/d)	801,2±175	808,4±170	796,3±183	793,7±183	810,3±162
A-AI (cm)	138,8±2,6	139,1±3,0	139,1±2,7	138,8±2,5	138,4±2,6
EPAI (m)	13,4±0,6	13,3±0,5	13,3±0,6	13,4±0,7	13,5±0,7
AI1	1,6±1,0	1,6±0,7	1,6±0,9	1,8±1,2	1,6±0,9
A-PP (cm)	151,9±3,1	152,2±2,9	152,4±3,3	151,9±2,9	151,4±3,4
PPP (kg)	591,0±52,8	591,2±48,6	597,7±45,1	589,2±55,4	589,7±55,9
EPP (m)	23,1±1,3	23,0±1,2	22,9±1,1	23,2±1,5	23,0±1,2
PL1 (L)	11774±2128	**12899±1635**$^{+}$	**14729±1475**$^{+}$	**11297±978**$^{-}$	**10082±1914**$^{-}$
Pr1 (kg)	383,5±81	401,3±57	**499,6±82**$^{+}$	**364,3±39**$^{-}$	**335,6±77**$^{-}$
G1 (kg)	421,8±97	440,4±72	**540,1±90**$^{+}$	**401,3±58**$^{-}$	**374,2±107**$^{-}$
L1 (wk)	52,7±9,8	**50,1±5,5**$^{-}$	**69,8±9,0**$^{+}$	**48,3±4,0**$^{-}$	51,4±8,7
DP (d)	53,2±10,7	52,6±7,6	**56,6±14,4**$^{+}$	**51,4±6,3**$^{-}$	54,4±14,4
IA2	2,6±2,3	**2,1±1,5**$^{-}$	**6,0±2,0**$^{+}$	**1,8±1,8**$^{-}$	2,4±1,8
IPIAF (d)	149,9±71,8	**130,3±39,9**$^{-}$	**271,5±74,0**$^{+}$	**119,2±29,5**$^{-}$	142,2±63,1
ESP (m)	37,6±2,7	**36,8±1,5**$^{-}$	**41,6±2,5**$^{+}$	**36,7±1,9**$^{-}$	37,3±2,6
PL2 (L)	12705±2637	**15177±1929**$^{+}$	**14520±1923**$^{+}$	12420±1797	**10438±2346**$^{-}$
Pr2 (kg)	405,2±88,6	**465,2±75,3**$^{+}$	**470,2±70,3**$^{+}$	394,5±72,8	**344,1±79,0**$^{-}$
G2 (kg)	424,2±98	**488,1±94**$^{+}$	**475,6±77**$^{+}$	416,3±88	**363,8±87**$^{-}$
L2 (wk)	48,4±9,1	50,0±9,2	**52,8±8,3**$^{+}$	48,3±8,5	**45,0±9,0**$^{-}$

NL=lactaciones de la madre; P-GestM: producción total de la lactación de la madre durante la gestación de la hija estudiada: P-TotalM: producción total de la madre durante toda su vida. PS= proteínas séricas pos toma de calostro; PN= peso al nacimiento; P1= peso al primer mes de vida; TC1=tasa de crecimiento del primer mes de vida; DD=días al destete; P2= peso al mes 2 de vida; TC2= tasa de crecimiento del segundo mes de vida; GRs= tasa de crecimiento de los dos primeros meses de vida; A-AI=altura a la cruz a la primera IA; EPAI= edad a la primera IA; IA1= IAs /gestación para la primera gestación; A-PP=atura al primer parto; PPP=peso al primer parto; EPP=edad al primer parto; PL1=producción láctea primera lactación; Pr1=proteína total primera lactación; G1=Grasa total primera lactación; L1=longitud primera lactación; PS=longitud del periodo de secado; IA2= IAs/gestación para la segunda gestación; IPIAF=intervalo parto-inseminación fecundante; ESP=edad segundo parto; PL2=producción láctea segunda lactación; Pr2=proteína total segunda lactación; G2= grasa total segunda lactación; L2=longitud segunda lactación. Caracteres en negrita son caracteres previos a las lactaciones. Superíndices "+" y "-" indican valores significativamente mayores o menores que la media del total (P<0.01). Valores significativos en negrita.

El estudio estadístico consistió en un estudio de tipologías o clusters (Hartigam, 1975) que consiste en determinar grupos de animales con características comunes (en nuestro caso, su nivel productivo). Una vez descubiertos los tipos o clusters, se analizan las características que son significativamente diferentes en cada grupo respecto de la población. Esta metodología permite trabajar con una gran cantidad de datos simultáneamente, evitando simplificaciones previas al estudio de características (permite haber trabajado con las curvas de lactación completas de cada animal a la vez) y además, posteriormente detectar significancias sin búsquedas prefijadas (como sí es el caso de análisis más habituales como regresión, ANOVAS, etc.). Para ello es utilizó SPAD.N, version 5.6; DECISIA, Francia.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de cluster descubrió 4 grupos de animales, según su producción en la primera y segunda lactación (figura).

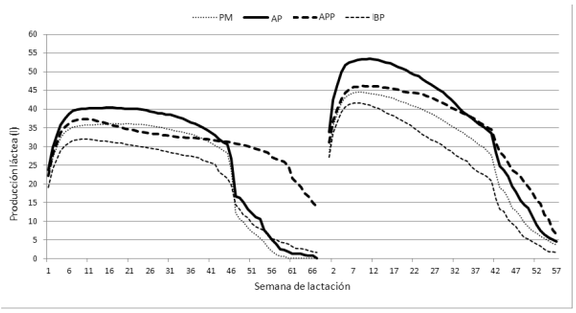


Figura: clusters de vacas según su curva de lactación en la primer y segundo parto. Los grupos fueron de Alta producción AP; de alta producción, persistente APP; de producción media PM; y de baja producción BP

La estacionalidad del nacimiento dio lugar a diferencias significativas, pero poco intensas. Los 17 toros padres de los animales estudiados sólo fueron más frecuentes en el grupo de BP y otro en el grupo PHY, con poca significancia. Los valores productivos entre las dos lactaciones de un mismo animal se correlacionaron significativamente. La producción media vital de las madres, ni la de la lactación durante la gestación no diferían entre clusters.

Estos resultados demuestran que en un entorno en donde el manejo desde el nacimiento es adecuado (hay pocos índices de salud y de crecimiento claramente mejorables), el número de parto de la madre desempeña un papel importante en la productividad de la hija. Creemos que no se trata solamente del efecto de la mejora genética, ya que no hay diferencias productivas entre las madres, ni en la distribución de los padres de las hijas estudiadas; Además, la mejora productiva observada en la granja durante el periodo de tiempo estudiado (2007-2013) va de 10.167 a 12.057 l/lactación (19,05%) mientras que la mejora alcanzada en el grupo de hijas más productoras oscila entre un 27 y un 49% para las primeras y segundas lactaciones.

BIBLIOGRAFÍA

Hartigan (1975) Clustering Algorithms. John Wiley & Sons Inc. New York.

LA VALORACIÓN DE LA APTITUD REPRODUCTIVA DE TOROS EN CONDICIONES DE CAMPO, UN NUEVO RETO PARA LA PROFESIÓN VETERINARIA EN ESPAÑA[1]

José Antonio García-Paloma. jagarcia@serida.org

Centro de Biotecnología Animal. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Camino de Rioseco, 1225. Deva, 33394 Gijón (Asturias), Spain.

[1]Actividad financiada por el PCTI de Asturias 2006-2009 y cofinanciada por el Programa Operativo FEDER del Principado de Asturias 2007-2013 y las asociaciones de ganaderos ASEAVA y ASEAMO.

RESUMEN

La valoración de la aptitud reproductiva de toros en condiciones de campo es un servicio que empieza a ser demandado por el sector ganadero en España. Hay dos sistemas de referencia para la aplicación de esta metodología: el SFT (Society for Theriogenology) y el WCABP (Western Canadian Association of Bovine Practitioners), pero al tener diferentes criterios y no existir un acuerdo metodológico en España, se plantea la necesidad de promover un debate orientado a lograr un consenso entre todos los sectores involucrados. Este trabajo presenta un sistema alternativo y pretende ser un punto de referencia para lograr este objetivo.

SUMMARY

Bull Breeding Soundness Evaluation is a methodology that begins to be used in Spain. There are two known systems, the SFT (Society for Theriogenology) and the WCABP (Western Canadian Association of Bovine Practitioners), but both use different criteria. Given the absence of agreement on this methodology in Spain, is considered necessary to promote a debate to reach consensus among all stakeholders. This paper presents an alternative system and intends to be a reference for this purpose.

INTRODUCCIÓN

En los años 80 fue desarrollada en Estados Unidos la "bull breeding soundness evaluation (BBSE)", una metodología orientada a la valoración de la aptitud reproductiva de toros en condiciones de campo; y actualmente en este país, como en Canadá o Australia, una certificación de aptitud reproductiva debe acompañar a todos los toros que se ponen a la venta. En España, la valoración funcional de toros es un servicio que comienza a ser demandado por los ganaderos, pero ante las discrepancias de criterio existentes entre los dos principales sistemas metodológicos, el SFT (1) y el (WCABP) (2), y la falta de consenso entre los veterinarios, se corre el riesgo de que las contradicciones resten credibilidad a la técnica y condicionen su demanda. Por tanto, al igual que se ha hecho en los países de referencia, se plantea la necesidad de consensuar los criterios para aplicar esta metodología entre todos los sectores involucrados (investigadores, veterinarios y asociaciones de ganaderos). Esta comunicación presenta un sistema alternativo y pretende ser una referencia para este fin.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para realizar este trabajo, se utilizaron 454 toros de raza Asturiana de los Valles (AV), homocigotos al gen de la hipertrofia muscular (culones) y con edades comprendidas entre los 12 y 15 meses. Tras la valoración de su aparato reproductor, se evaluaron los tres parámetros principales de esta metodología: la circunferencia escrotal (CE), la motilidad espermática progresiva (MOT) y la normalidad de su morfología espermática (NOR). La CE fue medida con una cinta abarcando ambos testículos por la zona de mayor diámetro y el semen fue obtenido por electroeyaculación utilizando una vagina diseñada para controlar la temperatura en todo el proceso de colecta. El semen fue diluido con el crioprotector Bioxcell y la MOT fue evaluada en un microscopio de contraste de fase a 200x. Utilizando ClNa al 0.9% como diluyente, la NOR fue valorada a 1.000x sobre una tinción de eosina-nigrosina. Para

más detalles sobre los protocolos de valoración, consultar estas referencias (2-5). El análisis de los datos fue realizado mediante los procedimientos FREQ y GLM del paquete estadístico SAS, Versión 9.2.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las diferencias de criterio entre los sistemas SFT y WCABP se presentan en la Tabla 1. El sistema SFT propone dos categorías para los toros respecto a MOT y NOR: apto y no apto, presenta un umbral muy severo de NOR y por el contrario muy tolerante para MOT. Por ejemplo para este sistema, no hay diferencia de potencial reproductivo entre dos toros que tienen 30 y 90% de MOT. El criterio presentado por el sistema WCABP de establecer una categoría intermedia, denominada cuestionable, se ve más coherente al representar mejor la diversidad de potencial reproductivo que hay entre toros. Los toros con categoría cuestionable pueden ser reproductores, pero se asume que tienen su fertilidad más reducida (2).

Tabla 1. Diferencias en los umbrales y categorías de valoración entre los sistemas SFT y WCABP.

	Sistema	
Parámetro y categoría de valoración	SFT	WCABP
Motilidad espermática (MOT) (%)		
No apto	< 30	< 40
Cuestionable		40 - 59
Apto	≥ 30	≥ 60
Morfología espermática (NOR) (%)		
No apto	< 70	< 50
Cuestionable		50 - 69
Apto	≥ 70	≥ 70
Circunferencia escrotal (CE) (cm)		
No apto	< 30	< umbral
Apto	≥ 30	≥ umbral

SFT: Society for Theriogenology. WCABP: Western Canadian Association of Bovine Practitioners.

Respecto a la CE, ambos sistemas fijan un único umbral, pero con diferente criterio. El sistema SFT propone el umbral de 30 cm para los toros de todas las razas con edades comprendidas entre los 12 y 15 meses, mientras que el sistema WCABP fija un umbral para cada raza y edad considerando la media menos un desvío estándar. Dado que la CE está muy condicionada por la raza (2, 6), parece más apropiado el criterio del sistema WCABP, no obstante, el porcentaje de desecho del 16% que se asume al aplicar este criterio, nos parece excesivo si consideramos que otros criterios de descarte suelen ser también aplicados (conformación muscular, velocidad de crecimiento, valoración física o calidad seminal, entre otros). En la Tabla 2, se presentan los criterios que nosotros hemos establecido para evaluar la CE de toros de raza AV con genotipo culón. La CE se ajustó a 15 meses de edad con la siguiente fórmula: CE15=CE+0,0191*(457,5 - edad (d)) y para poner en valor el efecto positivo que la CE tiene, sobre la cantidad y calidad del semen, sobre el inicio más temprano de la pubertad o sobre la mayor productividad vital de las hijas (7-9), se establecieron cuatro categorías combinando el umbral propuesto por el sistema SFT (30 cm), la media de CE15 y su desvío estándar (34,2 ± 2,4 cm). Exceptuando la fórmula de ajuste que debe calcularse para cada raza, el resto de criterios expuestos se puede considerar extrapolable a cualquier otra. Para adaptar estos criterios a condiciones diferentes al Centro de Testaje donde se hizo este trabajo, para toros con más edad se recomienda añadir 1 cm a los umbrales establecidos por cada tramo: 15 a 20 y 21 a 30 meses y para toros con condición corporal inferior a 4,5 en una escala de 1-5, restar 1 cm por cada unidad de condición corporal. Considerando que la CE15 es un parámetro con una distribución normal, el porcentaje de toros que se puede esperar en cada una de las categorías establecidas, se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Criterios para fijar los umbrales de circunferencia escrotal, categorías de valoración y (% de toros esperado dentro de cada categoría).

Categoría de valoración	Criterio	Umbral de CE15 [1]
No apto	SFT	< 30 (4)
Cuestionable	Hasta la media – 1 d.e.	30 – 31,8 (12)
Apto	Hasta la media + 1 d.e.	31,9 – 36,6 (68)
Superior	≥ Media + 1 d.e.	≥ 36,6 (16)

[1] CE ajustada a 15 meses de edad para toros de genotipo culón de raza Asturiana de los Valles entre 12 y 15 meses.

En la Tabla 3, se presenta el porcentaje de toros AV obtenido en cada una de las categorías respecto al sistema de valoración: SFT, WCABP y PROPUESTO y respecto al parámetro evaluado: CE, MOT, NOR y aptitud reproductiva (AR) o valoración final del toro. En el sistema PROPUESTO se incorporaron los criterios del sistema WCABP para los parámetros MOT y NOR y nuestro criterio para CE. Para asignar la AR de un toro, se tuvo en cuenta la categoría del peor de los tres parámetros evaluados, con la excepción de la categoría superior, que se estableció para toros con categoría apto en MOT y NOR y categoría superior en CE15. El sistema PROPUESTO al tener más categorías, se considera que puede representar mejor que los sistemas SFT y WACBP la diversidad del potencial reproductivo de los toros y puede ser más útil para planificar su manejo reproductivo en las explotaciones. A modo de ejemplo, los toros con AR superior podrían ser sometidos a una elevada exigencia reproductiva (más de 40 vacas por toro en ganaderías con partos agrupados).

CONCLUSIONES

Se considera que el sistema BBSE propuesto, representa mejor que los sistemas SFT y WCABP la diversidad del potencial reproductivo de los toros, es más útil para planificar el manejo reproductivo de los toros en las explotaciones, y puede ser un punto de referencia para promover el consenso de esta metodología en España.

REFERENCIAS

1. Hopkins FM, Spitzer JC. The new Society for Theriogenology breeding soundness evaluation system. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 1997;13(2):283-293.
2. Barth AD. Bull Breeding Soundness Evaluation. 2th ed. Alberta, Canada: The Western Canadian Association of Bovine Practitioners; 2000.
3. Kennedy SP, Spitzer JC, Hopkins FM, Higdon HL, Bridges Jr WC. Breeding soundness evaluations of 3,648 yearling beef bulls using the 1993 Society for Theriogenology guidelines. Theriogenology. 2002;58(5):947-961.
4. Entwistle K, Fordyce G. Evaluating and Reporting Bull Fertility. 1st ed. Queensland: Australian Cattle Vets; 2003.
5. Barth AD, Oko RJ. Abnormal morphology of bovine spernatozoa. Ames, IA: Iowa State University Press; 1989.
6. Menegassi SRO, Barcellos JOJ, Peripolli V, Pereira PRRX,

Tabla 3. Porcentaje de toros de raza Asturiana de los Valles valorados por categoría y sistema, en función de los parámetros CE, MOT, NOR y AR.

	Sistema											
	SFT				WCABP				PROPUESTO			
Categoría	CE	MOT	NOR	AR	CE	MOT	NOR	AR	CE	MOT	NOR	AR
No apto	4,9[a]	1,1[a]	19,6[a]	23,6[a]	18,3[b]	3,3[b]	4,0[b]	22,5[a]	2,9[a]	3,3[b]	4,0[b]	8,6[b]
Cuestionable						4,6	15,6	14,1[a]	12,8	4,6	15,6	26,0[b]
Apto	95,1[a]	98,9[a]	80,4	76,4[a]	81,7[b]	92,1[b]	80,4	63,4[b]	67,8[c]	92,1[b]	80,4	54,2[c]
Superior									16,5			11,2

CE: Circunferencia escrotal. MOT: Motilidad espermática progresiva. NOR: Normalidad espermática. AR: Aptitud reproductiva. SFT: Society for Theriogenology. WCABP: Western Canadian Association of Bovine Practitioners. Propuesto: propuesto para el consenso.
Diferentes letras dentro de la misma fila indican diferencias significativas entre sistemas para un mismo parámetro; P<0,01.

Borges JBS, Lampert VN. Measurement of scrotal circumference in beef bulls in Rio Grande do Sul. Arq Bras Med Vet Zootec. 2011;63(1):87-93.

7. Coe PH. Associations among age, scrotal circumference, and proportion of morphologically normal spermatozoa in young beef bulls during an initial breeding soundness examination. J Am Vet Med Assoc. 1999;214(11):1664-1667.
8. Siddiqui MAR, Bhattacharjee J, Das ZC, Islam MM, Islam MA, Haque MA, et al. Crossbred bull selection for bigger scrotum and shorter age at puberty with potentials for better quality semen. Reprod Domest Anim. 2008;43(1):74-79.
9. Smith BA, Brinks JS, Richardson GV. Relationships of sire scrotal circumference to offspring reproduction and growth. J Anim Sci. 1989;67(11):2881-2885.

AN INTEGRATED APPROACH FOR THE MANAGEMENT OF INHERITED DISORDERS IN BELGIAN BLUE CATTLE BREED IN BELGIUM

Arnaud SARTELET[1], Samuel CHAPON[2], Corinne FASQUELLE[1], Nico TAMMA[1], Michel GEORGES[1], Carole CHARLIER[1]

1. Unit of Animal Genomics, GIGA-R & Faculty of Veterinary Medecine, University of Liège, Liège, Belgium.

2. Regional Association for Animal Health and Identification (Arsia), Ciney, Belgium.

ABSTRACT

Intensive selection, inbreeding and the use of artificial insemination in Belgian blue cattle breed promotes the spread of deleterious mutations and the outburst of inherited disorders increasing economic losses in Belgian herds. A heredo-surveillance platform was developed to identify the emergence of new defects, to map the causative mutation and to develop diagnostic tests to avoid at-risk matings. Seven autosomal recessive disorders have been characterized at the molecular level and diagnostic tests were available. Rapidly, homozygous affected calves disappeared leading to a decrease of the overall mortality rate for Belgian blue calves between 0 and 6 months. The selection based only on the males explains the slight decrease of the carrier frequencies.

INTRODUCTION

The Belgian blue cattle breed (BBCB) is well known for its exceptional muscular development referred to as «double-muscling». Belgian Blue cattle account for approximately halve of the 2.6 million heads of cattle in Belgium and for approximately two thirds of Belgian beef production. Intense selection for animals with extreme phenotype, including by means of extensive use of artificial insemination (50 % in BBCB), has caused a decrease in the effective population size and concomitant increase in inbreeding coefficient. This has in turn caused recurrent outbursts of inherited defects, imposing considerable economic and welfare burden on breeders.

Recent advances in genomics, including high-throughput SNP genotyping and next generation sequencing (NGS), have greatly accelerated the identification of genes and mutations underlying inherited defects, including in livestock (Charlier *et al.*, 2008). To maximize the benefit of these new technologies for the Belgian Blue cattle breed, we established a heredo-surveillance platform in close collaboration with breeders, veterinarians, breeding organizations ("Association Wallonne de l'Elevage" and "BBCB Herdbook") and artificial insemination (AI) centers. The aim of the platform was (i) to monitor the emergence of genetic defects in the BBCB and quantify their incidence and impact, (ii) to collect epidemiological data and biological samples of cases and controls, (iii) to positionally clone the genes and mutations underlying inherited defects, (iv) to develop diagnostic tests, and assist breeders in using these to limit the negative impact of the defects, and (v) to evaluate the benefits of their integration in the BBCB breeding program.

MATERIALS AND METHODS

Since 2006, the platform's biobank has been populated with more than 2,600 samples, corresponding to 46 anomalies classified as (i) lethal defects affecting the calf, (ii) lethal defects affecting calf and dam, and (iii) non-lethal defects with negative economic impact. We performed a genome wide association study (GWAS) for 15 defects resulting in the unambiguous identification of risk loci for seven, thereby demonstrating their inherited nature. The identified loci explained all the phenotypic variance for the congenital muscular dystonia type 1 (CMD1) on the chromosome 25, the congenital muscular dystonia type 2 (CMD2) on the chromosome 29, the crooked tail syndrome (CTS) on the chromosome 19, the dwarfism (DW) on the chromosome 3, the gingival hamartome (HAM) on the chromosome 25, the prolonged gestation (PG) on the chromosome 18 and the lethal arthrogryposis syndrome (AP) on the chromosome 10 under an autosomal recessive model of inheritance. For dwarfism (DW), the locus identified on the chromosome 3 accounts for 40% of cases of stunted growth in BBCB under the same model. In addition to confirming the major effect of the Roan locus in the determinism of White Heifer Disease (WHD), we have identified two suggestive risk loci with p-value expected to occur fortuitously only once per genome-scan.

Targeted exon sequencing of positional candidates lead to the identification of causative mutations for four conditions. A missense mutation in the *ATP2A1* gene, which encodes a fast-twitch skeletal-muscle Ca2+-ATPase, and in the *SLC6A5* gene, encoding the Na+/Cl−-dependent glycine transporter causing respectively CMD1 and CMD2 (Charlier *et al.*, 2008). CTS was shown to result from a frameshifting 2-bp deletion in the *MRC2* gene encoding a mannose receptor (Fasquelle *et al.*, 2009). DW was shown to be due to a splice variant in the *RNF11* gene, encoding a subunit of the A20 complex regulating NF-ÊB signaling (Sartelet *et al.*, 2012b). Whole genome NGS was needed to identify the causative mutations for HAM and AP. The substitution of a highly conserved amino-acid in the chloride channel CIC-7, was shown to affect its electrophysiological properties with potential impact on its bone remodeling role in osteoclasts. Mutations in the *CLCN7* gene are known to induce osteopetrosis in humans and mice, and this was subsequently shown to also be the case in calves with HAM (Sartelet *et al.*, 2014). A splice site variant 10-bp upstream of the second exon of the *PIGH* gene, encoding PIG-H protein, was shown to cause AP. The causal mutation for PG has not been identified so far.

RESULTS AND DISCUSSION

We were struck by the unusually high population frequency in BBCB of the mutations causing two defects, SQT (25 %) and DW (26 %). We provide strong evidence that this reflects balancing selection due to desirable pleiotropic effects. The 2-bp deletion in *MRC2* was shown to increase muscle mass in carriers, and this probably accounts for the occurrence of a second, rare *MRC2* loss-of-function mutation discovered subsequently in a distinct BBCB sire line (Sartelet *et al.*, 2012a). We provide evidence that the substitution in the *RNF11* gene underwent a selective sweep increasing its frequency, yet were not able thus far to determine the advantage it confers. However, we make the remarkable observation in a prospective study that approximately one third of calves homozygous for the *RNF11* mutation dies before the age of six months, probably as a result of impaired control of the inflammatory response. This finding reconciles the observed high frequency of 26% carriers, yet limited incidence of dwarfism per se, and emphasis the higher than expected costs to farmers of the condition (Sartelet *et al.*, 2012b).

Diagnostic tests were developed for seven defects and offered to breeders. The tests were based on the detection of the causative mutation for six (CMD 1, CMD 2, both mutations for CTS, DW, HAM and AP), and on the detection of haplotypes in high linkage disequilibrium with the causative mutation for PG. By the end of December 2013, more than 27,000 BBCB animals had been tested for at least one mutation. The main use of the diagnostic test has been to select AI bulls. Rapidly the AI semen providers select new sires free for all known mutations and try to produce sons free from carrier sires to preserve genetic gain. To a lesser extent, sires for natural matings are also tested for one or several mutations. Consequently, this has let to a drastic and desirable reduction in the incidence of affected calves causing substantial reductions in reported perinatal mortality. We compared the mortality rate for 3,088,021 calves born between, January 1st, 2002 and December 31th, 2010 and 281,723 calves dead between 0 and 6 months of age in BBCB, Holstein dairy cattle and other breeds. There is a significant decrease of 4% in the BBCB mortality rate since theavailability of the first genetic diagnostic test in 2006, whereas in Holstein and other breeds the mortality rate tends to increase slightly. Testing the dam population has been more limited, and – as a consequence – the population frequencies of the mutations decreased slightly. The cumulative frequency of all deleterious mutations being as high as 50%, selection against carrier bulls causes a substantial genetic bottleneck on the sire side. This may in turn cause the emergence of new defects due to the dissemination of as of yet unidentified deleterious mutations bound to be carried by the selected ones.

Moreover, genetic progress for other economically important traits is likely to be hampered as sires with high genetic merit for these traits yet carrying one or more known defect are being culled. Breeders come to realize that it might be better to use the diagnostic test on sire and dam side in order to avoid at risk matings between carriers from the same defect while optimizing genetic progress for desired traits possibly with the aid of genomic selection.

CONCLUSIONS

In conclusion, the heredo-surveillance in BBCB is well established in Belgium and in the breeding programs. Breeders are aware about the benefit to detect as soon as possible new emerging defects and therefore do not hesitate to notify congenital abnormalities. We herein demonstrate the efficiency and the importance of the collaboration of a heredo-surveillance platform with the fast mapping of seven recessive disorders and for six of them the causal mutations in BBCB. This is the first report of the impact of the heredo-surveillance network in cattle from the phenotypes to the evaluation of the management of inherited disorders. We highlight the significantly positive impact with the decrease of the calves' mortality in BBCB but also with the slight decrease of the carrier frequencies.

REFERENCES

1. Charlier C., Coppieters W., Rollin F., Desmecht D., Agerholm J.S., Cambisano N. et al. Highly effective SNP-based association mapping and management of recessive defects in livestock. Nat Genet. 2008 ; 40 : 449-454.
2. Fasquelle C., Sartelet A., Li W., Dive M., Tamma N., Michaux C. et al. Balancing selection of a frame-shift mutation in the MRC2 gene accounts for the outbreak of the Crooked Tail Syndrome in Belgian Blue Cattle. PLoS Genet. 2009 ; 5 : e1000666.
3. Sartelet A., Druet T., Michaux C., Fasquelle C., Geron S., Tamma N. et al. A splice site variant in the bovine RNF11 gene compromises growth and regulation of the inflammatory response. PLoS Genet. 2012 ; 8 : e1002581.
4. Sartelet A., Klingbeil P., Franklin C.K., Fasquelle C., Geron S., Isacke C.M. et al. Allelic heterogeneity of Crooked Tail Syndrome: result of balancing selection? Anim Genet. 2012 ; 43 : 604-607.
5. Sartelet A., Stauber T., Coppieters W., Ludwig C.F., Fasquelle C., Druet T. et al. A missense mutation accelerating the gating of the lysosomal Cl−/H+ exchanger CIC-7/Ostm1 causes osteopetrosis with gingival hamartomas in cattle. Dis Model Mech. 2014; 7(1): 119-28.

CALIDAD DE LECHE // QUALITY MILK

COMPARACIÓN DEL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS ENTRE LOS MICROORGANISMOS AISLADOS DE MAMITIS SUBCLÍNICAS EN BOVINO

Barreal ML[1], Díaz JM[2], Prieto A[2], Pombo MB[1], Fernández G[2*].
[1]LIGAL, Laboratorio Interprofesional Gallego de Leche, Abegondo, A. Coruña.
[2]Investigacion en Sanidade Animal de Galicia (Grupo INVESAGA). Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela.
* e-mail: gonzalo.fernandez@usc.es

RESUMEN

Se realizó una comparación de los recuentos de células somáticas de las muestras de mamitis subclínicas recibidas en el LIGAL durante 2005-2011 para cada uno de los microoganismos. Según el Linear Score obtenidos, los diferentes patógenos se clasificaron en 6 grupos homogéneos.

SUMMARY

A comparison of the somatic cell counts of the samples of subclinical mastitis submitted to LIGAL, during the period 2005-2011. Pathogens were classified in 6 groups according to average Linear Score.

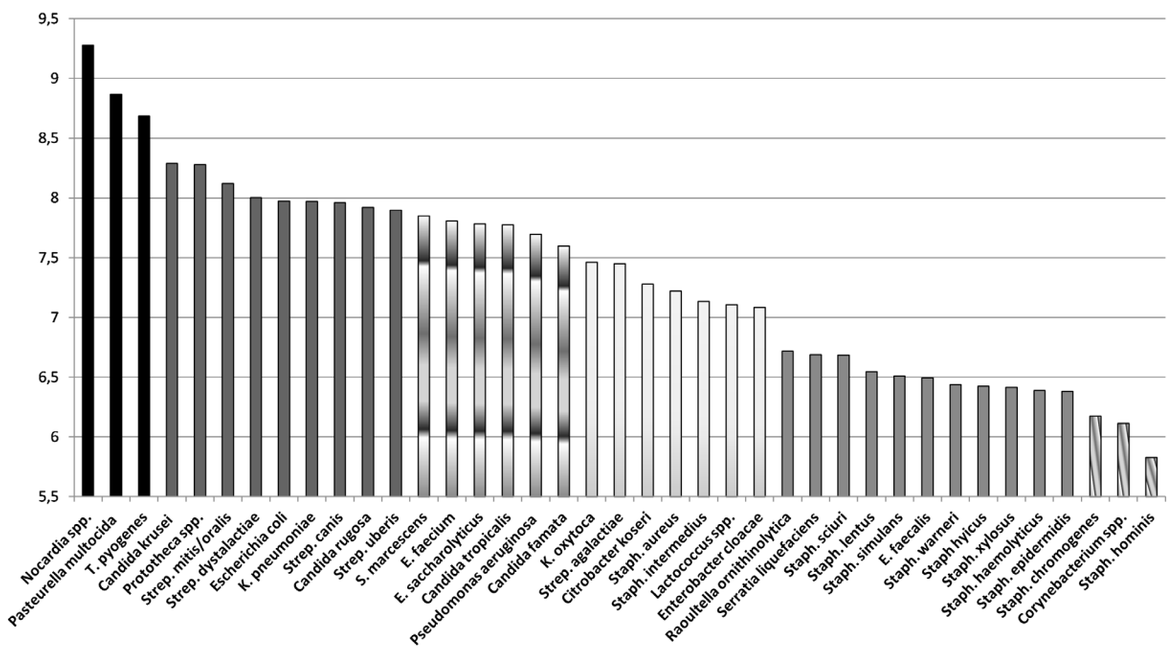
INTRODUCCIÓN

La mamitis es considerada una de las enfermedades más importantes desde el punto de vista económico en vacuno de leche. Más de 130 especies diferentes de microorganismos pueden causar mamitis bovina (1). Sin embargo, las infecciones intramamarias son, en su mayoría, causadas por un rango mucho menor de patógenos. A la hora de establecer un programa de control de mamitis se ha de priorizar las medidas encaminadas a disminuir la prevalencia de las infecciones con mayor repercusión económica. Tradicionalmente se han clasificado a los microorganismos causantes de mamitis en patógenos "mayores" y "menores". La mayoría de los autores consideran patógenos mamarios mayores a *Strep. agalactiae*, *Strep. dysgalactiae*, *Strep. uberis*, *Staph. aureus,* y *E. coli* (2) . El término "mayor" refleja su considerable impacto sobre la salud de la vaca, la calidad de la leche y la producción. Otros microorganismos como los estafilococos coagulasa negativos (ECN) y los *Corynebacterium spp*. son considerados como patógenos menores. Otros patógenos mamarios no han sido claramente clasificados según este criterio puesto que existen pocos estudios debido a que su frecuencia relativa en relación a la etiología de las mamitis subclínicas es baja. El recuento de células somáticas (RCS) es ampliamente aceptado como método para monitorizar el estado de salud de la glándula mamaria y, además, se asocia con la pérdida de producción láctea.

El objetivo de este estudio ha sido comparar los RCS de muestras de mamitis subclínicas según los microorganismos aislados.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras de leche fueron analizadas mediante los métodos microbiológicos recomendados por el National Mastitis Council (4). Los aislados fueron identificados a nivel de especie usando el sistema VITEK2 (BioMérieux, Hazelwood, MO, USA). El RCS fue realizado mediante un equipo Fossomatic. En este estudio se incluyeron las 104.699 muestras que no presentaron grumos, con RCS superior a 100.000 cél/ml y con resultado de aislamiento de un único microorganismo, remitidas a LIGAL desde junio de 2005 a septiembre de 2011. Los valores de RCS fueron transformados a Linear Score (LS) según la fórmula LS = log2 (RCS/100) + 3 (3). Las diferencias entre los recuentos transformados a LS entre microorganismos se analizaron mediante el test estadístico de ANOVA de una vía, seguido del test de comparaciones múltiples de Tukey utilizando el software estadístico SPSS® 20.0 (IBM, NY, EE.UU.)



En la Fig. 1 se muestran los valores de la media de LS según el microorganismo aislado, los patógenos marcados con la misma textura formaron 6 grupos homogéneos y dentro de ellos no presentaron diferencias significativas entre sí (P >0,05). Las medias de LS variaron desde un 5,828 de *Staph. hominis* hasta un 9,277 de *Nocardia* spp.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados muestran un alto valor medio de LS para algunas especies como en el caso de *Prototheca* spp., patógeno mamario que presenta una cada vez mayor prevalencia en Europa, incluida España (5), siendo incluso el valor de LS significativamente superior a algunos de los microorganismos tradicionalmente considerados como patógenos mayores. Lo mismo ocurre con *T. pyogenes* que si bien se asocia normalmente a infecciones clínicas que son detectadas en el momento del parto, estos resultados indican que pueden provocar mamitis subclínicas con altos RCS. En relación a los ECN, al contrario por lo afirmado por otros autores (6), solamente *Staph. intermedius* presentó un valor medio de LS comparable al de *Staph. aureus*. Sin embargo este último trabajo, al contrario que el presente estudio, fue realizado sobre un número pequeño de explotaciones. La mayoría de los estudios se realizan considerando los ECN como grupo y no se consideran las diferentes especies de forma individualizada. *Staph. chromogenes* y *Corynebacterium* spp. presentaron una media de LS significativamente menor al resto de ECN. *Staph. chromogenes* es el ECN con mayor prevalencia en un estudio reciente realizado en España y presenta una tendencia de aumento en los últimos años al contrario de lo que se ha observado en el caso de *Corynebacterium* spp. (5). También se observan diferencias significativas entre las enterobacteriaceas, así *K. oxytoca* y *S. liquefacien*s presentan una menor media de LS que el resto de microorganismos estudiados en este grupo.

CONCLUSIONES

Estos resultados pueden ayudar, en conjunto con otros factores, en la clasificación de la patogenicidad de ciertos microorganismos en relación a las mamitis bovinas, especialmente aquellos que tienen, por lo general baja prevalencia. Así, se han observado diferencias en relación a los RCS entre las especies que incluyen grupos de patógenos como los enterococos y enterobacterias. *Prothoteca* spp., presenta unos altos RCS en comparación con microorganismos clasificados tradicionalmente como patógeno mayor. *T. pyogenes* puede provocar mamitis subclínicas asociadas a altos RCS. Se observaron diferencias de RCS entre las diferentes especies estudiadas de ECN, aunque solamente *Staph. intermedius* presentó un RCS tan elevado como *Staph. aureus*.

BIBLIOGRAFÍA

1. Watts JL. Etiological agents of bovine mastitis. Vet Microbiol 1988; 16: 41-66.
2. Zadoks RN, Fitzpatrick JL. Changing trends in mastitis. Ir Vet J 2009; 62 Supl 4: 59-70.
3. Shoock GE. A linear scale for scoring somatic cell count. J Dairy Sci 1982; 65 Supl 1: 108.
4. Hogan JS, González RN, Harmon RJ, Nickerson SC, Oliver SP, Pankey JW, Smith KL. Laboratory Handbook on Bovine Mastitis. Madison, Wisconsin: National Mastitis Council, 1999.
5. Fernández G, Barreal ML, Pombo MB, Ginzo-Villamayor M.J, González-Manteiga W, Prieto A, Lago N, González-Palencia J. Comparison of the epidemiological behavior of mastitis pathogens by applying time-series analysis in results of milk samples submitted for microbiological examination. Vet Res Commun 2013; 37:259-267.
6. Supré K. Haesebrouck F. Zadoks R.N., Vaneechoutte M, Piepers S. Dwe Vliegher S. Some coagulase-negative *Staphylococcus* species afect udder health more than others. J Dairy Sci 2011; 94: 2329-2340.

DESARROLLO DE LA APLICACIÓN CRONOMILKING PARA TABLETS: MEDICIÓN Y EVALUACIÓN DE LA RUTINA DE ORDEÑO.

Alejandro López Castiello[1]; Antonio Callejo Ramos[2]

[1] Alpavet SLP; [2] Profesor Titular Dpto. Prod. animal-UPM

RESUMEN

El ganadero actual debe servirse de la tecnología actual para gestionar su rebaño, pues repercusiones de su uso sobre la organización del trabajo y sobre la productividad hacen que el retorno económico sea inmediato y la gestión más eficiente.

El control de la rutina de ordeño es un elemento muy importante para asegurar el correcto ordeño de los animales y optimizar el rendimiento de las salas de ordeño. El nivel actual de informatización de las salas más comunes permite identificar al animal, calcular el tiempo desde la colocación en el puesto de ordeño hasta el inicio de éste, determinar la duración del ordeño y asignar su producción. Pocos sistemas permiten evaluar el factor humano. Para poder cronometrar la duración de las fases de la rutina de ordeño llevada a cabo por cada operario, hasta el momento se debían realizar anotaciones manuales. Este modo de trabajo no permite obtener un elevado rendimiento en la obtención de datos.

Cronomilking es una aplicación para sistema operativo Android que permite la medición de los intervalos de trabajo de cada operario durante el ordeño, así como el registro de diversos datos de producción. Se trata de una plataforma multicronómetro que el técnico puede activar o desactivar por medio de la pantalla táctil del dispositivo. Gracias a esta herramienta se pueden obtener datos de la duración de las distintas fases de la rutina de ordeño para su posterior análisis y toma de decisiones.

ABSTRACT

The current farmer must serve of current technology to manage his herd, as implications of its use on the organization of work and productivity make immediate economic return and more efficient management.

The milking routine control is very important to ensure the proper milking of animals and optimize the performance of the milking parlours. The current level of computerization of the more common parlours allows identifying the animal, calculating the time from placement in the post until the start of milking, determining the milking time and assigning its production. Few systems allow evaluating the human factor. To be able to time the long of the phases of the milking routine carried out by each operator, so far manual annotations are needed. This working mode does not provide for a high efficiency in the data collection.

Cronomilking is an application for Android operating system that allows the measurement of the work intervals for each operator along the milking, as well as the recording of several performance data. It's a platform multichronometer that the technician operator can enable or disable via the touch screen device. With this tool data on the duration of the different phases of the milking routine can be got for later analysis and decision-making.

MEDICIONES QUE PERMITE OBTENER LA APLICACIÓN

Cronomilking permite obtener y registrar los siguientes datos:

Medición de tiempos:

- Tiempo que tardan en entrar los animales en el andén de ordeño, desde que se abre la puerta de entrada hasta que entra el último animal del turno.
- Tiempo desde que el animal se coloca en su puesto de ordeño hasta que se inicia la rutina sobre él.

- Tiempo entre cada una de las fases de la rutina de ordeño (hasta 5, incluida la colocación de las pezoneras).
- Tiempo total de ordeño de cada animal en su puesto.
- Tiempo de ordeño en bajo flujo.
- Tiempo que tardan en salir los animales del andén de ordeño. Desde que se abre la puerta de salida hasta que sale el último animal del turno.

Medición de producción:

- Producción total de cada animal analizado
- Flujo medio
- % Tiempo en bajo flujo
- Producción residual

Cronomilking permite almacenar las mediciones realizadas en cada turno en formato MS-Excel en la memoria interna del dispositivo empleado. Posteriormente se pueden exportar los datos de los archivos almacenados para su posterior análisis.

DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO CON LA APLICACIÓN

La aplicación dispone básicamente de dos pantallas de trabajo, la pantalla de datos y la pantalla de mediciónes. La primera (Figura 1) permite al técnico que realiza la medición incluir toda aquella información correspondiente a la explotación: tipo de rutina, número de puestos de ordeño a analizar y otras características de la sala como puede ser la presencia o no de retiradores automáticos o arreador y el tipo de medidores, entre otros. En esta misma pantalla se debe detallar la rutina de ordeño seguida en dicha explotación, anotando cada uno de los pasos. Desde esta pantalla se puede acceder a las mediciones realizadas anteriormente y que se encuentren almacenadas en el dispositivo.

Una vez que el técnico complete los datos que considere oportunos para la realización de las mediciones, se puede acceder a la pantalla de mediciones (Figura 2), con la que se trabajará directamente para obtener los datos. En esta pantalla aparecen todos los cronómetros que se emplearán para el análisis. En una columna fija situada a la izquierda de la pantalla aparecen los cronómetros que se emplearán para la medición de los tiempos de entrada y salida del andén de ordeño. Bajo estos cronómetros existe un apartado para incluir el nombre de los ordeñadores que se ven a analizar. Del mismo modo aparece un resumen de la rutina de ordeño según los puntos descritos previamente en la pantalla de datos.

La mayor parte del campo de trabajo está ocupada por las columnas que representan cada uno de los puestos de ordeño que se van a analizar. Si hay más puestos de ordeño de los que pueden verse en la pantalla, se pueden emplear las barras de desplazamiento horizontal y vertical para poder visualizar cada columna. Cada una de ellas se identifica con un número a nivel medio para facilitar la identificación del puesto. Al final de cada columna aparecen dos campos de texto para añadir manualmente la producción obtenida del animal que ocupa dicho puesto y otro para añadir la producción residual en caso de querer registrarla.

Una vez todas las mediciones deseadas estén registradas, se pueden almacenar en formato Excel en la memoria interna del dispositivo, identificándose cada archivo con fecha y hora de registro para su posterior análisis (Figura 3). Una vez hecho esto la aplicación ya está disponible para realizar nuevas mediciones.

POSIBLES USOS DE LA APLICACIÓN

La medición de los tiempos y la producción registrada permiten determinar:

- Si la entrada de los animales al andén de ordeño se realiza a una velocidad adecuada o bien existe algún elemento que impide que entren con rapidez o se detengan antes de colocarse en su puesto.
- Si los animales permanecen excesivo tiempo en su puesto de ordeño antes de comenzar a realizar sobre ellos la rutina de preordeño.
- Si el tiempo de actuación del producto empleado como predipping (en caso de que se utilice) es el recomendado por el fabricante.
- Si el tiempo total empleado para la rutina de preordeño es el apropiado para conseguir una correcta respuesta fisiológica de la oxitocina.
- La medición de los tiempos de la rutina de preordeño de todos los ordeñadores presentes en la explotación permite identificar posible errores (rutinas excesivamente rápidas o lentas) y corregirlos teniendo datos objetivos para hacerlo.

Al obtener tiempos medios de trabajo, se puede determinar si el número de animales que se preparan previamente al ordeño es el correcto para la rutina seguida en la explotación. El número ideal de animales vendrá determinado por el promedio de la duración total de la rutina de preordeño (tiempos muy elevados aconsejan un descenso en el número de animales preparados por operario).

- Conocer los flujos medios en explotaciones que carezcan de datos registrados
- Determinar la producción residual media de los animales para poder ajustar tiempos de rutina y mejorar el funcionamiento de los retiradores.

Por otra parte, los datos obtenidos en diferentes granjas permiten la comparación entre ellas, lo que posibilita extraer conclusiones sobre las ventajas de seguir una rutina u otra o la de incorporar determinados automatismos en la sala de ordeño.

CONCLUSIÓN

Si bien las salas de ordeño están cada vez mejor dotadas para la obtención de datos de preordeño y ordeño, todavía existe un gran número de instalaciones que no poseen registros que permitan conocer el funcionamiento de sus equipos y operarios. La aplicación Cronomilking permite a los técnicos responsables de esas instalaciones almacenar datos de forma rápida y eficaz para tomar decisiones en base a los datos reales obtenidos durante el ordeño.



Figura 1. Pantalla de datos



Figura 2. Pantalla de mediciones

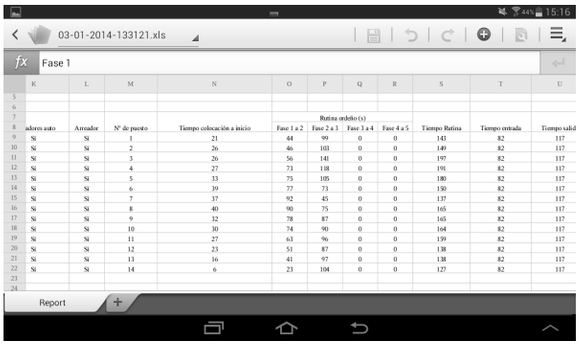


Figura 3. Salida en formato Excel para el análisis de datos

ESTUDIO COMPARATIVO DEL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS (RCS) EN GRANJAS CONVENCIONALES Y ECOLÓGICAS DEL NORTE DE ESPAÑA.

Orjales, I[1], López-Alonso, M[2], Rodríguez-Bermúdez R[2], Rey-Crespo, F[2,3], Villar, A[4], Miranda, M[1]

[1]Universidade de Santiago de Compostela, Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultade de Veterinaria, 27002 Lugo, Spain.

[2]Universidade de Santiago de Compostela, Departamento de Patoloxía Animal, Facultade de Veterinaria, 27002 Lugo, Spain.

[3]Centro Tecnológico Agroalimentario de Lugo (CETAL), 27003 Lugo, Spain.

[4]Centro de Investigación y Formación Agrarias (CIFA), 39600 Muriedas, Cantabria, Spain.

RESUMEN

Este trabajo fue diseñado para evaluar la salud de la ubre en los sistemas ecológicos del Norte de España comparándolo con granjas convencionales. Para ello se evaluaron los datos de recuento de células somáticas (RCS) de 18 granjas (5 convencionales, 7 ecológicas y 6 ecológicas con uso de terapias alternativas) tomados de los laboratorios regionales de análisis de la leche.

Tras el análisis observamos como los RCS estaban dentro de los límites legales en todos los grupos de estudio, si bien las granjas ecológicas con uso de terapias alternativas tenían RCS significativamente superiores al resto. Esto podría ser debido a que las terapias alternativas no pretenden reducir los RCS, si no potenciar la inmunidad del animal. Por otro lado, las granjas convencionales y ecológicas sin uso de terapias alternativas no evidenciaban diferencias en los RCS, ya que el manejo de las mamitis en los dos grupos era similar.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate the udder health (SCC) of the organic herds to compare with conventional ones. To evaluate the somatic cell counts 6 organic farms with alternative therapies, 7 organic farms without these therapies and 5 conventional farms at pasture were included. SCC data were extracted from regional databases. SCC in the three animal groups was under normal threshold. SCC were significantly higher ($p<0.000$) in organic farms that used alternative therapies compared to organic farms that do not use it and conventional farms. This could be explained because the stimulation of immune system is the goal of the alternative therapies on the mastitis' treatment.

INTRODUCCIÓN

La ganadería ecológica se basa en la aplicación de unas prácticas biozootécnicas racionales de producción reguladas en el Reglamento (CE) nº 834/2007 del Consejo y 889/2008 de la Comisión. De este modo, la producción de leche ecológica y la convencional difieren considerablemente en cuanto a régimen de alimentación, manipulación de los animales y un uso de tratamientos antibióticos y quimioterapéuticos restringido. Las normas de ganadería ecológica de la Unión Europea y la Federación Internacional de Agricultura Ecológica (IFOAM) proponen el uso de medicinas alternativas para disminuir las substancias químicas.

En los países desarrollados, la mamitis es uno de los problemas más importantes y frecuentes de la producción en términos económicos y en granjas convencionales son tratadas de forma rutinaria con antibióticos. El uso de antibióticos lleva asociado el desecho de la leche y las consecuencias económicas derivadas del mismo. Por otro lado, aunque en muchos casos la leche con residuos antibióticos es utilizada para la alimentación de los terneros, este uso presenta una serie de controversias debido a que podrían incrementar las resistencias bacterianas en el intestino delgado o aparecer residuos antibióticos en tejidos de terneros (1). Otro punto importante son los costes de los tratamientos según el sistema de producción; así, un estudio estadounidense (donde el uso de antibióticos está completamente prohibido en granjas ecológicas) indica que el coste de tratamientos para granjas convencionales fue dos veces mayor que en las granjas ecológicas (2), siendo más barato el uso de terapias alternativas.

El objetivo de este trabajo es comparar si la salud de la ubre es diferente en los dos ámbitos de producción tanto ecológico como convencional y a su vez en las granjas ecológicas evaluar el efecto del uso de terapias alternativas para disminuir el uso de antibióticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Para el estudio de la salud de la ubre (RCS) seleccionamos 5 granjas convencionales en pastoreo para compararlas con 7 granjas ecológicas que no usaban terapias alternativas y 6 granjas ecológicas que si utilizaban terapias alternativas (homeopatía). Los datos de RCS se tomaron de los datos de los laboratorios regionales de análisis de la leche y se tuvieron en cuento los datos de una lactación completa para cada animal. Se analizaron datos de 154 vacas procedentes de ganaderías ecológicas que usaban terapias alternativas, 189 animales de explotaciones ecológicas que non usaban tratamientos alternativos y 80 animales de ganaderías convencionales.

Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el programa SPSS para Windows (V.20.0). Los recuentos de células somáticas se transformaron a escala logarítmica en base 10 (lgRCS) previamente a la realización de los análisis estadísticos. Se realizó un análisis de medidas repetidas y test post hoc Bonferroni.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los RCS estaban dentro de los límites legales en todos los grupos de estudio, si bien las granjas ecológicas con uso de terapias alternativas tenían RCS significativamente superiores al resto (F=13.192; e p=0.000) (Figura 1). Esto puede ser debido a que las terapias alternativas no pretenden reducir los RCS sino potenciar la inmunidad de los animales. Es de todos bien sabido que los antibióticos reducen los RCS, no obstante, el uso habitual de antibióticos está limitado en los sistemas ecológicos, por lo que se hace necesaria una alternativa para el tratamiento de las patologías. En cuanto a la relación entre granjas ecológicas sin uso de terapias alternativas y granjas convencionales, no se encontraron diferencias significativas en los RCS hallados. Estas granjas ecológicas, que no usaban terapias alternativas, tenían un manejo de los animales con problemas de la ubre muy similar a las convencionales que eran todas granjas en pastoreo, y por tanto es probable que los RCS similares sean debidos a esto.

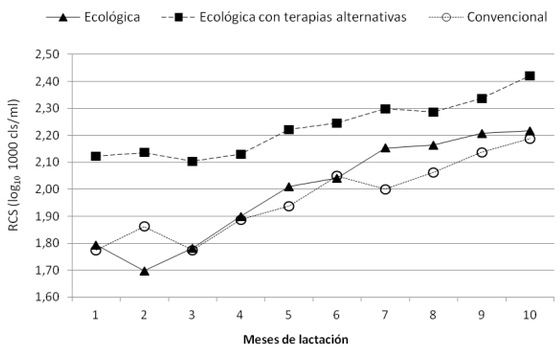


Figura 1. Media del $\log_{10}$ del RCS x 10^{-3}/ml en las ganaderías ecológicas, ecológicas con terapias alternativas y convencional.

En Estados Unidos, donde el uso de antimicrobianos está prohibido en ganaderías ecológicas, Sato et al. (3) no observaron diferencias en el RCS entre el grupo de granjas ecológicas y convencionales. Esto contrasta con otras investigaciones en Europa que, al igual que en nuestro estudio, observaron un incremento en los niveles de RCS en aquellas vacas procedentes de producción ecológica (4). En los tres grupos de estudio la puntuación lineal (PL) o "lineal score" estaba por debajo del umbral de ubre enferma (5).

En los sistemas ecológicos la disminución del uso de antibióticos lleva asociada una serie de beneficios relacionados con un menor coste en los tratamientos, menos pérdidas por desecho de leche con residuos, menores resistencias antibióticas y un manejo del establo más cómodo por no tener que ordeñar aparte. Ante esta realidad, las terapias no convencionales (como la homeopatía) junto con el manejo se presentan como la alternativa a los antibióticos por lo que es necesario profundizar en los estudios sobre su idoneidad.

CONCLUSIONES

Los resultados de nuestro estudio indican que los RCS en las granjas ecológicas sin uso de terapias alternativas y las convencionales no tienen diferencias significativas, mientras que los RCS son mayores en aquellas granjas ecológicas con uso de terapias alternativas. No obstante los RCS se encuentran en los límites de ubres sanas. Debido a la necesidad de reducir el uso de tratamientos antibióticos y encontrar una solución viable, los tratamientos alternativos (como es la homeopatía) podrían ser adecuados; dado que aunque poseen RCS superiores aquellas granjas que la utilizan, según los análisis con PL no superan el límite de lo considerado mamitis. Además podría ser más eficiente desde el punto de vista económico ya que los costes del tratamiento son más reducidos, no es necesario desechar leche por residuos, y se evitan las resistencias antibióticas asociadas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Langford F, Weary D, Fisher L. Antibiotic resistance in gut bacteria from dairy calves: a dose response to the level of antibiotics fed in milk. J Dairy Sci. 2003; 86(12):3963-6.
2. Ruegg PL. Management of mastitis on organic and conventional dairy farms. J Anim Sci. 2009; 87(13):43-55.
3. Sato K, Bennedsgaard TW, Bartlett PC, Erskine RJ, Kaneene JB. Comparison of Antimicrobial Susceptibility of Staphylo coccus aureus Isolated from Bulk Tank Milk Organic and Conventional Dairy Herds in the Midwestern United States and Denmark. J Food Prot. 2004; 67(6):1104-10.
4. Roesch M, Doherr MG, Scharen W, Schallibaum M, Blum JW. Subclinical mastitis in dairy cows in Swiss organic and conventional production systems. J Dairy Res. 2007; 74(1):86-92.
5. Reneau JK. Effective Use of Dairy Herd Improvement Somatic Cell Counts in Mastitis Control. In: Reducing somatic cell counts: meeting the 1986 challenge; 1986; Minessota, USA.

DETERMINACIÓN MEDIANTE PCR DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, *ESCHERICHIA COLI*, ESTAFILOCOCOS COAGULASA NEGATIVOS (CNS) Y COLIFORMES SOBRE MUESTRAS DE LECHE RECOGIDAS CON EL KIT DE MUESTREO STARTCHECK®. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS DE CUATRO AÑOS EN ESPAÑA.

Souto*, A.; Valls, L.; Ordis, P.; Sanz, M.A.

Laboratorios Hipra, S.A. Avda. La Selva, 135. 17170. Amer (Girona). www.hipra.com

*antonio.souto@hipra.com

ABSTRACT

6801 milk samples were obtained using the milk sampling kit StartCheck®.

497 samples came from farms located in Spain. The samples of the spanish farms results 86,52% positive to CNS, 39,03% to *E. coli*, 16,90% to coliforms and 10,87 to *S. aureus*.

There are statistical significant differences between samples from bulk tank and from individual cows. We could also observe statistical significant differences according to the seasons.

RESUMEN

Se han analizado un total de 6.801 muestras de leche recogidas mediante el kit de muestreo StartCheck®, de las cuales 497 proceden de explotaciones españolas.

Las muestras procedentes de granjas españolas, arrojan unos resultados de un 86,52% de positividad a CNS, 39,03% a *E.coli*, 16,90% a coliformes y 10,87% a *S.aureus*, observándose diferencias significativas entre las muestras procedentes de tanque de leche y de vacas individuales. Se observan asimismo diferencias significativas según la estación del año.

INTRODUCCIÓN

StartCheck® es una herramienta de recogida de muestras de leche desarrollada por Laboratorios Hipra para su posterior análisis por PCR en su servicio de diagnóstico Diagnos. Esta avanzada y práctica herramienta permite a los veterinarios especialistas en calidad de leche monitorizar la presencia en las explotaciones de cuatro grupos de patógenos muy prevalentes en las mastitis.

Puesto en marcha en el 2010 ha demostrado ser una buena herramienta a la hora de tomar decisiones en granja, especialmente en lo que respecta a la implantación de un programa con StartVac® ,vacuna inactivada de mastitis de Laboratorios Hipra.

El estudio se centra en el análisis de los resultados en España durante casi cuatro años.

MATERIAL Y METODOLOGÍA

Entre marzo de 2010 y diciembre de 2013 se analizaron un total de 6801 muestras de leche procedentes de explotaciones bovinas lecheras de 37 países de Europa, Asia, África y Sudamérica. 497 muestras fueron procedentes de España de un total de 284 explotaciones. Las muestras fueron recogidas en las mismas explotaciones mediante el kit de muestreo StartCheck®: Doscientos cincuenta microlitros de leche de tanque o leche de vacas individuales con mamitis fueron recogidos con pipeta de plástico e inoculados en una tarjeta FTA (Whatman [GE Healthcare], NJ, USA). Después del secado de las muestras durante 1 hora a Tº ambiente, las muestras fueron enviadas al laboratorio de diagnóstico de Hipra mediante correo postal. Una vez en el laboratorio se realizó la extracción del ADN bacteriano y su posterior amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (RT-PCR)[1]. Los resultados para *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, estafilococos coagulasa negativos (CNS) y coliformes obtenidos de las muestras procedentes de España fueron tabulados, clasificados y analizados según tipo de muestra y fecha de muestreo.

RESULTADOS

Se analizaron 497 muestras de leche procedentes de 284 explotaciones españolas, de las cuales un 88,53% son positivas al menos a uno de los cuatro grupos de patógenos estudiados (Tabla 1).

El grupo de patógenos más encontrado ha sido CNS, con un 86,52% de muestras positivas y el menos *S.aureus* con un 10,87% de muestras positivas (Tabla 1).

Se aprecian diferencias estacionales, siendo verano y otoño las estaciones con mayor porcentaje de muestras positivas (Tabla 2).

Tabla 1: número y proporción (%) de muestras positivas a los patógenos analizados en función del tipo de muestra.

	TANQUE	MAMITIS	TOTAL
Nº muestras	387	110	497
%	**77,87**	**22,13**	**100**
Negativas 4 dianas	52	5	57
%	**13,44**	**4,55**	**11,47**
Positivas 4 dianas	9	3	12
%	**2,33**	**2,73**	**2,41**
Positivas 1-3 dianas	326	102	428
%	**84,24**	**92,73**	**86,12**
Positivas S. aureus	35	19	54
%	**9,04**	**17,27**	**10,87**
Positivas E. coli	129	65	194
%	**33,33**	**59,09**	**39,03**
Positivas CNS	328	102	430
%	**84,75**	**92,73**	**86,52**
Positivas Coliformes	60	24	84
%	**15,50**	**21,82**	**16,90**

Tabla 2: número y proporción (%) de muestras positivas a los patógenos analizados en función de la estación de muestreo.

	Invierno	Primavera	Verano	Otoño
Nº muestras	88	94	131	184
%	**17,71**	**18,91**	**26,36**	**37,02**
S. aureus	7	9	18	20
%	**7,95**	**9,57**	**13,74**	**10,87**
E. coli	22	34	61	77
%	**25,00**	**36,17**	**46,56**	**41,85**
CNS	66	89	116	159
%	**75,00**	**94,68**	**88,55**	**86,41**
Coliformes	7	12	31	34
%	**7,95**	**12,77**	**23,66**	**18,48**

DISCUSIÓN

Como era de esperar, las muestras procedentes de vacas individuales muestran mayor positividad respecto a las muestras de tanque, puesto que es de suponer que procedan de vacas sospechosas de mastitis. Aunque la mayor positividad es al grupo de CNS, cabe destacar el alto porcentaje de muestras positivas a *E.coli* (39,03%).(Tabla 1).

Verano y otoño presentan mayor tasa de muestras positivas para tres de los grupos de patógenos, siendo la excepción el grupo de CNS, cuya mayor positividad ocurre en los meses de primavera. Son especialmente relevantes en *E.coli* y coliformes, donde la tasa de positividad en verano duplica a la de invierno.(Tabla 2).

Estos resultados están en línea con otros trabajos sobre epidemiología de mastitis, aunque es posible la existencia de un sesgo positivo debido a que las muestras no fueron recogidas al azar y provienen,previsiblemente, de explotaciones con datos epidemiológicos previos con positividad a alguno de los cuatro grupos de patógenos.Este sesgo sería especialmente relevante en las muestras de leche procedentes de animales individuales.

CONCLUSIONES

Después de cuatro años, StartCheck® ha resultado ser una herramienta práctica y fiable para el veterinario a la hora de conocer la realidad epidemiológica de las mastitis en las explotaciones lecheras, al permitir su monitorización en tanque de leche, siendo de gran ayuda en la toma de decisiones dentro de un plan de control de la calidad de la leche.

BIBLIOGRAFÍA

1. [1] Valls, L., Lázaro, M., Jubert, A., Guix, R. and Maldonado, J. 2010. A new metholology for detection and quantification of pathogenic bacteria in bovine bulk tank milk. Proc. 1st Congress of the European Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (EAVLD). Lelystad. September 2010
2. Esnal, A., Marco, J. C., Escobal, I., Extramiana, A. B., & Elorriaga, M. 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.2011
3. Marco, J. C., Rodriguez, M., Gonzalez, M., Ziluaga, I., Salazar, L. M., Palomino, A., & Fernandez, G. Etiology of bovine mastitis in Spain.1998

THE EFFECT OF LAMENESS ON MILK SOMATIC CELL COUNT IN DAIRY COWS.

Fernando Freitas, Gabriela Koch, George Stilwell*

*presentation author

Lameness is one of the main health and welfare concerns in modern intensive dairy farms, causing important reduction in cows' milk yield. However, its' effect on milk quality, especially on somatic cell count (SCC), remains unclear.

The records of 404 independent occurrences of lameness in a Portuguese intensive dairy farm and the monthly SCC of the same cows during a period of one year before and one year after each occurrence were analyzed. These values were compared with those of non-lame animals kept under the same conditions. A significant increase in the SCC of lame cows within 60 days after the occurrence of lameness was observed ($p = 0.05$). The SCC values were greater than the ones from non-affected cohabitants by up to 75.4%. It was also shown that SCC variations were influenced by lameness during a period ranging from 4 months before to 7 months after its occurrence and treatment.

It was also demonstrated that the level of SCC increase was correlated with the severity of claw lesions ($p = 0.010$). Also, the SCC of cows whose lameness was associated with multiple lesions were higher than those of cows with only sole ulcers ($p = 0.000$) or only digital dermatitis ($p = 0.003$).

With this study we have shown that lameness affects economic profitability not only because of reduced production but also through the decrease in milk quality. It is also of outmost relevance the fact that cows will have increased SCC a long time before clinical signs of lameness. Therefore we suggest that preventing claw trimming is important to guarantee leg health but also milk quality. Further studies could show if this relation is due to altered behavior (more time spent lying down) or immunodepression, caused by chronic pain.

SOLUTIONS FOR RESOLVE HYPERKERATOSIS PROBLEMS

Luís Miguel Jiménez[1], Kenneth Acre[2], Nuria Roger[1]

[1]Servet Talavera SL, Talavera de La Reina, Toledo, Spain

[2] Valley Vets, Tulare, CA, USA

INTRODUCTION

Because the mammary gland's first barrier against microorganisms is the teat canal, the gold standard in preventing intramammary infection (IMI) is to maintain excellent teat condition. Hyperplasia of the s*tratum corneum* (Neijenhuis *et al*. 2001), or hyperkeratosis (HK), leads to increased infections. The primary forces that influence teat-end condition are:

1- Claw vacuum (CV)

2- Pulsation settings

3- Liner compression

Liner compression (LC) is the mean compressive pressure expressed in kPa above atmospheric pressure) applied to the inner tissues of the teat apex by the liner during the d-phase (Mein & Reinemann, 2009). One component of LC is Overpressure (OP), which is the compressive pressure, expressed in kPa, applied by the liner above that required to stop milk flow. Typical values are between 8 and 14 kPa in dairy herds with healthy teat condition scores when the measurement is made on at least 10 cows in the first minute after the milking unit is attached. The OP value is easy to measure in the field with a customized instrument (Jiménez et al, 2013). Values above 12 kPa may be undesirable because arterial inflow can be impeded (Mein et al. 1987). These values are defined for round liners.

In recent years, triangular liners with a mouthpiece vent have become available. The designers of this inflation were hoping to mimic the nursing calf and achieve a better fit around the teat. A vent admits air into the mouthpiece chamber in an effort to dampen vacuum and reduce congestion of the teat base. The main characteristic of this liner is that we can work with a higher claw vacuum than when we are using round liner.

The objective of this paper is to show how different OP values assigned to this liner might have been linked in the field with different teat conditions.

This field trial was performed on 4 Californian dairy farms that together account for about 9,000 milking cows. All four dairies used the same triangle liner with a mouthpiece vent. We evaluated teat-end condition (TEC) by percentage of roughened teats, claw vacuums (CV), the vacuum in milk receiver (working vacuum, or WV), pulsation (milk: rest ratio), OPs, milking routines, average milk flow-rates (AMF), and milking unit attach time (MT).

Milk production on the 4 dairies averaged 40 litres (91 pounds) per cow per day. Farms 2 and 3 had better TEC with CVs less than 40 kPa (37.8 and 39.9 kPa respectively), and their OP was 9 kPa. The HK difference could be the result of automatic take off (ATO) settings. The MT was one minute longer on farm 3 and many units were detached manually. This fact explains the longer MT (7.3 vs. 5.5 minutes) and the lower AMF (2.8 vs. 3.6 litres per minute). In farms 1 and 4 the TEC was worst (25 and 30% respectively), in both cases "b" phase was 500 milliseconds (ms) and the OP was 12 kPa. AMT on farm 4 was longer than farm 1 (7.5 vs. 4.4 minutes). The reason might be that milk letdowns on farm 1 were excellent.

Results of all our observations are in Table 1

	CV	WV	"b" phase	HK	OP	MT	AMF
	kPa	kPa	ms	%	kPa	Minutes	Litres/ min.
Farm nº1	42.4	44.5	500	25	12	4.4	4.5
Farm nº2	39.9	43	480	4	9	5.5	3.6
Farm nº3	37.8	43	500	7	9	7.3	2.8
Farm nº4	41.4	44.3	500	30	12	7.5	2.5

Table 1

CONCLUSIONS

Milking time can be reduced with higher vacuum in the claw with vented triangular liners, but it is very important to adjust the automatic takeoffs (ATO). If the level of CV is above 40 kPa, OP increases above 12 kPa and this value looks very high for this liner because TEC worsens and the level of HK exceeds 20% (maximum level of HK in a herd).

Further studies are needed to determine the appropriate OP values for this type of liner. If the OP is higher than 14 kPa, it is probable that a higher proportion of cows will have poor TEC. The remedy to poor TEC is to change the CV, while still avoiding liner slips, or to try different liners or milking units. OP must be included in a dynamic test of the milking machine, along with CV, WV, fluctuations and pulsation. The goal is to milk cows while maintaining excellent TEC. Segregation of infected cows has proven to be a great help in controlling IMI. Improving milking machine performance also will improve udder health and enable the dairy farm to be more profitable.

REFERENCES

1. Neijenhuis F., Mein GA, Britt JS. et al. 2001. Evaluation of bovine teat condition in commercial dairy herds: Relationship between teat-end callosity or hyperkeratosis and mastitis. Proc. AABP-NMC International Symposium on Mastitis and Milk Quality, Vancouver, BC, Canada.
2. Mein, GA.and Reinemann DJ. 2009. Liner Compression applied to the bovine teat during the 'rest-phase' of the pulsation cycle: everything you always wanted to know – and much more.
3. Mein GA., Williams DM. and Thiel CC. 1987. Compressive load applied by the teatcup liner to the bovine teat. J. Dairy Res. 54:327-337.
4. Jiménez LM and Roger N. Overpressure as a tool to improve teat end conditions on dairy farms. Proc. National Mastitis Council 52nd Annual Meeting, san Diego, CA
5. Reinemann DJ and Mein GA., Unraveling the mysteries of liner compression. Countdown Meeting, Melbourne, Australia.

CONGRESO INTERNACIONAL ANEMBE DE MEDICINA BOVINA

Oviedo 25, 27 y 27 de junio 2014

LIBRO DE PONENCIAS, COMUNICACIONES ORALES Y POSTER

POSTER

ANEMBE
ASOCIACIÓN NACIONAL DE ESPECIALISTAS EN MEDICINA BOVINA DE ESPAÑA

NUTRICIÓN // FEED EFFICIENCY

ECBHM
European College of Bovine Health Management

ECONOMIC EVALUATION OF HYPERKETONEMIA IN DAIRY COWS

D. RABOISSON[abc], M. MOUNIE[b], E. MAIGNE[b], E. KHENIFAR[a]

[a] Université de Toulouse, Institut National Polytechnique (INP), Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse (ENVT), 31076, Toulouse, France

[b] INRA, US0685, Observatoire du Développement Durable (ODR), 31326, Auzeville, France

[c] INRA, UMR1225, IHAP, 31076,Toulouse, France

Corresponding author: Tel.: +33 561 193230; Fax: ;E-mail address: d.raboisson@envt.fr

Hyperketonemia is one of the most important diseases of peripartum for the dairy cow. Evaluating its economic impact is useful. Hyperketonemia is associated to many deteriorated production and health indicators, inducing high difficulties within its economical analysis. The major scientific bias comes from the risk of over or underestimatation of the hyperketonemia total costs, since many diseases associated with hyperketonemia have interactions among themselves.

A two step approach was built. First, a meta-analysis allowed quantifying relative risks of diseases due to hyperketonemia. The diseases associated with hyperketonemia includes placenta retention, puerperal metritis, clinical ketosis, left and right abomasum displacement, lame, increased somatic cell counts and clinical mastitis. Reproduction issues linked to hyperketonemia and included in the study are purulent vaginal discharge, subclinical endometritis, first service conception rate and increased calving interval. Milk production changes and extra early culling if hyperketonemia were also included.

Second, the cost of hyperketonemia was evaluated with (i) the relative risk of diseases when hyperketonemia, (ii) the extra means needed for reproduction management and consequences of longer calving intervals and (iii) milk losses. Costs of each component were evaluated, and incidences of each component were compared between cows with or without hyperketonemia. The non determinist method based on distribution laws for all parameters was developed on Scilab, with 10,000 iterations, and 1,000 scenarios.

The meta-analysis allowed quantifying all the relative risk of diseases in case of hyperketonemia compared to no hyperketonemia, taking into account all the interactions between diseases. The link between the diseases and hyperketonemia yet remains unprecise for lame, increased somatic cell counts and clinical mastitis. Results shows that cows with hyperketonemia have a calving interval increased by around one cycle (21 days). Milk production was decreased for cows with hyperketonemia compared to cows without hyperketonemia, in spite of ambiguous relationship.

Costs of hyperketonemia was evaluated to 257€ per cow with hyperketonemia [Prediction Interval PI95%=72-442€], with high and low average values of 177€ [PI95%=16-338€] et 288€ [PI95%=101-474€]. Early culling represents the first contributor of hyperketonemia costs. Abomasums displacement and calving interval are in second position. All other components contributed for around 10% or less of the total costs of hyperketonemia. Some estimations remain imprecise, with links between hyperketonemia and diseases to be improved.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

INFLUENCE OF NON IONIZING RADIATION ON THE SUMMARIZED ACTIVITY OF REDOX PROTEINS IN BOVINES

Hässig M.[1*] Wullschleger M. [1], Nägeli H. P. [2], Kupper J. [2], Spiess B. [3], Capstick, M. [4], Murbach M. [4], Kuster N. [4]

[1]Department of Farm Animals, [2]Institute for Veterinary Toxicology, [3]Section for Ophthalmology, University of Zurich, Winterthurerstrasse 260, CH-8057 Zurich, [4]IT'IS Foundation ETH Zurich, CH-8092 Zurich, Switzerland

*: HM is a diplomate oft he ECBHM

ABSTRACT

The influence of electromagnetic fields on the health of humans and animals is still an intensively discussed and scientifically investigated issue (Löscher, 2003; Eger et al., 2004; van Rongen et al., 2009). A controlled case-control study with crossover design has been arranged. Ten cows have been tested for the activity of the redox enzymes GSH-PX (= glutathione peroxidase), SOD (= superoxide dismutase) and catalase in their blood, first as a control (without active exposure to NIR (non ionizing radiation)), and then actively exposed to NIR during 4 weeks at field strength of 12 V/m. Two weeks later, they were tested once more without active exposure to NIR to see whether possible changes are reversible and whether the results are subject to a time trend without any relation to the exposure. In this experiment, the NIR has resulted in changes in the enzyme activities.

INTRODUCTION

The effect of electromagnetic fields associated with mobile telephones on the health of human beings and animals is still controversial (Löscher, 2003; for details see SCENIHR report, 2007). Three publications, based on an investigation on Swiss veal calves, documented relations between the exposure to electromagnetic waves in the frequency range of mobile phone antennas and nuclear cataracts as well as the activity of redox proteins in aqueous humour (Hässig et al., 2009; Hässig et al. 2012a; (Hässig et al., 2012b). The investigation was designed as a field study without standardized conditions. The present study was designed so that the exposure situation was well controlled in order to determine the enzyme activity in a defined setting.

MATERIALS AND METHODS

A controlled case-control study with crossover design was performed. Ten cows of different ages standing next to each other have been randomly selected and chosen at different stages of gestation. The study was conducted under the research animal approval of the Veterinary Office of the canton of Zurich (No. tv 4975). The experiment was conducted at the field station "Stigenhof" of the animal hospital in Oberembrach near Zurich. The cows were in tie stalls, so that their exact position could be controlled.

The non-ionizing radiation (NIR) channel was provided by IT'IS Foundation of ETH Zurich (Eidgenössische Technische Hochschule; Federal Institute of Technology). These were three

900MHz-antennas (SPA 920/65/9/0/V, Huber & Suhner, Herisau, Switzerland) installed in 2m height behind the ten cows with a 30° downward tilt and not reachable either by the cows or staff. The signal was similar to a GSM base station, with 5 GSM (voice) and 3 EDGE - (data) pulses within the 4.62 ms of on going GSM frame (Figure 1). One of the GSM-pulse was used 3 dB higher, to simulate the control pulse. While the EDGE shows pulse amplitude modulation, due to the implemented 8PSK technology. In total, a *peak-to-average* ratio of 2.2 (3.4dB) resulted. The carrier frequency allocated by the Federal Office of Communication (BAKOM) was set at 916.5 MHz. The field strength was measured in the empty stall at all ten cow places. The incoming field for all ten cows was on average 12 V/m, with a standard deviation of 35% (k = 1). The field strength was therefore below international limits by ICNIRP (41V/m), but well above the Swiss limit of 4V/m (ONIR). NIR exposure took place only, when no staff was in the stable. Warning lights were installed at the two stable doors as well as a switch at the main entrance where the power could be turned off. The data for the antenna transmit power as well as temperature and humidity was recorded by a data logger during the entire trial. Also the staff of IT'IS could retrieve the data at any time via an Internet connection. The exposure times during the 30 days irradiation period resulted in a daily exposure between 6h 36min and 19h 00min (on average 16h 43min, standard deviation 3h 03min).

The trial lasted for a total of 10 weeks. Between 10 to 14 days prior to the exposure to radiation, one blood sample from the *Vena coccygea* of each cow was taken to obtain control values of enzyme activities (pre exposure phase). After this the transmitter was active for 4 weeks. The first 14 days were selected as the adaptation phase followed by a 14-day test phase (exposure), during which again 10 blood samples were taken from each cow. Then, the system was turned off. The cows had a 14-day break before one last time within 14 days 10 blood samples were taken (post exposure period).

The measurement of GSH-PX was performed by the "Glutathione peroxidase cellular activity assays Kit" (Sigma Aldrich) on a "Cobas Mira S" (Roche), for SOD by the "SOD determination Kit" (Sigma Aldrich) and the microplate reader "MRX II" (Dynex technologies) and for catalase by the "catalase assay Kit" (Sigma Aldrich) and the spectrophotometer "Ultrospec 2100 pro" (Amersham Biosciences).

The statistical analyses were performed using the program STATA (StataCorp., 2011; Stata statistical software: Release 12.1; College Station, TX, United States: StataCorp LP). A p-value of ≤ 0.05 was accepted as significant. A p-value between 0.05 and 0.2 was accepted as a trend. To compare the individual enzyme values directly, a Rf-transformation or standardization was made with the range as 100 units for each parameter. As SOD runs like a mirror image to the horizontal compared to GSH-PX and catalase, the inverse (complementary value to 1) of the Rf-value has been used in the overall model for SOD.

RESULTS

The GLM showed that the phases ($P < 0.001$) differ significantly, but not the cows ($p = 0.628$). The Rf value of GSH-PX, catalase and inverse SOD differs between the pre-exposure and the exposure phase ($p = 0.001$) and between the exposure and the post-exposure phase ($p = 0.044$) in a factorial analysis of variance ($p = 0.0014$) with Bonferroni test. No difference however between the pre-exposure and the post-exposure period ($p = 0.785$) was found.

DISCUSSION

In SOD, GSH-PX and catalase a temporal trend is unlikely. A temporal trend can definitely be excluded based on the aggregated Rf-values of Catalase, GSH-PX and the inverse Rf-values of SOD. It can be said with great probability that the exposure to non-ionizing radiation (NIR) has led to a significant change in the overall activity of the three measured redox enzymes. Confounders may be largely excluded. The test sequence and the study approach, ten cows during three phases to be sampled, have proved useful. If the individual is able to hold the values to regulate within the physiological limits, the individual is not ill. If the regulatory functions of the body are overwhelmed, the individual gets ill. In our case, a range for GSH-PX of 82.29 to 297.59 U/l was measured. The changes of GSH-PX in our study are within the physiological range, as specified in the literature (Smith B., 1996; 25-500 U/l). Thus, influences of NIR are detectable in the presented study but no outliner could be determined for GSH-PX in non-physiological areas at any time.

CONCLUSIONS

NIR has resulted in changes in the enzyme activity in the presented study. Certain enzymes are disabled others enabled by NIR. The activity of GSH-PX increased whereas the one of SOD decreased. The present results coincide with the information from the literature that NIR will lead to changes in redox proteins and that there are radiation-sensitive, as well as non-radiation-sensitive individuals.

REFERENCES

1. Eger H, Hagen KU, Lucas B, Vogel P, Voit H: **Einfluss der räumlichen Nähe von Mobilfunksendeanlagen auf die Krebsinzidenz.** Umwelt Medizin Gesellschaft 2004, 17:326-332.
2. Hässig M, Jud F., Nägeli H, Kupper J, Spiess B: **Prevalence of nuclear cataract in Swiss veal calves and its possible association with mobile telephone antenna base stations**. Schweiz Arch Tierheilk 2009, 151:471–478.
3. Hässig M, Jud F, Spiess B: **Vermehrtes Auftreten von nukleärem Katarakt nach Erstellung einer Mobilfunkbasisstation.** Schweiz Arch Tierheilk 2012a, 154:82-86.
4. Hässig M, Jud F, Nägeli H, Kupper J, Spiess B: **Einfluss von Mobiltelefon-Basisstationen auf die Aktivität der GSH, SOD und Catalase im Augenkammerwasser von Kälbern**. Klauentierpraxis 2012b, 20:133-137.
5. Löscher W: **Die Auswirkungen elektromagnetischer Felder von Mobilfunksendeanlagen auf Leistung, Gesundheit und Verhalten landwirtschaftlicher Nutztiere: Eine Bestandsaufnahme.** Prakt Tierarzt 2003, 11:15-20.
6. SCENIHR (Scientific Committee On Emerging and Newly Identified Health Risks): **Possible effects of Electromagnetic Fields (EMF) on Human Health.** 2007, http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_scenihr/docs/scenihr_o_007.pdf.
7. Smith B: **Large Animal Internal Medicine**. 2nd eds., Mosby-Year Book Inc., Missouri, USA, 1996.
8. Van Rongen E, Croft R, Juutilainen J, Lagroye I, Miyakoshi J, Saunders R, De Seze R, Tenforde T, Verschaeve L, Veyret B: **Effects of radiofrequency electromagnetic fields on the human nervous system.** J Toxicol Environment Health, Part B 2009, 12:572–597.

CEBO EN EXTENSIVO DE TERNEROS AÑOJOS BAJO MANEJO CONVENCIONAL O ECOLÓGICO EN PRADERAS ASTURIANAS

Román-Trufero A, Martínez A, García Espina MJ, Oliván M, Osoro K, Castro P, Celaya R

Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA), Villaviciosa, Asturias.

RESUMEN

En este estudio se compara el cebo en extensivo de terneros de raza Asturiana de los Valles entre un sistema convencional y otro ecológico, comparando dentro de éste tres tipos de alimentación en el acabado: pastoreo, ensilado de hierba y ensilado de maíz (suplementados con concentrado ecológico). Los rendimientos individuales en pastoreo resultaron similares entre los dos tratamientos. Sin embargo, la producción de peso vivo por hectárea resultó mayor en convencional que en ecológico, dada la menor producción de pasto en las praderas manejadas ecológicamente. En el acabado, las ganancias de los añojos fueron mayores en el sistema convencional (a base de concentrado) que en ecológico, aunque con el ensilado de maíz se obtuvieron ganancias y características de la canal similares a las del convencional.

ABSTRACT

This study aimed to compare weaned calf fattening ('Asturiana de los Valles' breed) between two management systems, conventional *vs*. organic, comparing three finishing feeding systems in the later: grazing, herbage silage and maize silage (supplemented with organic concentrate). The results showed similar individual performances at grazing between both treatments. However, live weight production per unit area was higher in conventional than in organic system, because of the lower pasture production with organic manure. During the finishing period, yearlings had higher weight gains with conventional concentrate feeding compared to organic feeding systems, although maize silage feeding enhanced weight gains and thus carcass characteristics, coming closer to the conventional system values.

INTRODUCCIÓN

El cebo de terneros se realiza tradicionalmente de forma intensiva, con una alimentación basada en piensos concentrados, lo que conlleva riesgos en la rentabilidad, ya que depende en gran medida de los precios de la materia prima. El cebo en extensivo, mediante pastoreo, proporciona resultados muy interesantes desde el punto de vista zootécnico y también económico (Osoro *et al*., 2003). Por lo tanto, este tipo de producción puede ser muy interesante en la Cornisa Cantábrica, dado el potencial productivo de pastos y forrajes. Además, la producción ecológica es un sistema respetuoso con el medio ambiente y que está en expansión, por lo que es importante identificar los factores que limitan la rentabilidad de estos sistemas para poder hacerlos sostenibles. En el año 2001 en Asturias había dos explotaciones de vacuno de carne ecológica. Este número ha aumentado notablemente, siendo 244 el número de ganaderías de este tipo en 2012 (datos de COPAE).

El objetivo de este estudio es comparar la producción de carne de terneros añojos en pastoreo convencional o ecológico, y sometidos a distintos acabados tras el pastoreo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los trabajos se llevaron a cabo durante tres años en la finca experimental de La Mata en Grado, en la zona interior de Asturias, a 65 m s.n.m., con parcelas sembradas de raigrás inglés (*Lolium perenne*), y trébol blanco (*Trifolium repens*). Se estableció un diseño experimental de dos tratamientos, convencional (en régimen extensivo) y ecológico (acorde a los Reglamentos CE 8034/2007 y 889/2008), con tres repeticiones sobre seis parcelas de 1,6-18 ha. Las parcelas del sistema convencional se abonaban con fertilizantes de síntesis (NPK), mientras que en las del ecológico se abonó con estiércol.

Se emplearon terneros machos de raza Asturiana de los Valles, nacidos a finales de invierno, en lotes de 4-5 animales por parcela. El ciclo productivo se iniciaba con el pastoreo de otoño tras el destete de los terneros. Los animales se estabularon durante la invernada, recibiendo cada uno 2,5 kg de concentrado (convencional o ecológico según el tratamiento, en ambos casos a base de harina de cebada) y 5 kg de paja de cereal. A principios de marzo se inició el pastoreo de primavera, procediendo a finales de mayo a suplementarlos con 2 kg de concentrado por día y cabeza. A mediados de julio los terneros añojos pasaban a la fase de acabado, en la que se estudiaron cuatro tipos de alimentación: uno convencional (concentrado a libre disposición y paja de cereal) y tres en ecológico (pastoreo, ensilado de maíz o ensilado de hierba, los tres suplementados con 4,5 kg/ternero/día de concentrado ecológico).

La producción de pasto se estimó mediante cortes mensuales de 0,2 m^2 en tres jaulas de exclusión por parcela. Los animales se pesaron al inicio y final de cada periodo. Una vez sacrificados se midió en el matadero su peso canal en frío. A las 24 horas *post-mortem* se valoró la conformación y engrasamiento según la clasificación SEUROP (escala 1-15). Se extrajo el *Longissimus dorsi* de la media canal izquierda para la determinación de la composición tisular a partir de la disección de la 6ª costilla.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las ganancias individuales de peso vivo (PV) no se vieron afectadas por el tipo de manejo durante el pastoreo de otoño (868 g/día) o en el de primavera (1386 g/día), aunque durante la invernada, los terneros del tratamiento ecológico tendieron a ganar más peso que los del convencional (846 vs. 764 g/día; $P = 0,06$). Sin embargo, la mayor producción de pasto en primavera propiciada por el abonado convencional (6859 *vs*. 5499 kg MS/ha; $P < 0,05$) posibilitó el manejo de mayores cargas ganaderas que en ecológico (3,03 *vs*. 1,89 terneros/ha; $P < 0,05$), por lo que las ganancias por hectárea durante el pastoreo de primavera fueron mayores en convencional que en ecológico (551 *vs*. 361 kg PV/ha; $P < 0,01$), al igual que la producción final de peso vendible (1577 *vs*. 1008 kg PV/ha; $P < 0,01$).

En la fase de acabado, la ganancia diaria de PV fue mayor ($P < 0,001$) en los terneros del sistema convencional que en los del ecológico (1340 *vs*. 844 g/día), aunque la ganancia de los alimentados con ensilado de maíz fue muy superior a los otros dos sistemas ecológicos y similar a la del manejo convencional (Tabla 1). A pesar de estas diferencias en las ganancias diarias de peso, el peso con el que llegaron al sacrificio fue similar. Los gastos de alimentación fueron superiores en el sistema convencional y con los ensilados que en pastoreo (200 *vs*. 98 €/cabeza; $P < 0,001$), aunque el coste por kg ganado fue mayor con el ensilado de hierba que en los otros sistemas (3,77 *vs*. 1,95 €/kg PV; $P < 0,01$).

Tabla 1. Rendimientos productivos y gastos de alimentación durante la fase de acabado de los terneros según el sistema de alimentación: convencional (concentrado) o ecológico (pastoreo suplementado, ensilado de maíz o ensilado de hierba).

Sistema	Convencional	Ecológico				
Tipo de alimentación	Concentrado	Pastoreo	Silo maíz	Silo hierba	e.s.m.	Sign.
Días de duración	98,8	70,3	83,5	94,3	3,54	***
Peso inicial (kg PV)	494	540	515	555	24,6	ns
Ganancia (g PV/día)	1340	753	1116	664	107	***
Peso sacrificio (kg PV)	626	593	608	617	23,9	ns
Gastos alimentación (€)	208	98	201	192	8,53	***
Coste/PV ganado (€/kg)	1,67	2,00	2,19	3,77	0,36	**

e.s.m. error estándar de la media; ns no significativo ($P > 0,1$); ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$.

Las características de la canal en general fueron mejores en el sistema convencional que en los ecológicos, aunque con el ensilado de maíz se consiguieron unas características más aceptables que en los otros dos sistemas ecológicos (Tabla 2). El peso de la canal y la conformación no fueron afectadas por el sistema de alimentación, mientras que el rendimiento a la canal fue superior ($P < 0,001$) en convencional (59,0%) que en los ecológicos (56,8%). Aunque las diferencias observadas en el engrasamiento de la canal no llegaron a ser significativas ($P = 0,16$), los niveles fueron más bajos en pastoreo, al igual que en estudios previos (Martínez *et al*., 2008; 2010), siendo aún más bajos con el ensilado de hierba. Respecto a la composición tisular, los porcentajes de grasa subcutánea e intermuscular eran mayores en convencional y con ensilado de maíz respecto al pastoreo y al ensilado de hierba, mientras que el porcentaje de hueso tendió a ser mayor en pastoreo que en los otros sistemas.

Tabla 2. Características de la canal de los terneros y composición tisular según el sistema de alimentación en el acabado: convencional (concentrado) o ecológico (pastoreo suplementado, ensilado de maíz o ensilado de hierba).

Sistema	Convencional	Ecológico				
Tipo de alimentación	Concentrado	Pastoreo	Silo maíz	Silo hierba	e.s.m.	Sign.
Peso canal (kg)	369	330	351	352	14,3	ns
Rendimiento canal (%)	59,0	55,7	57,7	57,1	0,47	***
Conformación[1]	10,8	10,5	10,4	10,4	0,49	ns
Engrasamiento[1]	4,51	3,27	4,05	2,47	0,74	ns
Composición tisular (%)						
Músculo	75,1	73,2	73,9	77,8	1,44	ns
Grasa	9,82	7,00	10,67	7,67	0,89	*
Hueso	13,9	18,5	13,9	13,3	1,41	+
Desecho	1,27	1,29	1,51	1,24	0,16	ns

[1]escala 1-15; e.s.m. error estándar de la media; ns no significativo ($P > 0,1$); + $P < 0,1$; * $P < 0,05$; *** $P < 0,001$.

CONCLUSIONES

Debido a la menor producción de pasto de las praderas manejadas ecológicamente, la producción de PV por hectárea se ve reducida respecto a la convencional. En el acabado, las ganancias de los añojos son mayores en el sistema convencional (a base de concentrado) que en los ecológicos, aunque con el ensilado de maíz se consiguen ganancias similares a las del convencional, mejorando las características de la canal, sobre todo el nivel de engrasamiento.

REFERENCIAS

1. Martínez A, Celaya R, Osoro K. Producción de carne de terneros añojos y de ovino en convencional o ecológico en praderas del Norte de España. En: Pastos, clave en la gestión de los territorios: Integrando disciplinas. XLVII Reunión Científica de la SEEP. Córdoba: Consejería de Agricultura y Pesca, Junta de Andalucía; 2008. p. 429-435.
2. Martínez A, Celaya R, Oliván C, Castro P, Osoro K. Producción ecológica agro-ganadera y alternativas de diversificación. Oviedo: SERIDA, Consejería de Medio Rural y Pesca del Principado de Asturias. 2010.
3. Osoro K, Martínez A, Castro P. Desarrollo de sistemas eficientes de producción de carne de calidad en zonas bajas. Oviedo: SERIDA-KRK; 2003.

AGRADECIMIENTOS

El estudio se llevó a cabo dentro del proyecto INIA RTA2008-00110-00-00 cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). Alicia Román Trufero disfruta de una beca FPI-INIA.

ENSILADO DE HABA Y COLZA FORRAJERAS COMO ALTERNATIVA AL ENSILADO DE RAIGRÁS ITALIANO EN LA ALIMENTACIÓN DE VACAS LECHERAS EN PASTOREO DURANTE PRIMAVERA Y OTOÑO

Jiménez-Calderón J.D., Martínez-Fernández A., Soldado A., González A., de la Roza-Delgado B., Vicente F.

Área de Nutrición, Pastos y Forrajes. Servicio Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario (SERIDA). Ctra. Oviedo s/n. 33300, Villaviciosa (Asturias), España.

RESUMEN

Se realizaron en la primavera y el otoño de 2013 dos ensayos con el objetivo de evaluar en vacas en pastoreo la utilización de una dieta alternativa, cuyo componente principal es el ensilado de haba y colza forrajeras cultivadas con fertilización orgánica, en un diseño de cuadrado latino 2x2. Los resultados muestran que el consumo de hierba disminuye en otoño, con independencia de la dieta experimental (17,7 vs. 6,9 kgMS/d en primavera y otoño respectivamente, P<0,001). El consumo total de concentrado fue diferente tanto entre tratamientos experimentales (3,5 vs. 2,8 kgMS/d para la dietas convencional y alternativa respectivamente, P<0,01) como entre épocas del año (1,8 vs. 4,5 kg MS/d en primavera y otoño respectivamente, P<0,001). La ingestión de MS total fue inferior (P<0,05) con la dieta alternativa (20,4 kgMS/d) frente a la convencional (25,8 kgMS/d), con independencia de la estación, sin afectar al peso de los animales, su condición corporal o a la producción de leche. Para producir un kilogramo de leche con la dieta alternativa, se precisaron 105 g de concentrado, mientras que con la dieta convencional fueron

necesarios 122 g (P<0,1).

ABSTRACT

Two trials were carried out in spring and autumn 2013. The aim was to evaluate the use of an alternative diet, which the main ingredient was fava bean-rapeseed silage grown with organic fertilization, in grazing dairy cows. Both trials were performed following a 2x2 Latin Square design. The results shown that grass intake is lower in autumn, regardless of the experimental diet (17.7 vs. 6.9 kg DM/d in spring and autumn respectively, P<0.001). The total concentrate intake was different between experimental diets (3.5 vs. 2.8 kgDM/d with conventional and alternative diet respectively, P<0.01) and between seasons (1.8 vs. 4.5 kgDM/d in spring and autumn respectively, P<0.001). The total DM intake was lower (P<0.05) with the alternative (20.4 kgDM/d) than the conventional diet (25.8 kgDM/d), without differences between seasons, and without affecting the live weight, body condition nor milk production. With the alternative diet, it were needed 105 g of concentrate to produce a kg of milk, while with the conventional diet needed 122 g of concentrate (P<0.1).

INTRODUCCIÓN

El incremento del precio de las materias primas en la agricultura es un factor importante en la crisis de rentabilidad que afecta al sector productor de leche. Este hecho ha llevado a los productores a reducir costes, mejorando la eficiencia en el uso de recursos propios, reflejado por ejemplo en un renovado interés en la aplicación de estiércol y purines como abono para los cultivos forrajeros, además de buscar fuentes forrajeras más sostenibles. En la mayoría de las explotaciones de vacuno lechero, se repite la rotación de cultivo maíz-raigrás italiano, que conlleva una alta demanda de fertilización nitrogenada con los consecuentes efectos negativos en el suelo. Con la aplicación de estiércol para la producción de forraje se reciclan las excretas de los animales y es una fuente de nutrientes para el suelo. El beneficio de la aplicación del estiércol se atribuye a la mejora física y química de las propiedades edáficas (Butler y Muir, 2006) y al incremento de absorción de P y K en el maíz (Singer et al., 2007). Por otro lado, la asociación forrajera de haba (*Viccia faba* L.) y colza (*Brassica napus* L.) se presenta como un forraje alternativo por la capacidad de fijación de nitrógeno atmosférico de la leguminosa y por la movilización de nutrientes del suelo de la crucífera (Jiménez et al., 2014). El objetivo del presente trabajo fue evaluar el uso de la asociación ensilados de haba-colza y de maíz producidos con fertilización orgánica (manejo A) como alternativa al uso de ensilados de raigrás italiano y de maíz producidos con manejo convencional (manejo C) en raciones de vacas lecheras en pastoreo durante primavera y otoño.

MATERIALES Y MÉTODOS

Dos ensayos, uno en la primavera y otro en el otoño de 2013, fueron llevados a cabo con 10 vacas Holstein en cada ensayo. Los animales al inicio de los ensayos estaban con 100±8,2 días en leche (media±ee), 2,3±0,22 lactaciones, 614±16,5 kg de PV y una producción de 28,0±1,26 L/d. Los animales fueron divididos al azar en 2 grupos. En ambos ensayos se han estudiado los efectos de una dieta convencional (C) en la que el forraje de mayor proporción, ensilado de raigrás italiano y maíz, se cultivó con abono químico frente a otra alternativa (A) donde el forraje se cultivó con abono orgánico, en un diseño experimental de cuadrado latino 2x2. Cada ensayo constó de 2 periodos de 21 días cada uno, en los que los 7 últimos fueron de toma de muestras y obtención de datos. La composición y valor nutritivo de las dietas en estudio se describe en la tabla 1. En ambos ensayos, las raciones TMR fueron ofertadas *ad libitum*. Los animales tenían acceso al pasto durante 12 horas al día en primavera y 7 horas en otoño en prados donde predominaba *Lolium perenne* L. y *Dactylis spp*. La disponibilidad diaria de hierba fue de 45 kg MS/vaca en primavera con un 15,3% de PB y 1,46 Mcal ENI/kg MS y de 26 kg de MS/vaca en otoño con 16,1% de PB y 1,40 Mcal ENI/kg MS. Las vacas que producían más de 30 L leche/d recibieron una suplementación con un concentrado extra durante el ordeño. Las vacas fueron pesadas y evaluada su condición corporal (escala 1-5) al inicio y final de cada período de muestreo. Los consumos de TMR y concentrado extra, así como la producción de leche, se registraron diariamente. El consumo de hierba en pastoreo se estimó siguiendo el método de Macoon et al. (2003). En los ordeños de mañana y tarde de 3 días se muestreó la leche de cada vaca. Los alimentos fueron analizados por NIRS y la leche con un equipo MilkoScan FT6000. El análisis estadístico se realizó usando el procedimiento MIXED del SAS (1999) considerando factores principales la dieta y la estación, y tomando el grupo como unidad experimental.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se muestran los resultados de ingestión diaria de MS. El consumo de TMR fue inferior en primavera que en otoño (5,8 vs. 12,1 kgMS/d respectivamente, P<0,001) y superior en todo caso con la dieta C que con la dieta A (10,6 vs. 7,3 kgMS/d respectivamente, P<0,001), especialmente en primavera (interacción estación x dieta significativa). La ingesta de concentrado extra fue inferior en primavera que en otoño (1,2 vs. 2,6 kgMS/d respectivamente, P<0,001), sin diferencias entre dietas. El consumo estimado de hierba fue significativamente mayor en primavera que en otoño (17,7 vs. 6,9 kgMS/d respectivamente, P<0,001). Aunque el consumo total de MS fue superior con la dieta C que con la dieta A (25,8 vs. 20,4 kgMS/d respectivamente, P<0,05), no se observaron diferencias en la variación de peso vivo ni en la producción de leche (27,9 kg/d; Tabla 3). La relación forraje/concentrado en primavera fue de 90/10, mientras que en otoño fue 78/22 (P<0,001), sin diferencias entre dietas, ahora bien el consumo de concentrado difirió entre dietas (3,5 vs. 2,8 kgMS/d para la dieta C y A respectivamente; P<0,01). La concentración de grasa de la leche fue superior en otoño que en primavera (3,84 vs. 3,67% respectivamente, P<0,1), mientras que la proteína (3,19%) y el ESM (8,76%) fue superior (P<0,05) en primavera que en otoño (3,03% de proteína y 8,58% de ESM), sin diferencias entre dietas experimentales. La concentración de urea varió según la época del año (322 vs. 260 mg/kg en otoño y primavera respectivamente, P<0,001) y según también el tipo de dieta (345 vs. 237 mg/kg para las dietas A y C, respectivamente, P<0,001). Considerando la relación entre concentrado consumido y producción de leche, se observó que se precisó menos concentrado (P<0,1) para producir un kg de leche con la dieta A (105,3 g) que con la C (121,7 g). Asimismo, para producir un kg de leche en primavera se precisaron 67 g de concentrado, mientras en otoño fueron necesarios 160 g/kg leche (P<0,001).

CONCLUSIONES

La alimentación de vacas lecheras con ensilados de la asociación haba y colza puede ser una alternativa al uso habitual de ensilado de raigrás italiano: Permite reducir el aporte de concentrado en la ración sin afectar a la producción ni a la composición de la leche, lo que puede ayudar a reducir los costes de producción de leche. Asimismo, se requiere un menor aporte de concentrado para producir la misma cantidad de leche en primavera que en otoño, reflejándose esto en una mayor relación forraje/concentrado en primavera sin afectar a la producción de leche.

AGRADECIMIENTOS
Trabajo financiado por el proyecto INIA RTA2011-00112, con cofinanciación con fondos FEDER. José D. Jiménez es beneficiario de una beca de doctorado FPI-INIA.

REFERENCIAS

1. Butler T.J. and Muir J.P. (2006) Dairy manure compost improves soil and increases tall wheatgrass yield. *Agronomy Journal* 98: 1090-1096.
2. Jiménez J.D., Vicente F., Benaouda M., Soldado A. and Martínez-Fernández A. (2014) Intercrop Fava Bean-Rapeseed as sustainable alternative to the Italian Ryegrass: Results of production and quality of forage and evolution of soil fertility. *Grass Science in Europe* 'EGF Conference 2014 Aberystwyth, UK'.
3. Macoon B., Sollenberger L.E., Moore J.E., Staples C.R., Fike J.H. and Portier K.M. (2003) Comparison of three techniques for estimating the forage intake of lactating dairy cows on pasture. *Journal of Animal Science*, 81: 2357-2366.
4. SAS (1999) SAS *(Statistical Analysis System) Institute, SAS/STATTM. User's guide*, SAS Institute, Inc. 10. Carry, NC, 378 pp.
5. Singer J.W., Logsdon S.D. and Meek D.W. (2007) Tillage and compost effect on corn growth, nutrient accumulation, and grain yield. *Agronomy Journal* 99: 80-87.

Tabla 1. Composición y valor nutritivo de las dietas convencional y alternativa en las dos estaciones de pastoreo.

	Primavera		Otoño	
Ingredientes (%MS)	Convencional	Alternativo	Convencional	Alternativo
Ensilado de maíz[1]	35,28	32,54	-	-
Ensilado raigrás	36,86	-	32,07	-
Ensilado haba-colza	-	43,53	-	40,0
Heno alfalfa	-	-	25,65	22,66
Paja	16,16	15,64	7,28	6,43
Concentrado	11,7	8,29	35,0	30,91
Valor Nutritivo (%MS)				
Materia Seca	32,95	38,79	27,68	52,67
Materia Orgánica	90,62	90,48	89,78	90,98
Proteína Bruta	9,71	10,3	13,36	14,42
Fibra Neutro Detergente	52,21	57,47	49,79	35,59
Energía Neta Lactación (Mcal/kgMS)	1,42	1,42	1,41	1,42

[1] Maíz cultivado con abono químico en la dieta convencional y con abono orgánico en la alternativa

Tabla 2. Ingestión de MS (kg/d) en los manejos convencional y alternativo en las dos estaciones de pastoreo.

	Primavera		Otoño		e.e.	Efecto		
	Convencional	Alternativo	Convencional	Alternativo		Estación	Dieta	Estación x dieta
TMR	8,78	2,71	12,31	11,96	0,737	***	***	***
Concentrado[1]	1,24	1,12	2,64	2,51	0,166	***	NS	NS
Hierba	18,26	17,22	8,55	5,30	2,528	***	NS	NS
Total MS	28,28	21,05	23,50	19,77	2,314	NS	*	NS
Forraje total[2]	26,00	19,62	18,78	15,45	2,355	*	*	NS
Concentrado[3]	2,27	1,34	4,72	4,32	0,212	***	**	NS

[1] Concentrado suplementario cuando la producción es >30L/d. [2] Incluya la hierba y el forraje de la TMR. [3] Incluye el concentrado suplementario y el aportado en la TMR. Nivel de significación: NS: no significativo; * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

Tabla 3. Producción láctea (kg/d), composición de la leche (%) y eficiencia del concentrado (g concentrado/kg leche) en los manejos convencional y alternativo en las dos estaciones de pastoreo.

	Primavera		Otoño		e.e.	Efecto		
	Convencional	Alternativo	Convencional	Alternativo		Estación	Dieta	Estación x dieta
Producción	26,96	26,09	30,32	28,09	1,863	NS	NS	NS
Grasa	3,67	3,66	3,80	3,87	0,092	0,077	NS	NS
Proteína	3,21	3,16	3,03	3,02	0,062	*	NS	NS
Lactosa	4,83	4,82	4,80	4,83	0,033	NS	NS	NS
ESM	8,82	8,69	8,59	8,56	0,070	*	NS	NS
Urea (mg/kg)	214	306	260	384	14,2	***	***	NS
Concentrado	82,30	51,77	161,10	158,79	9,422	***	0,095	NS

Nivel de significación: NS: no significativo; * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001

ECBHM
European College of Bovine Health Management

THE EFFECT OF CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA) SUPPLEMENTATION ON THE OXIDATIVE AND ANTIOXIDATIVE STATUS OF PERIPARTURIENT DAIRY COWS

Nina Hanschke[1], Marta Kankhofer[2], Lena Locher[1], Ulrich Meyer[3], Sven Dänicke[3], Juergen Rehage[1]

1 Clinic for Cattle, University of Veterinary Medicine Hannover, Germany

2 Department of Animal Biochemistry and Physiology, University of Life Sciences, Lublin, Poland

3 Department of Animal Nutrition, Friedrich-Loeffler-Institute, Braunschweig, Germany

BACKGROUND

Enhanced metabolism, as present in the periparturient period in dairy cows might results in an increase of reactive oxygen species (ROS), which are thought to play an important role in various production diseases. Since antioxidative properties of conjugated linoleic acids (CLA) are discussed controversially in humans and experimental animals the aim of the presented study was to investigate effects of supplementation of CLA to dairy cows and heifers on their antioxidative and oxidative status.

METHODS

German Holstein cows (n = 32) and heifers (n = 13) were randomly assigned to three groups. They received a control fat (n = 14), 50 g (n = 15) or 100 g (n = 16) of a mixture of rumen protected CLA isomers, containing 10 % t-10,c-12 CLA and 10 % c-9,t-11 CLA starting at parturition. Stearic acid was used as control fat. The typical fed total mixed ration was based on corn and grass silage as well as concentrate. Blood samples were taken at day -21, 1, 21, 70, and 105 relative to calving and analyzed for the antioxidative (ferric reducing ability of plasma (FRAP), α-tocopherol, α-tocopherol/cholesterol ratio, retinol) and oxidative (hydroxide radicals, thiobarbituric acid test (TBARS), N-formylokynurenine, bityrosine, sulfhydryl groups (SH-groups)) status. For statistical analysis the PROC mixed procedure for repeated measurements (SAS package) was used.

RESULTS AND CONCLUSIONS

Blood concentrations of vitamin A and E, N-formylokynurenine, bityrosine and SH groups as well as the vitamin E:cholesterol ratio and FRAP were all significantly decreased ($p < 0.001$) while concentrations of hydroxides ($p < 0.001$) and TBARS ($p < 0.001$) were significantly increased at parturition.

Heifers had higher vitamin E serum concentrations ($p = 0.012$), and a higher α-tocopherol:cholesterol mass ratio ($p < 0.001$). Plasma SH-group concentrations were significantly lower in cows than in heifers ($p = 0.024$).

The CLA 100 group tended to have higher SH-group concentrations than the other feeding groups ($p = 0.085$). Else antioxidative or oxidative parameters were not different between feeding groups.

In conclusion supplementation of a mixture of CLA containing 10% of t-10,c-12 CLA and 10 % of c-9,t-11 CLA appears to have no effect on the antioxidative and oxidative status of dairy cows in early lactation. Results also suggest that oxidative stress during the periparturient period is compensated by the antioxidative defense system more effectively in heifers than in pluriparous cows.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

SERUM VALUES OF CALCIUM, PHOSPHORUS AND MAGNESIUM IN ORGANIC DAIRY FARMS IN SPAIN

Domínguez, R.; Abuelo, A. †; Fernández, JA.; Miranda, M.; Benedito, JL.; Castillo, C.; Hernández, J.‡*

Dpto Patoloxia Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela. 27002 Lugo. *joaquin.hernandez@usc.es. †ECBHM Resident; ‡ ECBHM Diplomate

In cows, the nutrition for organic production system is well-regulated by Council Regulation EU 889/08 although the effect of the approved feedstuff on internal balance is not well-established, especially in relation to calcium (Ca), phosphorus (P) and magnesium (Mg) serum levels. These parameters are really important because their implication in the downer cow syndrome. To our knowledge, little information is available about the evolution of these parameters over a long time period, for example, throughout gestation and early lactation periods. So, our aim was to study the physiological evolution of these minerals in two organic dairy farms. Seventy cows were studied, using two different breeds: Holstein-Friesian and Brown Swiss, from two different herds, one located in Monterroso (Farm A) and the second one in Palas de Rei (Farm B), respectively; both of which are within the province of Lugo. At each farm, animals were divided into two groups, one of which was called "control" and included 15 cows in their 4th, 5th and 6th month of pregnancy, and another group, called "experimental", composed of 20 cows from day 62 before calving to day 100 after calving. Nine samples per cow were obtained during this period, four before partum (from last two months of gestation to last week prior parturition) and five postpartum (from the first week after calving to peak lactation, estimated around 100 days in milk), measuring the serum concentration of calcium, phosphorus and magnesium. Our results were analyzed using a General Lineal Model (GLM) with repeated measurements and Bonferroni corrections for post hoc analysis, considering farm, time and their interaction between as fixed effects. Significance level was established at $P \leq 0.05$, values between $0.05 < P \leq 0.10$ were considered as a trend to signification and values $P > 0,10$ were considered not significant.

Our results showed that mean (±SEM) Ca values were 9.02 ± 0.08 mg/dL (Farm A) and 9.21 ± 0.07 mg/dL (Farm B). Taking into account each herd, in the farm of Holstein-Friesian the lowest values were obtained in the peak of lactation (8.32 ± 0.33 mg/dL), whereas the highest value were found between one and two months before calving (9.44 ± 0.24 mg/dL). In the other farm (Brown Swiss) the lowest values were reached before parturition (8.81 ± 0.22 mg/dL), and the highest value two months before calving (10.04 ± 0.23 mg/dL). In the comparison between farms a tendency towards significant difference was observed ($0,05 < p \leq 0,10$). In relation to phosphorus concentrations, mean values were 6.75 ± 0.12 mg/dL in Farm A and 6.55 ± 0.11 mg/dL in Farm B. In the Holstein-Friesian farm the lowest concentration (6.05 ± 0.39 mg/dL) was detected in the interval comprised between 1 and 1.5 month after postpartum, corresponding the highest (7.6 ± 0.27 mg/dL) to the control group. In the other farm (Brown Swiss) the lowest values were reached after parturition (5.87 ± 0.34 mg/dL), and the highest value two months before calving, (7.26 ± 0.35 mg/dL). No farms effect was detected ($P > 0,10$). Finally, in relation to Mg values, farm A showed 2.60 ± 0.03 mg/dL whereas farm B showed 2.31 ± 0.02 mg/dL). Throughout

the study, Holstein-Freisian farm showed the lowest concentration (2.36 ± 0.09 mg/dL) one week prepartum and the highest (2.75 ± 0.09 mg/dL) in the period comprised between 9 and 22 days after calving. The farm Farm B (Brown Swiss) showed its lowest Mg concentration one week after calving (2.17 ± 0.08 mg/dL) and the highest (2.47 ± 0.08 mg/dL) one month before it. A significant farm effect (P<0.001) was found in relation to Mg levels.

The mean values of these macrominerals were maintained within physiological ranges for bovine during the whole study period; suggesting that their homeostasis was stable, far away of the mineral disturbances described in intensive managed systems. Differences in Mg concentrations were attributed mainly to breed factors than to manage conditions. The differences observed between both farms in relation to Mg levels, may be attributed to the different diet composition of both farms; although this merits further research.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

COMPARISON OF THE NEGATIVE ENERGY BALANCE BETWEEN CATTLE MANAGED UNDER THE CONVENTIONAL AND ORGANIC FARMING SYSTEMSIN THE NW OF SPAIN: A PRELIMINARY REPORT

Ángel Abuelo†*, Joaquín Hernández‡, José L. Benedito, José A. Fernández and Cristina Castillo

Department of Animal Pathology.College of Veterinary Medicine. University of Santiago de Compostela.Campus Universitario s/n. 27002 – Lugo (Spain).

**angel.abuelo@usc.es.*†ECBHM Resident. ‡ECBHM Diplomate.

Organic dairy production has risen in the last years in Spain and in other European countries. However, the restrictions in the dietary proportions of concentrates relative to dry matter intake[1] for organically managed cattle (OMC) may reduce the cows' ability to consume enough energy for maintenance and milk production[2, 3]. The cows share the same average genetic potential for milk production with their conventionally managed counterparts (CMC), so a potential lack of energy could increase the risk of Negative Energy Balance (NEB). In fact, some studies have reported that OMC show greater NEB than CMC[3, 4], whereas this point was not supported by others[5]. However, these differences might be due to the variation among countries as a consequence of the local differences in feeding and management strategies. As multinational large-scale studies in this area are lacking, the results from other countries cannot be directly translated into the Spanish system. Therefore, the aim of this report is to compare the NEB of the organic and conventional (intensive) dairy farming systems in Spain. For this purpose, 40 multiparous cows from two organic farms and 22 from an intensive one were sampled every 2 to 3 weeks from 2 months before the expected calving date until 3 months after calving and the data obtained were grouped ex-post into four groups: Late lactation (-2 to -1 months), Prepartum (-1 month to calving), Postpartum (calving to +1 month) and Peak of lactation (+1 to +3 months).

Non-esterified fatty acids (NEFAs), β-hydroxybutyrate (BHB) and glucose were quantified with commercially available photometric kits, whereas for insulin determination, a bovine-specific sandwich ELISA was employed. Generalized Linear Mixed Models with repeated measurements were used for the outcomes NEFA, BHB, Glucose and Insulin. Each cow was the experimental unit and farming system was the fixed effect. The variance-covariance structure between 'time' was assumed to have a first-order autoregressive correlation (AR-1). Bonferroni corrections were included for post-hoc analysis. Differences between farming systems were analysed for each of the studied stages for the parameters that showed a significant "farming system" effect with the Mann–Whitney U test, because of the usual non-normal distribution of NEFA and BHB[6]. All statistical analysis were performed with IBM SPSS for Windows v.20 (IBM) and the criterion for statistical significance was established at $P < 0.05$.

Our results show that OMC NEFAs' levels rose progressively from the fair off dry period until the postpartum stage, where the highest mean value was obtained, and declined thereafter in the PkL. Although neither in OMC, nor in CMC, any of the studied animals showed levels above the critical threshold[7], OMC showed significantly higher levels of serum NEFA in the two lactating stages considered in this study than CMC. Regarding to BHB, cows in both farming systems showed always levels below the reported critical threshold[7], but OMC showed a significantly increase in the levels of this ketone body after calving. This increase was not found in CMC, which showed lower levels than OMC in the PsP and PkL stages. Taking together the results of BHB and NEFA, OMC showed a significantly higher and longer adipose tissue mobilization than CMC that even though it did not reach levels associated with a greater disease incidence indicates that more attention should be paid to the dry cow in OMC in order to prevent production related diseases.

Glucose levels showed in both systems the typical pattern associated with nutrient partitioning after calving, re-directing the glucose towards the mammary gland for milk synthesis and therefore decreasing the glycaemia. However, the lack of significant differences between OMC and CMC in this metabolite may be more attributed to its tight homeostatic control[8] than to the similarity of both farming systems. Indeed, unlike CMC, OMC insulin levels remained stable throughout the periparturient period, with levels significantly lower than CMC; indicating a better insulin response by the peripheral tissues in this animals, as lower levels of insulin maintained similar levels of glucose[9]. The lack of the usual insulin drop after calving in OMC, may be attributed to the lower milk production observed in OMC[10, 11]; indicating that probably, the degree of insulin resistance, a common feature in the postcalving dairy cow, might be also much lower in OMC than in CMC; although this point needs to be further elucidated by other means.

These results highlight the necessity of a more thorough control of the diet of OMC, particularly during the dry period, to facilitate the adaptation of these animals to the onset of lactation.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors thank Lucía Casanova Iglesias for her technical assistance, as well as the farmers that allowed us to use their animals for this study. This study was supported by the Galician Government under grant # 10MRU261004PR. A. Abuelo is a FPU fellowship holder (Ref. AP2010-0013) from the Spanish Ministry of Education.

REFERENCES

1. Commission Regulation (EC) No 889/2008 of 5 September 2008 laying down detailed rules for the implementation of Council Regulation (EC) No 834/2007 on organic produc-

tion and labelling of organic products with regard to organic production, labelling and control, (2008). Official Journal of the European Union. L250, 1 - 84.

2. Harðarson G. Is the Modern High Potential Dairy Cow Suitable for Organic Farming Conditions? Acta Vet Scand. 2002;43(Suppl 1):1-5.
3. Roesch M, Doherr MG, Blum JW. Performance of Dairy Cows on Swiss Farms with Organic and Integrated Production. J Dairy Sci. 2005;88(7):2462-75.
4. Hardeng F, Edge VL. Mastitis, Ketosis, and Milk Fever in 31 Organic and 93 Conventional Norwegian Dairy Herds. J Dairy Sci. 2001;84(12):2673-9.
5. Fall N, Gröhn YT, Forslund K, Essen-Gustafsson B, Niskanen R, Emanuelson U. An Observational Study on Early-Lactation Metabolic Profiles in Swedish Organically and Conventionally Managed Dairy Cows. J Dairy Sci. 2008;91(10):3983-92.
6. Ospina PA, McArt JA, Overton TR, Stokol T, Nydam DV. Using nonesterified fatty acids and beta-hydroxybutyrate concentrations during the transition period for herd-level monitoring of increased risk of disease and decreased reproductive and milking performance. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2013;29(2):387-412.
7. Ospina PA, Nydam DV, Stokol T, Overton TR. Evaluation of nonesterified fatty acids and b-hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. J Dairy Sci. 2010;93(2):546-54.
8. Herdt TH. Variability characteristics and test selection in herd-level nutritional and metabolic profile testing. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2000;16(2):387-403.
9. De Koster JD, Opsomer G. Insulin Resistance in Dairy Cows. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2013;29(2):299-322.
10. Fall N, Emanuelson U. Milk yield, udder health and reproductive performance in Swedish organic and conventional dairy herds. J Dairy Res. 2009;76(04):402-10.
11. Hamilton C, Forslund K, Hansson I, Emanuelson U, Ekman T. Health of cows, calves and young stock on 26 organic dairy herds in Sweden. Vet Rec. 2002;150(16):503-8.

GESTIÓN EXPLOTACIONES // MANAGEMENT

EFFICACY OF ELECTROLYTE SUPPLEMENTATION IN THE FEED OF HEAT STRESSED DAIRY COWS

García-Lastra, R.[1], Ferro, A.[1], Muysson, D.[1], Ruiz, T.[2] y Fernandez, J.[2]

[1] TechMix Europe

[2] University of Puerto Rico

ABSTRACT

In many regions worldwide dairy cows are subject to long periods of heat stress, resulting in often severe losses in production and profit for dairy farms. The objective of these field trials performed in Puerto Rico and USA was to investigate the effect of increasing dietary concentrations of minerals like K and Na through feeding electrolytes supplementation. In dairy cattle, much of the negative impact of heat stress can be reduced through management, but utilization of cooling systems does not completely resolve the issue. It is possible that nutritional management and up regulation of heat tolerant genes could greatly reduce the negative effects of heat stress and drastically increase profitability and sustainability of dairy production systems. Supplementation with electrolytes during heat stress is a key component to maintaining blood acid-base balance and subsequently supporting milk production. Thus, use of commercially available additives with electrolytes, energy, betaine and niacin for dairy cattle feed resulted in some increases in lactation performance during heat stress.

INTRODUCTION

In many regions worldwide dairy cows are subject to long periods of heat stress, resulting in often severe losses in production and profit for dairy farms. Heat stress begins in dairy cows at temperatures greater than 22.2ºC (72°F) and this can result in long periods of heat stress per year. Milk production can decrease by 10 to greater than 25% when cows are under heat stress conditions (Chase, 2006). This production loss is due to several factors including decreased dry matter intake (DMI) and increased basic maintenance energy costs. Decreased reproductive performance has been demonstrated in cows under heat stress, including increases in days open and incidences of premature parturition (Badinga et al., 1985; Cavestany et al., 1985). Extensive research has been done on the effects of heat stress on milk production and reproductive qualities in dairy cattle. West et al., (2003) found a linear decrease in milk yield (MY) and DMI as air temperature increased. Much of the research conducted has focused on alleviation of heat stress through physical cooling practices like fans and sprinkler/mister systems. Often these methods provide only temporary relief from the heat and do not allow the cow the opportunity to compensate for decreased nutrient utilization.

Supplementation with electrolytes during heat stress is a key component to maintaining blood acid-base balance and subsequently supporting milk production. Potassium and Na are the primary cations involved in maintaining this balance and large quantities of K are lost in heat stressed dairy cows due to sweating (Kume et al., 1987). Previous studies conducted with supplementation of Na and K demonstrated increased DMI and MY (West et al., 1987; Schneider et al., 1986 and Schneider et al., 1984). Electrolyte supplementation could increase (or maintain) DMI and MY in heat stressed cows by either improving mineral deficiency or maintaining the blood acid-base balance. However, some research has shown positive results in DMI and MY when the dietary cation-anion balance was increased during both hot and cool weather (Sanchez et al., 1994), indicating that maintaining the blood pH may be the primary cause for improved performance.

Our hypothesis is that increasing dietary concentrations of minerals like K and Na together with supplementation of energy, betaine and niacin through feeding Bovine BlueLite pellets (TechMix, MN, USA) will alleviate the effects of heat stress in dry and lactating cows. Thus, our objective is to determine the effect of electrolyte supplementation in gravid Holstein cows on performance during heat stress.

MATERIALS & METHODS

Trial 1 (Puerto Rico):

Thirty-eight lactating cows were assigned to either of two experimental treatments; control and BlueLite. Cows were assigned to pairs according to milk production, days in milk and parity. Treatments were fed during 10 days of adjustment and 50 days of data collection, during the months of October and November

of 2012. Experimental cows were fed forage separately from concentrate which was fed twice daily, prior to each milking. The BlueLite treatment was mixed in the pelleted concentrate portion and fed individually to each cow, prior to the afternoon milking. Milk production was recorded daily (Affimilk milking equipment) but was reported as average for five-day periods, during the data collection. To determine fat, protein, and somatic cell count milk samples were collected during two consecutive milkings on days 11-12 (per 1), 24-25 (per 2), and 47-48 (per 3) of the 60-day experimental period. Results for somatic cells were reported as SCC score. Another milk sample was collected five days prior to the beginning of the preliminary period to determine baseline values prior to feeding experimental treatments.

Trial 2 (Puerto Rico):

A second feeding trial was conducted in July and August 2013, during the warm summer season. Thirty-six lactating cows, paired according to days-in-milk (DIM), parity and milk yield were assigned to one of two experimental groups. Cows selected averaged 200 DIM at the beginning of the trial. Experimental groups were randomly assigned to treatments according to a Cross-Over design. Experimental cows were fed as in trial 1. Data were analyzed using the mixed procedure of SAS. Treatments evaluated were control and experimental consisting of a daily dose of 145 g of BlueLite per cow. The two experimental periods were 25 days of which 14 were for treatment adjustment and 11 for data collection. Individual cow production was recorded daily in each of the two milkings (Affimilk milking equipment). Milk samples for the determination of fat were collected only in Period 2, during four consecutive milkings on days 17 and 18 of the period. Fat was determined using the Babcock analysis.

Trial 3 (Minnesota, USA):

This experiment was conducted from July to August 2013 at the University of Minnesota. Seventy-two lactating dairy cows were balanced by breed, parity, and previous weekly average milk production onto one of two dietary treatments; no supplement (control) and BlueLite. Treatments were applied for six weeks after one covariate week. One cow was removed from the trial for complications from toxic mastitis.

Cows were housed in individual tie stalls in a mechanically cross-ventilated barn and milked twice daily in a milking parlor and fed twice daily. Diets were fed at an *ad libitum* rate (to ensure 10 % feed refusals).

Body weight was measured, body condition score (BCS) assigned using 0.25-unit increments for each cow weekly.

Milk weights were recorded from 1 to 56 DIM and samples were obtained from consecutive a.m. and p.m. milkings weekly from 4 to 56 DIM. Milk samples were preserved and analyzed for fat, protein, lactose, milk urea and SCC at a commercial laboratory (DHIA, Zumbrota, MN).

To estimate total tract DM digestibility (DMd) and NDF digestibility (NDFd), TMR samples were collected once weekly for the duration of the trial. Analysis of TMR and fecal samples included DM, OM and NDF digestibility.

RESULTS AND DISCUSSION

Trial 1 (Puerto Rico):

There was no statistical difference in the milk fat and protein content due to treatment. Milk fat concentration for samples taken in period 1 and 3 were 3.26 and 3.21, and 3.23 and 3.24% for control and BlueLite treatments respectively. Content of milk protein was 3.04 and 3.00% in periods one and three, respectively.

The somatic cell score pretrial was higher for cows assigned to the BlueLite treatment. This difference (P<.01) was maintained throughout the experimental treatment. The SCC score was 2.40 vs. 3.65, 1.88 vs. 2.93, and 1.11 vs 2.74 for sampling periods one to three, respectively. However, the incidence of clinical mastitis was higher for cows in the control group. Twenty-three percent of the cows in the control group experience clinical mastitis, compared to only 6% of the cows consuming BlueLite. This result could be a consequence of better hydration in cows consuming BlueLite. This could improve cow's immune response to more effectively combat infection; reducing its severity. In addition, mastitis milk is lower in K and higher in Na and Cl, BlueLite could alter electrolyte composition of milk, perhaps having a role in reducing clinical mastitis.

Cows consuming BlueLite produced, on average, more milk particularly during the first half of the data collection period. This difference was 1.04 kg/d in favor of the cows consuming BlueLite during the first 20 days of the data collection period. It was reduced to 0.6 kg/d by day 25 and gradually reduced. By day 50 the advantage of Bluelite was eliminated.

There were no differences in the maximum daily THI temperatures during the data collection period. However, the minimum THI temperature was gradually reduced from day 1 to 50 of the data collection period; particularly after day 20. When the minimal THI was above 22.2ºC (72℉), milk production was 1.04 kg/d higher for cows consuming BlueLite. When the minimal temperature went below 22.2ºC (72℉) (thermo neutral zone) the milk production difference was reduced in a manner consistent with a reduction in minimal THI. When the minimal THI was the lowest 20.9ºC (69.6℉), average milk production was similar for both groups of cows. Unfortunately ambient temperature declined with an increase in days of data collection (days 1-50), thereby reducing the heat stress in experimental cows as the trial progressed.

Trial 2 (Puerto Rico):

There was a significant difference in milk production due to treatment (P<.01). Cows receiving the BlueLite treatment produced more milk than control cows (14.3 vs. 15.4 kg/d). On average, milk production declined from Period 1 to Period 2 (P<.01).

Milk fat percentage was not significantly different among treatments. Average for cows in control and BlueLite groups were 2.88 and 3.07%, respectively.

Temperatures during trial 2 were generally warmer than trial 1. The months of July and August are usually the hottest months of the year in Puerto Rico. Results in trial 2 appear to agree with the milk yield trend observed in trial 1. During the warmer twenty days of trial 1 cows in the BlueLite treatment produced 1.04 kg/d more milk than controls. This difference in favor of BlueLite was 1.1 kg/d in trial 2. For Puerto Rican market, this difference is equivalent to a daily increase in milk revenue of approximately $.80/cow in favor of cows consuming the BlueLite.

Economic losses from heat stress across livestock industries total $2.4 billion dollars annually across all industries and $897 million dollars in loss in the dairy industry alone (St. Pierre et al., 2003). A 10 to 25% reduction in milk yield is possible in heat stressed dairy cows. Considering a cow producing 70 lbs of milk per day, the minimum loss in production would be 7 lbs/hd/d. At milk prices of $18/hundred pounds of milk, that equates to $1.26/hd/d loss. Thus, a 250 cow farm, subjected to heat stress for 120 days per year would be losing approximately $37,800 annually. Decreasing that loss by only 5% through nutritional management would decrease the economic impact by half.

Trial 3 (Minnesota, USA):

Mean temperature humidity index (THI) was 72.4, exceeding the critical value of 72 for all weeks during the treatment period.

Cows maintained relatively normal body temperature of 38.6°C but reached 39.3°C on the hottest days. Weekly means of DMI and rumen temperature were not altered by treatments. Milk yield by BlueLite compared with control tended to be greater on week four and was greater on weeks three, five, and six. Milk fat, protein and milk urea nitrogen concentration were similar among treatments. BlueLite milk somatic cell count (SCC) tended to be greater than control.

Figure 1.- Dry matter intake, milk, and component response to cows under mild heat stress receiving electrolytes in various forms

	CONTROL	BLUELITE	SEM
DMI (kg)	43.2	43.9	1.9
Milk (kg)	29.3	31.1	0.6
FCM (kg)	29.3[a]	31.1[b]	0.6
Fat (%)	3.51	3.55	0.08
Protein (%)	3.28	3.31	0.03
SCC (thousands)	94.8[a]	115.1[ac]	23.3

CONCLUSIONS

Results from these trials determine the efficacy of using a commercially available electrolyte, energy, betaine and niacin supplementation (BlueLite) in the feed of heat stressed dairy cows. Producers can utilize these results to build nutritional programs for managing heat stress, improve heat stress tolerance, reduce subsequent health disorders, and improve overall profitability of their operation, which provide some economic and environmental relief to traditional management strategies such as fans (decreased energy costs) and sprinkler systems (decrease water usage).

REFERENCES

1. Badinga L, Collier RJ, Thatcher WW, Wilcox CJ. Effects of climatic and management factors on conception rate of dairy cattle in subtropical environment. J Dairy Sci. 1985 Jan;68(1):78-85.
2. Cavestany D, el-Wishy AB, Foote RH. Effect of season and high environmental temperature on fertility of Holstein cattle. J Dairy Sci. 1985 Jun;68(6):1471-8.
3. Chase L. Climate change impacts in dairy cattle. 2006 (accessed on 25 Nov 2011). Available at http://www.climateandfarming.org/pdfs/FactSheets/III.3Cattle.pdf
4. Kume S, Kurihara M, Takahashi S, Shibata M, Aii T. Effect of hot environmental temperature on major mineral balance in lactating cows. Jpn J Zootech Sci. 1987 Jan;58(9):764-770.
5. Sanchez WK, McGuire MA, Beede DK. Macromineral nutrition by heat stress interactions in dairy cattle: review and original research. J Dairy Sci. 1994 Jul;77(7):2051-79.
6. Schneider PL, Beede DK, Wilcox CJ, Collier RJ. Influence of dietary sodium and potassium bicarbonate and total potassium on heat-stressed lactating dairy cows. J Dairy Sci. 1984 Nov;67(11):2546-53.
7. Schneider PL, Beede DK, Wilcox CJ. Responses of lactating cows to dietary sodium source and quantity and potassium quantity during heat stress. J Dairy Sci. 1986 Jan;69(1):99-110.
8. St-Pierre NR, Cobanov B, Schnitkey G. Economic losses from heat stress by US livestock industries. J. Dairy Sci. 2003 Jun;86: (E. Suppl):E52-E77.
9. West JW, Coppock CE, Milam KZ, Nave DH, Labore JM, Rowe LD Jr. Potassium carbonate as a potassium source and dietary buffer for lactating Holstein cows during hot weather. J Dairy Sci. 1987 Feb;70(2):309-20.
10. West JW, Mullinix BG, Bernard JK. Effects of hot, humid weather on milk temperature, dry matter intake, and milk yield of lactating dairy cows. J Dairy Sci. 2003 Jan;86(1):232-42.
11. West JW. Effects of heat-stress on production in dairy cattle. J Dairy Sci. 2003 Jun;86(6):2131-44. Review.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

ESTIMATION OF COLOSTRUM QUALITY IN THE FIELD BY BRIX REFRACTOMETRY

D. Klein-Jöbstl[1], T. Arnholdt[1], K. Rychli[2], S. Borchardt[3], M. Iwersen[1], M. Drillich[1]

[1]Vetmeduni Vienna, Clinic for Ruminants, Clinical Unit for Herd Health Management, Austria, [2]VetmeduniVienna, Institute for Milk Hygiene, [3]First Farms, Slovakia

INTRODUCTION

First colostrum feeding plays an important role in calf rearing. The adequacy of passive transfer depends on different factors especially colostrum quality. Generally, a calf should receive 100 to 200 g of immunoglobulins (McGuirk and Collins, 2004). Immunoglobulin concentrations may vary, influenced by several factors e.g. parity, breed and metabolic disturbances (Weaver et al., 2000). In dairy cows the quality of first colostrum can contain solely 9 and up to 186 g of immunoglobulinG (IgG) per liter (Swan et al., 2007), whereas a concentration ≥ 50 g IgG/l is usually classified as good quality. Consequently, the estimation of first colostrum quality is an important tool to improve the amount of immunoglobulines the newborn calf receives on farm. In the field a fast, cheap and easy method is necessary. Up to date the most common method for quality control is the measurement of the colostrum density by a hydrometer. The advantage of this method is that it is cheap, easy to use and results are easy to interpret. A disadvantage is that it is temperature dependent and that relative large amounts of colostrum are needed. Reported sensitivities and specificities vary between 32-76% and 66-97%, respectively (Pritchett et la., 1994; Chigerwe et al., 2008). Although there are some advantages of this method, it is used by only few farmers (1 to3 %) on dairy farms in Austria (Klein-Jöbstl et al., and Arnholdt et al., unpublished). To overcome these disadvantages the use of a Brix-refractometer to determine the colostrum quality has been described (Bielmann et al., 2010; Quigley et al., 2013). Optical as well as digital refractometers with a Brix-scaling are used. They can be used temperature independent and only one drop of colostrum is necessary. Reported Brix-cut-off values for good quality are 22 % and 21 %, respectively (Bielmann et al., 2010; Quigley et al., 2013).

The objective of our study was to evaluate the accuracy of a hydrometer and Brix-refractometer in the field compared to the measurement of immunoglobulin G by the gold standard method radial immunodiffusion (RID). Furthermore, practicability and simplicity of interpretation of results in the field were tested.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted on one large dairy farm. First colostrum samples of 86 cows were collected immediately after calving. All samples were immediately tested by a hydrometer as well as with an optical Brix-refractometer. An aliquot of the sample was frozen for further examination by RID in the laboratory.

Sensitivity, specificity, positive and negative predictive value, correlation as well as the best cut-off by ROC analysis with the RID-results as gold-standard were calculated.

RESULTS

Immunoglobulines determined by RID varied between 6 and 142 g/l. Of 86 examined samples, 43 had a concentration lower than 50 g of immunoglobulinG/l and were consequently classified as poor quality. Correlation between the hydrometer and the gold standard was 0.57 and between Brix-refractometer and RID 0.73. Sensitivity and specificity of the hydrometer were 0.60 and 0.86. Using two cut-off values of 21 and 22 % Brix the sensitivity was 1.0 and 0.36, respectively and the specificity 0.19 and 0.95. Further analyses showed that the best cut-off for our data was at 26.8 % Brix with a sensitivity of 0.72 and a specificity of 0.86.

The Brix-refractometer was easy to use, although Brix% were difficult to define with the optical refractometer, as the limits were often indefinite.

DISCUSSION

At a cut-off value of 21 or 22 % sensitivity and specificity of the Brix-refractometer were partially lower compared to other studies (Bielmann et al., 2010; Quigley et al., 2013). The optimal cut-off for our data was higher with 26.8%. One explanation for this deviation from values from literature could be that the optical interpretation of Brix-values is sometimes not accurate. It can be speculated if these outliers had an effect on the results and if this effect could be limited by a higher number of samples. Another aspect is that Brix-refractometer from different manufacturers have not been evaluated with regard to repeatability and reproducibility of the results.

CONCLUSION

In conclusion, the hydrometer as well as the Brix-refractometer were easy to use and practical for estimating colostrum quality in the field. A cut-off-value for good colostrum quality has to be discussed.

REFERENCES

1. Bielmann, V., J. Gillan, N. R. Perkins, A. L. Skidmore, S. Godden and Leslie, K. E. 2010. An evaluation of Brix refractometry instruments for measurement of colostrum quality in dairy cattle. J. Dairy Sci. 93, 3713-3721.
2. Chigerwe, M., Tyler, J. W., Middleton, J. R., Spain, J. N., Dill, J. S., Steevens, B. J. 2008. Comparison of four methods to assess colostral IgG concentration in dairy cows. J. Am. Vet. Med. Assoc. 233(5), 761-766.
3. Godden, S. 2008. Colostrum Management for Dairy Calves. Vet. Clin. North Am. Food Anim. 24, 19-39.
4. McGuirk, S. M., Collins, M. 2004. Managing the production, storage, and delivery of colostrum. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 20 (3), 593-603.
5. Pritchett, L. C., Gay, C. C., Hancock, D. D., Besser, T. E. 1994. Evaluation of the hydrometer for testing immunoglobulin G1 concentrations in Holstein colostrum. J. Dairy Sci. 77(6), 1761-1767.
6. Quigley, J. D., Lago, A., Chapman, C., Erickson, P., Polo, J. 2013. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrum. J. Dairy Sci. 96(2), 1148-1155.
7. Swan, H., Godden, S., Bey, R., Wells, S., Fetrow, J., Chester-Jones, H. 2007. Passive transfer of immunoglobulin g and preweaning health in Holstein calves fed a commercial colostrum replacer. J. Dairy Sci. 90, 3857-3866.
8. Weaver, D. M., Tyler, J. W., VanMetre, D. C., Hostetler, D. E., Barrington, G. M. 2000. Passive transfer of colostral immunoglobulins in calves. J. Vet. Intern. Med. 14(6), 569-577.

PERFIL RACIAL DE LAS GRANJAS DE LECHE ECOLÓGICAS DEL NORTE DE ESPAÑA

Rodríguez-Bermúdez R[1], Orjales, I[2], Miranda, M[2], Rey-Crespo, F[1,3], Cortés L[1], López-Alonso, M[1]

[1]Universidade de Santiago de Compostela, Departamento de Patoloxía Animal, Facultade de Veterinaria, 27002 Lugo, Spain.

[2]Universidade de Santiago de Compostela, Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultade de Veterinaria, 27002 Lugo, Spain.

[3]Centro Tecnológico Agroalimentario de Lugo (CETAL), 27003 Lugo, Spain.

RESUMEN

En los sistemas en pastoreo y/o ecológicos es muy importante tener animales bien adaptados al ambiente de producción. La mayoría de las razas utilizadas en ganadería ecológica son las mismas que en convencional, estos animales pueden considerarse como animales de elevadas necesidades energéticas que se seleccionaron para alta producción en un ambiente diferente al de la producción ecológica. La adaptación de estos animales a ecológico es cuestionable, los sistemas de producción ecológica deberían tener vacas robustas que estuviesen mejor adaptadas al ambiente de producción ecológica. Este estudio se llevó a cabo en 56 explotaciones ecológicas del Norte de España, donde se realizaron encuestas que constataron que las vacas no estaban adaptadas a la producción ecológica. El objetivo de esta investigación es presentar la situación de la ganadería ecológica de leche en esta zona, mostrando que razas son más comunes y las principales causas de eliminación.

SUMMARY

In grazing or organic systems it is very important to have an animal well adapted to the production environment. Most of the breeds used in organic husbandry are the same to those in conventional one; these animals can be considered as high maintenance animals selected for high milk production in an environment different from that of the organic production. The suitability of those animals to an organic system is questionable, organic systems should have more robust cattle and better adapted to the organic production environment. This study was carried out in 56 organic farms in the North of Spain; surveys were made to verify that cows were not adapted to organic production. The objective of this investigation is exhibit the situation of organic dairy livestock in those regions, showing what are the most common breeds and the main reasons for culling.

INTRODUCCIÓN

La ganadería ecológica se basa en la producción de animales en un sistema que utiliza mayoritariamente forrajes, haciendo hincapié en mejorar la salud y el bienestar animal, y en reducir la utilización rutinaria de tratamientos veterinarios convencionales, fertilizantes y pesticidas (1, 2); es decir, en la creación de un sistema agro-ecológico sostenible, ligado a la tierra y autosuficiente.

La mayoría de las razas usadas en convencional pueden considerarse de alta producción que requieren tratamientos profilácticos y grandes cantidades de concentrado en la alimentación para alcanzar todo su potencial productivo. Estas razas puede que no sean capaces de expresar todo este potencial en condiciones ecológicas y/o de pastoreo, por lo que una opción sería utilizar vacas más robustas (2). La selección continuada para la producción de leche en la raza Frisona resultó en una reducida eficiencia reproductiva, aumento de los problemas de salud, aumento de las tasas de eliminación y descenso de la vida productiva (3).

El objetivo de esta investigación es presentar la situación de la ganadería ecológica de leche en el Norte de España, mostrando que razas son más comunes y las principales causas de eliminación.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el estudio participaron todas las explotaciones ecológicas del Norte de España, un total de 56 ganaderías (Galicia, Asturias, Cantabria y País Vasco). Se realizaron encuestas semi-estructuradas a todos los ganaderos de las que se obtuvo información detallada acerca de diferentes aspectos sobre el manejo de la explotación y la producción, incluyendo información detallada de las razas, grado de satisfacción y razones de selección de la raza, así como causas de eliminación. Todos los análisis estadísticos se realizaron usando el programa SPSS para Windows (V.20.0).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La raza predominante en las explotaciones ecológicas de leche en el Norte de España es la Frisona (82,3%). Las razas minoritarias son la Parda Alpina (2,45%), Fleckvieh (1,87%), Montbeliarde (1,33%) y Roja Sueca (0,99%). Los cruces de todas las razas representan un 11,0%, la mayoría de los cruces tienen un progenitor Frisón y otro de una raza rústica (Figura 1). Las vacas Frisonas dominan los rebaños ecológicos de muchos países, ya que muchos ganaderos usan los mismos sementales criados en sistemas convencionales (4). Aún así, existen situaciones diferentes como es el caso de Suecia donde la raza Roja Sueca es la predominante en la ganadería ecológica (2).

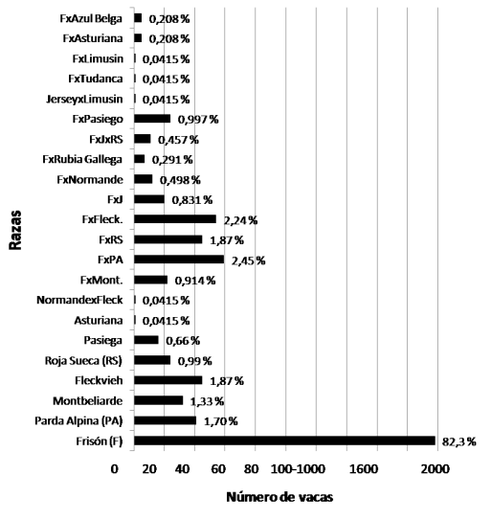


Figura 1. Datos de la diversidad racial de las explotaciones ecológicas de leche en el Norte de España (Fleck.: Fleckvieh; Mont.: Montbeliarde; J: Jersey).

Se les preguntó a los ganaderos si los animales que usaban para producir leche eran adecuados para los sistemas de producción de leche ecológica, el 57,1% de los ganaderos respondieron que les gustaría tener una raza más adaptada. Además, se les preguntó que característica fue la más importante a la hora de seleccionar las vacas de leche. La mayoría contestaron que la razón principal para seleccionar una vaca fue su adaptabilidad (26,8%), con menor frecuencia otras razones como durabilidad (16,1%), resistencia a enfermedades (15,6%), calidad de la leche (12,5%), reducción de las necesidades (12,5%) y rusticidad (10,6%). Muchos ganaderos transforman sus explotaciones en negocios multifuncionales, para esta finalidad las vacas de leche necesitan otras características además de la producción de leche.

En cuanto a las causas de eliminación la mayoría de los ganaderos respondieron que la principal es la edad del animal (73,2%), con menor frecuencia aparecen otras razones como la infertilidad (14,3%), la mamitis (10,7%) y las cojeras (1,79%). Estos datos parecen mostrarnos que la raza Frisona no tiene problemas importantes de adaptación al sistema, pues la principal causa de eliminación de las vacas en los sistemas ecológicos de leche de nuestro estudio es la edad del animal. Esto puede deberse a una menor presión productiva que permite que las vacas tengan una vida productiva más larga. Sin embargo, en Suecia las principales causas de eliminación son la mala salud de la ubre, seguido de la baja fertilidad (2). Los ganaderos del Norte de España no están satisfechos con el comportamiento productivo de la actual vaca Frisona y quieren una vaca mejor adaptada, tal como manifestaron en la encuesta.

CONCLUSIONES

(i) la diversidad racial en los rebaños ecológicos de leche en el Norte de España es limitada, siendo predominante la raza Frisona; (ii) los ganaderos piensan que las vacas que están produciendo ahora leche en ecológico no están adaptadas a este tipo de sistemas y (iii) la principal causa de eliminación en los sistemas ecológicos de leche es la edad del animal, por lo que puede concluirse que no tienen mucha incidencia de otros problemas como mamitis, fertilidad como en otros países o sistemas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rozzi P, Miglior F, Hand KJ. A Total Merit Selection Index for Ontario Organic Dairy Farmers. J Dairy Sci. 2007; 90(3):1584-93.
2. Ahlman T, Berglund B, Rydhmer L, Strandberg E. Culling reasons in organic and conventional dairy herds and genotype by environment interaction for longevity. J Dairy Sci. 2011; 94(3):1568-75.
3. González-Recio O, Alenda R, Chang YM, Weigel KA, Gianola D. Selection for Female Fertility Using Censored Fertility Traits and Investigation of the Relationship with Milk Production. J Dairy Sci. 2006; 89(11):4438-44.
4. Nauta WJ, Saatkamp H, Baars T, Roep D, editors. Breeding in organic farming: different strategies, different demands. Joint Organic Congress; 2006 May 30-31, 2006; Odense, Denmark.

MEDICINA //MEDICINE

OUTCOME OF SURGICAL TREATMENT FOR UMBILICAL SWELLINGS IN BOVINE YOUNGSTOCK

[1]Williams H.J., [1]Gillespie A.V., [1]Oultram J.W., [2]Cripps P.J.C., [1]Holman A.N.

1 Leahurst Farm Animal Practice, University of Liverpool, Leahurst Campus, Chester High Road, Neston, Cheshire CH64 7TE

2 Division of Livestock Health and Welfare, University of Liverpool, Leahurst Campus, Chester High Road, Neston, Cheshire CH64 7TE

Email address of corresponding author: helen.williams@liv.ac.uk

Umbilical swellings are commonly identified in calves (Steenholdt and Hernandez 2004) and can be caused by hernia formation, infection of the remnants of umbilical vessels or a combination of both (Edwards 1992). The surgical technique used to remove infected umbilical remnants and to correct umbilical hernias is well described (Edwards 1992, Steiner and others 1993, Baird 2008). However there is scant information on the short and long term success of such surgery and likely complications which may be encountered.

Ninety-one bovine cases with an umbilical swelling were admitted to the Leahurst Farm Animal Practice (LFAP) between 2004-2012. Fifty-five had a simple hernia and 36 had associated infection. Surgical procedures varied between closure of uncomplicated hernial rings, placement of a prolene mesh to correct a large body wall defect and surgical resection of infected intra-abdominal umbilical structures.

Eighty-seven cases underwent surgery of which 86 survived until discharge. Post-operative complications occurred in 65/86 animals (73%). In 51 cases (81%) this was classified as minor requiring no additional treatment, in eight (13%) the complications were deemed to be moderate requiring additional treatment or hospitalisation and in four (6%) the complications were severe resulting in further surgery or prolonged extra medical attention. Placement of a prosthetic mesh was associated with a higher odds ratio for developing severe post-operative complication when compared to those not receiving a mesh (OR= 19.3; 95% CI 4.5-83.5). Concurrent disease also increased the risk of post-operative complications, which was 100% (16/16) in affected calves compared with 67% (46/69) amongst calves without abnormalities (Odds Ratio = 10.8, 95% C.I., 1.7 - ∞, P = 0.01).

Long- term survival results were available for 49 animals, 22 of which were remaining in the herd with a median age of 1346 days (3.7 years). Of the 27 animals which had exited the herd 16 were adult dairy cows, 7 were dairy heifers, 2 were beef animals and 2 exited at an unknown stage.

Umbilical surgery in calves carries a good prognosis although placement of a mesh or concurrent disease increases the risk of complications occurring in the post-operative period.

REFERENCES

1. BAIRD, A.N. (2008) Umbilical Surgery in Calves. Veterinary Clinics of North America 24, 467-477
2. EDWARDS, G.B. (1992) Umbilical hernias and infections in calves. In Practice 14, 163-170
3. STEENHOLDT, C. & HERNANDEZ, J. (2004) Risk factors for umbilical hernia in Holstein heifers during the first two months after birth. Journal of the American Veterinary Medical Association 244, 1487-1490
4. STEINER, A., LISCHER, C.J. & OERTLE, C. (1993) Marsupialization of Umbilical Vein Abscesses With Involvement of the Liver in 13 Calves. Veterinary Surgery 22, 184-189

ECBHM
European College of Bovine Health Management

EFFICACY OF SALICYLIC ACID FOR TOPICAL TREATMENT OF DIGITAL DERMATITIS

Johann Kofler, Prof Dr med vet DECBHM

Carmen Innerebner, Mag med vet

Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, Clinic for Ruminants, University of Veterinary Medicine Vienna, Veterinärplatz 1, A-1210 Vienna, Austria; Johann.Kofler@vetmeduni.ac.at

ABSTRACT

The efficacy of the salicylic acid paste (PASTE) was tested for topical treatment of 25 acute and 25 chronic digital dermatitis (DD) lesions. The control groups with the same number of acute and chronic DD lesions were treated with local application of oxytetracycline spray (SPRAY) and with washing of the lesion with water only (HYDRO). These 150 DD lesions were diagnosed in 101 dairy cows of one commercial dairy farm. The therapeutic effect was evaluated using a pain score and by evaluation of the appearance of the DD lesion surface. Pre-treatment and control examination scores were evaluated on day 0, 4, 14 and 21.

DD lesions treated with salicylic acid showed a faster disappearance of pain and higher recovery rates compared with the lesions of the control groups. In the group PASTE 76.0% of DD lesions showed no more pain and 64% of DD lesions showed complete recovery on day 21. Only 44.0% of the DD lesions in the SPRAY group and 20.0% in the HYDRO group were pain-free up to day 14. 28.0% of DD lesions treated with SPRAY and 16.0% of the lesions treated with HYDRO were completely recovered at day 21.

Acute and chronic DD lesions treated with salicylic acid paste showed much better results that were significantly different to the two other groups. These findings indicate that the non-antibiotic

salicylic acid paste proved to be a valuable alternative to the topical antibiotic treatment for DD in dairy cattle.

INTRODUCTION

Digital dermatitis (DD) is considered a multifactorial disease with infectious, environmental, farm-management and individual-animal factors playing a role in its pathogenesis (1-3). DD causes considerable pain and discomfort and a high lameness prevalence in many dairy herds (4, 5). The economic loss per case of DD was calculated to be 132 US$ per cow and lactation (6). The acute stage of DD appears as a circumscribed, erosive purulent dermatitis with a diameter of less or more than 2 cm (M1, M2 stage) involving predominantly the plantar border between keratinised and non-keratinised skin of hind feet (1, 2).

The most common methods used for treatment of DD include antibiotic and non-antibiotic formulations applied topically with/ without bandage, footbaths using various disinfectant solutions or parenteral application of antibiotics and surgical removal of interdigital dermatitis lesions (1, 7-14). Furthermore, functional claw trimming should be carried out to ensure a correct claw conformation and a correct heel-height before starting treatment of acute DD in a herd (1, 13). During the last years, salicylic acid powder or paste has been increasingly used for topical treatment of acute DD (5, 15). Recently the removal of biofilms from DD lesions has been recommended using automatic washing systems (16, 17) or applying a specific wound dressing (18).

The objective of this study was to evaluate the effectiveness of a topically applied paste containing salicylic acid in comparison with the topical application of oxytetracyline and topical hydrotherapy in acute and chronic stages of DD.

MATERIAL AND METHODS

This field study was conducted on lactating Holstein-Friesian cows in a commercial dairy farm with endemic DD infection. A total of 150 DD lesions were included within a seven months period, 75 were acute and 75 were chronic DD lesions. Topical therapy with salicylic acid paste (PASTE) (Novaderma®-Paste, WDT, Garbsen, Germany) combined with the application of a hoof bandage was compared with the standard treatment comprising topical application of oxytetracycline spray (SPRAY) (Terramyin® Aerosol Spray, Vienna, Pfizer Austria). In the control group, the DD lesions were washed with water (hydrotherapy) (HYDRO) exclusively. On day 0 functional claw trimming was performed, and the cases were randomly selected into three trial groups (PASTE, SPRAY, HYDRO) of 25 cases each. The parameters localization, pain score, and appearance of the surface (13) were checked. Evaluation of these parameters was repeated on day 4, day 14 and day 21. In cases of still painful lesions at day 4 the same topical therapy was repeated as given on day 0. The Chi- Quadrat test was used for analysis of the significance of the variables pain score and appearance of the lesion surface on days 4, 14 and 21 within / between the groups ($p < 0.05$).

RESULTS

In the trial group (PASTE) 60% of the acute DD cases showed no pain at day 4, 76% at day 14 and day 21. In the control groups, the maximum number of pain-free lesions was observed at day 14 with 44.0% in the SPRAY group and 20.0% in the HYDRO group. A complete recovery (normal skin surface) was noticed in 12.0% of acute DD lesions in the PASTE group at day 4, 76.0% at day 14 and 64% at day 21 respectively.

In the control groups, the complete recovery rate was clearly lower with 32.0% (SPRAY) and 8.0% (HYDRO) at day 14 and with 28% (SPRAY) and 16.0% (HYDRO) at day 21. Significant differences of the pain score and the recovery rate were found in acute DD lesions between the groups PASTE and SPRAY on days 4 and 14, and between the groups PASTE and HYDRO for days 4, 14 and 21.

Recovery rates of chronic DD lesions were also higher in the trial group (PASTE) with 44.0% at day 4 and day 14 and 36.0% at day 21. In both control groups the recovery rates of chronic DD lesions were lower with 16.0% (SPRAY) and 32.0% (HYDRO) at day 14 and 20.0% (SPRAY) and 28.0% (HYDRO) at day 21 respectively. Significant differences were found for the appearance of the surface in chronic DD lesions between all three treatment groups at day 4, no significant differences were assessed for these parameters at day 4 and day 21.

CONCLUSIONS

These results suggest that the progress of healing and the recovery rate of DD lesions depend substantially on applied topical medication. Using salicylic acid 76.0% of DD lesions were pain free and 64% of DD lesions showed complete recovery already on day 21. In contrast, only 44.0% of DD lesions treated with SPRAY and 20.0% of the HYDRO group lesions were pain-free up to day 14. Up to day 21, 28.0% of the DD lesions treated with SPRAY and 16.0% of the HYDRO group lesions were completely recovered, showing a normal skin surface. However, it was an interesting result, that at least 16% of DD lesions showed a complete recovery by washing with water only, comparable with results of Thomsen et al (17). In contrast, Schultz et al (15) reported a much lower healing rate of 13.6% for salicylic acid and 3.1% for tetracycline spray by day 34. In contrast to the topical application of tetracycline spray (12, 13) the local treatment with salicylic acid paste is more time-consuming since a bandage has to be applied (6) to cover the lesion and to fix the paste, but is justified by a far better outcome. The application of salicylic acid paste proved to be a valuable alternative to antibiotic aerosols (12, 13), and copper sulfate solutions or gels (8, 12-14) in the treatment of DD lesions in single cows.

REFERENCES

1. Doepfer D. Epidemiological investigations of digital dermatitis on two dairy farms. Thesis, Tieraerztliche Hochschule, Hannover; 1994.
2. Doepfer D, Koopmans A, Meijer FA, Szakall I, Schukken YH, Klee W et al. Histological and bacteriological evaluation of digital dermatitis in cattle, with special reference to spirochaetes and *Campylobacter faecalis*. Vet Rec, 1997;140:620-623.
3. Gomez A, Cook NB, Bernardoni ND, Rieman J, Dusick AF, Hartshorn R et al. An experimental infection model to induce digital dermatitis infection in cattle. J Dairy Sci. 2012;95:1821–1830.
4. Somers JGCJ, Frankena K, Noordhuizen-Stassen EN, Metz JHM. Risk factors for digital dermatitis in dairy cows kept in cubicle houses in The Netherlands. Prev Vet Med. 2005;71:11-21.
5. Capion N, Boye M, Ekstrøm CT, Jensen TK. Infection dynamics of digital dermatitis in first-lactation Holstein cows in an infected herd. J Dairy Sci. 2012;95:6457-6464.
6. Cha E, Hertl JA, Bar D, Gröhn YT. The cost of different types of lameness in dairy cows calculated by dynamic programming. Prev Vet Med. 2010;97(1):18.
7. Laven RA, Logue DN. Treatment strategies for digital dermatitis for the UK. Vet J. 2006;171: 79-88.

8. Relun A, Lehebel A, Bareille N, Guatteo R. Effectiveness of different regimes of a collective topical treatment using a solution of copper and zinc chelates in the cure of digital dermatitis in dairy farms under field conditions. J Dairy Sci. 2012;95:3722-3735.
9. Hernandez J, Shearer JK, Elliott JB. Comparison of topical application of oxytetracycline and four non-antibiotic solutions for treatment of papillomatous digital dermatitis in dairy cows. J Am Vet Med Assoc. 1999;214:688-690.
10. Shearer JK, Hernandez J. Efficacy of two modified non antibiotic formulations (Victory®) for treatment of papillomatous digital dermatitis in dairy cows. J Dairy Sci. 2000;83:741-745.
11. Laven RA, Hunt H. Evaluation of copper sulphate, formalin and peracetic acid in footbaths for the treatment of digital dermatitis in cattle. Vet Rec. 2002;151:144-146.
12. Manske T, Hultgren J, Bergsten C. Topical treatment of digital dermatitis associated with severe heel-horn erosion in a Swedish dairy herd. Prev Vet Med. 2002;53:215-231.
13. Kofler J, Pospichal M, Hofmann-Parisot M. Efficacy of the non-antibiotic paste Protexin® Hoof-Care for topical treatment of digital dermatitis in dairy cows. J Vet Med A. 2004;51:447-452.
14. Holzhauer M, Döpfer D, De Boer J, Van Schaik G. Effects of different intervention strategies on the incidence of papillomatous digital dermatitis in dairy cows. Vet Rec. 2008;162:41-46.
15. Schultz N, Capion N. Comparison of the effect of salicylic acid and tetracycline for treatment of digital dermatitis. Proc 17th Int. Symposium & 9th In. Conference on Lameness in Ruminants, Bristol, UK; 2013.
16. Fiedler A. Claw cleaning and claw disinfection – how well does claw cleaning equipment meet these criteria? Proc 16th Int. Symposium and 8th Conference on Lameness in Ruminants, Rotorua, New Zealand; 2011.
17. Thomsen PT, Kjaer Ersboll A, Hemling,TC, Sorensen JT. Automatic washing of hooves can help cure digital dermatitis in dairy cows. Proc 16th Int. Symposium and 8th Conference on Lameness in Ruminants, Rotorua, New Zealand; 2011.
18. Fiedler A, Haas J, Hoefler R, Kellhuber H, Moosbauer M, Warmedinger H et al. Polyurethane wound dressing on digital dermatitis. Proc 17th Int. Symposium & 9th Int. Conference on Lameness in Ruminants, Bristol, UK; 2013.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

ELECTRONIC DOCUMENTATION AND ANALYSIS OF CLAW DATA FOR MONITORING CLAW HEALTH IN DAIRY HERDS

Johann Kofler, Prof Dr med vet DECBHM

Department for Farm Animals and Veterinary Public Health, Clinic for Ruminants, University of Veterinary Medicine Vienna, Veterinärplatz 1, A-1210 Vienna, Austria; Johann.Kofler@vetmeduni.ac.at

ABSTRACT

Whereas regular recording of udder health, milk solids and reproduction data are common practices in dairy farms, continuous claw health monitoring is not yet widely established.

The aim of this study was to demonstrate how the claw health of dairy herds can be monitored over a defined time period using a computerised claw trimming database program.

Claw data of 557 cows were documented electronically during routine claw trimming at ten dairy farms at two and three subsequent visits with intervals of five to twelve months. Data of these 23 visits were analysed automatically for prevalence of claw lesions, prevalence of severity scores, prevalence of lameness, and the mathematical parameters Cow-Claw-Score (CCS), Farm-Claw-Score (FCS) and Farm-Zone-Score (FZS). The chronological progression of CCS and FCS values and the claw lesion prevalences was illustrated by boxplot and radarplot graphs respectively.

Prevalence of not lame cows ranged from 95.0% to 21.1% at visit 1 and from 100% to 12.6% at visit 2. In single herds heel horn erosion (HHE), white line lesions (WLL), sole haemorrhages (SH), and acute digital dermatitis (DD) were consistently within the three most frequently observed lesions. Prevalences of claw lesions differed widely in single herds and visits, a statistically significant improvement was found for CCS scores in eight of ten herds over time.

Electronic documentation of claw data at regular claw trimming visits and immediate computed analysis of these data with calculation of a wide range of parameters mentioned above and their graphical arrangement enable the continuous monitoring of claw health in herds and allow review of the effects of prophylactic measures taken to decrease the lameness prevalence in dairy herds.

INTRODUCTION

A high lameness incidence and/or prevalence of 10% to 70% have been reported continuously over the last decades all over the world (1, 2). Although lameness is recognised as an important animal welfare issue (3) and is ranked as the third most important cause of economic loss on dairy farms (4), continuous claw health monitoring and regular documentation of the claw health is still in its beginning (5-7). In contrast, recording and analysis of dairy cow energy and protein supply, reproduction, and udder health are routine herd health management procedures on many dairy farms today (8, 9). The availability of computerised data analysis has been recognised as precondition for efficient herd health monitoring (10).

In recent years, claw-trimming professionals in Europe and North America have introduced programs for electronic documentation of claw data (11). They record client and farm details, cow identification, a pre-selected variety of claw lesions, severity scores, and applied treatments. The programs are suitable for automatic analysis of some or all of the following parameters: prevalence of claw lesions, proportion of lesions in each severity score category, accurate lesion location, and lameness prevalence. Invoices can be calculated and printed together with the analyses instantly after completion of the visit. Additionally, most of these programs include interfaces to link in with other herd health management programs (7, 11-13).

The Austrian "Klauenmanager" program offers twelve defined claw lesions and three severity scores of each lesion (6), according to previous recommendations (14-16). These authors described methods for geometrical calculation of claw scores using severity scores for the various claw lesions, thus establishing the mathematical parameters Cow-Claw-Score (CCS) and Farm-Claw-Score (FCS) (6). The CCS is the sum of the geometrically calculated severity scores of the lesions in all ten zones of all eight claws in one cow (14-16). The FCS is the median of all CCS of a

herd (17). The Farm-Zone-Score (FZS) is the total of all CCS of all cows in a herd for each particular claw zone (6).

The aim of this report was to demonstrate how the claw health of dairy herds can be monitored over defined time periods using the computerised claw trimming database program "Klauenmanager", and to present the most relevant parameters for comparison of these data.

MATERIAL AND METHODS

Data of 557 cows were documented electronically during routine claw trimming at ten dairy farms by the same claw trimmer. The cows' feet were trimmed two and three times with intervals of five to twelve months. The data of these 23 visits were analysed automatically for the following parameters: prevalence of claw lesions, prevalence of severity scores, prevalence of lameness, CCS and FCS and Farm-Zone-Score (FZS). The significance of differences of the CCS values and locomotion scores between the two and three consecutive visits of the ten herds was evaluated using the Friedman test for paired samples ($p< 0.05$). The chronological progression of the CCS and FCS values was illustrated by boxplot graphs, the chronological progression of claw lesion prevalences over the subsequent visits by radarplot graphs.

RESULTS

The prevalence of not lame cows ranged from 95.0% to 21.1% at visit 1 and from 100% to 12.6% at visit 2. The mean prevalence of claw lesions in all ten herds was 62.4% for HHE, followed by WLL (33.6%), SH (27.2%), and acute stages of DD (16.7%). The prevalence of these lesions varied distinctively between herds. However HHE (n=10), WLL (n=9), SH (n=10), acute DD (n=4) and chronic laminitic claws (n=2) were consistently within the three most frequently observed lesions. CCS ranged from 0 to 276, the FCS from 6 to 72. A statistically significant improvement was found for CCS scores in eight of ten herds over time. Locomotion scores and CCS were significantly correlated at 21 of 23 visits.
The parameters FCS (median of all CCS of a herd), length of the upper quartiles (25% of cows), length of the upper whiskers (25% of cows with the worst claw health) in the boxplot graphs, the FZS-max, the prevalence of lameness, the prevalence of claw lesions and of their severity scores proved to be very helpful for a detailed comparison of claw data of herds over subsequent visits.

CONCLUSIONS

Electronic recording of claw data at regular claw trimming visits, their immediate computed analysis with automatic calculation of a wide range of parameters and their graphical arrangement provide all the prerequisites for vets to establish a modern claw health monitoring program. In addition, such recording systems can be used to review the effects of measures taken to improve lameness in herds (7, 11-13).
The CCS reflect the claw health of one single cow, and the FCS expresses the claw health of the herd in one number (6, 12) and can be used by the farmer, claw trimmer and vet as a claw health management tool. A "fine tuning" of claw health progression over subsequent visits is achieved with a boxplot graph of CCS values. The median of all the CCS of a herd is indicated by the FCS, the length of the box over the median and the length of the upper whiskers with the circles give a detailed but easily understandable description of the variation of the upper quartiles (25% of CCS values) and of the variation of the highest 25% of CCS values (maximum values) respectively for any claw trimming visit (12, 18). In the near future, computerised claw trimming database programs will highly support the monitoring of claw health in dairy herds worldwide (11).

REFERENCES

1. Green LE, Hedges VJ, Schukken YH, Blowey RW, Packington AJ. The impact of clinical lameness on the milk yield of dairy cows. J Dairy Sci. 2002;85:22502256.
2. Chapinal N, Barrientos AK, von Keyserlingk MAG, Galo E, Weary DM. Herd-level risk factors for lameness in freestall farms in the northeastern United States and California. J Dairy Sci. 2013;96:318–328.
3. Shearer JK, Stock ML, Van Amstel SR, Coetzee JF. Assessment and management of pain associated with lameness in cattle. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2013;29:135-156.
4. Bruijnis MRN, Hogeveen H, Stassen EN. Assessing economic consequences of foot disorders in dairy cattle using a stochastic simulation model. J Dairy Sci. 2010;93:2419-2432.
5. Landmann D, Eise M, Fiedler A, Feldmann M, Feucker W. PC-supported documentation of claw diseases as the basis for herd management. Proc 13th International Symposium on Lameness in Ruminants, Maribor, Slovenia, 2004:99–100.
6. Kofler J, Hangl A, Pesenhofer R, Landl G. Evaluation of claw health in heifers in seven dairy farms using a digital claw trimming protocol and program for analysis of claw data. Berlin Münch Tierärztl Wschr. 2011;124: 10–19.
7. Wenz JR, Giebel SK. Retrospective evaluation of health event data recording on 50 dairies using Dairy Comp305. J Dairy Sci. 2012;95:4699–4706.
8. Khaitsa ML, Wittum TE, Smith KL, Henderson JL, Hoblet KH. Herd characteristics and management practices associated with bulk-tank somatic cell counts in herds in official dairy improvement association programs in Ohio. Am J Vet Res. 2000;61:1092-1098.
9. Martin R, Mansfeld R, Hoedemaker M, De Kruif A. Milchleistung und Fütterung. In: Tierärztliche Bestandsbetreuung beim Milchrind. De Kruif A, Mansfeld R, Hoedemaker M, editors, Stuttgart: Enke Verlag; 2007.
10. Etherington WG, Kinsel ML, Marsh WE. Options in dairy data management. Can Vet J. 1995;36:28–33.
11. Kofler J. Computerised claw trimming database programs – the basis for monitoring hoof health in dairy herds. Vet J. 2013;198:358–361.
12. Kofler J, Pesenhofer R, Landl G, Sommerfeld-Stur I, Peham C. Monitoring of dairy cow claw health status in 15 herds using the computerised documentation program Claw Manager and digital parameters. Tierärztl Prax. 2013;41(G):31-44.
13. Shearer JK, Van Amstel SR. Lameness detection, examination, and record-keeping. In: Shearer JK, Van Amstel SR. editors. Manual of foot care in cattle. 2nd ed, Fort Atkinson, WI, USA: WD Hoards & Sons Company; 2013.
14. Greenough PR, Vermunt JJ. Evaluation of subclinical laminitis in a dairy herd and observations of associated nutritional and management factors. Vet Rec. 1991;128:1117.
15. Leach KA, Logue DN, Randall JM, Kempson SA. Claw lesions in dairy cattle: methods or assessment of sole and white line lesions. Vet J. 1998;155:91-102.
16. Smilie RH, Hoblet KH, Eastridge ML et al. Subclinical laminitis in dairy cows: use of severity of hoof lesions to rank and evaluate herds. Vet Rec. 1999;144:17–21.
17. Huber J, Stanek C, Troxler J. Effects of regular claw trimming in different housing systems. Proc 13th International Symposium on Lameness in Ruminants, Maribor, Slovenia, 2004:116–117.

18. Keplinger J, Rinner D, Kofler J. Evaluation of claw health status of beef suckler cows in Austria using a digital claw trimming database program. Wien Tierärztl Mschr. 2013:100:115-126.

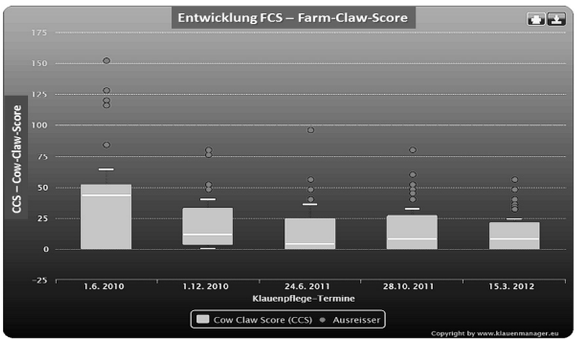


Fig. 1: Boxplot diagram of the CCS (Cow-Claw-Score) values of herd no. 4 with 60 cows of five subsequent claw trimming visits giving a good overview of the chronological trend of the CCS values. In addition to the median (FCS), the length of the box, the length of the upper quartile and the length of the whiskers with the upper circles serve as parameters for the evaluation of claw health progression over time. The line within the boxes indicates the median (FCS). The length of the boxes equals the interquartile range (IQR), 50% of the values lie within the box. The whiskers and the upper circles enclose the 25% of cows with the highest CCS values (with the worst claw health).

In this herd, the FCS decreased from 40 to 12 at the second visit and remained at a range between 4 and 8. Again, there was an obvious decrease of the CCS values in the 25% cows with the worst claw health, represented by the length of the upper whiskers and the upper circles from visit to visit.

In this herd with an endemic digital dermatitis infection, after the first visit with electronic data documentation a treatment program was started and prophylatic measures were implemented and continued until today. In this way the claw health was obviously improved.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

HAEMORRHAGIC ENTERITIS IN NEW-BORN CALVES ASSOCIATED WITH CLOSTRIDIUM PERFRINGENS CONTAMINATED COLOSTRUM INTAKE

Valgaeren B.[a], Pardon B.[a], Verherstraeten S.[b], Goossens E.[b], Van Immerseel F.[b], Deprez P.[a]

[a] Department of Large Animal Internal Medicine,

[b] Department of Pathology, Bacteriology and Poultry Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

Clostridium perfringens is a well-known cause of hemorrhagic abomasitis in newborn calves and enterotoxaemia in older calves. This spore-forming, anaerobic bacterium is ubiquitous in the environment and in the bovine intestinal flora and can be found in contaminated colostrum or milk. Although the replication is strictly anaerobic, spores and even vegetative bacteria are oxygen-tolerant. Neonates have a high abomasal pH, which allows passage of immunoglobulins and bacteria, and lack a competitive flora, such as *Bacillus cereus*, which inhibits clostridial overgrowth. When calves are fed contaminated colostrum, clostridial spores become vegetative in the abomasum and intestine, with subsequent clostridial growth and toxin production (mainly alpha-toxin and perfringolysin). Also, colostrum has a trypsin-inhibitory activity, which protects these toxins from degradation of, and can therefore facilitate the development of haemorrhagic intestinal lesions as documented in calves and other species. Therefore, uptake of colostrum contaminated by *C. perfringens* might be a risk for haemorrhagic enteritis and abomasitis in calves.

In 4 years' time, 10 cases on 4 farms of haemorrhagic enteritis in new-borns, with or without clostridial abomasitis, were observed. All but one case belonged to the Belgian Blue (BB) breed. In all Belgian Blue farms, multiple cases occurred within a period of 2 days up to 3 weeks. Symptoms started within 4 and 24 hours after birth and consisted of anorexia, colic, shock, severe acidosis and apathy. All calves died within 3 and 30 hours after onset of symptoms. Necropsy was performed on 7/10 calves and revealed a haemorrhagic enteritis in all cases. In two cases also a haemorrhagic abomasitis was present, as well as a haemorrhagic typhlocolitis in two other cases. Histology confirmed the presence of necro-haemorrhagic enteritis. In one calf histology revealed gas bubbles in the submucosa en lamina propria of the mucosa, suggestive for infection with anaerobic bacteria, as well as thrombi in the blood vessels. In 4 calves intestinal content could be sampled between 10 minutes and 24 hours after death. An overgrowth of *C. perfringens* (>10^8cfu/g) was consistently present. In 3 farms, all calves received two liters of colostrum immediately after birth by oesophageal tube. On one farm 3 calves were bucket-fed 2 liters of colostrum immediately after birth. None of the farmers disinfected the tube or teat between calves, while on several farms these were weathered and visibly contaminated with milk residues. On two farms, swabs were taken from the tube and teat, respectively, and *C. perfringens* was isolated. Ten strains from the intestinal content of 2 calves and 10 strains from the tube and teat were typed by multiplex PCR as type A *C. perfringens* strains. No strains were β2-positive. It was advised to all farms to replace colostrum tubes and teats, to clean and disinfect between calves, and to avoid contamination of colostrum during collection, storage (refrigerator) and thawing. No new cases occurred on any of the 4 farms.

This case series demonstrates that next to haemorrhagic abomasitis also haemorraghic enteritis should be considered in the differential list of mortality in new-born calves. The presence of *C. perfringens* on colostrum tubes and teats and complete resolution of the problem after replacing the drenching material and improving hygiene of colostrum administration, support the suspected hazard associated with the presence of *C. perfringens* during bovine colostrum administration. Next to the administration of a sufficient quantity of colostrum, a hygienic administration should be assured.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

ADDED VALUE OF LIGHTNING LOCATION DATA IN THE CONFIRMATION OF LIGHTNING-RELATED FATALITIES IN LIVESTOCK BY THE VETERINARY EXPERT

B. Pardon[a], E. Vanneste[b], D.R. Poelman[c], K. Chiers[d], P. Deprez [a], P. Weyens[b]

a. Department of Large Animal Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine,

Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

b. Veterinary Expertise Agency, Dr. P. Weyens, P.P. Rubenslaan 29, B-9820 Merelbeke, Belgium

c. Belgian Royal Meteorological Institute, Ringlaan 3, B-1180 Brussels, Belgium

d. Department of Pathology, Bacteriology and Poultry Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

Many veterinarians around Europe are sporadically contacted by insurance companies to advise them on the plausibility of a death by lightning impact in livestock. Confirmation of a diagnosis compatible with fatal lightning impact is always based on circumstantial evidence (e.g. position of the animal, impact in a tree…) and pathological findings. Despite its importance, very little information is available in literature to help the veterinary expert in his/her judgment of individual insurance cases. Singe lesions and the presence of feed in the oral cavity as a sign of apoplectic death have historically been reported to be present in over 80% of the lightning related fatalities (LRF's). However, in the field, veterinarians are confronted with many LRF declarations which do not show pathognomonic signs. Moreover, it occurs that farmers attempt to confuse the investigation by creating false circumstantial evidence for animals which died from other causes. To deal with this issue, several expertise veterinarians contact their national meteorological service to check whether lightning impacts were detected at the time and location of the suspected death. Whether this practice positively contributes to a correct diagnosis of LRF is currently unknown. Therefore, the objective of the present study was to determine which anamnestic, environmental and pathological factors are associated with confirmation of LRF and in specific to determine the added value of lightning location data (cloud-to-ground discharges (CG)) for predictive models for LRF in livestock.

A dataset involving 410 LRF declarations, treated by the same veterinary expert in a 15 year period was available. All cases were treated in a systematic manner, which includes collection of anamnestic data by interview, of circumstantial evidence by inspection of the conditions in which the animal was found, and of pathological information by macroscopic inspection of the animal and necropsy. A total of 23 parameters were evaluated for their possible association with LRF by multivariable logistic regression modeling and sensitivity (SE) and specificity (SP) of the models with and without CG were determined.

In the studied practice on average 23% of the yearly treated dossiers involved LRF. Most (94.6%) declarations were cattle. Of the LRF declarations, 52.8% (n=217) was rejected (negative advice) by the expertise veterinarian and 47.2% (n=194) was finally accepted as a mortality compatible with lightning (positive advice). The highest number of lightning declarations, both positive and negative advices, were systematically found between June and August. Singe lesions were present in 43.3% (n = 84/194) of the confirmed cases, and absent in all negative advices. The final multivariable model to predict a positive advice by an expertise veterinarian on a declared LRF case consisted of age (odds ratio (OR)= 1.7 (1.0-3.0) for animals > 1 year old), presence of a tree within 10 meters of the cadaver (OR= 2.3 (1.2-4.5), presence of open water within 10 meters (OR= 4.6 (2.0-11.0)), tympanic at the time of the expertise visit (OR= 13.2 (4.3-40.0)), presence of feed in the oral cavity (OR= 24.1 (9.1-64.0)) and detection of CG discharges (OR= 12.2 (5.8-25.9)) at time and location of the reported case. When only relying on CG as a predictor for LRF, the logistic model had a SE and SP of 91.2% and 41.5%, respectively. In contrast, the basic model based on all significant predictors except for CG had a SE of 53.6% and a SP of 88.0%. The best model was obtained when adding CG to this basic model which increased SE to 88.1% and decreased SP to 67.6%, resulting in a correct prediction in 78% of the declarations. This study clearly shows that solely relying on detection of CG discharges at time and location of the case, will correctly predict most of the positive cases (high sensitivity; CC detected in 94.3% of the positive cases), but performs very poor to what considers identification of negative cases (low specificity; CC detected in 58.5% of the negative cases), resulting in a large number of false positives. In contrast to what was observed for CG or CC, the basic model, constructed only on the veterinary expertise visit, has a lower sensitivity, but a much higher specificity. In other words, it is much better in identifying false positives, but lacks discriminative power for the true positives.

In conclusion, the present study shows that LRF in livestock is relatively frequent in Flanders, and is the primary reason for veterinary expertise. Pathognomonic signs are not systematically present, and wrong or fraudulent declarations are frequent. Lightning detection data are very valuable to increase the proportion of correctly diagnosed LRF's, but always needs to be combined with a veterinary expertise visit to rule out fraudulous declarations.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

CERVICAL OESOPHAGEAL PERFORATION BY A COLOSTRUM TUBE WITH METAL ENDPIECE IN NEONATAL CALVES

B. Pardon[a], B. Valgaeren[a], E. Van der Vekens[b], K. Chiers[c], J. Saunders[b], P. Deprez[a]

[a] Department of Large Animal Internal Medicine,

[b] Department of Veterinary Medical Imaging and Small Animal Orthopaedics,

[c] Department of Pathology, Bacteriology and Poultry Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Ghent University, Salisburylaan 133, B-9820 Merelbeke, Belgium

A cervical swelling in neonatal calves is a rather rare condition, which mostly affects individual animals, but can in certain cases involve a large number of calves within a herd. Injection related infections (abscesses, phlegmones or anaerobic infections), hematoma, callus formation after first rib fracture, thymoma, struma (hypothyroidea either by uptake of goitrogenic substances or by iodine deficiency), congestive edema due to congenital cardiac abnormalities, ectopia cordis and oesophageal injuries by application of an anthelmintic bolus (in older calves) are possible differential diagnoses, reported in literature.

In a Belgian Blue beef farm, in the past 6 months 5 out of 25

calves born, developed a marked swelling in the whole cervical region and anorexia. The lesions only occurred in calves younger than 5 days old, but neither farmer nor veterinarian could exclude whether this swelling was already present at time of birth. Treatment with prednisolone, furosemide and different antimicrobials failed and all animals died between 12 hours and 1 week after birth. A 2 days old calf with marked cervical swelling was transferred to the clinic for further examination. The calf had a normal rectal temperature, tachycardia (160 beats per minute) and tachypnea (80 breaths per minute). The cervical region was diffusely swollen from the intermandibular region up to the thoracic inlet. The jugular veins were not visible nor palpable by the swelling. The swelling was edematous, painful and a crepitation could be felt due to the presence of a limited amount of subcutaneous gaz. Thoracic auscultation showed slightly muffled lung sounds in the ventral regions. Endoscopic examination showed the presence of liquid content in the caudal part of the oesophagus, but was not diagnostic. Ultrasonographic examination with a 7,5 MHz linear probe showed the presence of subcutaneous gaz and echodense (inflamed) tissues in the whole of the cervical region, left and right. The dorsal part of the lungs showed normal reverberation artifacts, whereas the ventral part of the thorax contained free liquid. The pericardium was visualized as an echodense line, after which the heart could not be seen. Native thoracic radiographs confirmed the presence of pleural effusion and a pneumomediastinum. In the whole of the cervical region soft-tissue swelling and subcutaneous gaz was present. A barium contrast-radiograph of the oesophagus was made. This radiograph was diagnostic as it showed infiltration of barium contrast in the perioesophageal tissues in the middle third of the cervical oesophagus, consistent with a perforating oesophageal injury. The calf was euthanized. Necropsy showed a 3 cm perforating tear in the oesophagus 15 cm's after the larynx. A fibrino-necrotising (peri)oesophagitis, tracheitis and myositis of the cervical muscles was present. Thoracic lesions involved a pyothorax, pneumomediastinum and pericardial emphysema. After diagnosis, these fatal oesophageal injuries could be linked to the use of a tube for colostrum administration with a metal end-piece.

In conclusion, this case report shows that cervical swellings in multiple neonatal calves can be related to the wrong use of a oesophageal tube or to the use of a non-adapted tube for the animal species. Veterinarians should be aware of the possibility of this issue and should be able to advice farmers on the correct use.

NECROSIS TUBULAR AGUDA EN TERNEROS DE RAZA RUBIA GALLEGA: ESTUDIO ECOGRÁFICO

P. Pallarés, R. López, L. Cortés, S. Miquel, L. Rigueira, D. Barreiro*, L.D. Failde**.

Servicio de Atención de Animales de Renta, *Servicio de Diagnóstico por Imagen,

** Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Veterinario Universitario Rof-Codina.

Facultad de Veterinaria. Universidad de Santiago de Compostela. 27002 LUGO.

paupallares@hotmail.com

RESUMEN

Presentamos tres casos de necrosis tubular aguda (NTA) en terneros de raza Rubia Gallega, una hembra de 1 mes de vida y dos machos con edades de 14 días y dos meses y medio respectivamente, en los que tras realizar un estudio ecográfico, aparece una imagen de riñón invertido. Esta lesión puede ser compatible con una etiología congénita, vascular, infecciosa o tóxica.

SUMMARY

We present three cases of acute tubular necrosis (ATN) in Rubia Gallega calves, a female 1 month old and two males aged 14 days and two and a half months respectively, which after performing an ultrasound study, featured a kidney inverted image. This lesion can be compatible with a congenital, vascular, infectious or toxic etiology.

Casos clínicos: descripción de los casos

En los últimos años, en el Servicio de Atención de Animales de Renta del Hospital Veterinario Universitario Rof Codina (HVU-RC) se han hallado varios casos clínicos de NTA de pronóstico grave y evolución mortal.

Los terneros se remitían al Servicio de Grandes Animales con una sintomatología inespecífica que cursaba principalmente con apatía, disminución del apetito, diarrea y falta de respuesta al tratamiento administrado, el cual consistía en la combinación de diversos antibióticos, tales como enrofloxacina y gentamicina-amoxicilina.

Tras realizar un estudio laboratorial de las muestras de sangre, se observa en los tres casos las siguientes alteraciones en la bioquímica: el nitrógeno ureico sanguíneo (BUN) era superior a 51 mg/dl (rango normal: 7-17mg/dl); los valores de creatinina en sangre fueron superiores a 5.2 mg/dl (rango normal: 0-2 mg/dl) y, por último, la concentración de albúmina fue inferior a 1,8g/dl (rango normal: 2,5-3,6g/dl).

Los resultados de las hematologías no mostraron hallazgos anormales significativos.

En cuanto al análisis de orina, se observó una clara hipostenuria, con una densidad urinaria por debajo de 1.010 g/l (rango normal 1.020-1.040 g/l) lo cual nos indica la incapacidad del riñón para concentrar la orina.

Tras realizar una tira de orina, se apreció un pH ácido (pH 6), presencia de leucocitosis y una marcada proteinuria, siendo esta última indicativa de un daño renal.

Teniendo en cuenta todos los resultados obtenidos, se decide realizar un estudio ecográfico de los riñones para confirmar dicho diagnóstico, en la cual se aprecia una inversión de la médula renal, siendo ésta hiperecogénica respecto de la cortical, cuando lo normal es que la médula sea hipoecogénica con respecto a la corteza renal (Figura 1). Además, en uno de los terneros, también se aprecia un sedimento en la vejiga de la orina, sin celularidad en suspensión y con engrosamiento de la pared.

Dichos hallazgos ecográficos son compatibles con una nefropatía congénita, tóxica o infecciosa.



Figura 1

En el estudio histopatológico se aprecia una necrosis tubular aguda (Figuras 2, 3 y 4). Esta lesión es bastante inespecífica, pudiendo ser atribuida a problemas congénitos, a una hipoperfusión renal debida a una severa deshidratación, o bien a causas tóxicas o agentes infecciosos (descartándose la etiología bacteriana por no detectarse en el estudio histológico).

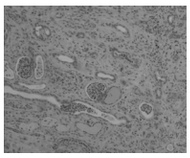


Figura 2

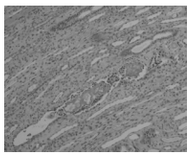


Figura 3

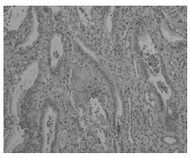


Figura 4

DISCUSIÓN

Tanto los resultados obtenidos en la analítica como en el estudio ecográfico, nos indican que estos terneros presentaban una nefropatía; el estudio histológico, además, nos revela que se trata de una necrosis aguda de los túbulos renales. Estos hallazgos pueden asociarse a una causa congénita, vascular, tóxica o infecciosa.

Aunque la etiología de dicho proceso pudiese ser tóxica o infecciosa, pensamos que lo más probable puede ser un problema adquirido como consecuencia de una hipoperfusión renal debida a una deshidratación, algo muy frecuente en animales de estas edades que padecen un proceso de diarrea neonatal. No obstante, tampoco descartamos que haya una causa o predisposición congénita debido a la temprana edad de los terneros y al hecho de que la patología aparece de forma puntual y en casos concretos.

Además, podríamos añadir que este daño renal causado por una hipoperfusión renal secundaria a una deshidratación y en la que puede haber un importante componente congénito, haya sido agravado por una causa tóxica como puede ser el tratamiento médico administrado a estos animales, puesto que algunos de estos fármacos tienen un efecto nefrotóxico, que se exacerba en animales deshidratados con una baja perfusión renal.

No obstante, sería importante conocer el estado sanitario de las explotaciones de procedencia de los animales para poder estudiar el efecto de posibles agentes infecciosos que ocasionan alteraciones congénitas tales como IBR , BVD o Neospora.

Como conclusión podríamos decir que esta patología que, en principio puede parecer algo poco habitual, puede ser más común de lo que pensamos, ya que a nivel de campo suelen ser procesos no diagnosticados tanto por las limitaciones económicas, como de disponibilidad de equipos diagnósticos. Además, las muertes provocadas por estas enfermedades pueden atribuirse a otras patologías más frecuentes en los terneros, tales como diarreas neonatales o procesos neumónicos.

Por todo ello, cabe destacar que en terneros con dicha sintomatología y resultados analíticos indicativos de problema renal sería de gran importancia realizar un estudio ecográfico, ya que si se aprecia esta imagen de riñón invertido podemos establecer un diagnóstico presuntivo de NTA. En este caso, al tratarse de una lesión sin tratamiento posible, la ecografía nos puede ayudar a identificar los animales afectados y reducir los costes asociados a tratamientos innecesarios.

REFERENCIAS

1. Divers, T. J., Crowell, W. A., Duncan, J. R. & Whitlock, R. H. (1982) Acute
2. renal disorders in cattle: a retrospective study of 22 cases. Journal of the American Veterinary Medical Association 181, 694-699
3. Jones, T.C.; Hunt, R.D.; King, N.W. (1997). Veterinary Pathology. 6th Edition. Ed.
4. Williams & Wilkins. Baltimore. USA.
5. Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Hinchcliff, K.W.; Constable, P.D. (2007) Veterinary Medicine: A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. 10th ed. Saunders Elsevier, Philadelpia.
6. Philbey, A. W.; Mateus, A.; Bexiga, R. Renal dysplasia and nephroesclerosis in calves. Veterinary Record 2009 165: 626-631.
7. Smith, B.P. Large animal internal medicine. (2009) 4th edn. Mosby Inc, Elsevier, St. Louis.
8. *Pérez García, José. Tapia Servicios Veterinarios (Asturias) (*2012) Diagnóstico y tratamiento de problemas digestivos en terneros- ponencia, C., Congreso ANEMBE

PATOLOGÍAS CARDÍACAS CONGÉNITAS EN TERNEROS: 2 CASOS CLÍNICOS

L. Rigueira, G. Santamarina, L.E. Fidalgo, M.I. Quiroga, D. Barreiro, M. Miranda

Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias. Hospital Veterinario Universitario Rof-Codina. Facultad de Veterinaria. Universidade de Santiago de Compostela. 27002 LUGO.

lucas.rigueira@usc.es

RESUMEN

Se describe un caso de defecto de septo ventricular (DSV) en una ternera frisona de 3 meses y un caso un caso de doble salida del ventrículo derecho (DSVD), clasificado como síndrome de "Taussig Bing" en una ternera frisona de 4 meses de edad.

SUMMARY

A ventricular septal defect (VSD) and a Double-outlet right ventricle (DORV), classified as a Taussig-Bing anomaly in a 3 and 4-month-old Holstein Friesian calves respectively were described.

CASO CLÍNICO 1: DEFECTO DE SEPTO VENTRICULAR (DSV) EN UNA TERNERA FRISONA DE 3 MESES

Durante una visita rutinaria de control postparto a una explotación

de vacuno lechero por el Servicio de Animales de Renta del Hospital Veterinario Universitario Rof Codina (HVU-RC), el propietario solicitó que explorásemos una ternera que tenía un importante retraso en el desarrollo en relación a sus compañeras.

Se trataba de una ternera frisona de tres meses de edad, con mal estado de carnes, pelo erizado y, efectivamente, con menor desarrollo en comparación con los demás animales del mismo lote.

El ganadero comenta que, desde hace por lo menos tres semanas, la ternera tose con cierta frecuencia y presenta una respiración más agitada cuando mama. Por este motivo añadía al agua de bebida doxiciclina (Doxivet-10® 0,5 ml/L de agua), pero tras una leve mejoría inicial, el animal seguía con igual sintomatología.

En la exploración general, además del pobre estado de carnes y el pelo erizado ya comentados, observamos que la temperatura era normal (38,8ºC), presentaba taquipnea y disnea leve que se agravaba con la actividad física y una notable distensión abdominal La frecuencia cardíaca fue de 112 ppm, las yugulares no presentaban pulso y las mucosas presentaban ligera palidez.

A la auscultación, además de un ligero aumento del murmullo vesicular en ambos campos pulmonares, el hallazgo más significativo fue un soplo de grado V con frémito. La ternera se remitió al HVU-RC para realizar más pruebas.

En la hematología lo único destacable fue una ligera anemia. Los valores de la bioquímica y gases se encontraban dentro de los rangos de normalidad.

Radiográficamente, tanto las dimensiones del corazón como de los grandes vasos se encontraban en rangos normales y no se apreciaba edema pulmonar. El electrocardiograma mostraba un ritmo sinusal con una frecuencia cardíaca de 126 l/min sin alteraciones significativas en la duración de las ondas y segmentos. La exploración ecocardiografía permitió detectar un defecto de septo ventricular localizado en la porción perimembranosa de salida, de aproximadamente 1 cm de diámetro (Fig. 1). La aplicación del doppler color y espectral mostraba un shunt de izquierda a derecha predominantemente sistólico a través del defecto del septo ventricular (vel.máx. 5 m/seg; GP 100 mmHg) (Fig. 2). El tronco de la arteria pulmonar estaba moderadamente dilatado presentando además un flujo de salida acelerado (vel.máx. 3,24 m/seg; GP 41,9 mmHg). Se identificó además una leve insuficiencia de válvula tricúspide. La necropsia nos confirma el diagnóstico, ya que macroscópicamente se observa el defecto de septo (Fig. 3)



Figura 1



Figura 2

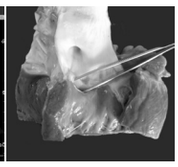


Figura 3

CASO CLÍNICO 2: DOBLE SALIDA DEL VENTRÍCULO DERECHO (DSVD), CLASIFICADO COMO SÍNDROME DE "TAUSSIG-BING" EN UNA TERNERA FRISONA DE 4 MESES

Una ternera de raza Frisona de 4 meses de edad se remitió al Servicio de Animales de Renta del HVU-RC por presentar un importante retraso en el crecimiento.

Hace quince días tuvo un cuadro de neumonía por lo que fue tratada por el propio ganadero con antibióticos (Ultradiazine® 1ml/10 kg PV), durante 5 días sin mejora aparente.

En la exploración general observamos depresión, pérdida de peso y pelo erizado. La temperatura era normal (38,4ºC), y en la exploración física lo más destacado fue un cuadro de disnea y taquipnea que se agravaba con la actividad física, una severa distensión abdominal y un soplo sistólico grado V/VI con punto de máxima intensidad en el hemitórax derecho. La frecuencia cardíaca fue de 94 ppm, las yugulares no presentaban pulso y el color de las mucosas era normal.

En la hematología lo único destacable fue una ligera trombocitosis. Los valores de la bioquímica se encontraban dentro de los rangos de normalidad, al igual que los valores de PaCO2, PaO2 y pH de sangre arterial extraída de la arteria auricular.

La exploración radiológica reveló una cardiomegalia generalizada y la ecografía abdominal nos mostró una importante distensión ruminal al mismo tiempo que nos descarta la presencia de líquido libre. La electrocardiografía reflejó un ritmo sinusal con una frecuencia cardíaca de 118 l/min y un incremento de la duración de la onda P que sugiere agrandamiento atrial. Mediante ecocardiografía observamos una marcada dilatación biventricular y del atrio izquierdo. Se aprecia además un amplio defecto de aproximadamente 2 cm. de diámetro en la parte superior del septo ventricular y una clara dextraposición de la aorta de modo que ubicaba la salida de la aorta desde el ventrículo derecho (Fig. 1). La aplicación del doppler color y espectral mostraba un shunt de izquierda a derecha predominantemente sistólico a través del defecto del septo ventricular (vel.máx. 3,30 m/seg; GP 43,5 mmHg) (Fig. 2). La visualización del tracto de salida del ventrículo derecho nos mostró una dilatación severa de la arteria pulmonar y una insuficiencia pulmonar que nos sugería una hipertensión pulmonar. En base a los hallazgos obtenidos se estableció un diagnóstico presuntivo de DSVD clasificado como síndrome "Taussig-Bing" debido a que el defecto de septo ventricular es subpulmonar y no había estenosis pulmonar.

La necropsia nos confirma el diagnóstico, ya que macroscópicamente se observa la dextraposición de la aorta asociada al defecto de septo (Fig. 3), y microscópicamente, se aprecia una hipertrofia de las arteriolas lo que confirma la hipertensión pulmonar asociada.

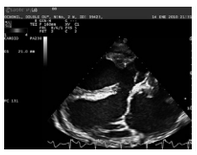


Figura 1

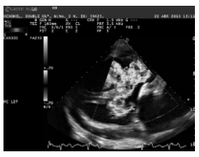


Figura 2



Figura 3

DISCUSIÓN

El diagnóstico y tratamiento de las patologías cardíacas en el ganado vacuno son un reto para la medicina, debido por un lado a la baja incidencia (0.7%) y al mal pronóstico que tienen (1,2); no obstante, debemos tener en cuenta que la incidencia y pronóstico de este tipo de enfermedades es similar a la de otras especies animales, pero con las dificultades añadidas de que en la clínica de campo y, trabajando con animales de producción, no siempre disponemos de los medios más adecuados para diagnosticar y tratar este tipo de patologías y por otro lado nunca es económicamente rentable. De hecho, es crucial hacer un diagnóstico temprano de estas patologías para reducir los costos de tratamientos por diagnósticos incorrectos y de manejo de animales que a la larga tienen que ser sacrificados.

En ganado vacuno, el defecto congénito más común es el defecto de septo interventricular (1,2), debido a que el defecto de septo también se identifica en combinación con múltiples defectos cardíacos como por ejemplo dextraposición de la aorta, transposición de grandes vasos, tetralogía de Fallot, ductus arterioso persistente, persistencia de agujero oval, persistencia de tronco arterioso y anomalías de las válvulas pulmonar y tricúspide (1).

La doble salida del ventrículo derecho es un defecto caracteriza-

do por una dextraposición de la aorta y como resultado, la arteria pulmonar y la aorta salen del ventrículo derecho. Un defecto del septo ventricular siempre está asociado para permitir el paso de sangre del ventrículo izquierdo al derecho y de aquí a los grandes vasos. Las variaciones anatómicas de esta patología se clasifican de acuerdo con la posición de las grandes arterias entre ellas, la relación entre el septo y las grandes arterias y el grado de estenosis pulmonar. Según esta clasificación nuestro segundo caso se encuadraría dentro de las denominadas anomalías "Taussig-Bing", ya que la arteria pulmonar trata de reemplazar el defecto del septo siendo este subpulmonar (3).

REFERENCIAS

1. Buczinski S, Rezakhani A, Boerboom D. Heart disease in cattle: Diagnosis, therapeutic appproaches and prognosis. Vet J 2010;184:258-263.
2. Buczinski S, Fecteau G, DiFruscia R. Ventricular septal defects in cattle: A retrospective study of 25 cases. Can Vet J 2006;47:246-252.
3. Igor E. Konstantinov. Historical Perspectives Taussig-Bing Anomaly. Heart Inst J. 2009; 36(6): 580-585.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

RISK FACTORS FOR LAMENESS ON 10 DAIRY FARMS IN IRELAND

Niall Doherty, Simon J. More, Joris R. Somers
UCD School of Veterinary Medicine
University College Dublin
Belfield, Dublin 4
Ireland
Tel: +35317166001
joris.somers@ucd.ie

ABSTRACT

Lameness and the associated risk factors are best understood in housed cattle, with limited knowledge available for other management systems. The aim of this study was to identify known risk factors for lameness on 10, pasture based, dairy farms in Ireland. All farms were visited once to record findings concerning cow environment and herd management strategies. Descriptive and semi-quantitative methods were used during data analysis. The overall lameness prevalence on the study farms was 11%, albeit between-farm variation. On all farms, a range of recognised risk factors was present, despite relatively low levels of lameness, highlighting the complex multifactorial nature of this condition. One risk factor common to all 10 farms was the suboptimal quality of the surface on roadways leading to and from the milking parlour.

INTRODUCTION

Lameness is an important welfare issue for dairy cows (O'Callaghan and others 2003) and has significant economic implications (Hoffman and others 2012). The aetiology of lameness is multifactorial and the result of interactions between the environment, farm management, nutrition and genetics (Leonard and others 1998). Detailed research on risk factors for lameness have been conducted in several countries, particularly New Zealand, the United Kingdom and the USA, and are known to vary with different management systems (Chesterton and others 1989). To date, lameness is best understood in cattle managed in housing, with limited knowledge available for other management systems. In Ireland, the prevalence of lameness in cows at grass and indoors is 17% and 42%, respectively (Boyle 2008). This is similar to results from the United Kingdom, with relatively comparable management systems and climate, with 15% for grazing herds and 39% for zero-grazing herds (Haskell and others 2006). With the impending abolition of quotas within the European Union, many farmers will be seeking to increase their herd size, it is therefore imperative that relevant risk factors are identified and corrected. The aim of this investigation was to identify risk factors for lameness on 10 dairy farms in Ireland.

MATERIALS AND METHODS

This investigation was undertaken as part of a larger study on lameness and fertility, conducted on 10 dairy farms in Co. Kildare, Ireland. These 10 farms were all participants in an on-going herd health programme, conducted by veterinarians at University College Dublin. A review of relevant literature was conducted to identify known risk factors for lameness in dairy cattle. Based on this review, 11 risk factors were identified as relevant to this study. A prompt-sheet was developed to form the basis of data collection during a single farm visit, including a semi-structured interview with each farmer. The prompt-sheet consisted of the relevant risk factors grouped in four separate sections: housing (subsections: type of flooring, cubicles, layout of shed), cow movement (subsections: parlour yard, gathering of animals for milking, roadways), current lameness management strategy (subsections: hoof-paring, foot bathing, locomotion scoring) and heifer management strategy (subsections: quality of grazing land and introduction to the milking herd). Visits to each study farm were conducted by the senior author during a two week period in June 2013. During a single visit of approximately 3 hours to each farm, the prompt-sheet was used to guide data collection, conducted through observation and measurement, at all relevant farm facilities. Each visit was concluded by interviewing the farmer during which time any additional information or insights were gathered. At the time of these visits, the author had no knowledge of the prevalence of lameness on any of the participating farms**.** These latter data were collected independently by a co-author on at least four separate visits to each farm during March to August 2013. At each visit, a visual lameness assessment was conducted on the entire milking herd using the Sprecher Scale (Sprecher and others 1997). All data were transcribed to Excel, where descriptive methods were used during data analysis.

RESULTS AND DISCUSSION

There was an overall lameness prevalence of 11% on the study farms, albeit with some between-farm variation, which compares favourably with international studies. On all farms, a range of recognised risk factors was present, despite relatively low levels of lameness, highlighting the complex multifactorial nature of this condition. One risk factor common to all 10 farms was the suboptimal quality of the surface on roadways leading to and from the milking parlour. Bad weather, poor herding skills (Clarkson and Ward 1991) and long walking distances are each recognised to exacerbate roadway related lameness. Three of the study farms didn't have a preventative or treatment protocol for lameness in place. Only one famer used foot trimming of non-lame cows as a preventative tool against lameness. On all farms, routine locomotion scoring had only recently been introduced, as part of the larger lameness study, followed by prompt treatment of any lame

cows by a skilled foot trimmer, lowering the number of chronically lame animals. Without this intervention, lameness would likely have been more problematic, due to existing risk factors i.e. 'get lame-stay lame' (Cook 2006). Although the cows had been at pasture for several months, the effect of the housing environment may have affected the lameness scores during locomotion scoring visits earlier in 2013. Work by Olmos and others (2009) found that cows require a period of at least 85 days at pasture to recover from the winter housing and postpartum period.

CONCLUSIONS

Due to time constraints it was not feasible to investigate all risk factors for lameness cited in literature. This study provides a basis for detailed future work on lameness in dairy cattle in Ireland. Using semi-quantitative methods, this study investigated a comprehensive, but not complete, list of factors known to increase lameness risk factors in dairy cows. The study was conducted on farms that have participated for some years in herd health programmes conducted by the herd health group at University College Dublin. As such, these results may not be representative of the broader Irish dairy population. Further research is needed to quantify the prevalence of lameness and identify and evaluate risk factors for lameness in a larger representative sample of dairy herds in Ireland.

REFERENCES

1. Boyle, L.A. & Olmos, G. Tackling Dairy Cow Welfare issues. Teagasc Research. 2008, 3, 20-22.
2. Chesterton, R.N., Pfeiffer, D.U., Morris, R.S. & Tanner, C.M. Environmental and behavioural factors affecting the prevalence of foot lameness in New Zealand dairy herds - a case-control study. New Zealand Veterinary Journal. 1989, 37, 135-142.
3. Clarkson, D.A. & Ward, W.R. Farm tracks, stockman's herding and lameness in dairy cattle. Veterinary Record. 1991, 129, 511-512.
4. Cook, N.B. The dual roles of cow comfort in dairy herd lameness dynamics. Proceedings of the Annual Meeting of the American association of Bovine Practitioners, St. Paul. Minnesota, September 21-23, 2006. 2006, 150-157.
5. Haskell, M. J., Rennie, L.J., Bowell, V.A., Bell, M.J. & Lawrence, A.B. Housing system, milk production, and zero-grazing effects on lameness and leg injury in dairy cows. Journal of Dairy Science. 2006, 89, 4259-4266.
6. Hoofman, A.C., Moore, D.A., Vanegas, J. & Wenz, J.R. Rationale for a dairy herd lameness investigation strategy. 2012 [accessed 10 June 2013]. Available at: http://extension.wsu.edu/vetextension/Lameness/Documents/Rationale-Template.pdf.
7. Leonard, N., Crilly, J. & Farrell, K. Efficacy of currently recommended control measures for lameness in dairy cattle. Teagasc end of year project. 1998, 3981.
8. O'Callaghan, K.A., Cripps, P.J., Downham, D.Y. & Murray R.D. Subjective and objective assessment of pain and discomfort due to lameness in dairy cattle. Animal Welfare. 2003, 12, 605-610.
9. Sprecher, D. J., Hostetler, D.E. & Kaneene, J.B. A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. Theriogenology. 1997, 47,1179–1187.

HYDRONEPHROSIS CAUSED BY POLYPOID CYSTITIS IN A DAIRY COW

George Stilwell*, Rui D'Órey Branco, João Cota, Luís Lopes da Costa, Maria Conceição Peleteiro

*presentation author

A three year old dairy cow that had calved 5 months earlier was presented with the following history: loss of appetite, low body condition score and showing frequent urinating behavior (arched back and raised tail) with only slight urine leakage. Clinical examination showed: white vulva mucosa, reduced ruminal contraction frequency and rectal temperature of 38.5ºC. An enlarged left kidney and ureters were felt through rectal palpation, causing discomfort. Transrectal ultrasound exam showed an enlarged kidney with dilated and fluid filled pelvis and calyces. The bladder was filled with clear fluid and a hyperechogenic mass was evident near the urethra opening. Blood analysis revealed high blood urea nitrogen (120 mg/dL), low chloride (79 mmol/L), low red blood cell ($3.7x10^6/\mu L$) and very high creatinine (8.3 mg/dL). Urine analysis only revealed a low density and a few epithelial cells.

For humanitarian reasons the cow was euthanized. Necropsy revealed bilateral hydronephrosis, distended ureters, large polypous mass in the trigone area and urethra wall hypertrophy. Histopathology exam of the bladder wall showed signs of chronic polypoid cystitis with no trace of neoplastic changes. After total DNA extraction Bovine Papillomavirus was not detected discarding this agent as the possible cause. Also there was no history of urinary infection. Bladder obstruction by polypoid cystitis and subsequent hydronephrosis, should be considered in the differential diagnosis of dysuria in cattle.

INTOXICACIÓN DE ALUMINIO Y HIERRO EN VACAS DE LECHE Y SU RELACIÓN CON LA DEFICIENCIA SECUNDARIA DE MÚLTIPLES ELEMENTOS ESENCIALES.

Castro, D.[1]; Miranda, M.[2]; López-Alonso, M.[3]; Riguera, L.[2]; Carbajales, P.[1]; Pereira, V. [3]

[1] Veterinario clínico

[2] Departamento de Ciencias Clínicas Veterinarias, Facultad de Veterinaria de Lugo (USC)

[3] Departamento de Patoloxía Animal, Facultad de Veterinaria de Lugo (USC)

RESUMEN

En un rebaño de ganado vacuno lechero ubicado en Galicia, se observó la enfermedad y posterior muerte de tres vacas. Los animales enfermos se encontraban en decúbito y presentaban diarrea, orina ácida, con un pH entre 4,5 y 6, y presencia de cuerpos cetónicos en orina. No hubo respuesta al tratamiento con gluconato de calcio, soluciones de glucosa, bicarbonato de sodio y vitaminas del grupo B.

Aproximadamente una semana después de que murieran los primeros animales, cuatro vacas en el primer mes posparto enfermaron y recogimos muestras de sangre, suelo y alimentos para enviar a nuestro laboratorio y realizar un análisis mineral. Tres días más tarde, una vaca murió y se le realizó una necropsia y recogimos muestras de hígado y riñón para su posterior análisis laboratorial. El análisis de minerales en sangre reveló niveles bajos de Co, Mn, Mo, Se y Zn, y altos de Al y Fe. Los niveles de Cu,

S, macro-minerales (Ca, P y Mg) y elementos tóxicos (As, Cd, Pb y Hg) estaban dentro del rango normal. No se observó ninguna anormalidad hematológica. Los niveles de minerales en suelo y alimentos estaban en el rango normal, excepto el ensilado de hierba, que tenían altos niveles de Al y Fe. El análisis mineral del hígado reveló una grave depleción hepática de Cu, la deficiencia de otros elementos esenciales, como el Mn, Se y Zn, así como altos niveles de Al y Fe.

ABSTRACT

In a herd of dairy cattle located in Galicia, illness and subsequent death of 3 cows was observed. The ill animals were recumbent and unable to rise. Animals presented diarrhea, urine pH 4.5-6, and 1-2+ ketone bodies. There was no response to treatment with calcium gluconate, glucose solutions, sodium bicarbonate and vitamin B complex.

Approximately one week after the first animals died, four cows in the first month postpartum became ill and blood, soil and feed samples were sent to our laboratory for mineral analysis. Three days later one cow died and one sample of liver and kidney were sent to our laboratory.

Blood mineral analysis revealed low serum Co, Mn, Mo, Se and Zn, and high levels of Al and Fe. Cu, S, macro-minerals (Ca, P and Mg) and toxic elements (As, Cd, Pb and Hg) were in the normal range. Any hematological abnormality was observed. Soil and feed analysis were in the normal range, except the grass silage, which had high levels of Al and Fe. Liver mineral analysis revealed a severe liver Cu depletion, deficiency of other essential elements Mn, Se and Zn and high levels of Al and Fe.

INTRODUCCIÓN

La deficiencia / toxicidad de un mineral puede ser drásticamente modulada por la interacción con otros minerales, de hecho estas interacciones son una causa importante de variación en la biodisponibilidad y por lo tanto influyen tanto en el valor nutritivo como en el potencial de toxicidad de una fuente particular (1).

A veces, la ingestión de una dieta que es alta en un mineral en particular puede potenciar la pérdida de otros minerales. Un ejemplo bien conocido es la interacción entre Fe-S-Mo con el Cu; en el rumen el Fe puede reaccionar con el sulfuro y el Cu también para producir un complejo de Fe-Cu-S que no es absorbido por el animal, reduciendo la absorción de Cu (1). El Al también puede contribuir a la depleción de Cu y Mn (2).

En este caso, el problema principal es la deficiencia de minerales (principalmente Cu) originados por el exceso de Al y Fe, que provocan una disminución de la disponibilidad de Cu. En este trabajo de investigación se describe un caso de campo sobre la deficiencia secundaria de múltiples elementos esenciales (principalmente Cu), debido al alto contenido de Al y Fe en la alimentación.

MATERIALES Y MÉTODOS

En un rebaño de ganado vacuno de leche ubicado en Galicia, se observó la enfermedad y posterior muerte de tres vacas. Aproximadamente una semana después cuatro vacas que se encontraban en el primer mes posparto enfermaron, para poder realizar un análisis del estatus mineral de estos animales se recogieron muestras de sangre, suelo y alimentos que fueron enviadas a nuestro laboratorio.

Tres días más tarde, una de las cuatro vacas enfermas murió y se le practicó una necropsia y enviamos una muestra de hígado y riñón a nuestro laboratorio para su posterior análisis. Para llevar a cabo el análisis de minerales del suelo, alimento, suero (2 ml) y muestras de tejido (2 g), realizamos una digestión de las muestras con 5 mL de ácido nítrico concentrado (Suprapur Grade® de los laboratorios Merck) y 2 mL de peróxido de hidrógeno al 30 % p/v.

Los elementos presentes en concentraciones muy bajas (As, Al, Cd, Pb, Hg, y Se) se determinaron mediante una espectroscopía de masas con fuente de plasma acoplado (ICP-MS). Los elementos que se encontraban en concentraciones más altas (Co, Cu, Fe, Mn, Mo, S y Zn) se determinaron por espectroscopía de emisión con fuente de plasma acoplado (ICP-OES). Los macrominerales (Ca, Mg y P) se midieron por espectrofotometría de luz UV empleando kits de diagnóstico estandarizados de los laboratorios Gernon-RAL.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de los minerales en sangre reveló unos bajos niveles séricos de Co, Mn, Mo, Se y Zn; y altos niveles en suero de Al y Fe. Los niveles de Cu, S, macro-minerales (Ca, P y Mg) y elementos tóxicos (As, Cd, Pb y Hg) estaban en el rango normal (ver tabla-1). El examen hematológico realizado no mostró ningún tipo de alteración destacable.

Tabla 1. Niveles de minerales esenciales y macrominerales en suero

Suero (mg/L) *(n=4)*	**Al**	**Co**	**Cu**	**Fe**	**Mn**	
media±DE	**0.028 ± 0.003**	**0.011 ± 0.001**	**1.28 ± 0.22**	**4.52 ± 0.76**	**0.002 ± 0.001**	
Rango normal (3)	0.009-0.02	0.15	0.6-1.5	1.3-2.5	0.006-0.07	
Suero (mg/L) *(n=4)*	**Mo**	**Se**	**Zn**	**Ca**	**P**	**Mg**
Media ± DE	**0.004 ± 0.001**	**0.037 ± 0.000**	**0.742 ± 0.021**	**8.4 ± 0.4**	**6.4 ± 0.3**	**1.9 ± 0.2**
Rango normal (3)	0.01-0.1	0.08-0.3	0.8-1.4	8-10	4-8	1.8-2.4

En la vaca que murió el análisis de los niveles de minerales del hígado (expresado en peso húmedo) reveló un grave agotamiento de las reservas hepáticas de Cu, así como la deficiencia de otros elementos esenciales: Mn, Se y Zn; y altos niveles de Al y Fe. El análisis de los niveles renales de dichos minerales también reveló la existencia de bajos niveles de Cu, Mn, Se y Zn, y los altos niveles de Al y Fe. Los niveles de Co, Mo y S estaban dentro del rango normal en ambos tejidos (ver tabla-2).

Tabla 2. Niveles de los diferentes minerales estudiados en las muestras de hígado y riñón.

	Al	**Co**	**Cu**	**Fe**	**Mn**	**Mo**	**Se**	**Zn**
Hígado (mg/kg)	**6.35**	**0.02**	**0.81**	**6720**	**0.44**	**4.35**	**0.16**	**19.9**
Riñón (mg/kg)	**3.07**	**0.04**	**3.09**	**143**	**0.84**	**0.34**	**0.73**	**16.0**
Rango normal (3)								
Hígado	<1-5	0.020-0.085	25-100	45-300	2.5-6	0.14-1.4	0.25-0.5	25-100
Riñón	<2-6	0.071	4.0-6	30-150	1.2-2	0.22-0.57	1.0-1.5	18-25

Los niveles de minerales del suelo y del alimento analizado estaban en el rango normal, excepto el ensilado de hierba, que tenían altos niveles de Al (661 mg/kg de MS) y de Fe (518 mg/kg de MS). Asimismo se sabe que el Al puede entrar en el entorno tras el tratamiento de aguas de abastecimiento público con Al (4) y que el anegamiento de suelos aumenta la captación de Fe por el

material vegetal (5). Además, en los casos de contaminación de Fe cuando los forrajes están ensilados, como en este caso, el proceso de fermentación parece aumentar la bioactividad del Fe (6)

El antagonismo entre el Fe y el Cu y su influencia en la absorción de Cu está bien documentado (1). Los suplementos de Fe y S reducen el contenido de Cu en el plasma sanguíneo de los bovinos hasta un estado de hipocupremia; y la suplementación con Fe y Mo reducen los niveles de Cu hepático y las concentraciones plasmáticas de Cu (7). Los estudios realizados por Campbell et al. (5) mostraron que suplementos de Fe (30 mg / kg de peso en vivo) conseguían reducir los niveles de Cu hepático de 179 hasta 7 mg / kg de MS, y las concentraciones plasmáticas de Cu también comenzaban a disminuir una vez que la depleción de Cu en el hígado alcanzaba los 40 mg / kg de MS. Tanto el agotamiento acelerado como la lenta reposición de las reservas hepáticas de Cu cuando se suplementa la dieta con Fe probablemente reflejan una reducción en la absorción de Cu; eso depende de las interacciones con otros minerales, en particular S, Mo y Fe (1). Por otro lado el Al también puede contribuir a la depleción de Cu y Mn, de hecho, Frank et al. (2) describieron un caso de polioencefalomielomalacia multifocal en terneros de raza Simmental con altos niveles de Al en hígado, riñón y cerebro y deficientes niveles de Cu y Mn en el hígado. También analizamos los niveles de P sanguíneo por su bien conocido antagonismo con el Al, sin embargo no se encontraron indicios de hipofosfatemia en este caso.

CONCLUSIONES

Llegamos a la conclusión de que la muerte de estos animales fue causada por la deficiencia secundaria de múltiples elementos esenciales (principalmente Cu), debido al alto contenido de Al y Fe en la alimentación. El origen medioambiental de Al y Fe fue el uso de lodos de depuradora como fertilizante. Los animales afectados, antes de la aparición de la enfermedad o incluso la muerte de los mismos, tuvieron que ingerir durante al menos dos o tres semanas el ensilado de hierba de la zona afectada, es decir, en la que se emplearon lodos de depuradora como fertilizante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Suttle NF. The mineral nutrition of livestock 4th ed. Cabi Publishing, UK; 2010.
2. Frank AA, Hedstrom OR, Braselton WE, Huckfeldt RE, Snyder SP. Multifocal polioencephalomyelomalacia in Simmental calves with elevated tissue aluminum and decreased tissue copper and manganese. J. Vet. Diagn. Invest. 1992; 4: 353-5.
3. Puls R. Mineral levels in animal health, 2nd ed. Clearbook, Sherpa International, British Columbia. 1994
4. NRC. Mineral Tolerance of Animals, 2nd ed. National Academy of Sciences, Washington DC. 2005
5. Campbell AG, Coup MR, Bishop WH, Wright DE. Effect of elevated iron intake on the copper status of grazing cattle. N. Z. J. Agric. Res. 1974; 17: 393-9.
6. Hansen SL, Spears JW. 2009. Bioaccessibility of iron from soil is increased by silage fermentation. J Dairy Sci. 2009; 92: 2896-2905.
7. Phillippo M, Humphries WR, Atkinson T, Henderson GD, Garthwaite PH. The effect of dietary molybdenum and iron on copper status, puberty, fertility and estrous cycles in cattle. J. Agric. Sci. 1987; 109: 321-6.

SANIDAD // ANIMAL HEALTH

NEMATODOSIS GASTROINTESTINAL BOVINA EN CÁCERES (EXTREMADURA-ESPAÑA).

HURTADO PRECIADO, M.A.; SERRANO FRAILE, L.A.

Departamento de Sanidad Animal. *LAJARA®*, Servicios Veterinarios, S.L. Directores Técnicos Veterinarios Agrupaciones de Defensa Sanitaria Ganaderas (A.D.S.G.). Plaza de Triana, 3.

Coria (Cáceres).Tlf./Fax: 927 501991. E-mail: lajaracalidad@yahoo.es.

RESUMEN

El estudio es el resultado de un caso clínico de parasitosis, ocurrido en una explotación ganadera bovina situada en el municipio de Portaje (Cáceres-Extremadura-España-). Los resultados demostraron como los nematodos gastrointestinales *Strongyloides papillosus* y *Haemonchus* spp., eran los causantes de la mortalidad y morbilidad ocurrida en la ganadería. El objetivo del estudio fue el diagnostico de la enfermedad para su inmediato tratamiento.

Palabras clave: *Strongyloides papillosus*, *Haemonchus* spp., bovino, Extremadura, España.

SUMMARY

The study it is the result of parasitosis's clinical case, happened in a cattle bovine exploitation placed in Portaje's municipality (Cáceres-Extremadura-Spain-).The results demonstrated as the gastrointestinal nematodos *Strongyloides papillosus* and *Haemonchus* spp., they were the causers of the mortality and morbidity happened in the ranching. the aim of the study went the diagnosis of the disease for its immediate treatment.

Key words: *Strongyloides papillosus*, *Haemonchus* spp., bovine, Extremadura, Spain.

INTRODUCCIÓN

Extremadura es un gigante agroalimentario y agroindustrial. Entre lo que factura el campo regional y lo que venden sus empresas y cooperativas agroalimentarias suman ya más de 3.500 millones de euros. El sector agroganadero regional aporta el 6,6% del PIB extremeño, casi el triple de la media española. Si hablamos de su cabaña ganadera, la región cuenta con 763.503 cabezas de vacuno, de ellas más de 430.000 vacas nodrizas, sólo somos superados, en cuanto a cabezas totales de bovinos, por Castilla y León (1.234.546 cabezas) y Galicia (926.667 cabezas). (Datos de Mayo, 2013. MAGRAMA).

El caso clínico que da origen a esta aportación científica, comienza el día 21 de octubre del año 2013, en una ganadería bovina de raza cruzada, ubicada en la dehesa extremeña del término municipal de Portaje (Cáceres –Extremadura-). El propietario de la misma nos llama, y nos cuenta lo siguiente: se le ha muerto una vaca hace unos días, y que el resto de las vacas y terneros se están quedando muy delgados. Nos personamos en su explotación, una dehesa con encinas, y efectivamente vemos como la totalidad de los bovinos, 16 vacas cruzadas, un toro limousin, y 4 terneros, estaban anémicos, muy débiles y delgados, "se les podían contar y ver los huesos con facilidad". Pero además de esta delgadez nos llama la atención que todos tenían edema submandibular o "papo". Destacando, el "papo", de una de las vacas, que estaba parida y que la tenían separada para asistirla mejor. El edema submandibular, al tacto, era de consistencia blanda o fluctuante en todos los animales, con la excepción del edema de la vaca pa-

rida que tenían separada, en cuyo caso era de consistencia dura y rígida. Las heces de los animales eran aparentemente normales, algunos animales las tenían de poca consistencia, pero no eran diarreicas.

La delgadez de los animales no estaba justificada por una falta de comida, recordamos que la primavera del citado año fue muy buena desde el punto de vista climatológico, para la producción de pastos y bellotas, los cuales no habían faltado. Además, se les había suplementado con piensos y pasto de pradera al final del verano. Las vacas habían sido desparasitadas con ivermectina de forma parenteral, y vacunadas de IBR-BVD-PIII y virus sincitial bovino, en el mes de junio del mismo año.

Procedimos a recoger muestras de heces de 10 vacas, incluida la que tenían separada, para el análisis coprológico en busca de posibles parásitos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras coprológicas se analizaron mediante las Técnicas de Flotación y Sedimentación, utilizando la cámara de McMaster, con la cual obtenemos el número de huevos u ooquistes por gramo de heces analizadas (HpG u OopG). Seguidamente una vez observados los huevos, procedíamos a realizar la Técnica de coprocultivo de las heces, que nos permite la identificación a nivel de género o de especie de los parásitos del Orden *Strongylida*, cuyos huevos son morfológicamente similares. Con el coprocultivo pretendemos proporcionar a los huevos las condiciones necesarias para permitir el desarrollo exógeno de estos nematodos desde la fase de huevo hasta obtener larvas de tercer estadio o L3, que serían recogidas por el método de Baermann-Wetzel. Las larvas así obtenidas son morfológicamente diferenciables fijándonos en aspectos como presencia o no de vaina, longitud de la cola, número y forma de las células intestinales, tamaño de la larva, tipo de aparato digestivo, etc. Todas estas técnicas se realizaron siguiendo las indicaciones de Valcárcel y col. (2009).

Estos análisis se realizaron en el laboratorio de *LAJARA*®, Servicios Veterinarios, S.L., en Coria (Cáceres) y en el Laboratorio Regional de Sanidad y Producción Animal del Gobierno de Extremadura, sito en Badajoz.

RESULTADOS Y DISCUSION

En las muestras coprológicas de las 10 vacas, y atendiendo a las peculiaridades, morfología, tamaño de los huevos, y sobre todo de sus larvas L1 y L3 infectantes de los parásitos observados, siguiendo las indicaciones de Valcárcel y col. (2009) y Thienpont y col. (1986) identificamos dos tipos de parásitos: *Strongyloides papillosus* y *Haemonchus* spp. Ambos, son parásitos que afectan, fundamentalmente, el aparato digestivo de los bovinos.

En la vaca parida que estaba a parte, se obtuvieron hasta 3.600 HpG de *Strongyloides papillosus* y 3400 HpG de *Haemonchus* spp.

Los parásitos del Género *Haemonchus* spp son nematodos gastrointestinales pertenecientes al Orden *Strongylida*. Se conoce vulgarmente como gusano del cuajar de los rumiantes y están asociados normalmente con enfermedad clínica. La principal característica de la infestación por *Haemonchus* spp es la anemia. Los signos clínicos de la hemoncosis pueden dividirse en tres síndromes: hiperagudo, agudo y crónico. En nuestro caso podríamos hablar de una hemoncosis crónica, que es muy común y de considerable importancia económica. La morbilidad es del 100%, pero la mortalidad es baja. Los animales afectados están débiles, con síntomas de agotamiento y emaciación. La anemia y la hipoproteinemia pueden ser graves. (Soulby, 1987). Esta anemia e hipoproteinemia explicarían los edemas submandibulares generalizados que presentaban los bovinos de nuestro estudio. Estos edemas, en un principio, nos hicieron pensar en una posible parasitación por *Fasciola hepatica*, que suele producir dicho síntoma, frecuentemente, pero no nos encajaba dicha parasitación, siempre asociada a una alta humedad en el terreno y a la presencia de sus necesarios caracoles anfibios, como hospedadores intermediarios, en una dehesa de secano. Aunque podría haberse producido fasciolosis, si pensamos que habían consumido, al final del verano, pasto de pradera, proveniente de parcelas de regadío, que pudiera haber venido contaminado con metacercarias de *F. hepatica*.

Según indican Uriarte y col. (2012), se está produciendo una expansión de los nematodos gastrointestinales, debido al cambio climático, de este modo, parásitos típicos de zonas tropicales y subtropicales, como *Haemonchus contortus*, *Marshallagia marshalli*, *Nematodirus battus* y *Fasciola hepatica*, están desplazándose a latitudes más frías situadas por encima de los paralelos 45º N y S. Y especialmente, *H. contortus*, que en la última década ha colonizado zonas como el sur de Escocia (Kenyon y col., 2009) o países como Finlandia (Mannine y col., 2010) o Suecia (Waller y col. 2006).

Los parásitos de la especie *Strongyloides papillosus* son también nematodos gastrointestinales incluidos en el Orden *Rhabditida*. El género *Strongyloides* spp. contiene varias especies parásitas de animales domésticos. Las formas parásitas son partenogenéticas, y sus huevos pueden dar lugar, fuera del hospedador, directamente a larvas infectantes de otra generación parásita, o una generación libre de machos y hembras. El esófago de las formas libres es rhabditiforme (Soulby, 1987). Una sola especie parasita a los rumiantes: *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856), Ransom, 1911, citados por Cordero del Campillo y col. (1999). Se localiza en la mucosa del intestino delgado. Las hembras partenogenéticas viven en la mucosa del intestino delgado, donde ponen los huevos embrionados, los cuales son eliminados con las heces, y eclosionan a L1, rhabditiforme.

Las vacas de nuestro caso clínico, fueron desparasitadas con ivermectina y closantel. El día 11 de Noviembre del 2013, visitamos la explotación y pudimos observar como los animales habían mejorado considerablemente su condición corporal y les había desaparecido el edema submandibular a todos. Tanto la ivermectina como el closantel son eficaces frente a formas larvarias y adultas de *Haemonchus* spp (Soulby, 1987). La ivermectina está indicada, también, para el tratamiento de los parásitos del género *Strongyloides* (Cordero del Campillo y col., 1999).

Respecto a la discusión o comparación con otros estudios realizados por otros autores, de aislamientos parasitarios en bovinos de Extremadura, no hemos encontrado trabajos que se hayan realizado en esta especie, con la excepción de los estudios realizados por nosotros, recientemente (Hurtado y col. 2012), donde aislamos como especie parasitaria más frecuente a *F. hepatica*, en un 17,70 % de las explotaciones bovinas estudiadas, seguida de los nematodos del Orden *Strongylida*, en un 15,06 % de las mismas. En este estudio, sin embargo, no identificamos los géneros o especies de nematodos del Orden *Rhabditida*.

CONCLUSIONES

El caso clínico que hemos descrito nos ayuda a comprender u orientarnos a cerca de los que está pasando, desde un punto de vista sanitario básico, en muchas de las explotaciones ganaderas bovinas extremeñas, en las cuales se produce un empeoramiento corporal más o menos brusco de los animales, y no debido a la falta de alimentos. Si no que está relacionado con unas deficientes condiciones sanitarias, debidas a la presencia de parásitos, como *Haemonchus* spp y *Strongyloides papillosus*.

Los esfuerzos, tanto de la administración, como de los veterina-

rios clínicos y ganaderos, deben ir encauzados hacia la identificación y control de los parásitos, antes de instaurar medidas frente a la tuberculosis, la brucelosis, IBR-BVD, reproducción,...¿Qué garantía de respuesta inmunológica, estamos obteniendo, si tenemos parásitos?¿Nos hemos olvidado de lo primero que aprendimos?: primero desparasitar después vacunar...Y ojo, muchos de los parásitos habituales de nuestro ganado son zoonósicos.

REFERENCIAS

1. Cordero M, Rojo FA, Martínez AR, Sánchez MC, Hernández S, Navarrete I, *et al*. *Pasasitología Veterinaria*. Editado por McGraw-Hill-Interamericana de España, S.A.U, 1999, Madrid (España), pp 260-282, ISBN: 84-486-0236-6
2. Hurtado, MA, Serrano, LA. Contribución a la caracterización etiológica de los parásitos internos del ganado bovino adulto en la provincia de Cáceres (Extremadura -España-) para su control inmediato. XVIII Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina, Lleida 25 y 26 de abril de 2013.
3. Kenyon, F, Sargison, ND, Skuce, PJ, Jackson, F. Sheep helminth parasitic disease in south eastern Scotland arising as a possible consequence of climate change. *Vet Parasitol*, 2009; 163: 293-297.
4. MAGRAMA, 2012, 2013. www.magrama.gob.es.
5. Mannine SM, Oksanen A. Haemonchosis in a sheep flock in North Finland. *Acta Vet Scand*, 2010; 52 (Suppl 1): S19.
6. Soulby EJL. Parasitología y Enfermedades Parasitarias en los Animales Domésticos. Editado por Nueva Editorial Interamericana SA, México, D.F, 1987.
7. Thienpont D, Rochette F, Vamparijs OFJ. Diagnóstico de las Helmintiasis por el Medio del Examen Coprológico. Editado por Janssen Research Foundation, Berse (Bélgica), 1986.
8. Uriarte, J, Calvete, C. El cambio climático modifica la epidemiología de los nematodos gastrointestinales. *Rev Albéitar*, 2012; nº 158, pp. 6-8
9. Valcárcel F, Rojo FA, Olmedo AS, Arribas B, Márquez L, Fernández N. *Atlas de Parasitología Ovina*. Editado por Server Editorial-Grupo Asis Biomedia, S.L., Zaragoza (España), 2009; pp. 8-15, ISBN: 978-84-92569-05-2.
10. Waller, JP, Rydzik, A, Ljungström, BL, Törnquist, M. Towards the eradication of Haemonchus contortus from sheep flocks in Sweden. *Vet Parasitol*, 2006; 136: 367-372.

FASCIOLOSIS BOVINA CRÓNICA EN LA DEHESA DE EXTREMADURA (ESPAÑA)

HURTADO PRECIADO, M.A.; SERRANO FRAILE, L.A.; ALMARAZ GARCÍA, J.

Departamento de Sanidad Animal. *LAJARA*®, Servicios Veterinarios, S.L.

Plaza de Triana, 3. 10800 Coria (Cáceres).

Tlf. y Fax.: 927 501991. E-mail: lajaracalidad@yahoo.es

RESUMEN

El estudio descubre un proceso de fasciolosis bovina crónica en la dehesa extremeña. Concretamente, se produce en la dehesa boyal del municipio de Ceclavin (Cáceres-Extremadura-España-), donde se crían, mezclados, bovinos, caprinos y equinos, de diferentes dueños. El régimen de explotación es el extensivo de secano (la dehesa), muy condicionado por la climatología, que marcará la mayor o menor cantidad de pastos para la alimentación y caracterizado por unos veranos muy rigurosos que ocasionan un terreno desértico, donde es difícil pensar que puedan vivir los hospedadores intermediarios (caracoles anfibios), del parásito protagonista de este estudio, *Fasciola hepatica*.

Palabras clave: *Fasciola*, charcas, vacas, dehesa, España.

SUMMARY

The study it discovers a process of bovine chronic fasciolosis in the extremadura pasture. Concretely, i know it produces in the pasture boyal of Ceclavin's municipality (Cáceres-Extremadura-Spain), where caprinos grows up, mixed, bovine, and equine, give different owners. The regime of exploitation is the extensive one of dryness (the pasture), very determined by the climatology, which will mark the major or minor quantity of pastures for the supply and characterized in a few very rigorous summers that cause a desert area, where it is difficult to think that they could live through the intermediary hosts (amphibious snails), of the parasitic protagonist of this study, *Fasciola Hepatica*.

Key words: *Fasciola*, pools, cows, pasture, Spain.

INTRODUCCIÓN

La fasciolosis en el sentido amplio del término está causada por parásitos trematodos Digenea que pertenecen al género *Fasciola,* a la que con frecuencia se denomina "duela del hígado", y cuya difusión geográfica entra sin duda en la categoría de parásito cosmopolita puesto que su difusión es prácticamente mundial. Esencialmente las dos especies que intervienen en esta parasitosis son *Fasciola hepatica*, Linneo, 1758 y *Fasciola gigantica*, Cobbold, 1855. Así pues, en España se ha encontrado parasitando ovejas, cabras, vacas, gamos, asnos, caballos, cerdos, jabalíes, conejos, liebres y también el hombre (Rojo y col., 1999).

F. hepatica no afecta por igual a todas las especies animales; señalando el ganado ovino y bovino como los más receptivos, lo que implica considerables pérdidas económicas, tanto directas (muerte de los animales, especialmente por fasciolosis aguda) como indirectas (decomiso de hígados, disminución de las producciones, gastos en tratamientos, etc.) (Diez, 2011).

La fasciolosis se reconoce ahora como una enfermedad humana emergente; la OMS ha estimado recientemente en 2,4 millones de personas las que están infectadas por *F. hepatica* y hasta 180 millones las que están en riesgo de infección en el futuro (WHO, 2006).

El estudio que les mostramos, es la consecuencia de otro trabajo realizado por nosotros, en ganado caprino (Hurtado y col. 2013). Todo comenzó y sin saberlo, antes de que supiéramos con certeza sus resultados. Lo explicamos a continuación: en el verano del año 2010, nos llamaron para que viéramos, en la dehesa boyal de Ceclavín (Cáceres) una vaca la cual presentaba mal aspecto general, emaciación, pelo erizado, no tenía fiebre, comía con normalidad, no tenía diarrea y presentaba edema submandibular o "papo". La vaca la tratamos, sin hacerle ningún análisis, como si estuviera parasitada, y como tenía "papo", el cual siempre nos hace pensar en la Fasciolosis, el tratamiento aplicado fue closantel e ivermectina. El éxito fue rotundo, a los 4-5 días el animal mejoró considerablemente, desapareciéndole el edema submandibular. No supimos si la causa del proceso era *F. hepatica* o algún otro parásito. Nos extrañaba que pudiera ser *F. hepatica* el parásito causante, ya que estábamos en un terreno totalmente seco (en verano), o por lo menos no lo suficientemente húmedo (el resto del año), y por lo tanto no parecía el hábitat idóneo para el caracol anfibio imprescindible para completar su ciclo biológico. Sin embargo, no descartamos la Fasciolosis, aunque no creyéramos

que se completara su ciclo, pensamos en que el ganadero estaba suplementado sus vacas con pasto de pradera de regadío, el cual pudiera venir contaminado con metacercarias de *F. hepatica*, y pudieran dar lugar al proceso parasitario hasta la fase de adulto y deposición de huevos, suficiente para producir en un principio el proceso sintomático y lesional de la Fasciolosis.

Dos años después, en el mes Agosto del año 2012, considerado como el segundo mes más cálido desde el año 1961, con una temperatura media de 25,4 ºC (AEMET), nos llamaron de dos explotaciones de cabras, ubicadas también en la dehesa de Ceclavín, en las cuales se estaban produciendo muertes, y como síntomas más característicos presentaban edema mandibular y llagas o heridas en la boca. Las cabras en el campo no comían nada, no había nada, solamente comían lo que les echaban los ganaderos, pasto de avena y pasto de pradera. Recogimos muestras de heces de varias cabras, incluidas las afectadas. En seguida pensamos, al ver el edema submandibular, en una posible parasitación, incluso que pudiera estar implicada *Fasciola hepatica*, lo que no nos encajaba, cómo, en aquellas condiciones climáticas de sequedad extrema pudiera vivir su hospedador intermediario, un caracol anfibio.

Nuestra sorpresa fue mayúscula, cuando al visitar las cuatro charcas o lagunas situadas en aquella dehesa desértica, donde bebían caballos, cabras y vacas, descubrir en ellas que había numerosos caracoles anfibios.

Al realizar el análisis coprológico de las cabras, con la técnica de flotación no observamos ningún tipo de huevo de parásitos. No ocurrió lo mismo al utilizar la técnica de sedimentación con la cual observamos huevos de *Fasciola hepatica,* en las heces de ocho de las quince cabras analizadas (Hurtado y col. 2013).

Después de obtener estos resultados, en el mes de Octubre del año 2013, visitamos varios de los rebaños de vacas que hay en la dehesa boyal de Ceclavín (Cáceres), pudimos observar que había muchos bovinos, que presentaban mal aspecto general, delgadez y muchas tenían edemas submandibulares. Recogimos, al azar, heces de doce vacas para su análisis, de diferentes rebaños.

MATERIAL Y MÉTODOS

Realizamos el análisis coprológico utilizando las Técnicas de Flotación y Sedimentación (Valcárcel y col. 2009), con la cual obtenemos el número de huevos u ooquistes por gramo de heces analizadas (abreviaturas: HpG u OopG). Estos análisis se realizaron en el laboratorio de *LAJARA*®, Servicios Veterinarios, S.L., en Coria (Cáceres).

Las muestras de heces fueron recogidas del suelo, recién depositadas y en presencia del director-técnico veterinario, y teniendo cuidado de no recoger posibles contaminantes de éstas, como tierra, pajas, hierbas, otros excrementos, etc.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Por el método de flotación no observamos ningún tipo de huevo de parásitos. No ocurrió lo mismo al utilizar la técnica de sedimentación con la cual observamos huevos de *Fasciola hepatica,* en las heces de tres de las doce vacas analizadas.

El hecho o resultado más importante del estudio no radica en el diagnóstico de *Fasciola hepatica* en ganado bovino, si no en el hecho de que este parásito pueda completar su peculiar y complejo ciclo biológico, eminentemente relacionado con la humedad, en un paraje desértico, la dehesa extremeña en verano. Las vacas parasitadas al ir a abrevar a las charcas, eliminaban con sus heces, en el agua o en la orilla los huevos de *Fasciola hepatica*, los cuales debido a las condiciones óptimas de temperatura y humedad acabarían eclosionado en los miracidios, fase larvaria acuática, que necesita encontrar un caracol anfibio, que allí había en cantidad, para poder seguir evolucionando en su interior a esporocisto y redia, a partir de las redias se forman las cercarías provistas de cola, que abandonan el caracol y nadan hasta que contactan con vegetación, pierden la cola y se enquistan transformándose en metacercarias. Las vacas debían comerse está vegetación con las metacercarias o beber el agua con cercarias, para infestarse y reinfestarse.

La identificación de los caracoles y la comprobación de la presencia de las fases larvarias de *F. hepatica* en los caracoles, está siendo objeto de otro estudio, por nuestra parte, que pronto les presentaremos.

Algunas de estas charcas o lagunas de las dehesas extremeñas se acaban secando algunos veranos extremadamente secos, lo cual supondría la muerte de los caracoles, y la ruptura del ciclo biológico de *F. hepatica*. Sin embargo, Taylor (1949), observó que en condiciones de campo, algunos caracoles podían sobrevivir durante meses en el cieno seco, y que tres de cada diez caracoles podían sobrevivir después de estivar en condiciones de sequía artificial durante 12 meses. La estivación de los caracoles retarda el desarrollo de *F. hepatica*, aunque las fases larvarias que están en su interior pueden sobrevivir en estivación durante 10 meses, y con el retorno de la humedad, el caracol crece rápidamente hasta la madurez, y de forma similar los estadios de desarrollo de *F. hepatica*, de forma que, en un periodo de tiempo muy breve, se pueden acumular una gran cantidad de cercarías en el agua y en la hierba. Dichos datos nos indican la capacidad, que puede tener, de mantenerse en el tiempo, el proceso parasitológico que nos ocupa.

Parece ser que el aumento de casos de la Fasciolosis, tanto en animales como en humanos, está relacionado con el cambio climático y concretamente con el aumento de la temperatura media anual, que favorecería que "sus vectores, los caracoles, son muy susceptibles a los cambios de temperatura, solo con subir un grado ya alojan más larvas", explica Mas-Coma, S. y col. (2005).

CONCLUSIONES

El estudio demuestra la posibilidad de presentarse la fasciolosis bovina, en unas condiciones climáticas previsiblemente no aptas para el desarrollo del ciclo biológico del parásito. Demostramos que la fasciolosis bovina es posible en cualquier terreno y bajo condiciones climáticas extremas, siempre y cuando existan o vivan sus hospedadores intermediarios (caracoles anfibios) en las fuentes de agua que tengan los bovinos.

Es necesario tener instaurado, en nuestras explotaciones ganaderas, un programa sanitario mínimo, donde se contemplen unas analíticas de heces periódicas, u otro tipo de análisis para determinar los parásitos que tienen nuestros animales, antes de proceder a su desparasitación. Las vacas de la dehesa de Ceclavín (Cáceres) nunca se habían desparasitado con antiparasitarios fasciolicidas específicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agencia Española de Meteorología (AEMET). www.aemet.es.
2. Díez, P. Fasciola y Fasciolosis: Un problema antiguo con nuevas soluciones impulsadas por la relación pluridisciplinar de la parasitología con otras ciencias. Discurso de ingreso como académico de número a la Academia de Farmacia de Galicia. Santiago de Compostela, Junio de 2011.
3. Hurtado MA, Serrano LA. Contribución a la caracterización etiológica de los parásitos internos del ganado bovino adulto en la provincia de Cáceres (Extremadura -España-) para su control inmediato. XVIII Congreso Internacional ANEMBE de

Medicina Bovina celebrado en Lleida los días 25 y 26 de abril de 2013.

4. Hurtado MA, Serrano LA. Fasciolosis Caprina en el Estío de Extremadura (España). XXXVIII Congreso Nacional y XIV Internacional de la SEOC, Málaga 19, 20 y 21 Septiembre de 2013.
5. Rojo, FA, Ferre, I. Fasciolosis. En: *Parasitología Veterinaria*. Cordero del Campillo, M.; Rojo Vázquez, F.A. 1999, Editores. McGraw-Hill Interamericana: 260-272.
6. Taylor, E.L. The epidemiology of fasciolosis in Britain. 1949, Proc. 14th Int. vet. Congr. London, 2: 81-87.
7. Mas-Coma S, Bargues MD, Valero MA. Fasciolosis and other plant-borne trematode zoonoses. *Int. J. Parasitol.* 2005, vol. 35, nº 11-12, p. 1255-1278.
8. Valcárcel F, Rojo FA, Olmedo AS, Arribas B, Márquez L, Fernández N. *Atlas de Parasitología Ovina*. Editado por Server Editorial-Grupo Asis Biomedia, S.L., Zaragoza (España), 2009; pp. 8-15, ISBN: 978-84-92569-05-2.
9. World Health Organization. Report of the WHO informal meeting on use of triclabendazole in fascioliais control. WHO. Headquarters, Geneva, Switzerland, 17-18 October 2006.

AGRADECIMIENTOS

A todos los directores técnicos-veterinarios de las ADS y a los veterinarios clínicos, por estar cada día al pie de los ganaderos y de sus animales, velando día y noche por la sanidad ganadera y salud pública. Y en especial a mi familia, Mª Jesús, Miguel e Irene, a los que seguro les quito tiempo, haciendo estos trabajos.

PRINCIPALES AGENTES ETIOLÓGICOS IMPLICADOS EN EL DIAGNOSTICO DE PROCESOS RESPIRATORIOS Y DIGESTIVOS DEL GANADO BOVINO.

Arnal J.L., Sanz C., Benito A., DeTomás E., Chacón G., Serrano D., Pradas L.

Exopol S.L. Pol. río Gállego D-8. 50840. San Mateo de Gállego. Zaragoza. España.

INTRODUCCIÓN

Los problemas respiratorios y digestivos constituyen dos de las principales causas que afectan al estado sanitario del rebaño y ocasionan considerables pérdidas económicas a la ganadería bovina. Distintos agentes infecciosos han sido implicados en los mismos, ya sea individualmente o en asociación. La naturaleza de estos microorganismos puede ser bacteriana, vírica o parasitaria. En Exopol hemos conformado paneles multiparamétricos de diagnóstico utilizando técnicas moleculares y complementándolas con otras más tradicionales como el cultivo microbiológico o la inmunocromatografía. El uso combinado de estas técnicas nos ha permitido identificar los agentes más relevantes en los complejos respiratorio y digestivo del ganado bovino, logrando una visión más detallada de los patógenos implicados en la etiología de estos procesos.

SUMARY

Different infectious agents are involved in respiratory and digestive processes in cattle. They can occur alone or in association. Exopol has been working in setting multiparametric panels using PCR, microbiological culture and inmunochromatography in order to improve our diagnostics. Our main objective was identifying which the more frequent agents involved in cases submitted to our lab were. For that purpose, we analyzed presence of BRSV, BVD, PI3, BHV-1, *Mycoplasma bovis*, *Pasteurella multocida* and/or *Mannhemia haemolytica* in 43 cases with suspicion of respiratory disease. Moreover, we searched presence of BVD, BoCV, Rotavirus type A, *Salmonella enterica* and *Cryptosporidium* in 98 cases with digestive problems. *Mycoplasma bovis* resulted as the most frequently observed agent in respiratory cases, however, no significative association was observed between *M. bovis* and investigated virus. Studying digestive cases, Rotavirus type A and *Cryptosporidium* were the most extensively identified but no statistical association was found between them.

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es identificar los patógenos más frecuentes en casos de bovino recibidos en nuestro laboratorio con sospecha de procesos respiratorios y/o digestivos. Además nos propusimos estudiar la presencia de algún tipo de asociación entre ellos o de su presentación en determinadas épocas del año.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para ello, durante el año 2013, a partir de los casos remitidos a nuestro laboratorio, se evaluaron un total de 98 casos de animales de la especie bovina con problemas digestivos y 43 casos con procesos respiratorios, todos ellos procedentes de 27 provincias españolas.

En los animales con sospecha de problemas respiratorios se analizó la presencia de BRSV, BVD, PI3, BHV-1 y *Mycoplasma bovis* mediante qPCR desarrolladas y validadas en Exopol, además de *Pasteurella multocida* y *Mannhemia haemolytica* por cultivo microbiológico sobre agar sangre y agar McConkey 3. Las muestras evaluadas fueron exudados respiratorios, pulmón y ganglio mediastínico.

Por otra parte, en los casos remitidos por sospecha de proceso digestivos se determinó BVD, Coronavirus bovino (BoCV) y Rotavirus tipo A por qPCR propias. Complementariamente se investigó *Salmonella enterica* por cultivo microbiológico en agar McConkey 3, agar XLD y caldo Vassiliadis así como *Cryptosporidium* por inmunocromatografía comercial. Las muestras utilizadas fueron hisopado rectal, heces e intestino delgado. Los casos se clasificaron en función de la edad de los animales involucrados, resultando tres grupos: lactantes, cebo y adultos.

La potencial asociación entre la presencia de los distintos agentes patógenos se determinó mediante el estudio estadístico Chicuadrado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los casos asociados con problemas respiratorios, se detectó *M. bovis* (40,9%), *Pasteurella multocida* y/o *Mannhemia haemolytica* (26.8%), BRSV (15,9%), PI3 (11,4%), BVD (4,5%) y BHV-1 (4,5%). No se encontró una asociación significativa entre *M. bovis* y BRSV, *M. bovis* y PI3, ni entre M. *bovis* y *Pasteurella*. Sin embargo, sí se encontró una asociación significativa entre BRSV y PI3. En el grupo de animales con problemas digestivos el agente detectado con mayor frecuencia fue Rotavirus tipo A (41.8%), seguido de Cryptosporidium (34.1%), BoCV (26,5%) y BVD (2,1%). Encontrándose una asociación significativa entre BoCV y Rotavirus tipo A, pero no entre *Cryptosporidium* y los virus estudiados.

Por otro lado, evaluando la presencia estacional de estos patóge-

nos a lo largo del año, se encontró que en el caso de Rotavirus tipo A y Cryptosporidium, su detección fue menor durante los meses de verano, observándose las mayores tasas de positividad en primavera y otoño.

CONCLUSIÓN

Los patógenos implicados en procesos respiratorios más encontrados fueron Mycoplasma bovis, Pasteurella multocida y/o Mannhemia haemolytica, BRSV y PI3. No se encontró una asociación entre las infecciones bacterianas y víricas, no obstante, sí se observó una asociación significativa entre BRSV y PI3.

Los agentes más encontrados al investigar los procesos digestivos fueron Rotavirus tipo A, Cryptosporidium y BoCV. Se observó una asociación significativa entre estos virus, pero no ocurrió esto entre la infección vírica y la parasitaria.

A PILOT STUDY OF GROUP A ROTAVIRUS ECOLOGY IN DIFFERENT SPECIES ON COMMERCIAL FARMS

A Gillespie, A. German, K. Morgan

Rotavirus is the most prevalent cause of calf diarrhoea worldwide, as well as infecting a wide range of other mammalian species and birds including people. It kills around 500,000 children under five every year. Rotavirus is highly reassortant due to its segmented genome, leading to large genotypic diversity, including strains capable of infecting multiple species. However, no studies have looked systematically at rotavirus in healthy multispecies populations, either in the UK or overseas. This study aimed to develop sampling methods that could be used to sample multiple species without the need for an experimental licence (which is required in the UK for taking faecal samples directly from the rectum). Sampling strategy was designed to detect rotavirus if it was present at a prevalence of 2% with 95% confidence. Methods included collection of individual faecal samples, which were also pooled into groups of ten, sampling of slurry tanks and lagoons, sampling of sewers and septic tanks, and use of Longworth traps to facilitate collection of murine faecal samples.

Cross-sectional faecal sampling of seven Wirral farms was carried out and samples were used to examine the prevalence of Group A rotavirus in the study population, and the relationship between rotaviruses in different species living on the same farm.

Samples were screened for Group A rotavirus by ELISA, and further molecular work carried out on those found to be positive.

Positive samples were found on one farm out of seven. Four calf samples and one dog sample tested positive by ELISA, and one mouse tested positive by qPCR. Gene amplification by nested RT-PCR and sequencing identified all four calf VP7 genes as G10 and one of the four VP4 genes as P[11]. Available data on the prevalence of G10P[11] in cattle worldwide shows it is one of the three most prevalent bovine strains (Papp 2013).

Two VP7 genotypes were identified in the dog: G9 and G10, and one of two VP4 genes was identified as P[6]. G10, G9 and P[6] have not previously been reported in the canine. Whilst it is possible that G10 was sourced from the calves, G9 and P[6] have not been identified in cattle either in combination or as components of other strains. The G9P[6] rotavirus strain is of particular interest as it emerged in people in the mid-1990's and is thought to have arisen as a product of reassortment between human G9 and porcine P[6] (Santos 1999).

Despite primarily aiming to develop sampling strategy, this study revealed possible interspecies transmission of rotavirus on a farm and mixed infection with putative human and bovine rotavirus strains in a farm dog.

Review of group A rotavirus strains reported in swine and cattle

Papp, Hajnalka; Laszlo, Brigitta; Jakab, Ferenc; et al.

Veterinary Microbiology, 165, 3-4, 190-199 (2013)

Detection of Porcine Rotavirus Type G9 and of a Mixture of Types G1 and G5 Associated with Wa-Like VP4 Specificity: Evidence for Natural Human-Porcine Genetic Reassortment

Norma Santos, Rita C. C. Lima, Carlos M. Nozawa, Rosa E. Linhares, Vera Gouvea

Journal of Clinical Microbiology, 37, 8, 2734-2736 (1999)

ADICIÓN DE ESPORAS DE HONGOS DURANTE LA FABRICACIÓN DE CONCENTRADO ALIMENTARIO PARA REDUCIR EL RIESGO DE INFECCIÓN PARASITARIA EN VACUNO EN PASTOREO

J.A. Hernández Malagón, P. Lago Velando[1], P. Piñeiro Fraga, J. Sanchís Polto[2], C. Cazapal Monteiro, J.L. Suárez García de Paredes[3], R. Sánchez-Andrade Fernández, M.S. Arias Vázquez.

Parasitología, Epidemiología y Zoonosis (COPAR, GI-2120), Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela, 27002-Lugo (España). [1]Piensos NANTA (Padrón, A Coruña, España). [2]Parasitología, Universidad de la República (Regional Norte), Salto, Uruguay. [3]Granja "Gayoso Castro" (Diputación Provincial de Lugo, España).

RESUMEN

Con objeto de reducir la presencia de ciertos estadios de algunos parásitos en el medio, se añadieron esporas de hongos parasiticidas (*Mucor*, ovicida; *Duddingtonia*, larvicida) durante el proceso de fabricación del concentrado destinado a la alimentación de ganado vacuno en semi-extensivo. Después de comprobar que las esporas sobrevivían a diferentes tratamientos térmicos (70ºC y 4ºC) y conservaban su viabilidad, se añadieron $6x10^6$ esporas de cada hongo por Kg de pienso para terneras de recría. Una vez obtenidos los pellets, se resuspendieron en agua y se sembraron en placas, demostrándose una destrucción del 51-60% de los huevos de *Calicophoron* y 91-93% de larvas 3 (L3) de estrongilados. Estos resultados señalan que este procedimiento puede constituir una solución idónea para disminuir el riesgo de infección por parásitos helmintos en ganado vacuno en pastoreo.

SUMMARY

In order to reduce the presence of certain stages of some parasites in the environment, spores of parasiticide fungi (*Mucor*, ovicidal; *Duddingtonia*, larvicide) were added during the manufacturing process of cattle feedstuff cattle under a semi-extensive regime. After checking that the spores survived different heat treatments (70°C and 4°C) and retained their viability, $6x10^6$ spores of each fungus / Kg feedstuff were added. The elaborated pellets were dissolved in water and plated. Destruction of 51-60% *Calicophoron*-eggs and 91-93% third stage larvae (L3) of strongyles was noted. These results indicate that this procedure can be an ideal solution to reduce the risk of infection with helminth parasites in pasturing cattle.

INTRODUCCIÓN

En zonas en las que el clima no experimenta grandes variaciones, diferentes estadios parasitarios como huevos, larvas, metacercarias o quistes se mantienen viables durante largos periodos de tiempo, asegurando la posibilidad de infección del ganado en pastoreo. El control de los parasitismos en ganado vacuno se basa en la administración de antihelmínticos, que sólo actúan frente a los parásitos adultos en los animales, constituyendo de este modo una solución incompleta y temporal. Este problema se agrava cuando se trata de vacuno de leche, porque sólo se pueden administrar durante el periodo de secado. Esta situación favorece que los rumiantes desparasitados convivan y compartan pastos con otros individuos no desparasitados que continúan eliminado al medio diferentes estadios parasitarios.

En el suelo existen de forma natural diferentes antagonistas de parásitos, cuya presencia se ve considerablemente mermada por la realización de labores agrícolas como arado, roturado, movimientos de tierra, etc. (Arias et al., 2012). Se han identificado algunas especies de hongos con actividad sobre los huevos de parásitos (*Pochonia*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Verticillium*) y otras sobre las larvas (*Arthrobotrys*, *Duddingtonia*, *Monacrosporium*) (Barron, 2003; Braga et al., 2008).

Ante la necesidad de actuar sobre estas formas en el medio, se propone la elaboración de pienso con esporas de hongos saprofitos e inocuos que se encuentran en el suelo, y que tienen capacidad parasiticida.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las esporas de *Mucor* y *Duddingtonia* se sometieron a 70ºC y a 4ºC de 30 s a 10 min. Una vez demostrada su supervivencia, en la fábrica de Piensos Nanta en Begonte (Carretera Nacional VI, KM 517. CP 27373, Lugo), durante elaboración (fase de mezcla) de pienso de ternera de recría *DL Novillas 18*® se añadieron $6x10^6$ esporas de *Mucor* y $6x10^6$ esporas de *Duddingtonia* por Kg de concentrado.

A continuación se tomó 1 g de pellets, se resuspendió en agua, y se sembraron placas Petri. Transcurridos 7 días, se comprobó el crecimiento de los hongos. Para determinar la eficacia de la mezcla de hongos vehiculada en el pienso, en cada placa se añadieron 200 huevos del trematodo gástrico *Calicophoron dabuneyi* y 500 larvas de nematodos estrongilados. Después de mantener las placas a 22-25ºC durante 14-20 días, se procedió al recuento de huevos de *Calicophoron* y L3 de nematodos, estimándose el porcentaje de reducción según la fórmula:

% Reducción = $[1 - (HPG_{día\ 20} / HPG_{día\ 0})]$

% Reducción = $[1 - (LPG_{día\ 20} / LPG_{día\ 0})]$

(HPG: huevos por gramo de heces; LPG: larvas por gramo de heces)

Se seleccionaron 8 terneras frisonas de aproximadamente 9 meses de edad, mantenidas en pastoreo, y que eliminaban 250 huevos por gramo de heces (HPG) de *C. daubneyi* y 200 HPG de nematodos estrongilados, durante 10 días se les proporcionó pienso comercial sin esporas (*DL Novillas 18*®). Transcurridos 15 días, las terneras se alimentaron con pienso + esporas. En un periodo de 16 días (desde 1 día antes de la administración del pienso hasta 5 días después) se recogieron diariamente heces del recto de las terneras.

Finalmente, se colocaron 10 g de heces de cada ternera en cajas de plástico, que se dispusieron durante 15-20 días en un prado, y después se analizaron con las técnicas de sedimentación y migración larvaria. La eficacia de las esporas se determinó con la fórmula:

% Reducción = [1 – (HPG hongos / HPG testigos)]

% Reducción = [1 – (LPG hongos / LPG testigos)]

(HPG: huevos por gramo de heces; LPG: larvas por gramo de heces)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis de las placas mostró que el número de huevos de *Calicophoron* se redujo en un 60-68%, y el de L3 en 93-96%.

En las heces testigo se observó que el 82% de los huevos de *C. daubneyi* permanecían viables, mientras que el porcentaje de L3 fue del 55% (42-67). Con la adición de esporas se comprobó que la viabilidad de los huevos de *Calicophoron* disminuía entre 51 y 60%. Los recuentos de L3 descendieron entre 91% y 93%. Estos resultados coinciden con investigaciones realizadas con ovejas y cabras (Waghorn et al., 2003; Terrill et al., 2004).

El control de parásitos es esencial no sólo para aumentar los ingresos de la ganadería, sino también para mejorar la salud de los animales y para evitar la posible transmisión de enfermedades a los humanos (zoonosis). La mayor parte de las medidas para el control de parásitos sólo se basan en la administración de los compuestos químicos, con una eficacia elevada. No obstante, el examen de los datos obtenidos después de décadas revela que esto no es suficiente, y la infección por parásitos persiste incluso después de la eliminación de parásitos.

Reduciendo la presencia de formas parasitarias en el medio se consigue prevenir la infección y reinfección de ganado en pastoreo. Si se emplean hongos que existen en el suelo, inocuos y saprofitos, se proporciona además una herramienta ecológica y sostenible, que facilita su aplicación.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en el presente estudio muestran que tras su incorporación al concentrado para alimentación de terneras, las esporas de algunos hongos son capaces de sobrevivir al paso por el tracto digestivo, desarrollarse en las heces cuando salen al exterior y disminuir la presencia de estadios parasitarios, proporcionado una herramienta muy interesante y útil para disminuir el riesgo de infección del ganado vacuno en pastoreo.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido realizado a cargo del Proyecto de Investigación AGL2012-34355 (Ministerio de Economía y Competitividad, España; FEDER).

REFERENCIAS

1. Arias M, Suárez J, Cortiñas FJ, Francisco I, Suárez JL, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A (2012a) Restoration of fungal biota in the soil is essential to prevent infection by endoparasites in grazing animals. In Marisol Arias, Adolfo Paz-Silva (Eds.), Fungi: Types, Environmental Impact and Role in Disease. Nova Science Publishers, Hauppauge NY, 341-358.
2. Barron GL (2003). Predatory fungi, wood decay, and the carbon cycle. Biodiversity 4: 3-9.
3. Braga FR, Araújo JV, Campos AK, Araújo JM, Carvalho RO, Silva AR, Tavela AO (2008). In vitro evaluation of the action of the nematophagous fungi *Duddingtonia flagrans*, *Monacrosporium sinense* and *Pochonia chlamydosporia* on *Fasciola hepatica* eggs. World J Microbiol Biotechnol 24: 1559-1564
4. Terrill TH, Larsen M, Samples O, Husted S, Miller JE, Kaplan RM, Gelaye S (2004). Capability of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* to reduce infective larvae of

gastrointestinal nematodes in goat feces in the southeastern United States: dose titration and dose time interval studies. Vet Parasitol. 120: 285-296

5. Waghorn TS, Leathwick DM, Chen LY, Skipp RA (2003). Efficacy of the nematode-trapping fungus *Duddingtonia flagrans* against three species of gastro-intestinal nematodes in laboratory faecal cultures from sheep and goats. Vet Parasitol. 118: 227-234

HONGOS TELÚRICOS: HACIA LA PREVENCIÓN DE TREMATODOSIS EN GANADO VACUNO

C. Cazapal Monteiro, J.A. Hernández Malagón, S. Miguélez Riádigos, F.L. Arroyo Balán, R. Bonilla Quintero[1], I. Francisco Vázquez, R. Sánchez-Andrade Fernández, A. Paz Silva, M.S. Arias Vázquez.

Grupo para el Control de Parasitismos (COPAR, GI-2120), Dpto. Patología Animal (Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela). Campus Universitario, 27002-Lugo (España). [1]Laboratorios CARVAL, Colombia.

RESUMEN

Las principales trematodosis parasitarias que afectan al ganado vacuno están provocadas por *Fasciola hepatica*, *Paramphistomum* spp. y *Dicrocoelium* spp. Pese al importante número de antiparasitarios con actividad trematocida, las prevalencias de estas parasitosis no han disminuido de forma significativa en las últimas décadas, posiblemente debido a la ausencia de medidas adecuadas sobre las formas de propagación (huevos, cercarias, metacercarias) que se encuentran en el suelo, agua, hormigas o especies vegetales. Se desarrolló un ensayo para estimar la eficacia del empleo de esporas de un hongo que se encuentra con frecuencia en el suelo (*Mucor circinelloides*), para reducir la viabilidad de los huevos de *Calicophoron daubneyi* que son eliminados en las heces de bovinos infectados. Durante un periodo de 60 días se observaron porcentajes de reducción del 94%, concluyéndose que esta es una medida prometedora para prevenir la infección por trematodos en ganado vacuno.

SUMMARY

The main parasitic trematodoses affecting cattle are caused by *Fasciola hepatica*, *Paramphistomum* spp. and *Dicrocoelium* spp. Despite the large number of trematocida with antiparasitic activity, the prevalence of these parasitic infections did not reduce in recent decades, possibly due to the absence of adequate measures against certain parasitic stages (eggs, cercariae, metacercariae) on the soil, water, plants or ants. The aim in the current trial was to assess the effectiveness of the use of spores of a fungus in the soil (*Mucor circinelloides*) to reduce the viability of *Calicophoron daubneyi* eggs which are eliminated in the feces of infected cattle. Over a period of 60 days reduction rates of 94% were observed, concluding that this is a promising measure to prevent infection by trematodes in cattle.

INTRODUCCIÓN

Las trematodosis son enfermedades parasitarias que afectan al hígado (*Fasciola hepatica*, *Dicrocoelium dendriticum*) o al rumen (*Calicophoron daubneyi*). Fasciolosis y paranfistomosis son frecuentes en áreas húmedas con vegetación, en las que las temperaturas no experimentan grandes cambios durante todo el año, porque estas condiciones favorecen la supervivencia de los caracoles anfibios que actúan como hospedadores intermediarios. La infección en los rumiantes se produce de forma mayoritaria por la ingestión de metacercarias mientras se encuentran pastando, aunque también se puede producir por el agua de bebida, o incluso en animales estabulados al alimentarse de forrajes contaminados por metacercarias. Se describen diferentes medidas para prevenir la infección por trematodos: cercado o vallado de zonas húmedas, canalización de agua, con objeto de impedir el desarrollo de los hospedadores intermediarios.

La dicroceliosis se observa en zonas secas, donde caracoles xerófilos y diferentes géneros de hormigas participan en el desarrollo de la fase externa del ciclo (Manga et al., 2001). El único modo de que los animales se infecten es que ingieran hormigas parasitadas. Se aconseja evitar que el ganado paste en las primeras horas del día y al atardecer, pero es posible que la infección se produzca al alimentarse de forraje en el que existan hormigas (Arias et al., 2012).

Un punto crucial en la prevención de estas parasitosis consiste en reducir la presencia de huevos viables en el medio, de forma que los trematodos puedan completar su ciclo hasta dar lugar a las formas infectivas. Por este motivo, se plantea la utilidad del empleo de un hongo que existe de forma natural en el suelo, *Mucor circinelloides*, con actividad ovicida (Arias et al., 2013).

MATERIAL Y MÉTODOS

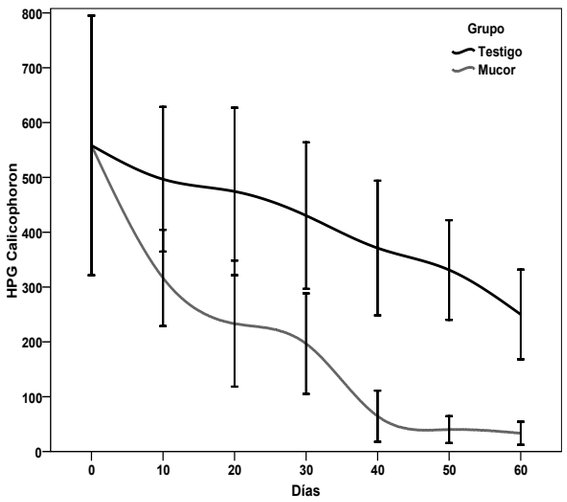
En febrero de 2013 se recogieron heces del recto de 9 vacas Frisonas que se mantienen en pastoreo bajo un régimen semiextensivo en Guntín (Lugo). Las heces se analizaron mediante la técnica de sedimentación. Una vez establecido el número de huevos por gramo de heces (HPG), para cada animal se prepararon 12 cajas de plástico con 5 g de muestra; 6 se mantuvieron como testigos durante todo el ensayo, y las otras 6 recibieron $1{\cdot}10^5$ esporas del hongo *M. circinelloides*. Las cajas se mantuvieron en un prado durante 60 días, y cada 10 días se estimó el porcentaje de reducción de huevos viables:

% Reducción = [1 – (Huevos viables caja con hongos / Huevos viables caja testigo)] x 100

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 1 se representan los valores de eliminación de huevos de *C. daubneyi*. En las heces que se mantuvieron como testigos el recuento de huevos osciló entre 558 ± 355 HPG al inicio del estudio y 250 ± 123 HPG a los 60 días. La adición de las esporas provocó que ya a los 10 días se observase una reducción estadísticamente significativa en el número de HPG del trematodo, y que a los 60 días la carga parasitaria resultase de 33 ± 32 HPG.

Figura 1.- Variaciones en la eliminación de huevos de *C. daubneyi*.



Como se puede observar en la Tabla 1, en las heces testigo el porcentaje de reducción de la viabilidad de los huevos de *Calicophoron* fue del 11-55%, y del 43-94% en las que se trataron con las esporas de *Mucor*. Son escasas las investigaciones sobre el empleo de hongos para reducir la viabilidad de los huevos de trematodos. Dias et al. (2012) señalaron que el hongo *Pochonia chlamydosporia* disminuía la viabilidad de los huevos de *Fasciola hepatica*.

Tabla 1.- Porcentaje de reducción de huevos viables de *C. daubneyi*.

Días	Testigo	*Mucor*	ANOVA	
			F	*P*
0				
10	11	43	5,159	*0,037*
20	15	58	6,356	*0,023*
30	23	65	8,311	*0,011*
40	34	88	21,779	*0,001*
50	41	93	38,210	*0,001*
60	55	94	26,283	*0,001*

Una vez en las heces, los huevos de los trematodos desarrollan en su interior el miracidio, en un tiempo de de 9 a 15 días con temperaturas de 22 a 26ºC y humedad ambiental alta, y por debajo de 10ºC se interrumpe el ciclo (Alcaíno, 1989).

CONCLUSIONES

Las esporas del hongo *Mucor circinelloides* desarrollan en un periodo de tiempo breve elevada actividad frente a los huevos de *Calicophoron daubneyi* en las heces de vacas parasitadas, por lo que constituyen una solución idónea para prevenir la infección de estos animales. Es necesario profundizar en las posibles vías de administración a estos rumiantes.

AGRADECIMIENTOS

Investigación financiada con el Proyecto de Investigación AGL2012-34355 (Ministerio de Economía y Competitividad, España; FEDER).

REFERENCIAS

1. Alcaíno H. Algunos antecedentes sobre la fasciolosis animal y humana. Monog Med Vet. 1989; 11:14-29.
2. Arias MS, Miguélez S, Cazapal-Monteiro C, Piñeiro P, Ortega E, Rodríguez MI, Cortiñas FJ, Suárez J, Poveda L, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A. La dicroceliosis equina. Su diagnóstico valorando la respuesta inmunitaria. Ecuestre 2012;353:94-96.
3. Arias MS, Cazapal-Monteiro CF, Suárez J, Miguélez S, Francisco I, Arroyo FL, Suárez JL, Paz-Silva A, Sánchez-Andrade R, Mendoza de Gives P. Mixed production of filamentous fungal spores for preventing soil-transmitted helminth zoonoses: a preliminary analysis. Biomed Res Int. 2013; doi: 10.1155/2013/567876.
4. Dias AS, Araújo JV, Braga FR, Araujo JM, Puppin AC, Fernandes FM, Ramos RF, Bertonceli RM, da Silva RG, Perboni WR. Biological control of *Fasciola hepatica* eggs with the *Pochonia chlamydosporia* fungus after passing through the cattle gastrointestinal tract. Parasitol Res. 2012;110:663-667.
5. Manga-González MY, González-Lanza C, Cabanas E, Campo R. Contributions to and review of dicrocoeliosis, with special reference to the intermediate hosts of *Dicrocoelium dendriticum*. Parasitology. 2001;123 Suppl:S91-114.

PREVENCIÓN DE NEMATODOSIS GASTROINTESTINALES EN GANADO VACUNO MEDIANTE HONGOS PARASITICIDAS

S. Miguélez Riádigos, M.S. Arias Vázquez, C. Cazapal Monteiro, J.A. Hernández Malagón, N. Alonso Casas, P. Lago Velando[1], J.L. Suárez García de Paredes[2], M.E. López de Arellano[3], P. Mendoza de Gives[3], R. Sánchez-Andrade Fernández.

Grupo para el Control de Parasitismos (COPAR, GI-2120), Dpto. Patología Animal (Facultad de Veterinaria, Universidad de Santiago de Compostela). Campus Universitario, 27002-Lugo (España). [1]Piensos NANTA, Padrón (A Coruña). [2]Granja "Gayoso Castro", Excma. Diputación Provincial de Lugo. [3]Centro Nacional de Investigaciones Disciplinarias en Parasitología Veterinaria, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias, Jiutepec (Morelos), México.

RESUMEN

Los bovinos en pastoreo están expuestos a infecciones parasitarias, que son controladas mediante tratamiento farmacológico. La existencia de fases infectivas en el suelo facilita su reinfección, y requiere de mayor frecuencia de desparasitación, procedimiento que limita la posibilidad de que los ganaderos accedan a ayudas comunitarias (PAC) por aplicar prácticas beneficiosas para el clima y el medio ambiente o *greening*.

Se evalúa una solución sostenible para el control de nematodos parásitos, basada en el empleo de hongos del suelo (saprofitos e inocuos para plantas y animales). Después de añadir esporas de *Duddingtonia flagrans* a las heces de vacas que eliminaban huevos de nematodos estrongilados, se comprobó un porcentaje muy bajo de larvas 3 (L3), la fase infectiva. De todo esto se concluye que la hipótesis planteada es realmente eficaz y su desarrollo podría contribuir significativamente al control parasitario de animales en pastoreo siguiendo las directrices enunciadas por la nueva PAC.

SUMMARY

Grazing cattle are exposed to parasitic infections, which are controlled by drug treatment. The existence of infective stages in the soil enhances that ruminant become reinfected, and thus more

frequent deworming is required, which reduces the possibility of farmers have access to EU aid (PAC) to implement beneficial practices for the climate and the environment or greening.

A sustainable solution for the control of parasitic nematodes, based on the use of soil fungi (saprophytes and innocuous to plants and animals) is evaluated. After adding spores of *Duddingtonia flagrans* on feces of cattle passing strongyle nematode-eggs, a very low percentage of larvae 3 (L3), the infective stage was found. It is concluded that the hypothesis is really effective and could significantly contribute to parasite control of grazing animals following the guidelines set out by the new CAP.

INTRODUCCIÓN

Los animales en pastoreo tienen mayor riesgo de sufrir infecciones por parásitos (Arias et al., 2012), que se producen sobre todo cuando ingieren con la hierba estadios infectivos de helmintos (huevos, quistes, metacercarias, larvas). El control parasitario se basa en la administración de fármacos antihelmínticos, que actúan sólo sobre las fases intraorgánicas que se encuentran en los hospedadores. Como los animales se mantienen en pastoreo, se reinfectan y es necesaria la re-administración de parasiticidas. Algunas de estas moléculas se acumulan en alimentos destinados a personas (de ahí que se establezcan periodos de supresión desde su administración), e incluso pueden resultar tóxicas para organismos beneficiosos para el suelo como escarabajos o ácaros.

Los huevos de los nematodos estrongilados salen al exterior junto con las heces de animales parasitados, y en presencia de humedad y temperatura adecuadas, completan las fases de larva 1, 2 y 3, que es el estadio infectivo.

Hace algunas décadas se descubrió que en el suelo coexisten organismos patógenos (algunos parásitos) y sus antagonistas (virus, bacterias, hongos, ácaros) en equilibrio dinámico. Cuando esta situación se altera, aumenta la presencia de los patógenos, y como consecuencia el riesgo de infección para los animales que se alimentan directamente en los pastos, o bien reciben las especies vegetales en condiciones de estabulación. *Duddingtonia flagrans* es un hongo capaz de elaborar trampas en su micelio en las que quedan atrapadas las larvas de los parásitos, eliminándolas a continuación ().

MATERIAL Y MÉTODOS

En junio de 2013 se recogieron heces del recto de 8 vacas Frisonas en una explotación de Lugo (España). Las heces se analizaron por los métodos copromicroscópicos de flotación, sedimentación y migración larvaria. Una vez establecido el número de huevos de estrongilados por gramo de heces (HPG) (200-550 HPG), por cada rumiante se prepararon 12 cajas de plástico con 5 g de muestra; 6 se mantuvieron como testigos durante todo el ensayo, y las otras 6 recibieron $1{\cdot}10^5$ esporas del hongo *D. flagrans*. Las cajas se mantuvieron en un prado durante 42 días, y cada semana se analizaba el contenido de 2 cajas (testigo y tratada) / animal, mediante la técnica de migración larvaria. La eficacia del procedimiento se estableció mediante el cálculo de la reducción del número de larvas 3 por gramo de heces (L3PG):

$$\% \text{ Reducción} = [1 - (L3PG_{Duddingtonia} / L3PG_{Testigo})] \times 100$$

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Tabla 1 se resumen los recuentos de larvas 3 observadas en las heces con esporas (*Duddingtonia*) y sin ellas (Testigo). A partir de la primera semana aparecieron L3 en ambos grupos, y en los Testigos se incrementó hasta la 4ª semana, manteniéndose un número más o menos constante hasta el final.

Tabla 1.- Recuento de larvas 3 de nematodos estrongilados por gramo de heces (L3PG).

Semana	$L3PG_{Testigo}$	$L3PG_{Duddingtonia}$	%Reducción	ANOVA	
				F	*P*
0	0	0			
1	68 ± 21	64 ± 19	6	0,152	*0,702*
2	100 ± 31	22 ± 19	78	41,872	*0,001*
3	202 ± 63	19 ± 14	90	72,135	*0,001*
4	215 ± 67	6 ± 12	97	85,149	*0,001*
5	195 ±60	3 ± 9	98	88,152	*0,001*
6	189 ± 59	0 ± 0	100	92,945	*0,001*

La adición de las esporas de *Duddingtonia* a las heces provocó la eliminación de las L3, y como se puede apreciar en la Tabla 1, desde la segunda semana se obtuvieron porcentajes de reducción de L3 que oscilaban entre el 78% y el 100%. Estas diferencias resultaron estadísticamente significativas.

Se ha demostrado una elevada eficacia de *Duddingtonia* para reducir la presencia de L3 de nematodos como *Haemonchus* en ganado ovino (Ojeda-Robertos et al., 2008), y en estudios recientes se señala que este hongo es capaz de desarrollar su actividad parasiticida a los 3 días de entrar en contacto con las larvas (Silva et al., 2013). La elaboración de trampas tiene como objeto proporcionar al hongo la posibilidad de adquirir una serie de nutrientes, entre los que destacan nitrógeno y carbohidratos. Una característica a destacar de este sistema radica en que las esporas de *Duddingtonia* no se desarrollan si no detectan en las proximidades *larvas* de las que alimentarse, permaneciendo en estado de latencia. También es importante tener en cuenta que presenta una actividad casi específica sobre larvas de parásitos, y que no se alimentan de larvas de nematodos no parásitos.

CONCLUSIONES

El control de nematodos parásitos en ganado vacuno precisa de medidas sobre las fases infectivas en el medio, para evitar que los animales se reinfecten con cierta periodicidad. Una de las opciones más acertadas podría basarse en asegurar en el suelo la existencia de antagonistas de las formas parasitarias, como el hongo nematófago *Duddingtonia flagrans* ¸ que significaría además una solución sostenible y ecológica.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo ha sido realizado a cargo del Proyecto de Investigación AGL2012-34355 (Ministerio de Economía y Competitividad, España; FEDER).

REFERENCIAS

1. Arias M, Suárez J, Rodríguez MI, Francisco I, Cortiñas FJ, Madeira de Carvalho LM, Sánchez-Andrade R, Paz-Silva A. Effect of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores on the control of parasite infection in grazing horses. Forages and grazing in horse nutrition 2012;419-423.
2. Ojeda-Robertos NF, Torres-Acosta JF, Aguilar-Caballero

AJ, Ayala-Burgos A, Cob-Galera LA, Sandoval-Castro CA, Barrientos-Medina RC, de Gives PM. Assessing the efficacy of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores per gram of faeces to control *Haemonchus contortus* larvae. Vet Parasitol. 2008;158:329-335.

3. Mendoza de Gives P, Flores Crespo J, Herrera Rodríguez D, Vázquez Prats V, Liébano Hernández E, Ontiveros Fernández GE. Biological control of *Haemonchus contortus* infective larvae in ovine faeces by administering an oral suspension of *Duddingtonia flagrans* chlamydospores to sheep. J Helminthol. 1998;72:343-347.
4. Silva ME, Araújo JV, Braga FR, Freitas Soares FE, Rodrigues DS. Control of infective larvae of gastrointestinal nematodes in heifers using different isolates of nematophagous fungi. Rev Bras Parasitol Vet. 2013;22:78-83.

ENFERMEDAD DE SCHMALLENBERG EN GANADO VACUNO: SEROLOGÍA, LESIONES E IDENTIFICACIÓN DEL VIRUS EN DIFERENTES TEJIDOS.

García Marín, JF[1]; Royo, LJ[2]; Gomez, A[5]; Marín, M[5], Pérez, C[1], Polledo, L[3]; Balseiro, A[2]

[1]Dpto. Sanidad Animal, Anatomía Patológica. Facultad de Veterinaria. Universidad de León. [2]SERIDA, Asturias, [3]Micros Veterinaria, León. [4]Veterinario, Salamanca [5]UNIVET 2104, Salamanca.
jfgarm@unileon.es

RESUMEN

Se identificó mediante RT-qPCR el virus de Schmallenberg en diversos tejidos de terneros con malformaciones esqueléticas y del SNC. La presencia de animales seropositivos fue observada en las 8 granjas estudias, incluidas las madres de los terneros con malformaciones.

SUMMARY

The virus of Schmallenberg was identified using RT-qPCR in different tissues of calves with squeletal and CNS malformations. The presence of seropositive animals was observed on the eight farms studied.

INTRODUCCIÓN

En 2011 se diagnóstico por primera vez en Europa la Enfermedad de Schmallenberg, causada por un virus del género *Orthobunyavirus,* familia *Bunyaviridae* (SBV) que afectaba a ganado vacuno y ovino de Alemania y Holanda (Hoffmann y cols, 2012), extendiéndose rápidamente a otros países. Las principales características clínicas de esta enfermedad son la presencia de diarrea en vacas y el nacimiento de terneros con malformaciones esqueléticas y del sistema nervioso central (SNC) (Herder et al.2012; Hoffmann et al., 2012; Muskens et al. 2012). En el último informe de la *European Food Safe Authority (EFSA)* de marzo de 2013 se citaban 8.730 casos confirmados afectando a diversos países europeos y varias especies animales. En España, el primer diagnóstico e identificación del virus se llevó a cabo en 2012 en dos corderos de un rebaño de la provincia de Córdoba, observándose posteriormente una seroprevalencia del 36,8% en otros cinco rebaños ovinos de la misma zona. En ganado vacuno se diagnóstico en el verano de 2012 por la presencia de signos clínicos, como diarreas en vacas, y la elevada seropositividad en explotaciones lecheras (Rojo Montejo et al. 2013), observándose en 2013 la presencia de terneros con lesiones teratogénicas en los que se identificó el virus (Balseiro et al., 2013). El objetivo de este trabajo es la descripción de lesiones en terneros, la identificación y cuantificación del virus en diferentes órganos y tejidos y la realización de estudios serológicos en rebaños de vacuno extensivo y lechero.

MATERIAL Y MÉTODOS

a.- Estudios anatomopatológicos: Entre finales de enero y abril de 2013 se atendieron nueve partos distócicos de fetos de terneros nacidos muertos a término, de otros tantos rebaños localizados en una misma zona y en régimen extensivo. Todos ellos presentaron malformaciones del aparato locomotor y esquelético. En dos de estos terneros (A y B) se llevó a cabo la necropsia completa y toma de muestras sistemática para estudios anatomopatológicos.

b.- Detección del ARN vírico: Se realizó mediante la técnica mediante RT-qPCR en los dos terneros necropsiados en muestras de sangre, SNC (encéfalo y médula espinal), líquido cefalorraquídeo, músculo esquelético, bazo, timo, cordón umbilical, líquido ascítico (ternero A), moco placenta (ternero A).y placenta (ternero B). En todos los casos se analizaron muestras dobles obteniéndose dos homogeneizados de una misma localización. Asimismo, también se realizó una cuantificación relativa, tomando como referencia la cantidad detectada en bazo.

c.- Estudios serológicos: Se llevó cabo en tres grupos de rebaños: 1º. 11 vacas procedentes de tres de los rebaños con terneros afectados, incluidas las madres de los dos necropsiados; 2º. 73 vacas de tres explotaciones lecheras tomadas azar, y 3º. 7 animales de dos rebaños extensivos que presentaron diarreas repentina uno y el otro con presencia de malformaciones en terneros compatibles con Schmallenberg en 2011. El test empleado fue un ELISA indirecto (ID Screen Schmallenberg, IDEXX)

RESULTADOS

- Las lesiones observadas fueron artrogriposis, tortícolis, escoliosis, cifosis, braquignatia e hipoplasia grave del músculo esquelético, así como microcefalia, micromielia, hipoplasia de cerebelo, lisencefalia e hidranencefalia en el ternero A. En el ternero B mostró menor grado de hipoplasia muscular, así como microcefalia, hipoplasia de cerebelo, hidrocefalia y porencefalia en el SNC.

- Detección vírica: Todas las muestras del ternero A fueron positivas a excepción del líquido ascítico. En el ternero B fueron positivos en ambas homogeneizados el bazo y médula espinal, siendo completa o parcialmente negativas el resto. (tabla 1). Las muestras con mayor presencia de virus fueron las de médula espinal, moco de placenta y cordón umbilical. (tabla1)

- Estudios serológicos: En el 1er grupo de 11 vacas, se observaron 3 positivas y 2 dudosas en los tres rebaños, incluidas las madres de los 2 terneros necropsiados. En el 2º grupo se encontraron 4 positivas y una dudosa, afectando a las tres explotaciones. En el 3er grupo, de cuatro vacas con diarrea 1 fue positiva y dos dudosas. Finalmente, 2 de las 3 vacas con terneros con malformaciones fueron positivas.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Estos resultados confirman de la enfermedad de Schmallenberg en ganado vacuno en la región estudiada. Dado el extenso periodo de tiempo en que aparecieron los casos de terneros con malformaciones y los tipos de lesiones observadas en los mismos, así como las características epidemiológicas de esta enfermedad,

indicarían una persistencia del vector infectante durante largos periodos de tiempo del verano e inicio del otoño de 2012. Las lesiones descritas son compatibles con Schmallenberg y similares a las que han sido descritas desde hace años en la enfermedad de Akabane, coincidiendo con otros autores (Herder et al. 2012). Debido a la similitud de alguna de estas lesiones con las ocasionadas por otros virus teratógenos, principalmente por BVD en ganado vacuno, se recomienda incluir esta enfermedad en los protocolos de diagnóstico diferencial. La detección del genoma vírico fue mucho mayor en el ternero A, coincidiendo con las lesiones más graves y siendo más abundante en moco de placenta. En estudios previos (Bilk et al., 2012) esta muestra fue la única que fue positiva en todos los casos estudiados, por lo que constituiría la de elección para la identificación del virus, siendo además de fácil obtención. Respecto a los datos serológicos, confirmarían la amplia distribución de la infección en nuestro país, tanto en sistemas productivos intensivos como extensivos, coincidiendo con estudios previos (Rojo Montejo et al. 2013).

BIBLIOGRAFÍA

1. Balseiro, A. Royo, LJ. Gómez Antona, A., and García Marín, J.F. (2013): First Confirmation of Schmallenberg Virus in Cattle in Spain: Tissue Distribution and Pathology.Trasboundary and Emerging Diseases, First Confirmation of Schmallenberg Virus in Cattle in Spain: Tissue Distribution and Pathology. Transbound Emerg Dis. 2013 Nov 6. doi: 10.1111/tbed.12185.
2. Bilk S, Schulze C, Fischer M, Beer M, Hlinak A, Hoffmann B.(2102): Organ distribution of Schmallenberg virus RNA in malformed newborns. Vet Microbiol. **14**: 159 (1-2):236-8
3. EFSA (European Food Safety Authority), 2013: Schmallenberg virus: Analysis of the epidemiological data and assessment of impact. EFSA J., EN-429.
4. Herder, V., P. Wohlsein, M. Peters, F. Hansmann, and W. Baugartner. (2012): Salient lesions in domestic ruminants infected with the emerging so-called Schmallenberg virus in Germany. Vet. Pathol. **49**, 588–591.
5. Hoffmann, B., M. Scheuch, D. Hoper, R. Jungblut, M. Holsteg, H. Schirrmeier, M. Eschbaumer, K. V. Goller, K. Wernike, M. Fischer, A. Breithaupt, T. C. Mettenleiter, and M. Beer, (2012): Novel Orthobunyavirus in cattle, Europe, 2011. Emerg. Infect. Dis. **18**, 469–472.
6. Muskens J, Smolenaars AJ, van der Poel WH, Mars MH, van Wuijckhuise L, Holzhauer M, *et al.* (2012): Diarree en productiedaling op Nederlandse melkbedrijven door het Schmallenbergvirus. Tijdschr Diergeneeskd; **137**:112–5.
7. Rojo Montejo, S., San Miguel Ayanz, J.M., Vizuete Barrios, J.J., García Fariña, O., Navarro Lozano, V., Collantes Fernández, E., Adúriz, G., and Ortega Mora, LM., (2013):. Descripción de varios casos clínicos asociados a la infección por el virus de la enfermedad de Schmallenberg en ganado bovino en España. In: Proceedings of XVIII Congreso Internacional ANEMBE de Medicina Bovina. 24–26th April 2013, pp. 196–198. Lleida, Spain.

Tabla1: RT-qPCR: Presencia relativa del SBV en las diferentes muestras. Referencia empleada: muestra de bazo en cada homogeneizado, valor = 1

Tejido	Ternero NºA		Ternero Nº B	
	Homog. 1	Homog. 2	Homog. 1	Homog. 2
Bazo	1,00	1,00	1,00	1,00
Encefalo	4,56	27,67	1,95	Negativo
Médula espinal	29,45	52,35	770,70	18,13
Moco Placenta	1.965,00	4.608,00	No hecho	No hecho
Cordón Umbilical	630,30	1.938,00	6,59	Negativo
Músculo	95,01	109,10	Negativo	1,06
Líq cefaloraquideo	34,30	184,80	Negativo	Negativo
Sangre	261,40	639,10	Negativo	0,93

RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS DE ESCHERICHIA COLI Y PASTEURELLA MULTOCIDA AISLADAS DEL TRACTO GASTROINTESTINAL Y RESPIRATORIO DE TERNERAS LACTANTES CON DISTINTOS TIPOS DE ALIMENTACIÓN.

G. Maynou[1], A. Bach[1,2], A. Arís[1], F. Fàbregas[1], y M.Terré[1]

[1]Department of Ruminant Production, IRTA, Barcelona, Spain

[2]ICREA, Barcelona, Spain

RESUMEN

The objective of the study was to evaluate the susceptibility to antibiotics of *Escherichia coli* from fecal swabs and *Pasteurella multocida* from nasal swabs isolated from 6-week old Holstein calves fed with either waste milk or milk replacer. Samples were obtained from 8 different commercial farms (10 calves per farm, and 5 colonies per sample were isolated from the nasal and 5 for the fecal swabs). The susceptibility to 9 different antibiotics was tested, and isolated colonies of *E. coli* and *P. multocida* were confirmed by PCR. The preliminary results pointed *E.coli* colonies isolated from the fecal swab presented more antibiotic resistances than *P. multocida* colonies isolated from the nasal swabs. Furthermore, it seemed that the susceptibility to antibiotics followed a different pattern depending on the type of liquid feeding offered.

INTRODUCCIÓN

Los agentes antimicrobianos son utilizados en el ganado bovino para tratar distintas patologías (Hendriksen et al., 2008), lo que genera un producción marginal de leche con residuos de antibióticos (Ramirez et al., 2003) que no puede destinarse al consumo humano. A menudo los terneros son alimentados con la leche de descarte procedente de vacas tratadas con antibióticos (Langord et al., 2003), y de aquellas vacas que tienen un elevado contaje de células somáticas. Este hecho podría contribuir a incrementar la resistencia a los antibióticos encontrados en bacterias potencialmente patógenas como *Escherichia coli* y *Pasteurella multocida*. Langford et al. (2003) observaron que alimentar terneros

con leche a la que se añadía distintas cantidades de antibióticos, aumentaba el número de bacterias resistentes a los antibióticos en el intestino de los terneros. Sin embargo, otros estudios no han mostrado ningún aumento evidente en la resistencia a los antibióticos de bacterias intestinales aisladas en terneros alimentados con leche que contiene antibióticos (Wray et al., 1990). Algunos estudios sugieren que el aumento del número de bacterias patógenas con resistencia a antibióticos podría estar relacionada con una eficiente transferencia horizontal de genes de resistencia entre bacterias de distintas especies. Kehrenberget et al. (2001) señalan que la mayoría de genes de resistencia conocidos en *Pasteurella* están asociados con elementos genéticos móviles pudiendo ser fácilmente intercambiados entre bacterias. Estudios recientes confirman que algunos de los genes de resistencia encontrados en *Pasteurella* y *Mannheimia* como catAIII y sulII, están ampliamente distribuidos en *Enterobacteriaceae* y otras bacterias Gram-negativas (Kehrenberget et al., 2001). La mayoría de estudios que evalúan la resistencia a antibióticos de la flora de terneros alimentados con leche de descarte, se centran en la flora del tracto gastrointestinal, pero los antibióticos ingeridos a través de la leche, pueden ser absorbidos a nivel intestinal y ejercer presión antimicrobiana en otras partes del organismo como la microbiota del tracto respiratorio. Por ello, el presente estudio tiene por objetivo determinar si existe un aumento en los patrones de resistencia a antimicrobianos comunmente usados en explotaciones bovinas en terneras lactantes alimentadas con leche con residuos de antibióticos en comparación con terneras que han recibido lactoreemplazante (LR).

MATERIALES Y MÉTODOS

Un total de 80 hisopos rectales y nasales fueron obtenidos de terneras lactantes Holstein de 6 semanas (± 3 días) de edad procedentes de 8 explotaciones lecheras distintas de la provincia de Girona (10 animales en cada granja). En cuatro de ellas las terneras fueron alimentadas con leche de descarte (con residuos de antibióticos o vacas con un elevado recuento de células somáticas) y en las otras cuatro con LR. En ningún caso las terneras fueron tratadas con antibióticos. Las muestras fecales fueron cultivadas en condiciones aeróbicas en Agar McConkey a 37ºC durante 24 h para el aislamiento de *Escherichia coli*, mientras que las muestras nasales fueron cultivadas en Agar Columbia con sangre de carnero al 5% a 37ºC durante 24 h para el aislamiento de *Pasteurella multocida*. Por cada siembra fueron aisladas 5 colonias sospechosas de *E. coli* y 5 sospechosas de *P. multocida* en Agar Columbia con sangre de carnero al 5% a 37ºC durante 24 h. La identificación de las bacterias se realizó mediante ensayos específicos de PCR (iCycler, Bio-Rad). Los oligonucleótidos utilizados para la identificación de *E. coli* durante la reacción de PCR fueron P1 (5'-ATC ACC GTG GTG ACG CAT GTC GC-3') y P2 (5'-CAC CAC GAT GCC ATG TTC ATC TGC-3') obteniendo un fragmento de 486 pb. Para la identificación de *P. multocida* fueron utilizados los oligonucleótidos KMT1T7 (5'-ATC CGC TAT TTA CCC AGT GG-3') y KMT1SP6 (5'-GCTGTAAACGAACTCGCCAC-3') obteniendo un fragmento de 456 pb. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo a una temperatura de hibridación de 58ºC.

La susceptibilidad de los aislados frente a agentes antimicrobianos fue determinada mediante el método estandarizado de difusión en disco descrito por el Laboratorio Internacional de Referencia: National Committee for Clinical Laboratory Standars (NCCLS). Los aislados confirmados de *E. coli* y *P. multocida* fueron inoculados en 3 ml de solución estéril de NaCl al 0,9% hasta alcanzar una densidad óptica correspondiente a 0,5 unidades de McFarland. Una vez ajustada la turbidez de las suspensiones bacterianas fueron sembradas, en Agar Mueller-Hinton en el caso de *E. coli* y en Agar Sangre Mueller-Hinton en el caso de *P. multocida*, mediante un hisopo estéril para formar un uniforme césped de crecimiento bacteriano. Los discos de los antibióticos testados fueron colocados en la superficie del medio usando un dispensador de discos. Los agentes antimicrobianos testados fueron: amoxicilina-ácido clavulánico (AMC), 20/10 µg; ceftiofur (EFT), 30 µg; colistina (CO), 10 µg; doxiciclina (DO), 30 µg; enrofloxacina (ENR), 5 µg; eritromicina (E), 15 µg; florfenicol (FFC), 30 µg; imipenem (IMP) 10 µg (Oxoid).

La resistencia a cada uno de los antibióticos fue clasificada en 3 categorías: resistente (R), sensible (S), o intermedio (I) de acuerdo con los criterios de interpretación descritos en la guía CLSI M31-A3 (2008). La frecuencia de cada una de estas 3 categorías según el régimen de alimentación fue analizada con un test Chi-cuadrado.

RESULTADOS

Hasta el momento se han aislado 100 colonias de *E.coli* y 100 colonias sospechosas de *P.multocida* (falta confirmar por PCR), 50 de ellas procedentes de terneras alimentadas con LR, y 50 de ellas de terneras alimentadas con leche de descarte. Independientemente, de la fuente de alimentación de las terneras, las colonias de *E.coli* presentaban una mayor incidencia de resistencia a antimicrobianos que las colonias sospechosas de *P. multocida*. En relación a la resistencia a antibióticos, hasta el momento, los resultados preliminares indican un mayor porcentaje de resistencia a AMC ($P = 0.07$) y DO ($P < 0.05$) en *E.coli* aislada de terneras alimentadas con LR, mientras que las terneras alimentadas con leche de descarte presentan un mayor porcentaje de resistencia a EFT ($P = 0.06$), ENR ($P = 0.11$), y FFC ($P = 0.08$).

REFERENCIAS

1. Hendriksen, R. S., Mevius, D. J., Schroeter, A., Teale, C., Meunier, D., Butaye, P., Franco, A., Utinanes, A., Amado, A., Moreno, M., Greko, C., Stärk, K., Berghold, C., Myllyniemi, A-L., Wasyl, D., Sunde, M. and F. M. Aarestrup. 2008. Prevalence of antimicrobial resistance among bacterial pathogens isolated from cattle in different European countries: 2002–2004. Acta Vet Scand. 50:28
2. Kehrenberg, C., Schukze-Tanzil, G., Martel, J. L., Chalus, E. and S. Schwarz. 2001. Antimicrobial resistance in *Pasteurella* and *Mannheimia*: epidemiology and genetic basis. Vet. Res. 32: 3323-339.
3. Langford, F. M., Weary, D. M. and L. Fisher. 2003. Antibiotic resistance in gut bacteria from dairy calves: A aose response to the level of antibiotics fed in milk. J. Dairy Sci. 86:3963-3966.
4. Ramírez, A., Gutiérrez, R., Díaz, G., González, C., Pérez, N., Vega, S., and M. Noa. 2003. High-performance thin-layer chromatography–bioautography for multiple antibiotic residues in cow's milk. J. Chromatogr. B. *784*: 315-322.
5. Wray, C., Furniss, S. and C. L. Benham. 1990. Feeding antibiotic-contaminated waste milk to calves - Effects on physical performance and antibiotic sensitivity of gut flora. Brit. Vet. J. 146: 80-87

RESULTADOS DEL DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES DE TRANSMISIÓN SEXUAL EN SEMENTALES DE EXPLOTACIONES DE GANADO DE CRÍA EN ESPAÑA DURANTE 2006-2013

Collantes-Fernández E.[a*], Rojo-Montejo S.[a], Sánchez-Sánchez R.[a], Navarro-Lozano V.[a], García-Peña F.J.[b], Ortega-Mora, L.M.[a]

[a] SALUVET, Departamento de Sanidad Animal, Facultad de Veterinaria, U.C.M., Ciudad Universitaria s/n, 28040 Madrid.

[b] Laboratorio Central de Veterinaria de Algete, Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino, Ctra Madrid-Algete km 8, 28110, Algete, Spain.

*Correspondencia: Esther Collantes Fernández. Tel.: +34-913944095; fax: +34-913944098. E-mail: esthercf@vet.ucm.es

ABSTRACT

Bovine Trichomonosis (BT) and Bovine Genital Campylobacteriosis (BGC) are two sexually transmitted diseases (STD) which are prevalent in areas where natural breeding in beef cattle is widely practiced. The systematic approach for STD control relies upon identification of infected bulls followed by their removal from the herd. In the last years, Spanish beef cattle population managed in extensive outdoor grazing systems has increased significantly. In such systems, identified risk factors for STD are present. Here, we analyze the diagnostic results for STD generated in the SALUVET laboratory from 2006 to 2013. During 2006-2009, BT or BGC were identified in 30.8% (36/117) or 2.5% (3/117) of bulls tested, respectively. Between 2010 and 2013, an increased in the STD diagnosis demand was observed, testing a total of 848 bulls. A decreased in the number of infected bulls was detected in this period (BT 15.7%, 33/848 and BGC 5.3%) (P<0.001).These differences could be due to the rationale for STD diagnosis. Whereas bull testing from 2006 to 2009 was required mainly for the differential diagnosis of early reproductive failure, from 2010 to 2013 bull testing was considered as a part of the herd health scheme. A significant higher BT occurrence was found in bulls from beef herds managed in mountain areas where several owners use common pastures than in those from cattle reared in fenced grasslands from Western Spain (dehesa areas) (19.5%, 71/363 *vs* 12.8%, 62/485; *P*<0.001). BGC was found in a significant higher number of bulls from dehesa compared to mountain areas (7.2%, 33/455 *vs* 3.6%, 10/360; *P*<0.01). Although regular monitoring programs are not compulsory in Spain, nowadays there is a growing concern for STD diagnosis in beef cattle operations.

RESUMEN

La Tricomonosis bovina (TB) y la Campilobacteriosis genital bovina (CGB) son dos enfermedades de transmisión sexual (ETS) frecuentes en ganado bovino mantenido en régimen extensivo y donde se emplea la monta natural. En ambas enfermedades, la infección en el toro es asintomática, actuando éste como portador, mientras que en la vaca la infección origina muerte embrionaria o fetal temprana. Las pérdidas económicas que ocasionan estas enfermedades son debidas principalmente al alargamiento del intervalo entre partos y una disminución del número de terneros/año. El control de las ETS se basa, principalmente, en la identificación y sacrificio de los toros infectados o, alternativamente, en el tratamiento con antibióticos de los toros con CGB. En España, el censo del ganado bovino de carne en régimen extensivo en los últimos años se ha incrementado significativamente. En estos sistemas están presentes diversos factores de riesgo para las ETS, como el uso de pastos comunales, la existencia de toros compartidos o el comercio de animales cuyo estado sanitario se desconoce.

Con el objetivo de investigar la presencia y distribución espacio-temporal de las ETS en España, se han analizado los resultados diagnósticos de estas enfermedades obtenidos en el laboratorio SALUVET en el periodo 2006-2013. En todos los casos, la detección de los agentes responsables se realizó a partir de muestras de esmegma prepucial recogidas mediante el raspado de la mucosa del pene y prepucio utilizando un raspador de cabezal plástico. Las técnicas utilizadas fueron el aislamiento de los agentes en medios de cultivo adecuados y la detección de sus ácidos nucléicos mediante técnicas de PCR.

En el periodo 2006-2009 se analizaron un total de 117 toros, detectándose la presencia de la TB y de la CGB en el 30,8% (36/117) y 2,5% (3/117) de los toros analizados, respectivamente. Entre 2010 y 2013, se produjo un aumento notable en la demanda del diagnóstico de las ETS por parte del veterinario clínico, recibiéndose para su análisis un total de 848 muestras. En comparación con el anterior periodo, en estos últimos 3 años se observó una disminución en el número de toros infectados, detectándose la TB en el 15,7% (133/848) y la CGB en el 5,8% (43/815) de los toros analizados (P<0,001). Las diferencias observadas podrían deberse al incremento en el número y zonas muestreadas y al propósito del análisis. Durante 2006-2009 las muestras recibidas procedían principalmente de toros de explotaciones con problemas de fallo reproductivo temprano, mientras que en el periodo 2010-2013 el análisis de los toros ha pasado a formar parte del control sanitario que realiza el veterinario en explotaciones con monta natural. Cuando los resultados se analizaron en función de la localización geográfica, se observó un mayor número de animales con TB en las zonas de montaña frente a zonas de dehesa del oeste peninsular, posiblemente relacionado con el uso de pastos comunales (19,5%, 71/363 *vs* 12,8%, 62/485; *P*<0,001). Sin embargo la CGB fue significativamente más frecuente en el sistema de dehesa comparado con el de montaña (7,2%, 33/455 *vs* 3,6%, 10/360; *P*<0,01).

Aunque el diagnóstico y control de las ETS no es obligatorio en España, hoy en día existe un aumento creciente en la demanda de las pruebas para su diagnóstico, debido a un mejor conocimiento de estas enfermedades y su repercusión sobre la eficacia reproductiva. El diagnóstico de las ETS debe realizarse de forma anual en todos los toros de precedentes de explotaciones que utilizan la monta natural (2 o 3 pruebas antes de la temporada de cría), especialmente en explotaciones que usen utilizan pastos comunales y en los toros de nueva adquisición antes de entrar en un rebaño.

EFECTO DE LA SEROPOSITIVIDAD A *MYCOBACTERIUM PARATUBERCULOSIS* SOBRE LA PRODUCCIÓN, COMPONENTES DE LA LECHE E ÍNDICES REPRODUCTIVOS EN VACAS LECHERAS

Mª Natividad Pesqueira[(1)], Camino Factor[(1)], Iván Mato[(1)], Mª Luisa Sanjuán[(2)], Carmen Eiras[(3)], Ignacio Arnaiz[(3)], Eduardo Yus[(2)], Fº Javier Diéguez[(2,4)]

[(1)]ADSG Xundeva; [(2)] Unidad de Epidemiología y Sanidad Animal (Facultad de Veterinaria), Instituto de Investigación y Análisis Alimentarios, USC; [(3)] Laboratorio de Sanidade e Produción Animal, Xunta de Galicia; [(4)]Departamento de Anatomía y Producción Animal, Facultad de Veterinaria, USC

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue investigar la influencia de la infección subclínica por *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) sobre la producción láctea y diversos parámetros de calidad de la leche y sobre distintos índices reproductivos en vacas pertenecientes a explotaciones de ganado vacuno lechero.

El estudio se llevó a cabo en 653 rebaños que participan desde el año 2005 en un programa voluntario de control de la paratuberculosis bovina que incluye la toma de muestras de suero sanguíneo de todos los animales mayores de 24 meses para la realización de análisis serológicos mediante la técnica de ELISA con una periodicidad anual. Posteriormente, de los animales seropositivos se recogen muestras de heces del recto para intentar la identificación de MAP mediante cultivo y PCR. Entre todos los rebaños fueron seleccionados 40, que mostraban más del 8% de positividad a anticuerpos y/o que se identificó MAP por cultivo y/o PCR en algunos animales de la granja. Los parámetros estudiados se obtuvieron del Control Lechero Oficial. No se observó efecto significativo de la infección por MAP sobre los parámetros de calidad de la leche individual ni en la lactación previa a ser detectados los animales como seropositivos ni en la actual. La única diferencia significativa se comprobó en el intervalo parto-primera inseminación, con un incremento medio de 14 días en los animales seropositivos frente a MAP con respecto a los seronegativos.

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate the effect of subclinical *Mycobacterium avium* subsp. *paratuberculosis* (MAP) infection on milk production and milk quality variables, and reproductive indices in dairy cows. The study was carried out in 653 herds within a paratuberculosis control program with serum sampling of all animals over 24 months to perform serological ELISA annually since 2005. Later, faeces samples of serologically positive animals to try to identify the etiologic agent by culture and PCR assay were taken. From all herds, 40 farms where more than 8% of sero-positive cows and/or positive culture-PCR in some animals were selected. Data of quality milk and reproduction from official milk control records for selected animals were obtained. There is no significant effect of MAP infection on individual milk quality variables, either pre lactation that were detected seropositive animals or the current lactation. The only significant difference is observed in the interval from calving-first insemination, with an average increase of 14 days in animals positive about negatives.

INTRODUCCIÓN

Mycobacterium avium subsp. *paratuberculosis* (MAP) causa la paratuberculosis bovina, una enteritis granulomatosa crónica, que como reflejan los datos de prevalencia e incidencia en España y en otros países del mundo, se está incrementando en los últimos años. Esta enfermedad provoca un importante impacto económico negativo en las explotaciones bovinas afectadas ya que los animales enfermos presentan reducción de la producción láctea y de la tasa de fertilidad, aumento de la susceptibilidad a otras enfermedades, especialmente a infecciones mamarias, reducción de la condición corporal y a la eliminación prematura e incremento en los costes de reposición (1, 2).

No obstante, el efecto de la infección subclínica por MAP sobre la producción láctea y parámetros de calidad de la leche, y sobre la reproducción no está claro y los resultados obtenidos en diferentes estudios son contradictorios (1, 2, 3). Por otro lado, la cuantificación del impacto económico de la infección subclínica por MAP es un aspecto esencial para valorar el costo-beneficio de un programa de control de la paratuberculosis bovina.

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la infección subclínica por MAP sobre la producción láctea, contenido en grasa y proteína de la leche, recuento de células somáticas (RCS) de la leche, e índices reproductivos como días abiertos, intervalo parto-primera inseminación y número de inseminaciones necesarias para gestación en vacas lecheras.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se ha realizado en 653 explotaciones de ganado vacuno lechero pertenecientes a la ADSG Xundeva (Lalín, Pontevedra) y que desde el año 2005 desarrollan un programa de control de la paratuberculosis con un muestreo serológico anual mediante ELISA (Pourquierr ELISA Paratuberculosis Antibody Screening, Pourquier) de todos los animales mayores de 24 meses. Posteriormente, de todos los animales seropositivos se recogían heces del recto para identificar los eliminadores fecales de la bacteria mediante cultivo microbiológico (OIE, 2008) o por PCR en tiempo real (ParaTB kuanti-VK, Vacunek).

Se seleccionaron los rebaños que presentaban más del 8% de animales seropositivos o con aislamiento de MAP, obteniéndose un total de 40 rebaños que cumplían los criterios anteriores y en los que los animales seropositivos aún estaban presentes.

Se analizaron datos de un total de 193 vacas seropositivas y dos controles por cada caso. Los datos de vacas individuales de producción y calidad de leche e índices reproductivos se obtuvieron a partir del Control Lechero Oficial de las explotaciones.

El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el software SPSS 15.0™ (SPSS Inc., Chicago, Il). Los valores medios de los parámetros analizados fueron calculados para animales caso (status positivo) y controles (status negativo). Se usó un modelo lineal para identificar la asociación entre el status serológico frente a MAP de los animales y los parámetros considerados. Se aplicaron estimaciones robustas de la varianza para ajustar el efecto intra-rebaño de grupo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 se reflejan los datos descriptivos de la producción láctea y de los contenidos en grasa y proteína de la leche en la lactación anterior a la detección de los animales como seropositivos. Las diferencias observadas en estos parámetros no fueron estadísticamente significativas. En relación a los datos descriptivos del potencial de producción láctea, contenido en grasa y proteína y el RCS de la leche en la lactación actual, se comprobaron diferencias entre los animales infectados por MAP y las vacas no infectadas; aunque no fueron significativas estadísticamente (< 0,05), las diferencias en el potencial de la producción láctea se aproximaron a la significación (0,143). Así mismo, en la tabla 2 se reflejan los datos descriptivos de los parámetros reproductivos analizados.

Tabla 1. Producción láctea, contenido en grasa y proteína de la leche en la lactación anterior a la detección de animales infectados por MAP y controles.

		Nº vacas	Media (Kg.)	Intervalo de confianza 95%	
Variables	Status			Límite inferior (Kg.)	Límite superior (Kg.)
Producción láctea	Negativo	329	9422,8	9220	9625,6
	Positivo	172	9386,4	9117	9655,9
Grasa	Negativo	329	343,8	334,7	353
	Positivo	172	344,6	332,0	357,3
Proteína	Negativo	329	301,1	294,5	307,6
	Positivo	172	299,3	290,2	308,4

Tabla 2. Índices reproductivos de animales infectados por MAP y controles.

				Intervalo de confianza 95%	
Variables	Status	Nº vacas	Media (días)	Límite inferior (días)	Límite superior (días)
Días abiertos	Negativo	321	164	152,6	175,5
	Positivo	160	172	156,2	187,9
Intervalo parto-1ª inseminación	Negativo	330	86,9	82,5	91,2
	Positivo	145	100,1	90,2	109,9
Nº inseminación	Negativo	382	2,7	2,5	2,9
	Positivo	192	2,8	2,4	3,1

Las diferencias observadas en el intervalo parto-primera inseminación entre ambos grupos de vacas estudiadas fueron las únicas estadísticamente significativas. Existió un incremento en el número de días abiertos en las vacas seropositivas a MAP, posiblemente por una reducción en la expresión del estro o un incremento en el período de anoestro postparto por un balance energético negativo (2). El efecto de la infección subclínica por MAP sobre la producción láctea y parámetros de calidad de la leche no es tan evidente como la indicada por otros autores. La variabilidad de los resultados en relación a otros estudios es posiblemente debido a la prevalencia de la enfermedad en el rebaño, al manejo de los animales infectados y a los tests de diagnóstico usados (3).

CONCLUSIONES

La infección subclínica por *Mycobacterium paratuberculosis* no presenta un efecto claro sobre la producción láctea, la grasa y la proteína, y el RCS de la leche en la lactación previa o en la que las vacas se detectan como seropositivas.

Los animales seropositivos a *Mycobacterium paratuberculosis* muestran una diferencia significativa en el intervalo parto-primera inseminación en comparación con los animales seronegativos, con incremento medio de 14 días.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Diéguez, F.J.; Arnaiz, I.; Sanjuán, M.L.; Vilar, M.J.; Yus, E. 2008. Management practices associated with *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* infection and the effects of the infection on dairy herds. Vet Rec, 162, 614-617.
2. Johson-lfearulundu, Y.J.; Kaneene, J.B.; Sprecher, D.J.; Gardiner, J.C.; Lloyd, J.W.2000. The effect of subclinical *Mycobacterium paratuberculosis* infection on days open in Michigan, USA, dairy cows. Prev Vet Med, 46: 171-181.
3. Lombard, J.E.; Garry, F.B.; McCluskey, B.J.; Wagner, B.A. 2005. Risk of removal and effects on milk production associated with paratuberculosis status in dairy cows. J Am Vet Med Assoc, .227: 1975–1981.

DETERMINACIÓN DE IBR, BVD Y BRSV MEDIANTE PCR SOBRE MUESTRA NASAL DE TERNEROS DE CEBO. RESULTADOS DE 5 AÑOS DE MUESTRO EN ESPAÑA

Casademunt, S.; Ordis*, P.; Maldonado, J.; Sanz, M.A.; Soler, C.; Souto, A.; Valls, L.

HIPRA, Amer (Girona), España.

*E-mail : pere.ordis@hipra.com

RESUMEN

En 5 años de muestreos BOVIRESP® se han recibido muestras de cebaderos de terneros de toda la geografía española. BOVIRESP® permite la identificación de los virus causantes de la Rinotraqueítis Infecciosa Bovina (IBRV), Diarrea Viral Bovina (BVD) y Virus Respiratorio Sincitial (BRSV), mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa a Tiempo real (RT-PCR) sobre muestra nasal. Los resultados obtenidos entre 2009 y 2013 muestran que un 51% de los informes positivos, lo fueron a BVDV, mientras que un 47% lo fueron a BRSV y un 13% a IBRV. Un 12,3% de los informes fueron positivos a más de un virus.

During 5 years of the BOVIRESP® service, samples from feedlots all around Spain have been received. BOVIRESP® uses the Polymerase Chain Reaction (PCR) for the identification of the Infectious Bovine Rhinotracheitis virus (IBR), the Bovine Viral Diarrhea virus (BVD) and the Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) in nasal samples. The results from 2009 to 2013 show that 51% of the positive samples were positive to BVD, 47% were positive to BRSV and 13% were positive to IBR. More than one virus were identified in 12,3% of the samples.

INTRODUCCIÓN

BOVIRESP® es una herramienta de diagnóstico, desarrollada por HIPRA, basada en la técnica de RT-PCR para la detección de IBRV, BVDV y BRSV sobre muestra de exudado nasal de bovinos. El servicio va dirigido, principalmente, al veterinario especialista en ganado bovino de cebo y pretende identificar de forma rápida y precisa los principales patógenos víricos implicados en un brote respiratorio. BOVIRESP® ha estado funcionando de forma continua e ininterrumpida durante mas de 6 años, ofreciendo una herramienta de diagnóstico excepcional para el seguimiento y la monitorización sanitaria en las explotaciones de ganado vacuno, principalmente de cebo.

Este estudio muestra los resultados obtenidos del total de muestras analizadas procedentes de cebaderos de España entre los años 2009 y 2013.

MATERIALES Y MÉTODOS

Entre los años 2009 y 2013 se han analizado un total de 1.614 muestras de hisopos nasales remitidas por 91 veterinarios y obtenidas de explotaciones bovinas de cebo repartidas por toda la geografía española. El muestreo en las explotaciones se realizó con el kit de muestreo BOVIRESP®: seis hisopos nasales, para obtener la mayor cantidad posible de exudado nasal de seis terneros con sospecha de estar en fase de excreción vírica. Las muestras se enviaron en refrigeración al laboratorio de diagnóstico DIAGNOS de HIPRA. Una vez en el laboratorio se realizó la extracción automatizada (QIAcube. Qiagen) del ADN y ARN viral (QIAmp DNA y RNeasy minikit. Qiagen), seguida de la amplificación específica del material genético de IBRV, BVDV y BRSV mediante tres distintas RT-PCRs adaptadas de protocolos previamente descritos [1,2,3,4]. Los resultados de las 3 RT-PCRs fueron

entregados a los veterinarios de las explotaciones en formato de informe. Los datos del total de informes generados entre 2009 y 2013 fueron analizados y tabulados en función de los patógenos detectados y la fecha de muestreo.

RESULTADOS

Se entregaron 269 informes BOVIRESP completos, de los que 105 (39%) dieron resultados positivos a, al menos, uno de los agentes analizados (IBRV, BVDV y/o BRSV). Así, de los 105 informes, 54 fueron positivos a BVDV (51.4%), 50 fueron positivos a BRSV (47%), 14 a IBRV (13%) y 13 (12.3%) resultaron positivos a más de uno de los virus analizados.

Analizando los resultados por meses, observamos que del total de informes positivos a BRSV, un 48% se distribuyen entre los meses de Septiembre y Diciembre de los distintos años analizados. Los informes positivos a IBR y BVD se reparten a lo largo de todo el año sin observarse diferencias notables.

DISCUSIÓN

Un resultado positivo indica la presencia del virus en la secreción nasal de alguno de los terneros muestreados y, por tanto, la circulación del virus en el grupo. Los resultados negativos pueden indicar ausencia de circulación viral o ser debidos a una mala obtención o conservación de la muestra. La selección de los animales a muestrear es particularmente importante. Éstos deben estar en fase inicial del proceso respiratorio. De lo contrario las posibilidades de hallar el virus disminuyen sensiblemente.

Es remarcable que el patógeno aislado con más frecuencia sea el BVD (51,4%), en contraste con la percepción clínica de muchos veterinarios. Este hecho nos sugiere una posible mayor participación de este virus en la etiología del Síndrome Respiratorio Bovino (SRB), probablemente actuando como inmunosupresor. Cabe destacar que la detección de animales positivos frente a BRSV presenta una cierta estacionalidad, siendo máxima entre los meses Septiembre y Diciembre. Esta estacionalidad no se ha detectado en el caso del BVDV y el IBRV.

CONCLUSIONES

El servicio BOVIRESP® lleva más de 5 años funcionando ininterrumpidamente en España. Durante este tiempo se ha consolidado como una herramienta importante de soporte diagnóstico al veterinario especialista en bovino de cebo.

Los resultados obtenidos sugieren la necesidad de estudiar más a fondo el papel patológico del BVD en el SRB.

REFERENCIAS

[1] Wang, J et al. Validation of a real-time PCR for the detection of bovine herpesvirus 1 in bovine semen. J Virol Methods. 2007

[2] Hakhverdyan M, et al. Evaluation of a single-tube fluorogenic RT-PCR assay for detection of bovine respiratory syncytial virus in clinical samples. J Virol Methods. 2005

[3] Hofmann MA, et al. Rapid characterization of new pestivirus strains by direct sequencing of PCR-amplified cDNA from the 5' noncoding region. Arch Virol. 1994

[4] Katz JB, et al. Presumptive diagnostic differentiation of hog cholera virus from bovine viral diarrhea and border disease viruses by using a cDNA nested-amplification approach. J Clin Microbiol. 1993.

RELATIONSHIP BETWEEN TOTAL MICROBIAL COLOSTRUM CONTAMINATION AND IGG ABSORPTION IN NEWBORN DAIRY CALVES

M. Terré[1], and A. Bach[1,2]

[1]Department of Ruminant Production, IRTA, Barcelona, Spain

[2]ICREA, Barcelona, Spain

ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the relationship between bacteria contamination of colostrum and the efficiency of colostrum IgG absorption. Fifteen newborn Holstein calves from 5 different farms were used in this study. Colostrum bacteria contamination from the udder to different colostrum containers was studied by harvesting colostrum samples in Nutrient and MacConkey agar plates, and blood samples were obtained at birth and 6 h after the first colostrum feeding to determine plasma IgG concentrations. Total bacteria and Enterobacteria counts increased ($P < 0.001$) from the udder to the milking bucket, but it did not increase from the milking bucket to the calf bucket or the teat feeder. Furthermore, a negative relationship ($R^2 = 0.27$; $P < 0.05$) was observed between log total bacteria counts in colostrum from calf buckets and the efficiency of colostrum IgG absorption 6 h after colostrum was fed. Although there are many factors that affect IgG absorption (i.e., time elapsed from birth, IgG content of colostrum) keeping colostrum with low bacteria contamination may help to improve IgG absorption and calf health.

INTRODUCTION

Mortality range of preweaning calves in dairy farms is quite variable, ranging from 2 to 20%. The National Animal Health Monitoring System in the United States (2007) reported an average around 7.8 %. One of the main causes that influence mortality of young calves is the failure of passive transfer from the colostrum to the calves. There are several factors that can help to improving passive transfer: a good quality of colostrum (colostrum IgG concentration >50 g/l), adequate amounts of colostrum (>3 l), and to feed the colostrum as soon as possible after birth (before 6 h) (Godden, 2008; Godden et al., 2009). Furthermore, Johnson et al. (2007) offered pasteurized colostrum vs non-pasteurized colostrum, and reported greater serum IgG concentration 24 h post birth in pasteurized than in non-pasteurized colostrum-fed calves, suggesting an improvement in IgG absorption when colostrum bacterial contamination was reduced. A competition between bacteria and IgG in the intestine epithelial cells might be a possible mechanism to explain this decrease of IgG absorption in non-pasteurized colostrum-fed calves. The maintenance of a good cleanliness level can also help to decrease bacteria contamination, since bacteria counts are low in samples collected directly from the udder (10 cfu/mL), and increase in samples obtained from the floor bucket (10^5 cfu/mL) (Stewart et al., 2005). Therefore, it was hypothesized that low bacteria counts in the colostrum may help to improve the IgG absorption 6 h after feeding colostrum.

MATERIALS AND METHODS

The study involved fifteen newborn Holstein calves (41.2 ± 6.15 kg BW) from 5 different farms. Within 5 h after each calf birth, an initial blood sample was obtained before colostrum was fed, and calves were weighed to estimate plasma volume concentration (assuming plasma represented 8% BW). After that, a first-milking colostrum sample was collected directly from the udder. Then, a second colostrum sample was obtained from the milking bucket,

and a third sample was taken from the bucket or teat-feeder in which calves were fed. Total bacterial counts in Nutrient Agar plates (incubated at 32ºC during 48 h) and total Enterobacteria counts in MacConkey Agar plates (incubated at 37ºC during 24 h) were determined in colostrum samples. Then, 1.7 ± 0.64 L of colostrum was fed to calves, and 6 h after the first colostrum consumption another blood sample was obtained, samples were centrifuged, and plasma was stored at -18ºC. Colostrum IgG concentration from the third colostrum sample, and serum IgG concentration at 0 and 6 h after the colostrum was fed were determined by radial immunodiffusion assay (RID, VMRD). Efficiency of colustrum IgG absorption 6 h after the first colostrum consumption was calculated as: [(plasma IgG at 6 h, mg/L) x (0.08xBW)]/[(colostrum IgG, mg/L) x (colostrum fed, L)].

Total and Enterobacteria counts in colostrum were analyzed with mixed-effects model, considering the sampling container (udder, milking bucket, and teat-feeder) as the fixed effect, and farm as a random effect. Linear regression analyses adjusted by the random effect of the farm were conducted to establish the relationship between colostrum total and Enterobacteria counts, and efficiency of colustrum IgG absorption.

RESULTS AND DISCUSSION

Total and Enterobacteria counts were lower ($P < 0.001$) in the udder compared with the milking bucket or the teat-feeder (Figure 1), suggesting that improving the cleanliness level in the colostrum containers would reduce colostrum bacteria contamination. Stewart et al. (2005) also observed an increase in total and coliform bacteria when colostrum samples were obtained from the udder or the colostrum containers. Furthermore, storing colostrum samples using refrigeration or a preservative (potassium sorbate) would also reduce the bacteria contamination level in the colostrum (Stewart et al., 2005).

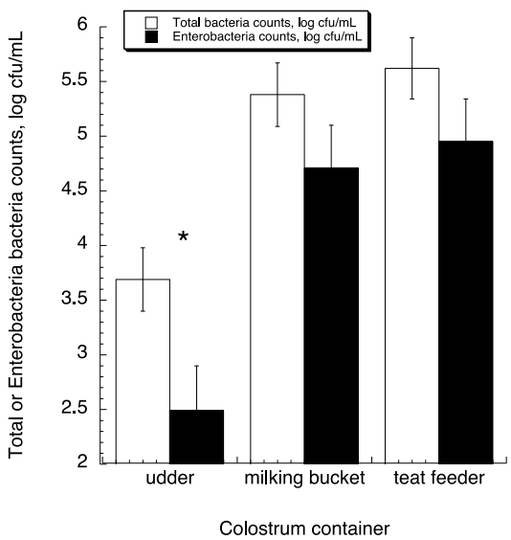


Figure 1. Total and Enterobacteria counts (log cfu/mL) in colostrum of samples obtained from the udder, the milking bucket and the teat feeder.

Linear regression between total and Enterobacteria counts with efficiency of absorption indicated a negative relationship ($R^2 = 0.27$; $P < 0.05$) between total bacteria counts (log, cfu/mL) and efficiency of colostrum IgG absorption (Figure 2), but not with the Enterobacteria counts. Elizondo-Salazar and Heinrichs (2009) reported an improvement in efficiency of absorption when heated colostrum, which reduced bacteria count in the colostrum to 2.8 log cfu/mL, was offered to newborn calves compared with unheated colostrum either with high (5.6 log cfu/mL) or low (4.0 log cfu/mL) standard bacteria plate counts. These authors suggested that factors, other than total bacteria contamination, related to heating colostrum may also interfere in the efficiency of colostrum IgG.

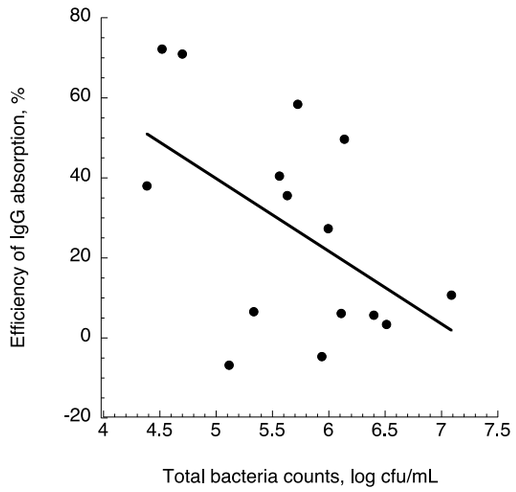


Figure 2. Linear regression between total bacterial counts and efficiency of IgG absorption 6 h after feeding the colostrum.

CONCLUSIONS

Although there are many factors that affect IgG absorption, keeping colostrum with low bacteria contamination may help to improve IgG absorption.

REFERENCES

1. Elizondo-Salazar, and A. J. Heinrichs. 2009. Feeding heat-treated colostrum or unheated colostrum with two different bacterial concentrations to neonatal dairy calves. J. Dairy Sci. 92:4565-4571.
2. Godden, S. M., D. M. Haines, K. Konkol, and J. Peterson. 2009. Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. II: Interaction between feeding method and volumen of colostrum fed. J. Dairy Sci. 92:1758-1764.
3. Godden, S. 2008. Colostrum management for dairy calves. Vet. Clin. Food Anim. 24:19-39.
4. Johnson, J., S. Godden, T. Molitor, T. Ames, and D. Hagman. 2007. Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutricional parameters in neonatal Dairy calves. J. Dairy Sci. 90:5189-5198.
5. Stewart, S., S. Godden, R. Bey, P. Rapnicki, J. Fetrow, R. Farnsworth, M. Scanlon, Y. Arnold, L. Clow, K. Mueller, and C. Ferrouillet. 2005. Preventing bacterial contamination and proliferation during harvest, storage, and feeding of fresh bovine colostrum. J. Dairy Sci. 88:2571-2578.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

EPIDEMIOLOGY OF *ANAPLASMA PHAGOCYTOPHILUM:* DIVERSITY OF ISOLATES FROM WILD AND DOMESTIC RUMINANTS REVEALED BY A NEW MULTIPLE-LOCUS VARIABLE-NUMBER TANDEM REPEAT ANALYSIS (MLVA) APPROACH

DUGAT, T.[2], HADDAD, N.[2] PETIT, E.[3], BOULOUIS, H. J.[2], MONTEIL, M.[2], MAILLARD, R.[1] *

1 - ENVT/UMR Bipar, 31076 TOULOUSE Cedex, France

2- ENVA/UMR Bipar, 94704 MAISONS ALFORT, France

3 – INRA/ UMR Bipar 94704 MAISONS ALFORT, France

***Corresponding author: r.maillard@envt.fr**

Anaplasma phagocytophilum is a tick borne intragranulocytic alpha-proteobacterium, mainly transmitted by ticks belonging to the genus *Ixodes*: *I. ricinus* in Europe, *I. scapularis* and *I. pacificus* in North America and *I. persulcatus* in Asia.

A. phagocytophilum is present worldwide, as animal infection has been detected in Europe, North and South America, Asia (Japan, Korea, China), and Africa (Tunisia, Senegal).

In humans, it is the causative agent of human granulocytic anaplasmosis (HGA). Contrary to the US, only few human cases have been described in Europe to date, even if more cases have been detected in several countries during the recent years. Conversely, in Europe but not in the USA, *A. phagocytophilum* is considered as a pathogen of major interest in cattle. Bovine granulocytic anaplasmosis (BGA) is characterized by anorexia, agalactia, and in some cases, abortions and is responsible for significant economic losses in Europe, whereas North American strains appear not to be virulent for those animals.These discrepancies between continents at the level of the same species (Human, cattle) are suggestive of both interspecies and intraspecies *A. phagocytophilum* variability.

However, the lack of molecular epidemiological tools makes it difficult to explore in depth the epidemiological cycle of this bacterium.

For this purpose, we have developed a Multiple-Locus Variable number tandem repeat (VNTR) Analysis (MLVA) typing technique for *A. phagocytophilum*. Five VNTRs were selected based on the HZ human strain genome, and were tested on 67 samples from cattle, seven from sheep, 15 from roe deer (*Capreolus capreolus*), four from red deer (*Cervus elaphus*), one from a reindeer (*Rangifer tarandus*), two from horses, one from a dog, 26 from ticks and on the Webster human strain.

We obtained 89 different profiles for 130 samples, and a diversity index of 0.96 (for vertebrate isolates, *i.e.* without tick isolates). In addition, one marker allowed distinguishing samples from domestic ruminants *vs* roe deer. Moreover, our technique confirmed that roe deer isolates and domestic ruminant isolates belong to two different clusters, while the isolates from red deer and from domestic ruminants locate within the same cluster.

This result potentially reveals the existence of at least two different epidemiological transmission cycles of *A. phagocytophilum* in Europe. The first one might involve red deer as reservoir host, whereas the second one might involve roe deer.

For cattle and sheep, much more diversity was obtained, as could be expected, between herds than within the same herds.

Finally, according to our results, our technique has the potential to allow studying the links between *A. phagocytophilum* isolates for epidemiological purposes at different levels and even for phylogenic purposes.

MAIN REFERENCES

1. Bown KJ, Lambin X, Ogden NH, Begon M, Telford G, et al. (2009) Delineating Anaplasma phagocytophilum Ecotypes in Coexisting, Discrete Enzootic Cycles. Emerg Infect Dis 15: 1948–1954. doi:10.3201/eid1512.090178.
2. De la Fuente J, Ruiz-Fons F, Naranjo V, Torina A, Rodríguez O, et al. (2008) Evidence of Anaplasma infections in European roe deer (Capreolus capreolus) from southern Spain. Res Vet Sci 84: 382–386. doi:10.1016/j.rvsc.2007.05.018.
3. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, et al. (2001) Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and "HGE agent" as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. Int J Syst Evol Microbiol 51: 2145–2165. doi:10.1099/00207713-51-6-2145.
4. Dunning Hotopp JC, Lin M, Madupu R, Crabtree J, Angiuoli SV, et al. (2006) Comparative Genomics of Emerging Human Ehrlichiosis Agents. PLoS Genet 2. Available: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1366493/. Accessed 16 January 2014.Edouard S, Koebel C, Goehringer F, Socolovschi C, Jaulhac B, et al. (2012) Emergence of human granulocytic anaplasmosis in France. Ticks Tick-Borne Dis 3: 403–405. doi:10.1016/j.ttbdis.2012.10.002.
5. Morissette E, Massung RF, Foley JE, Alleman AR, Foley P, et al. (2009) Diversity of Anaplasma phagocytophilum Strains, USA. Emerg Infect Dis 15: 928–931. doi:10.3201/eid1506.081610.
6. Pusterla N, Braun U (1997) Clinical findings in cows after experimental infection with Ehrlichia phagocytophila. Zentralblatt Für Veterinärmedizin Reihe A 44: 385–390.
7. Stuen S, Pettersen KS, Granquist EG, Bergström K, Bown KJ, et al. (2013) Anaplasma phagocytophilum variants in sympatric red deer (Cervus elaphus) and sheep in southern Norway. Ticks Tick-Borne Dis 4: 197–201. doi:10.1016/j.ttbdis.2012.11.014.
8. Woldehiwet Z (2006) Anaplasma phagocytophilum in ruminants in Europe. Ann N Y Acad Sci 1078: 446–460. doi:10.1196/annals.1374.084.

MONITORIZACIÓN DE IBR EN TANQUE

(Un método eficaz, sencillo y económico.)

Xabiel González Menéndez

Juan J. Muñiz Salas

ABSTRACT.

The objective of this paper is to show our experience about IBR monitoring in bulk milk tank and to contribute to knowledge to this infectious disease. Samples are for milk quality payment and leaving daily to LILA (Laboratorio Interprofesional Lechero de Asturias).

INTRODUCCIÓN.

A medida que pasa el tiempo se hace más necesario y podríamos decir que urgente establecer un programa de, al menos, control si no de lucha o erradicación, contra IBR. Sin entrar en cuestiones médicas o epidemiológicas, las pérdidas por razones meramente administrativas pueden llegar a ser, dependiendo de la zona, de cierta importancia. Y el lograr poner en funcionamiento un sistema que cumpla unas exigencias mínimas en cuanto a control de esta enfermedad, con una inversión reducida, constituiría un éxito para cualquier administración pública.

Este trabajo y comunicación, tienen como objetivo exponer nuestra experiencia y aportar alguna luz sobre las ventajas de una monitorización de ELISAs en muestras de leche de tanque que rutinariamente llegan al Laboratorio Interprofesional Lechero de Asturias (LILA), para investigación de IBR.

MATERIALES Y MÉTODO.

Se parte de unos datos conocidos previamente que son los estados con respecto a esta enfermedad de las explotaciones de la ADSG "El Binteiro". "El Binteiro" lo componen 66 explotaciones con un total de más 3.000 UGMs. La base documental con la que contamos de partida consta de más de 7.000 ELISAs en sangre de bovinos de más de 18 meses y casi 200 ELISAs en tanque de leche realizados por el Laboratorio de Sanidad Animal de Principado de Asturias.

Se instala una aplicación informática que permite la programación y optimización de las analíticas deseadas.

Ante el "problema" de baja especificidad que algunos argumentan para desvirtuar este método, se realizan 144 ELISAs para IBRgE y 144 IBRgB a 48 establos y repartidos en tres controles (el tiempo de análisis es de 24h y 6 h respectivamente).Los kits utilizados son, para IBRgE de la casa IDEEX y para IBRgB de la casa Lisvet. La obtención de las muestras se realiza en el laboratorio, no hay recogida de muestras ni sangrado específico. Se utilizan las muestras de "pago por calidad" que se recogen al ganadero periódicamente.

Comparamos los resultados con los "esperables" según los estados epidemiológico y vacunal de las explotaciones investigadas. Los resultados se ofrecen como "Positivo", "Negativo" o "Dudoso" (aunque quizás fuera más correcto utilizar los términos "Reactivo" y "No Reactivo") ; además se aporta el índice de titulación de anticuerpos (expresado en %) para poder ver la evolución de los establos. Con respecto a IBRgE serán "Positivos" los resultados <60%, "Dudosos" los resultados entre 60% y 70% y "Negativos" los superiores a 70%. Con respecto a IBRgB serán "Positivos" los >25% y "Negativos" los <25%.

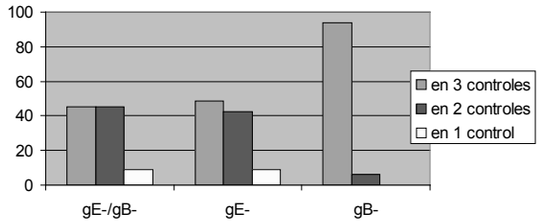
Con respecto a la analítica monitorizada en el LILA (Lab. Interprofesional Lechero de Asturias) nos podemos encontrar con seis tipos de establos IBRgE/IBRgB : establos negativo/negativo, establos positivo/negativo, establos dudoso/negativo, establos positivo/positivo, establos dudoso/positivo y establos negativo/positivo.

Basándonos en el historial sero-analítico y vacunal de 12 años de los establos investigados, nos encontramos con establos sin animales gE-positivos (sanos?) y sin vacunar, con establos sin animales gE-positivos y vacunados con IBR-marcada, con establos con animales gE-positivos en un bajo porcentaje (menos de un 10%) y con establos con animales gE-positivos en un porcentaje superior al 20%. Estos establos los clasificaremos (basándonos también en la presencia o no de animales foraneos o de compra) en "libres cerrados", "libres abiertos", "libres cerrados vacunados con marcada", "abiertos <10% de positivos" y "abiertos >20% de positivos", estos dos últimos, vacunados.



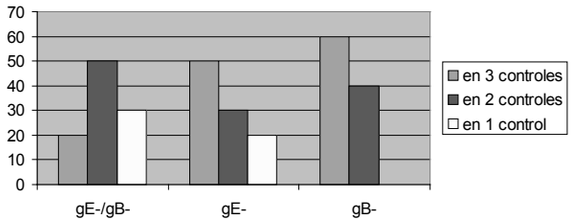
RESULTADOS.

-De los 33 establos "libres cerrados", 15 resultaron "Negativos" o "No Reactivos" tanto a gE como a Gb en todos los controles. De los 18 restantes, 15 lo fueron en dos tercios de las muestras, siendo 14 siempre "Negativos" a gB (8 una vez "Dudosos" y 6 una vez "Positivos" a gE) y uno una vez "Positivo" a gB. Los restante "libres cerrados" fueron siempre "Negativos" a gB (uno fue "Negativo", "Dudoso" y "Positivo" a gE y los otros dos, dos veces "Dudosos" a gE y una vez "Negativos". Es decir 31 fueron "Negativos" siempre a gB y 2 fueron "Positivos" en una ocasión.



LIBRES-CERRADOS

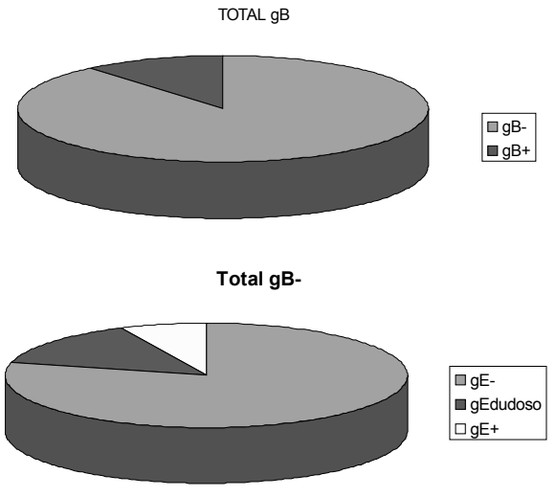
-De los 10 establos "libres abiertos", 2 fueron "Negativos" tanto a gE como a gB en todas las ocasiones. Cinco lo fueron en dos tercios de los controles (siendo siempre "Negativos" a gB 4). De los diez, siete fueron siempre "Negativos" a gB.



LIBRES-ABIERTOS

-Los establos "<10%" y ">20%" siempre fueron "Positivos" a gB y el establo "libre" y vacunado con "marcada" fue siempre "Positivo" a gB y "Negativo" a gE.

-De los 144 ELISAs IBRgB realizados mediante monitorización en tanque de leche, 128 fueron "No Reactivos" o "Negativos". De ellos 101 fueron "Negativos" o "No Reactivos" a IBRgE, 18 "Dudosos" y 9 "Reactivos" o "Positivos".



CONCLUSIONES.

-En establos "libres cerrados" la eficacia del método parece indiscutible, no haciéndose necesario el ELISA/gB más que en los casos de un "Positivo" o "Dudoso" a gE.

-En los establos "libres abiertos" sería utilizable el método aunque sería necesario recurrir en más ocasiones al ELISAgB; además se haría imprescindible recurrir a una información complementaria (y estamos en condiciones de aportarla) consistente en adjuntar en el informe la relación de vacas que entraron o salieron de "control lechero" desde la última analítica y de vacas cuyas producciones se desvíen ostensiblemente con respecto al control más próximo a la última analítica.

- En establos vacunados un ELISAgB no nos sacaría de ninguna duda.
- También podemos deducir de este trabajo que la sensibilidad del ELISAgE es más alta que la del ELISAgB si bien éste tiene una mayor especificidad.
- El método ofrece las suficientes garantías de fiabilidad como para ser incluido en un plan de lucha y control.
- La monitorización supone una garantía en cuanto a periodicidad y una simplificación en mano de obra que no admiten discusión.
- La monitorización posibilita una optimización de las placas de análisis que garantizan unos costes mínimos.

Parece claro pues, que estamos ante un método fiable, sencillo, cómodo, económico y por lo tanto indiscutiblemente eficaz en la lucha y control de IBR en explotaciones de bovino lechero.

Una propuesta para un posible programa de control y/o lucha contra **IBR** podría ser el siguiente.

Habría que distinguir entre explotaciones pertenecientes a una ADSG y no pertenecientes.

En lo que se refiere a los establos pertenecientes a una ADSG este protocolo, básicamente, constaría de los siguientes puntos:

- presentación por parte del veterinario responsable de la ADS de la lista de establos candidatos a entrar en el plan;
- determinación bimensual de niveles de anticuerpos IBRgE mediante ELISA en tanque de leche, utilizando las muestras que para pago por calidad llegan al LILA;
- envío de resultados a la administración y a la ADS y aviso específico si un establo presenta alzas anómalas;
- salida del plan temporalmente del establo en cuestión; si mediante un ELISA IBRgB (si se trata de un establo no vacunado) o mediante un ELISA individual de todos los animales del establo se determinase la negatividad del mismo, entraría de nuevo en el plan;
- calificación y certificación por parte de la administración de los establos negativos.

En el caso de explotaciones no pertenecientes a una ADSG el primer paso sería solicitar al ganadero su inclusión en el plan mediante carta explicativa acompañada de una simple encuesta. El protocolo continuaría igual hasta que un establo resultara positivo; en ese momento saldría del plan y se le recomendaría la entrada en una ADSG.

CALIDAD DE LECHE // QUALITY MILK

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE EL USO DE MICROORGANISMOS UBICUOS EN TANQUE DE LECHE COMO INDICADORES DE LOS PATRONES DE RESISTENCIA A ANTIBIOTICOS EN EXPLOTACIONES DE VACUNO

Autores.-

Ortega Rodríguez, Carmelo[1]; Espada Aguirre, Mónica[1, 2] Orós Espinosa, Jesús[1]

1.- Facultad de Veterinaria de Zaragoza. Departamento de Patología Animal

2.- Gabinete Técnico Veterinario, S.L. (Zaragoza)

RESUMEN

El trabajo presenta los resultados preliminares del estudio de las características de un grupo de microorganismos pertenecientes a los géneros *Enterococcus spp*, *Staphylococcus spp* y *Streptococcus spp*, aislados en muestreos rutinarios en el tanque de leche de explotaciones de vacuno. Se analizan sus patrones de resistencia a antibióticos como posibles "indicadores" de la situación de la resistencia a antibióticos en la explotación y se valora el uso de esos "indicadores" como elemento de referencia para decidir los antibióticos a utilizar en programas específicos de prevención o control de mamitis causadas por microorganismos patógenos. Los resultados ponen de manifiesto un predominio de microorganismos del género *Enterococcus spp* y en menor proporción de los géneros *Staphylococcus spp* y *Streptococuss spp*. Los patrones generales de resistencia (proporciones de cepas con resistencia) de ambos géneros difieren bastante entre sí para los antibióticos testados. La comparación de esos patrones con los de cepas de *S. aureus* aisladas en brotes de mamitis antiguas de algunas de las explotaciones estudiadas, sugieren una importante similitud entre patrones entre los diferentes *Staphylococcus spp* ubicuos aislados en tanque y aquellas cepas de *S. aureus* aisladas en animales con mamitis, siendo menor esa similitud de patrones para *Enterococcus spp*.

ABSTRACT

The study presents the preliminary results of the study of the characteristics of *Enterococcus spp*, *Staphylococcus spp* and *Streptococcus spp*, isolated in routine samplings in milk tank of bovine farms. The study of their resistance to antibiotics patterns was carried out in order to evaluate their use as "indicator" of

the status of resistance to antibiotics in the farm and the use of this information as reference to decide the treatments to apply in specific programs of prevention or control of mastitis caused by pathogenic microorganisms. The results showed a higher proportion of *Enterococcus spp* while *Staphylococcus or Streptococcus spp* were isolated in lower proportions. The comparison of those resistance patterns of the strains isolated in the milk tanks in our study and those of a stock of *S. aureus* strains isolated in previous years in old mastitis cases of the studied farms suggests an important similarity of the patterns of the ubicuous *Staphylococcus spp* isolated in the milk tank and the *S. aureus* of the mastitis cases, while important differences have been observed with the patterns of *Enterococcus spp.*

INTRODUCCIÓN

El uso de "indicadores" como elementos para identificar los riesgos a los que se encuentran expuestas las poblaciones humanas y animales está cada vez más extendido, de modo que empieza a ser habitual la utilización del clima y la vegetación como indicadores de riesgo para algunas enfermedades transmitidas por vectores como la Borreliosis, o el uso de los microorganismos en pienso (en tolvas y bebederos) como indicadores de infección por salmonelosis en poblaciones de cerdos (Gale *et al*, 2009, Estrada *et al*, 2011, Burns, *et al*, 2013).

En vacuno de leche, las mamitis constituyen uno de los principales problemas económicos y sanitarios (Fox, 2009). Frente a estos procesos se recurre de forma sistemática al uso de antibióticos, tanto desde la perspectiva preventiva como curativa. Pero este uso de antibióticos no está exento de problemas de los que es necesario destacar dos: por un lado la existencia de residuos, lo que se soluciona mediante el cumplimiento de los periodos de supresión; por otro lado, la aparición de cepas de microorganismos resistentes a los antibióticos, hecho que lleva al fracaso de los tratamientos y al riesgo de transmisión de esa resistencia al resto de población e incluso al hombre (Spohr *et al*, 2011). Por estos motivos, disponer de indicadores que orienten al veterinario en todo momento sobre la situación de la resistencia a los antibióticos en las granjas, permitiría seleccionar mejor el uso de los mismos en cada situación.

Algunos microorganismos asociados a mamitis son microorganismos ubicuos habituales en las explotaciones de vacuno de leche. Estos presentan la capacidad de adquirir fácilmente información genética y a su vez de transmitirla, entre esa información transmisible está la resistencia a los antibióticos (Noble *et al*, 1992, Wegener *et al*, 1999, SAGM, 2011)

Por otro lado, el muestreo del tanque de leche proporciona dos interesantes ventajas: una la comodidad para recoger la muestra y otra que puede aportar información muy útil sobre el conjunto de la población y así, se está utilizando de cara al diagnóstico en enfermedades como la Rinotraqueitis Infecciosa Bovina (IBR).Considerando esos dos hechos nos planteamos valorar la posibilidad de que microorganismos como *Enterococcus spp* o *Staphylococcus spp o Streptococcus spp* aislados en tanque pudieran utilizarse como "indicadores" de la situación general de resistencia a antibióticos en las explotaciones y a partir de ello, poder adaptar el uso de los antibióticos en cada momento a la situación existente.

Con estas premisas, el trabajo estudia la presencia de aquellos microorganismos en tanques de leche y sus patrones de resistencia y sensibilidad a antibióticos. A partir de los resultados, se compara la situación con los resultados de antiguos aislamientos obtenidos en animales con mamitis de las granjas estudiadas. Este debería ser un punto de partida en el diseño de su uso como "indicadores" de la resistencia general a antibióticos en una explotación.

MATERIAL Y MÉTODOS

El trabajo se ha desarrollado en 24 granjas de vacuno de leche ubicadas en la provincia de Zaragoza. En todas ellas se tomaron muestras de tanque de leche de la explotación, muestras que se enviaron al laboratorio para realizar el aislamiento de cepas de los géneros bacterianos *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp* y *Enterococcus spp*. Entre estas explotaciones, se encontraban tanto granjas con historial amplio de mamitis como sin él.

Tras su identificación, se determinaron sus patrones de resistencia a antibióticos según los protocolos del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI (CLSI 2012)) mediante el test de difusión en agar de Kirby Bauer (KB).

En todos los casos, los antibióticos testados pertenecían a familias tanto de interés en sanidad animal como algunos de referencia en medicina humana, e interesantes por la posibilidad de transmisión de la resistencia a los mismos desde los animales al hombre: penicilinas, glicopéptidos, macrólidos, cefalosporinas, lincosamidas, estreptomicinas, quinolonas, oxazolidonas y carbapenems.

Los resultados obtenidos se introdujeron en una hoja de cálculo Excel para su posterior análisis mediante el programa informático Epiinfo (www.cdc.gob).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las 24 explotaciones estudiadas, el 79,2% presentó en leche de tanque alguno de los microorganismos estudiados frente al 20,8% que resultaron negativas. Además, de un 41% de las granjas se aislaba en tanque un único microorganismo de los estudiados, en un 25% de las granjas se aislaron simultáneamente 2 microorganismos diferentes de los estudiados, y en el 12,5% más de dos microorganismos.

De los microorganismos estudiados, el 52% pertenecían al género *Enterococcus spp*, el 38,2% al género *Staphylococcus spp* y el 8,8% al género *Streptococcus spp*.

Entre las bacterias del género *Enterococcus spp* aisladas, la especie *E. faecium* fue la predominante con un 61% de los aislamientos, seguido por *E. faecalis* con un 22,2%. Ambas bacterias son, a pesar de su carácter ubicuo, responsables de procesos patológicos ocasionales y bacterias de referencia en medicina humana, hecho que justifica su consideración en el estudio.

Respecto a los otros dos géneros bacterianos, en el caso de *Staphylococcus spp* se ha aislado un 30,7% de *S. chromógenes*, un 15,4% de *S. simulans* y en un caso *S. aureus* además de otros estafilococos tanto coagulasa positivo como negativo. Entre los *Streptococcus spp*, el número de aislamientos ha sido muy reducido siendo *S. uberis*, *S. dysgalactiae* y *S. sanguis* las cepas aisladas con una frecuencia del 33% en cada caso.

Los patrones de resistencia y sensibilidad a los antibióticos testados, en el caso de *Enterococcus spp* y *Staphylococcus spp* aislados en tanque, han sido los expresados en la siguiente tabla (no se incluyen los datos de *Streptococcus spp* porque el bajo número de aislamientos no lo hace significativo para el análisis):

Familia antibióticos	*Enterococcus spp*	*Staphylococcus spp*
Penicilinas	0-11,1*	0-38,5
Glicopeptidos	0-27,8	46,1-53,2
Macrólidos	72,2**	53,8
Cefalosporinas	50-77,7	0-15,4
Lincosamidas	77,7	23,1
Estreptomicinas	100	100
Quinolonas	55,5-88,8	15,4-23,1
Oxazolidonas	94.4	0
Carbapenems	0	0

Notas: *Rango dentro del cual se encuentran las proporciones (%) de resistencia para el conjunto de antibióticos testados en cada familia. ** La presencia de un solo porcentaje (sin rango) indica que solo se ha testado un antibiótico de la familia

Estos resultados observados en tanque, comparados con los patrones de resistencia observados en *S. aureus* aislados en casos de mamitis en algunas de las explotaciones estudiadas (muestras directas de leche en los cuarterones afectados de los años 2009 a 2011), sugieren una importante similitud en cuanto a la distribución de resistencias entre ambos grupos de aislados. En el caso de *Enterococcus spp* las diferencias en cuanto a los patrones de resistencia son mayores, especialmente en el caso de las quinolonas y las cefalosporinas, si bien las proporciones de resistencia entre los *Enterococcus spp* de tanque y los *S. aureus* de mamitis son más próximas para las penicilinas, uno de los grupos de antibióticos más utilizados en la especie bovina.

CONCLUSIONES

La detección de microorganismos de los géneros *Enterococcus spp* y *Staphylococcus spp* en muestras de tanque de leche se ha observado como un hecho habitual tanto en explotaciones con mamitis como sin ella. La mayoría de las cepas aisladas de ambos géneros son especies ubicuas.

Los patrones de resistencia a antibióticos en los asilados de ambos géneros han sido diferentes para muchos de los antibióticos testados si bien se aprecia homogeneidad dentro de cada uno de los dos géneros. No obstante, la valoración general del conjunto de aislados podría estar definiendo las características de resistencia a antibióticos para los microorganismos afines a esos géneros y responsables de patologías de la ubre como es el caso de *Streptococcus uberis*, *S. parauberis*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae* (por proximidad con el género *Enterococcus spp*) o de *S. aureus* o *S. epidermidis* en el caso de los *Staphylococcus*.

La similitud entre *Staphylococcus spp* ubicuos y lo observado en *S. aureus* aislados de casos de mamitis en algunas de esas mismas explotaciones, parece confirmar aquella hipótesis y por tanto abre una vía de trabajo para su uso como indicadores de resistencia en granjas. Así, el seguimiento de los microorganismos de tanque de leche en controles rutinarios, podrían aportar información para posteriores usos de antibióticos en programas de prevención o de control de procesos patológicos.

Hay que indicar que los resultados son orientativos, ya que el número de cepas estudiado es bajo y se han comparado patrones de cepas aisladas en tanque en 2013 con aislamientos en casos de mamitis de los años 2009 a 2011 (patrones estos últimos que podrían haber sufrido cambios significativos en ese periodo de tiempo que dista entre uno y otro). Por ello, este trabajo debe interpretarse como una primera aproximación, a un estudio más amplio que, mediante la contrastación de patrones de microorganismos aislados en tanque y en brotes de mamitis coincidentes en el tiempo, se están desarrollando en la definición de esos indicadores.

REFERENCIAS

1. Burns, A.M. Evaluación del riesgo de Salmonella en piensos para cerdos. Avances. 2013. Vol X. 104: 60. 2013.
2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twentieth informational supplement. Document M100-S20. Wayne, PA: CLSI. 2012
3. Estrada, A; Ortega, C; Sanchez, N;L; Sudre, B; Suk, J.E; Semenza, J.C. Correlation of Borrelia burgdorferi Sensu Lato Prevalence in Questing Ixodes ricinus Ticks with Specific Abiotic Traits in the Western Palearctic. Applied and Environmental Microbiology, 2011. 77 (1): 3838-3845
4. Fox L.K. Prevalence, incidence and risk factors of heifer mastitis. Veterinary Microbiology.2009.134:82-88.
5. Gale, P; Drew, T; Phipps, L.P; david, G; Wooldridge, M. The effect of climate change on the occurrence and prevalence of livestock diseases in Great Britain: a review. Journal of Applied Microbiology 2009. 106: 1409–1423.
6. Noble, W.C; Virani,Z; Gent, R.G.A. Co-transfer of vancomycin and other resistance genes from Enterococcus faecalis NCTC 12201 to Staphylococcus aureus. FMES MICROBIOLOGY LETTERS. 1992. 93 (2): 109-202
7. Spohr M., Rau J., Friedrich A., Klittich G., Fetsch A., Guerra B., Hammerl J.A. & Tenhagen B.A. Methicillin-Resistant Staphylococcus *aureus* (MRSA) in three dairy herds in Southwest Germany. Zoonosis and Public Health, 2011.58:252-261.
8. Swiss Agency for Therapeutic Products (SAGAM). Reflection paper on the use of 3rd and 4th generation cephalosporin's in food-producing animals in the European Union: development of resistant and impact on human and animal health. EMEA/CVMP/SAGAM/81730/2006. ((in report on sales of antibiotics for veterinary use and antibiotic resistance monitoring in livestock in Switzerland. www.swissmedic.ch/archvet-e.asp). 2008
9. Wegener, H.C; Aarestrup, F.M; Bogø Jensen, L; Hammerum, A.M; Bager, F, Use of Antimicrobial Growth Promoters in Food Animals and Enterococcus faecium Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drugs in Europe. Emerging Infectiuos Diseases. 1999. 5: 3

UTILIDAD DE LA APLICACIÓN CRONOMILKING EN LA EVALUACIÓN DE LA RUTINA DE ORDEÑO.

A. López-Castiello[1]; M. Pérez-Serrano[2], y A. Callejo[2]

[1]Alpavet SLP; [2]Dpto. Prod. Animal-UPM

RESUMEN

Con el uso de la aplicación CRONOMILKING en una sala de ordeño, se pueden medir las distintas fases del ordeño y analizar los resultados obtenidos para evaluar dicha rutina. Esta evaluación permite detectar errores, aplicar medidas correctoras, comprobar su adecuado seguimiento por cada ordeñador y comparar rutinas. Los datos medidos en la granja estudiada permiten señalar la excesiva duración de la rutina debido a un tiempo excesivo entre la estimulación inicial y predipping y el secado de los pezones. También se puede ganar tiempo entre el secado y la puesta de pezoneras.

ABSTRACT

With use of the application CRONOMILKING in a milking parlor, we can measure the different phases of milking and analyze the results to evaluate that routine. This evaluation can detect errors, take corrective action, verify proper pursuit and comparing each milkers' routines. The data measured at the farm studied would note the excessive length of the routine due to excessive time between initial stimulation and predipping and drying teats. Time between drying and setting liners can also be saved.

INTRODUCCIÓN

La tendencia desde hace varios años en las explotaciones lecheras es la de ordeñar más vacas, con altas producciones por animal y en salas de ordeño cada vez más grandes. Los rebaños grandes reducen la posibilidad de una observación e identificación individualizada de los animales, por lo que el ganadero debe apoyarse en el uso de las nuevas tecnologías (TIC) para la mejor gestión de su rebaño. El ordeño no es una excepción al uso de las TIC. En esta tarea, la evaluación y seguimiento de la rutina de ordeño es clave para la salud de la ubre, una completa extracción de leche y para conseguir el óptimo rendimiento (vacas/hora) de la sala de ordeño.

En la rutina de ordeño, la óptima estimulación de los animales en la preparación de la ubre es el factor más determinante para conseguir un ordeño rápido y con la máxima producción de leche. Es necesario que la vaca tenga un elevado flujo de leche tan pronto como se colocan las pezoneras y mantener el máximo flujo durante 60 a 120 segundos, lo que requiere un adecuado nivel de oxitocina en la ubre previamente a la colocación de la unidad de ordeño (Reid y Stewart, 2001). Para ello, se necesita un mínimo de 12 a 15 segundos de estimulación manual de los pezones y colocar las pezoneras 45 a 90 segundos tras el inicio de la estimulación y nunca más de 180 segundos después (Van Baale, 2001). El primer contacto con la vaca puede incluir la aplicación de desinfectante (pre-dipping) y la manipulación de los pezones para limpiarlos y retirar 2 ó 3 chorros de leche (Costa y Reinemann, 2004). Tiempos de preparación superiores a 3 minutos conducen a una mayor cantidad de leche residual y menores rendimientos de ordeño, con independencia del estado de lactación. (Reneau, 2001).

El despunte, como procedimiento que contribuye al estímulo de ordeño, incrementa el flujo de leche y disminuye el tiempo de bajo flujo inicial y final (<1 kg/min), mejorando la ordeñabilidad al obtener más leche y reducir la duración del ordeño (Reid y Battcher, 2005).

Por el contrario, la falta de preparación y el sobreordeño iniciales dan lugar a un aumento del tiempo total de ordeño, a un ordeño "lento", a curvas bimodales (Bruckmaier y Blum, 1996), a un aumento del período de bajo flujo de leche al final del ordeño y a un empeoramiento de la condición de los pezones y de nuevas infecciones mamarias (Sesto y col., 2010). Un mayor tiempo de ordeño aumenta la incidencia o la severidad de callosidad en el extremo del pezón (Neijenhuis y col., 2000). Una duración excesiva de la fase ascendente de la curva de flujo de leche parece tener una correlación positiva con el RCS (Tancin y col., 2002). El sobreordeño provoca un innecesario aumento del tiempo de ordeño y da lugar a edema y mala condición del pezón (Hillerton y col., 2002).

Con los datos que podemos medir con la aplicación CRONOMILKING es posible determinar, si los tiempos de las fases de las rutinas son adecuados, monitorizar el procedimiento de cada ordeñador y su rendimiento, y comparar diferentes rutinas.

Cuadro 1. Duración de las distintas etapas de la rutina de ordeño

	TC	FASE 1-2	FASE 2-3	TTR	TE	TTO	PROD	FLUJO MED
Ordeño								
1	87,2	84,8	54,5	139,3	69,2	299,3	14,6	3,02
2	64,2	71,4	53,0	123,7	-	-	-	-
Puesto								
1	$48,5^{f}$	$93,7^{a}$	$49,9^{d}$	$144,6^{a}$	69,2	301,5	14,3	2,86
2	$61,7^{e}$	$89,9^{a}$	$51,2^{cd}$	$141,1^{ab}$	69,2	294,0	15,3	3,02
3	$75,4^{d}$	$84,5^{b}$	$53,1^{bcd}$	$137,1^{bc}$	69,2	288,6	17,7	3,26
4	$88,1^{c}$	$78,5^{c}$	$54,9^{bc}$	$133,5^{cd}$	69,2	311,8	12,6	2,81
5	$100,9^{b}$	$74,3^{cd}$	$56,5^{ab}$	$130,7^{cd}$	69,2	297,0	12,2	3,12
6	$112,9^{a}$	$69,4^{d}$	$59,4^{a}$	$127,8^{d}$	69,2	302,7	17,3	3,08
Ordeñador								
A	$78,2^{b}$	$97,5^{a}$	$59,8^{a}$	$157,2^{a}$	75,0	287,0	14,0	2,84
B	$76,1^{b}$	$75,7^{bc}$	$47,2^{c}$	$123,8^{d}$	60,3	274,0	14,0	2,90
C	$70,0^{b}$	$77,9^{bc}$	$51,0^{bc}$	$129,0^{cd}$	60,3	261,1	13,0	3,20
D	$97,6^{a}$	$83,1^{b}$	$54,6^{ab}$	$137,2^{bc}$	71,7	297,8	15,3	3,01
E	$78,4^{b}$	$82,2^{b}$	$57,0^{a}$	$138,8^{b}$	70,4	328,3	14,8	3,08
EEM (n = 7)	12,97	7,38	5,31	9,00	3,67	38,32	1,57	0,35
Probabilidad								
Ordeño	**<0,001**	**<0,001**	0,84	**< 0,001**	-	-	-	-
Puesto	**<0,001**	**<0,001**	**0,0005**	**0,0007**	1,00	0,89	0,13	**0,05**
Ordeñador	**<0,001**	**0,0004**	**< 0,001**	**< 0,001**	**<0,001**	**0,0001**	0,39	0,34

Según factor de variación, medias con letras distintas son significativamente diferentes
La interacción entre el puesto y el ordeñador fue no significativa (P>0,05) para todas las variables estudiadas. Por ello, sólo se muestran las medias para los efectos principales.

El objetivo de este trabajo no ha sido tanto el analizar exhaustivamente los resultados obtenidos en las mediciones efectuadas como mostrar las posibilidades del uso de la aplicación CRONOMILKING en la evaluación y análisis de la rutina de ordeño a través de los resultados que se muestran.

MATERIAL Y MÉTODOS

Mediante la aplicación CRONOMILKING instalada en una tableta Samsung Galaxy tab 2, se ha realizado la medición de 630 ordeños realizados en siete fechas diferentes en una sala paralelo 2x12, con retiradores automáticos de pezoneras, y donde trabajan cinco ordeñadores en turnos de dos en cada ordeño. Las mediciones fueron hechas en el primer ordeño del día o en el segundo. Se realizó una rutina de tipo territorial, en la que cada ordeñador se ocupa de 6 unidades de cada lado. La rutina aplicada consiste en 1) despunte y predipping, 2) secado de pezones, 3) colocación de pezoneras. Mediante la aplicación CRONOMILKING se midieron los siguientes tiempos en cada vaca ordeñada: a) tiempo de colocación (TC), desde la colocación de la vaca en su puesto hasta el inicio del estímulo (despunte y predipping), b) Fase 1-2, desde el despunte y predipping hasta el secado de los pezones, y c) Fase 2-3, desde el secado hasta la colocación de las pezoneras. La suma de b) + c) da el TTR (tiempo total de rutina). También se midió el tiempo de entrada (TE) de las vacas, desde la apertura de la puerta de entrada hasta que la última vaca en entrar está colocada. TE es una medida del bienestar de la vaca en la sala de ordeño y un reflejo de su adecuado o inadecuado manejo (Eicker y col., 2000).

La aplicación proporciona el TTO (tiempo total de ordeño), desde que se colocan las pezoneras hasta que se retiran. Finalmente, se anota la producción de leche obtenida, calculando el flujo medio de leche al dividir esta producción entre el TTO.

Los resultados se analizaron mediante el procedimiento GLM de SAS (Statistical Analysis Systems Institute, 1990) para diseños al azar organizados de forma factorial. En el modelo se incluyeron los efectos principales (ordeño, puesto y ordeñador) y su interacción. Para la separación de medias según el puesto de ordeño y el ordeñador se llevó a cabo un test Duncan. Los datos se presentan como medias normales.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en las mediciones efectuadas se sintetizan en el Cuadro 1.

El TTR resulta, para todos los puestos de ordeño y para todos los ordeñadores, superior a los 60-120 segundos recomendados por un gran número de trabajos (Van Baale, 2001; Bruckmaier y Hilger, 2001), si bien no llega a los 3 minutos, tiempo que nunca debe superarse (Reneau, 2001). Este TTR se debe, fundamentalmente, a una excesiva duración de la Fase1-2. Si consideramos 10-20 seg. de despunte y predipping, y 30 seg. de acción del desinfectante (Reneau, 2001), esta fase no debería superar los 40-50 segundos (60 máximo), tiempo que es rebasado ampliamente. El TT0 no supera los 5 minutos, que se convierten en 10 min. cuando se le suma TE, TC y TTR. Aun añadiendo el tiempo de salida (no medido), el tiempo de ocupación de la plaza asegura una adecuada rotación en la sala y un buen rendimiento de la misma. Poder reducir el tiempo de la Fase1-2 supondría un notable aumento de este rendimiento, tal y como señala McFarland (2001). También se puede reducir el intervalo entre el secado y la puesta de pezoneras.

Los datos obtenidos en las mediciones, exportados a una hoja de cálculo, permite obtener resultados de forma gráfica que proporcionan una primera aproximación de cómo se está desarrollando la rutina de ordeño y en qué aspectos podemos mejorar. Algunos ejemplos gráficos se muestran en las figuras 1 y 2.

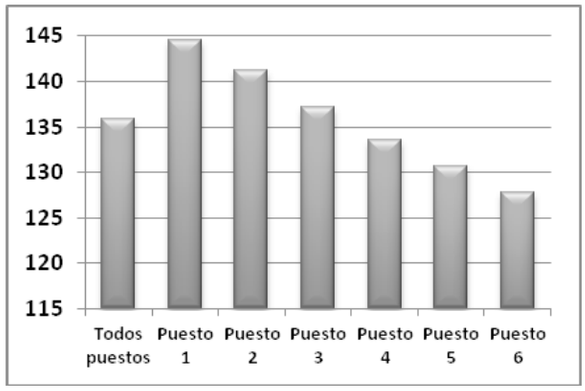


Figura 1. TTR por puesto de ordeño

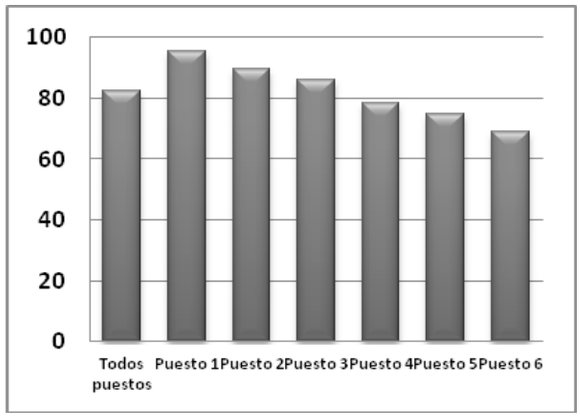


Figura 2. Tiempo empleado por el ordeñador E en la Fase 1-2 en cada puesto de ordeño

CONCLUSIONES

Podemos señalar el interés y utilidad de la aplicación CRONOMILKING para evaluar la rutina de ordeño seguida en una explotación y su adecuado cumplimiento por parte de los operarios, para tomar decisiones y aplicar, en su caso, medidas correctoras, y para comparar resultados de granjas con producciones, salas de ordeño y rutinas similares.

REFERENCIAS

1. Bruckmaier, R.M., y J.W. Blum. 1996. J. Dairy Res. 68:369-376
2. Bruckmaier, R.M., y M. Hilger. 2001. J. Dairy Res. 68:369-376.
3. Costa, D.A., y D.J. Reinemann. 2004. Proc. Annual Meetin Nat. Mastitis Council.
4. Eicker, S. y col. 2000. Proc. Annual Meeting Nat. Mastitis Council.
5. Hillerton, J.E. y col. 2002. J. Dairy Res. 69:81-84.
6. McFarland, D.F. 2001. Milking & Systems Parlors Conference, Camp Hill, PA, USA
7. Neijenhuis, F. y col. 2000. J. Dairy Sci. 83:2795-2804.
8. Reid, D.A., y S. Stewart. 2001. Proc. 5th Wetern Dairy Mgmt. Conf.
9. Reid, D.A., y T. Battcher. 2005. Proc. Annual Meeting Nat. Mastitis Council.

10. Reneau, J.K. 2001. NMC-PDPW Milk Quality Conf. Proc.
11. SAS Inst. e Inc., 1990. SAS user's guide:statistics. V.6, 4th ed. Cary, NC, USA.
12. Sesto, F. y col. 2010. Frisona Española, 177:92-96.
13. Tancin, V. y col. 2002. Milchwissenschaft 57:306-309.
14. Van Baale, M.J. 2001. Dairy Extension Service. Univ. Arizona

ECBHM
European College of Bovine Health Management

IMPACTO DE UN PROGRAMA DE CONTROL DE CALIDAD DE LECHE DIRIGIDO A LAS VACAS CON MENOS DE 120 DÍAS POSPARTO SOBRE LA PRODUCCIÓN Y LA INCIDENCIA DE MASTITIS EN UNA EXPLOTACIÓN DE VACUNO LECHERO.

Pérez Villalobos N[1], Teixeira Justo C[1], Sacristán Álvarez S[1], Astiz Blanco S[2], Cerviño López M[3], González Martín JV [1,4].

1: TRIALVET S.L. trialvet@trialvet.com 2: Dpto. Reproducción Animal, INIA: astiz.susana@inia.es

3: Boehringer-Ingelheim: manuel.cervino@boehringer-ingelheim.com 4: Facultad de Veterinaria de la U.C.M.

ABSTRACT

Mastitis are one of the most prevalent and costly diseases in dairy cows due to discarded milk, lost production, reduced milk quality, earlier culling and the cost associated with treatment. The aim of our study was to assess the profitability to make a milk quality program focused only for cows with less than 120 days in milk, in an intensive farm of central Spain. The results showed an improvement in both the incidence of mastitis (2% reduction monthly), and the increase in global average production (14.91%). Furthermore, the outcome of clinical cure of mastitis screening program was 95.1%. Therefore, focusing on early detection of mastitis exclusively on the first 120 days of lactation offers good healing results, assuming an economic improvement for farm.

RESUMEN

La mastitis es una de las enfermedades más frecuentes y más costosas en vacas lecheras, debido a la leche descartada, la pérdida de producción, la reducción de la calidad de la leche, el desecho precoz de los animales y el coste asociado al tratamiento. El objetivo de nuestro estudio fue valorar si es rentable realizar un programa de calidad de leche dirigido sólo a vacas con menos de 120 días en leche, en una explotación intensiva de la zona centro de España. Los resultados mostraron una mejora tanto en la incidencia de mastitis (reducción mensual del 2%), como del aumento de la producción media global (14,91%). Además, el resultado de curación clínica de las mastitis del programa de detección precoz fue del 95,1%. Por tanto, centrarse en la detección precoz de la mastitis exclusivamente en los primeros 120 días de lactación ofrece unos buenos resultados de curación, suponiendo una mejora económica para la explotación.

INTRODUCCIÓN

La mastitis es una de las enfermedades más frecuentes y más costosas en vacas lecheras (1). El impacto económico es debido a la leche descartada, la pérdida de producción, la reducción de la calidad de la leche, el desecho precoz de los animales y el coste asociado al tratamiento (2). Por tanto, una reducción del porcentaje de mastitis en una explotación repercute en un beneficio económico directo e indirecto. Las explotaciones grandes tienen muchas diferencias de manejo respecto de las granjas pequeñas: informatización de datos, mayor demanda de servicios veterinarios especializados y también un mayor número de problemas debido a la mayor cantidad de vacas en riesgo (3). En la actualidad, debido a la crisis económica y a los recortes en las ayudas, los servicios de calidad de leche, antes subvencionados, son menos demandados. Una estrategia posible para demostrar la rentabilidad de un buen servicio de control de calidad de leche en explotaciones grandes e introducirlo progresivamente podría ser comenzar con un servicio parcial, más económico, pero que tenga un impacto positivo en la economía de la granja. El objetivo de nuestro estudio fue valorar si es rentable realizar un programa de calidad de leche dirigido a un estrato de la población, vacas con menos de 120 días en leche (DEL), en una explotación de tamaño mediano-grande de la zona centro de España.

MATERIAL Y MÉTODOS

Realizamos un estudio retrospectivo de datos recopilados entre octubre de 2012 y mayo de 2013 en una granja de 750 vacas holstein en ordeño de la provincia de Toledo, con animales estabulados en cubículos, salvo un patio de cama caliente. La explotación carecía de programa de control de calidad de leche y aunque no aportaba datos objetivos, los resultados iniciales globales eran deficientes. Inicialmente se realizó una encuesta para la detección de puntos críticos en calidad de leche, detectándose así los errores fundamentales en la rutina de ordeño, que resultaron ser la limpieza y preparación de la ubre. Se realizaron las recomendaciones oportunas y se implantó un programa de control y detección precoz (PDP) de mastitis únicamente a las vacas de hasta 120 días posparto (todas alojadas en cubículos). Se tomaron muestras mensuales de leche para recuento de células somáticas (RCS) sólo a este segmento de la población y se realizó una visita semanal durante el ordeño para detección de mastitis nuevas mediante realización del test de California. Toda vaca con mastitis nueva se trató con dos cánulas intramamarias de cefalexina- kanamicina (Ubrolexin®Boehringer Ingelheim) con un intervalo de 24 horas. Además, se tomó muestra para análisis bacteriológico antes del primer tratamiento, a los 14 y a los 21 días. Los dos primeros meses tras la implantación del programa se trataron con enrofloxacina parenteral (Quinoex® 10%, Ceva Salud Animal) durante tres días (20ml/vaca y día, SC) aquellas vacas de menos de 120 DEL que superaron las 800.000 CS en el muestreo y que además eran positivas al test de California en dos o más cuarterones. El resto del manejo tanto de detección como de tratamiento de las mastitis de la explotación de los animales de más de 120DEL siguió llevándose a cabo por el personal de la explotación y fue recopilado en un histórico de datos y en base a sus prácticas habituales (PH), con hasta cuatro productos antibióticos diferentes de uso intramamario registrados para mastitis en vacuno de leche. No se realizaron cambios sustanciales ni en la alimentación ni en el manejo de los patios durante el periodo en estudio a excepción de la ampliación de la explotación con un nuevo patio de cubículos donde se alojó a las vacas confirmadas como gestantes y en ningún caso con <120DEL.

RESULTADOS

El RCS inicial al comienzo del programa fue de 1.498.000 CS, pese a que el 60% de los animales se encontraban por debajo de las 200.000 CS. El RCS realizado a los animales con <120DEL a los seis meses de la implantación del programa fue de 495.000

CS, con un 79,82% de los animales por debajo de las 200.000 CS. El RCS determinado desde el comienzo del estudio fue siempre decreciente, excepto en el mes de marzo donde hubo un ligero aumento posiblemente ligado a un brote de mastitis. Pese a la incorporación de la visita semanal veterinaria para la detección de mastitis nuevas, la incidencia media global de detección de mastitis (las detectadas por el personal de la explotación más las detectadas por los veterinarios en la visita de detección precoz) se redujo.

Los resultados clínicos extraídos del seguimiento de los casos del PDP de mastitis en animales de <120DEL y los datos obtenidos de las PH de la granja del resto de animales que se encontraban en las mismas condiciones (misma rutina de ordeño y en cubículos) muestran que el porcentaje medio de partos de las vacas detectadas con mastitis es de tres partos (vacas multíparas), con 52 DEL para las vacas PDP, es decir, alrededor del pico de lactación y 150 DEL para las PH. El porcentaje de mastitis tratadas que afectaba a un sólo cuarterón fue del 100% (102/102) y del 90,05% (200/221) para PDP y PH, respectivamente. De estas vacas, hubo recaídas en el mismo cuarterón (<30d) en un 3,92% (4 animales) en PDP y un 4,09% (9 animales) en PH; reinfecciones en el mismo cuarterón (>30d) en un 0,98% (1 animal) en PDP y un 7,27% (16 animales) en PH; y un 11,76% (12 animales) en PDP y un 17,27% (38 animales) en PH de casos que sufrieron reinfección en un cuarterón distinto al original en un tiempo medio de unos 39 y 64 días posmastitis. El resultado de curación clínica de las mastitis fue del 95,1% (97 animales) en PDP, mientras que el máximo esperable en PH fue del 83,52% (185 animales, ya que hay un alto porcentaje de animales que dejan de aparecer en el histórico sin resultado conocido). El porcentaje de animales que perdieron el cuarterón fue 2,19% (2 animales) en PDP y de, al menos, un 3,62% (5 animales) en PH; y el de vacas crónicas (tres tratamientos o más) del 1,09% (1/91 vaca) en PDP y del 3,62% (5/138 animales) en PH. El porcentaje de animales desechados en esa lactación fue del 14,28% (13/91 animales) para PDP y del 24,63% (34/138 animales) en PH. Los resultados bacteriológicos indicaron una amplia presencia de gérmenes ambientales en la explotación.

La producción media durante los tres meses previos a la instauración del programa era de 28 litros/día; 25,6 l/d en primíparas y 29,2 l/d en multíparas (30,4 litros en las vacas >120DEL; 25l/d en primíparas y 32,7l/d en multíparas), con 31% de primíparas. La producción media de los seis meses posteriores a la instauración del programa fue de 32,2 litros/día; 28,4 l/d en primíparas y 34,2 l/d en multíparas (35,6 litros en las vacas >120DEL; 27,9 l/d en primíparas y 40,2 l/d en multíparas), lo que refleja un aumento productivo global del 14,91%, pese a darse un aumento de en torno al 3% del número de vacas primíparas sobre el total de los animales, en comparación a la media previa al inicio del programa. No obstante, el mayor incremento en la producción se observó en las vacas multíparas de <120DEL, con un aumento de la producción del 22,87%.

CONCLUSIONES

La detección precoz de la mastitis en los primeros 120 días de lactación ofrece unos buenos resultados numéricos de curación y además, puede mejorar a medio plazo tanto los índices globales de mastitis de las vacas de una explotación como la producción global en granjas de tamaño medio-grande con problemas de calidad de leche relacionados fundamentalmente con gérmenes de tipo ambiental, aumentando el beneficio económico de la explotación.

REFERENCIAS

1. **Halasa T, Huijps K, Osterås O, Hogeveen** H. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: a review. Vet Q. 2007 Mar;29(1):18–31.
2. **Pinzón-Sánchez C, Cabrera VE, Ruegg PL.** Decision tree analysis of treatment strategies for mild and moderate cases of clinical mastitis occurring in early lactation. J Dairy Sci. 2011 Apr;94(4):1873–92.
3. **Oliveira L, Hulland C, Ruegg PL.** Characterization of clinical mastitis occurring in cows on 50 large dairy herds in Wisconsin. J Dairy Sci. 2013 Dec;96(12):7538–49.

COMPARISON OF VAGINAL AND MILK TEMPERATURES IN LACTATING DAIRY COWS USING DATA LOGGERS AND AUTOMATIC MILKING SYSTEMS

A. Pohl*, W. Heuwieser*, O. Burfeind*

*Clinic of Animal Reproduction, Freie Universität Berlin, Germany

Contact: Alina.Pohl@fu-berlin.de

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate whether milk temperature measured by automatic milking systems (AMS) is a reliable indicator of body temperature of dairy cows and if cows with fever could be identified by AMS. The results of this study showed that the relationship between milk and vaginal temperature was only moderate. Cows with fever could be identified by AMS but there was a high false positive and false negative rate. Therefore, we can conclude that milk temperature measured by an AMS should be interpreted with caution.

INTRODUCTION

Automatic milking systems (AMS) have become more and more common since their appearance in 1992 in the Netherlands [1,2]. In 2012 over 16,000 farms adopted AMS for their daily milking routine worldwide [3]. Using AMS, the focus of the traditional farm management shifts from the daily milking routine to a system reliant on new technology [4]. One emerging challenge is to identify sick cows, because the direct contact between personnel and cows during the daily milking routine is minimized. In monitoring programs the most commonly used parameter to identify sick cows is the measurement of rectal temperature [5]. One technological option the AMS provides is the measurement of the milk temperature (MT) for each cow and milking event. In earlier studies, temperature sensors were integrated into the short piece of the milk tube to measure MT and to compare it with body temperature (BT). The results showed that MT and BT correlated significantly with coefficients of correlation between r = 0.78 and r = 0.99 [6-9]. Based on these findings it is plausible to use MT measured with the AMS to detect cows susceptible for diseases. However, the relationship between MT measured by an AMS and BT has not been investigated yet. Furthermore, a threshold for the detection of cows with fever based on MT with BT as gold standard has to be determined.

MATERIALS AND METHODS

Between March and May 2013, 31 lactating early postpartum Holstein dairy cows (DIM 5 to 15, parity 2.2 ± 1.0) were enrolled in an observational study on a commercial dairy farm in Brandenburg,

Germany, housing a total of 315 cows with an average 305 d milk production of 7269 kg (3.55% fat and 3.29% protein). Lactating cows were separated into 2 groups. Each group was milked by 2 AMS (Lely, Astronaut 4, Maassluis, The Netherlands) with free cow traffic.

Body temperature was recorded at 1-min intervals using a microprocessor-controlled temperature logger (Minilog 8, Vemco Ltd., Halifax, Canada) attached to a modified vaginal controlled internal drug release (CIDR) insert. Data loggers (size = 92 mm x 20 mm; weight = 40.5g) were inserted into the vaginal cavity for a 7 (±1) d-period as previously described [10]. Milk temperatures were recorded during each milking event by the AMS. Sensors inside the arm of the robot measured MT of each quarter individually. The milk flew through the teat cups and a short peace of milk tube before it reached the sensor. At the end of each milking the highest MT measured during the whole milking process was recorded and stored in the database of the proprietary software (T4C, Lely, Maassluis, The Netherlands) of the AMS for later use by the herdsman.

For the first part of statistical analysis values from the vaginal loggers were averaged for the number of minutes (7.1 ± 2.4) the cow was milked in the AMS and paired with the corresponding MT. Moreover we evaluated different approaches to find cows with fever with two specific analyses differing in the timely relationship of the two measurements. In the second part of analysis fever was not measured simultaneously. Vaginal temperature was used to indicate fever at any time of a given day, whereas MT could display fever only during the milking events. Six definitions of fever based on thresholds of VT and duration exceeding these thresholds were constructed (≥ 39.5°C for ≥ 2h, ≥ 4h and ≥8h; ≥ 40.0°C for ≥ 2h, ≥ 4h and ≥ 8h). Using these definitions of fever as gold standard the ability of 4 different values of MT (≥ 38.0°C, ≥ 38.5°C, ≥ 39.0°C, ≥ 39.5°C) were tested to distinguish between cows with fever and cows without fever on a particular day. The third part of analysis evaluated if MT could identify cows with fever during a particular milking event. In this approach VT and MT had to detect fever simultaneously at that particular milking event with 2 different thresholds for VT (≥ 39.5°C, ≥ 40.0°C).

RESULTS

Vaginal temperature and MT were correlated (r = 0.52; n = 418; P < 0.01). Vaginal temperature was higher (39.1 ± 0.4°C, n = 418) than MT (38.6 ± 0.7°C, n = 418) with a mean difference of 0.5 ± 0.6°C (n = 418, P < 0.01). The combination of 39.0°C as a threshold for MT and 39.5°C for at least 2 h per day as a threshold for VT resulted in the highest combination of sensitivity (0.65) and specificity (0.65) in order to detect cows with fever on a particular day. On a particular milking event a threshold of MT > 38.7°C delivered the highest combination of sensitivity (0.77) and specificity (0.66) when fever was defined as VT ≥ 39.5°C. For VT ≥ 40.0°C and MT > 38.7 °C sensitivity was 1 and specificity was 0.63.

DISCUSSION

Previous studies are inconsistent in respect to the difference between MT and BT. In our study MT was about 0.5°C lower than VT. This is in agreement with older findings [7] that described a 0.34 °C lower MT measured with a temperature sensor at the top of the short milk tube than VT measured with a temperature probe. We assume that the lower MT was caused by the passage through the teat cups and milk tubes before reaching the sensors located in the arm of the AMS. On this way MT might have cooled down until it was measured. In contrast Bitman, et al. [11] found a high correlation of temperatures (r = 0.98 to 0.99) with negligible differences (body and udder temperature were 38.8°C ± 0.1°C). These authors, however, implanted temperature sensors into the udder and into the peritoneal cavity of lactating cows and thus excluded a cooling effect of the milk flowing from the udder to the sensors. West, et al. [9] recorded MT at each milking with a temperature sensor in the short piece of the milk tube and compared it with rectal temperature taken with a digital thermometer and found that MT was on average 0.15 °C higher than rectal temperature. They did, however, not describe the penetration depth of the thermometer into the rectum which has been shown to effect rectal temperature by as much as 0.4 °C [12]. Standard deviation of the mean difference of MT and VT was ± 0.6°C. Considering this rather wide range makes interpretation of MT more difficult. One possible explanation could be that the milk yield per milking or flow rate of the milk, and temperature of the tubes could have affected the temperature of the milk reaching the sensors. The Pearson correlation coefficient between MT and VT in this study (r = 0.52; P < 0.01) was lower than reported in previous studies for traditional milking equipment and BT ranging from 0.78 to 0.89 [7-9]. However there is no scientific reference for MT measured by an AMS compared with BT of lactating dairy cows. As mentioned above amount of milk, location of sensors and temperature of teat cups and milk tubes could have affected the correlation between MT and VT.

When evaluating fever detection by AMS for a particular day 65% of all cows with fever were identified correctly by the AMS. This means that 35% of cows with fever were missed and 65% of all cows without fever were identified correctly. In order to explain the low sensitivity we evaluated how many cows with fever at any time of the day (VT ≥ 39.5°C, ≥ 2 h) also had fever (VT ≥ 39.5°C) during milking events. This was the case in only 36.5% of all milking events. When evaluating fever detection by AMS at each milking event 77% of all cows with fever could be identified when fever was defined as VT ≥ 39.5°C. Considering a VT above 40.0 °C as fever all cows were found correctly by the AMS; but false positive rate was still 35%. The result for the higher threshold should be interpreted with caution, because it is only based on 18 matched pairs of VT and MT.

CONCLUSION

As a conclusion MT measured by an AMS can be indicative of fever in dairy cows to a limited extent. It needs to be determined if this is beneficial in a herd where measurement of rectal temperature is not performed routinely. Milk temperature thresholds of > 38.7°C or ≥ 39.0°C should be used to identify cows with fever at each milking event or for any time of day. Identified cows should be checked for other signs of systemic illness. Overall, MT should be interpreted with great caution because of high false positive and false negative rates.

ACKNOWLEDGEMENT

We gratefully thank the farm personnel of the dairy farm for the kind cooperation. Furthermore we thank the staff of the Clinic of Reproduction, Freie Universiät Berlin, Germany, for their support during the practical part of the study. Alina Pohl was partially funded by Tiergyn e.V., Berlin.

REFERENCES

1. Svennersten-Sjaunja KM, Pettersson G. Pros and cons of automatic milking in europe. Journal of Animal Science 2008;86: 37-46.
2. de Koning K. Automatic milking - common practice on dairy farms. The First North American Conference on Precision

Dairy Management 2010, Toronto, Canada, 2010.

3. de Koning K. Developments in machine milking; past and future. 4. Tänikoner Melktechniktagung, Switzerland, 2013.
4. Jacobs JA, Siegford JM. Invited review: The impact of automatic milking systems on dairy cow management, behavior, health, and welfare. J D Sci 2012;95: 2227-2247.
5. Smith BI, Risco CA. Management of periparturient disorders in dairy cattle. Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice 2005;21: 503-521.
6. Igono MO, Johnson HD, Steevens BJ, Krause GF, Shanklin MD. Physiological, productive, and economic benefits of shade, spray, and fan system versus shade for holstein cows during summer heat. J D Sci 1987;70: 1069-1079.
7. Fordham DP, Rowlinson P, McCarthy TT. Oestrus detection in dairy cows by milk temperature measurement. Research in veterinary science 1988;44: 366-374.
8. West JW, Mullinix BG, Johnson JC, Ash KA, Taylor VN. Effects of bovine somatotropin on dry matter intake, milk yield and body temperature in holstein and jersey cows during heat stress. J D Sci 1990;73: 2896-2906.
9. West JW, Hill GM, Fernandez JM, Mandebvu P, Mullinix BG. Effects of dietary fiber on intake, milk yield, and digestion by lactating dairy cows during cool or hot, humid weather. J D Sci 1999;82: 2455-2465.
10. Vickers LA, Burfeind O, von Keyserlingk MAG, Veira DM, Weary DM, Heuwieser W. Technical note: Comparison of rectal and vaginal temperatures in lactating dairy cows. J D Sci 2010;93: 5246-5251.
11. Bitman J, Lefcourt A, Wood DL, Stroud B. Circadian and ultradian temperature rhythms of lactating dairy cows. J D Sci 1984;67: 1014-1023.
12. Burfeind O, von Keyserlingk MAG, Weary DM, Veira DM, Heuwieser W. Short communication: Repeatability of measures of rectal temperature in dairy cows. J D Sci 2010;93: 624-627.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

DIAGNOSTIC ASPECTS OF MEDITERRANEAN BUFFALO MASTITIS (BUBALUS BUBALIS) THROUGH THE USE OF FLOW CYTOMETRIC DIFFERENTIAL CELLS COUNTS.

Guccione J.[1a], V. Rubino [2], A. Pesce [3], D. Piantedosi [1], A.T. Palatucci [4], P. Coppa[3], A. Di Loria, A. De Rosa [1], P. Ciaramella [1].

[1] Department of Veterinary Medicine and Animal Productions, University of Napoli "Federico II", Via Delpino 1, 80137, Napoli, Italy.

[2] Dipartimento di Scienze Mediche Traslazionali, Università di Napoli "Federico II", Napoli, Italy.

[3] Istituto Zooprofilattico del Mezzogiorno, Via A. Jervolino 19, 81100 Tuoro, Caserta District, Italy.

[4] Dottorato di Scienze, Università della Basilicata, Potenza, Italy.

[5] Department of Health Science, University of Magna Graecia of Catanzaro, 88100, Catanzaro, Italy.

[a] Resident of the European College of Bovine Health Management (ECBHM).

INTRODUCTION

Somatic cell count (**SCC**) is an undisputed and well-established criterion for the evaluation of udder health and milk quality, in both the buffaloes and cows. According to several studies, SCC >200*10^3 cells/mL is currently accepted as a valid parameter to indicate an inflammatory mammary condition in dairy Mediterranean buffalo. Although SCC is generally used as a quantitative indicator of udder health, a differential cell counts (**DCC**), based on the identification of several cellular subpopulations, was suggested to represent a more appropriate evaluation. The aim of the current study was to perform the DCC, in quarter milk samples of primiparous Mediterranean buffaloes characterized by different udder health status.

MATERIAL AND METHODS

Sixty quarter milk samples, originating from dairy buffalo with different mammary health status, were selected after a complete clinical examination associated to evaluation of California Mastitis Test and Electrical Conductivity by a population of 200 animals. All the samples were collected according to the guidelines of the National Mastitis Council (2004) for sterile collection of milk samples and sent to the laboratory for SCC and bacteriological culture (**BC).** The quarters were divided in healthy (**H**-negative BC, SCC < 200x10^3), affected by intramammary infection (**IMI-**positive BC, SCC <200x10^3) or mastitis (subclinical-**SCM,** positive BC, SCC >200x10^3, absence of clinical signs, or clinical-**CM,** positive BC, SCC >200x10^3, presence of clinical signs), considering the results of SCC, BC and clinical examinations. The milk samples selected were centrifuged (15 min at 200 x g and 4 °C) and cream layers and supernatants were eliminated. Cell pellets were then washed three times with PBS and centrifuged. Non-conjugate monoclonal antibodies against CD11b, CD14, CD4 and CD8 T cell subsets, (VMRD Inc., Pullman, WA), APC and FITC labeled anti-IgG1 and IgG2b mouse IgG (Becton Dickinson PharMingen, San Jose, California) were employed for identification of polymorphonuclear neutrophil leukocytes (**PMNL**), macrophages (**M**), and T cell subsets (**L**), respectively. Immune Fluorescence and Flow Cytometry detection were performed by using a two laser equipped *FACScalibur* apparatus and the *CellQuest* analysis software (Becton Dickinson). Means, standard deviation, and t-Test were performed by using IBM-SPSS®, 17.0.0. Unites States.

RESULTS

An increase of mean percentage of M was observed between H quarters and those one affected by IMI and udder pathological state (SCM and CM); simultaneously, a decrease of PMNL in the same categories was detected. Indeed, significant difference ($p<0.05$) in percentages of M between H quarters (69.30 ± 19.87), CM (51.34 ± 26.81) and IMI (56.91 ± 18.91) was observed. In addition, significant changes in PMNL percentage were detected in H quarters (30.34 % ± 19.19) and CM (48.58 ± 26.89;). Different percentage of Lymphocytes were observed in H quarters, as compared with those characterized by the presence of in-udder mastitogens bacteria (IMI, SCM, CM). Thus, different cellular components seem to characterize quarters in which major pathogens were isolated *(e.g., Staphylococcus aureus).*

DISCUSSION

At the best of our knowledge, this is the first differential evaluation of inflammatory cell populations in milk of dairy Mediterranean buffalo, performed by using immune fluorescence and flow cytometry detection. Our results indicate that milk samples of diseased udder quarters (CM) showed PMNL as dominant cell population, confirming similar trend described in cow model. In addition, subtle differences in inflammatory cell components could be hypothesized to characterize the two dairy species. Further researches to confirm the hypothesis and investigate the usefulness of the cutoff value indicator of udder disease in dairy Mediterranean buffalo (200*103 cells/mL) are warranted.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

CLINICAL EVALUATION OF STARTVAC® VACCINE ON MEDITERRANEAN BUFFALOES *(BUBALUS BUBALIS) MASTITIS DUE TO STAPHYLOCOCCUS AUREUS INFECTION.*

Guccione J [1a], A. Pesce [2], M. Pascale [3], C. Salzano[2], G. Tedeschi [4], L. D'Andrea [1], A. De Rosa [1], P. Ciaramella [1].

[1] Department of Veterinary Medicine and Animal Productions, University of Napoli "Federico II", 80137, Napoli, Italy.

[2] Istituto Zooprofilattico del Mezzogiorno, Via A. Jervolino 19, 81100 Tuoro, Caserta District, Italy.

[3] Veterinary Practitioner, 81100, Caserta, Italy

[4] Hipra Italia s.r.l., Via Franciacorta 74, 25038, Rovato, Italy

[a] Resident of the European College of Bovine Health Management (ECBHM).

INTRODUCTION

Staphylococcus aureus (S. aureus) is one of the most important and best studied pathogens causing mastitis in dairy buffaloes. Potentially it causes considerable economic loss in the dairy industry. *The aim of the current study was to evaluate the prophylactic effectiveness of inactivated mastitis vaccine (STARTVAC®, HIPRA, Spain), on Mediterranean buffaloes* (Bubalus Bubalis) mastitis due to Staphylococcus aureus infection.

MATERIALS AND METHODS

Two different vaccine's administration protocols were evaluated on dairy buffaloes; the first one (protocol A), based on two intramuscular injections of vaccine (2 ml), was performed in 30 buffaloes on days 45 and 10 before the estimated day of calving (vaccinated group 1-VG1); in the second protocol (protocol B) an additional administration was performed at 52 day in milk (DIM) in other 30 animals (vaccinated group 2-VG2). In each protocol a control group of 30 animals was also considered (control group 1-CG1 and control group 2 -CG2), respectively. Each protocol lasted one year (December 2011 - November 2013). A composite milk sample (4-quarter pool) was collected for each animal to perform somatic cell count (SCC), bacteriological culture (BC) and California Mastitis Test (CMT) at 10, 30, 60, 90 DIM during evening milking. All samples were collected according to the guidelines of the National Mastitis Council (2004) for sterile collection of milk samples. Electrical conductivity (EC) and daily milk yields were always recorded after milking. In addition, during the period of the study, each animal showing obvious milk's macroscopic anomalies and/or clinical signs of mastitis was submitted to a new bacteriological culture. According to several studies, quarters producing milk with SCC values > 200*103 cells/mL, with positive Staphylococcus aureus culture were considered affected by mastitis and in end –point phase. Means, standard deviation, t-Test and Chi-squared test were performed using IBM-SPSS®, 17.0.0. Unites States.

RESULTS

No significant statistical differences were found about the number of mastitis due to S aureus between VG1 and CG1 using the protocol A. A lower number of mastitis was observed at 30 (VG2-2/30 vs. CG2-4/27; P < 0.05), 60 (VG2-1/28 vs. CG2-3/23; P = 0.008) and 90 DIM (VG2-3/27 vs. CG2-5/20; P = 0.001) in the animals of the protocol B. Regarding the incidence of mastitis during the observed period a significant statistical differences was observed in VG2 vs. CG2 at 30, 60, 90 DIM (30 DIM, VG2- 2/30 vs.CG2-7/30; P = 0.008; 60 DIM, VG2:-3/30 vs. CG2-10/30; P = 0.01; 90 DIM, VG2-6/30 vs. CG2:7/30%; P = 0.006). No significant differences were found considering S aureus intramammary infection (IMI) and mastitis due to E. coli in both the protocols. Finally, means SCC and milk yields were always lower in the groups vaccinated in both protocols.

DISCUSSIONS

According to our knowledge, it is the first time that the effects of inactivated mastitis vaccine on S. aureus Mediterranean Buffalo (Bubalus Bubalis) mastitis were evaluated. Our results suggested as the use of Protocol B (based on three administration time) showed better prophylactic properties reducing significantly the incidence mastitis due to S. aureus than the first one (Protocol A). Our data show as the employment of vaccine against S aureus in Mediterranean buffalo represents an interesting challenge, even though its practice use should be suggested in association with an improvement of herd health management. Future studies are essential to value this aspect and define the possible cost-benefit ratio of the *STARTVAC®* vaccination program.

CAN CMT BE A COST EFFECTIVE PREDICTOR OF EARLY LACTATION MASTITIS IN DAIRY HEIFERS?

R Drysdale, P Daly, M Tomlinson, K Baxter, P Elkins, P McIntosh

Milk Quality Team – Westpoint Vet Group, Dawes Farm, Warnham, W Sussex, RH12 3SH

Presented by M Tomlinson Resident (cattle) R(D)SVS Edinburgh.

OBJECTIVE

To evaluate the use of the California Mastitis Test (CMT) as a rapid cowside test offering an economic advantage to the dairy farmer for predicting heifers with the potential to develop mastitis in the first 30 and 60 days of lactation.

INTRODUCTION

Dairy heifers have been shown often to have high levels of gram positive bacteria present in their udders at calving (***1***) that often cause mastitis in the first lactation and impact culling decisions (***2***). Reducing mastitis rate at 7 days can reduce culling due to udder health (***3***).

The CMT has been shown to be a useful, indirect, tool for monitoring fresh cows post calving to detect quarters with major mastitis pathogens present (***4***). Somatic Cell Count (SCC) ≥500,000 cells/ml/milk has been recognised as CMT score ≥1 (0-3 scale) with the SCC ≥800,000 for CMT ≥2.

A CMT score ≥2 (0-3 scale) was shown to be 66.7% sensitive for detecting a major pathogen and SCC. Can this approach work for first lactation heifers?

MATERIALS AND METHODS

Two large block-calving dairy farms (700 B&W cows combined) with 204 heifer calvings between 28/08 and 05/11. Farms were visited once daily, 3 times/week. The fresh calved heifers were examined at day 4-6, checked by CMT (California Mastitis Test) and sampled for any subsequent SCC testing using DeLaval Cell Counter (DCC).

All samples were retained for subsequent testing should a quar-

Table 1 – sample results	Day 4-6 score					Day 30 score			
CMT score	0	1	2	3	0	1	2	3	New #3
Number quarters found	376	309	66	46	497	187	81	32	11
Number quarters SCC <500,000	376	242	13	0	497	162	0	0	
Number quarters SCC 500-800,000	0	55	44	29	0	24	53	11	
Number quarters SCC >800,000	0	12	9	17	0	1	28	21	
Mastitis quarters in period	1	2	4	20	8	2	2	4	1
Mastitis animals in period	1	2	3	15	5	2	2	3	1
Culture from CMT sample	0	0	2	10	0	0	0	1	1
PCR from CMT sample	1	1	1	8	1	1	0	1	0
No result from CMT sample	0	1	0	2	7	1	2	2	0

ter develop mastitis. The CMT score and bacteriology/PCR result was then cross matched with the SCC. CMT and sampling was repeated at 30 days calved.

RESULTS

The breakdown of study results are shown in table 1. A total of 200/204 heifers were followed through the entire study with 4 animals removed due to concurrent therapy within first 7 days of calving for metritis.

Overall 797 quarters were followed through to 30 days with 2 sets of CMT scores and DCC results for each animal/quarter. There were 3 blind quarters found (1.5% of heifers and 0.38% of quarters).

In the first 30 days 27 cases of mastitis were seen from 21 (10.5%) animals. A further 13 (6.5%) animals had another 17 cases of mastitis case over the remaining 275 days of the lactation.

A total of 24 animals were affected by 1 or more case of mastitis to represent 12% of the population at risk treated for mastitis in their first lactation.

DISCUSSION AND CONCLUSION

Sargeant et al, 2007 (***4)*** found in multiparous animals SCC and CMT sensitivity versus culture depended on user skill and background challenge level (high SCC herds with high levels of subclinical disease makes interpretation difficult). The purpose of this study was to evaluate cowside testing using CMT for early indication of heifers with subclinical mastitis in early lactation.

At 5 day testing 46 quarters were scored 3 on CMT. All 46 quarters showed SCC >500,000 in this instance, 20 of which then had a case of clinical mastitis in the first 30 days. 10 quarters produced a positive culture and 18/20 had an organism identified when PCR testing was included.

The correlation of mastitis cases in the first 30 days from these 200 heifers when ranked against CMT was 74% (20 cases CMT #3 from 27 cases overall). The chance any CMT positive quarter (#1, 2 or 3) showed mastitis in the first 30 days was 96% – suggesting the use of CMT soon after calving could help identify potential problem heifers before routine herd SCC sampling results may have been taken.

After day 30 whilst CMT is sensitive for SCC banding, using CMT to identify potential new mastitis cases becomes more problematic as environment and milking/management comes to bare more on the udder health of the heifer.

REFERENCES

1. Nickerson SC, Owens WE, Boddie RL (1995). Mastitis in dairy heifers: studies on prevalence and control. ***J Dairy Sci; 78(7) 1607-18***
2. Kreiger M, Friton GM, Hofer J, Fuchs K, Winter P (2007). Effects of periparturient systemic treatment with penthamate on udder health and milk yield of dairy heifers. ***J Dairy Res; 74(4) 392-8***
3. Bryan MA, Friton GM (2005). Stochastic modelling of the use of penthamate. ***Proceedings of 4th IDF, 232-234***
4. Sargeant JM, Leslie KE, Shirley JE, Pulkrabek BJ, Lim GH (2001). Sensitivity and specificity of SCC and CMT for identifying intramammary infection in early lactation. ***J Dairy Sci; 84(9) 2018-24***

REPRODUCCIÓN // REPRODUCTION

CAMBIOS, OBSERVADOS POR ECOGRAFÍA, QUE TIENEN LUGAR EN EL ÚTERO ANTES DE LA OVULACIÓN

Quintela, LA; Murillo, A; Barrio, M; Becerra, JJ y Herradón, PG

Facultad de Veterinaria. Reproducción y Obstetricia. Universidad de Santiago de Compostela.

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar, objetivamente, los cambios observados por ecografía, que tienen lugar en el útero antes de la ovulación. Para este fin se utilizaron 23 vacas de raza Holstein a las que se les indujo la luteolisis mediante la administración de 150 µg de Cloprostenol (PG). En el momento de la administración (hora 0), a las 12h, 24h, 48h y, a partir de este momento, cada 12 horas hasta confirmar la ovulación se llevaron a cabo exploraciones ecográficas evaluando el crecimiento del folículo (diámetro mayor: DFD), la regresión del cuerpo lúteo (área: ACL), el contenido del útero (diámetro de la luz: CU) y la ratio espesor del endometrio/espesor del miometrio (RE/M). El 65,2% de las vacas ovuló entorno a las 78 h, mientras que el 34,8% lo hicieron en torno a las 90 h Los resultados obtenidos muestran un incremento de la RE/M y del contenido uterino muy marcado a partir de las 60h, independientemente del momento de la ovulación.

SUMMARY

The aim of this study was to evaluate, objectively, the changes observed with ultrasound, occurring in uterus before ovulation. In 23 Holstein cows 150 µg of cloprostenol (PG) was administered intramuscularly to induce luteolysis. From the moment of prostaglandin administration (0 h) and at 12, 24, 48 h and then, every 12 h until ovulation, ovaries and uterus were scanned to measure: follicle growing (major diameter: DFD), corpus luteum regression (area: ACL), uterine content (uterine lumen diameter: CU) and the ratio of the difference between endometrium and myometrium thickness (RE/M). In 65.2% and 34.8% of cows, ovulation was produced at 78 and 90 h after prostaglandin injection, respectively. Results, also, show a great increase in the RE/M and uterine content 60 h after PG treatment, unrelated to the moment at which ovulation was produced.

INTRODUCCIÓN

La exploración del útero en la vaca no gestante tiene interés en la determinación del momento del ciclo en que se encuentra y para el diagnóstico de patologías uterinas (Quintela et al., 2012). La histología del útero determina la imagen ecográfica de éste, ya que la zona vascular que separa el endometrio del resto de la pared uterina es visible en la ecografía (anecogénica) (Quintela et al., 2006). Gracias a esto, podremos diferenciar el útero de una vaca en fase luteínica del útero de una vaca en fase folicular. Durante la fase folicular el útero está bajo la influencia de los estrógenos que producen edema e hiperemia en la pared, en consecuencia el endometrio aumenta su grosor y la zona vascular se hace más visible (Griffin and Ginther, 1992; Gnemmi, 2004). El contenido del útero también puede sufrir ciertas variaciones a lo largo del ciclo, estará ausente en la fase luteínica y puede existir en diferente grado en la fase folicular (Barlund et al., 2008). Estas descripciones son, en su mayoría, fruto de una evaluación subjetiva o indirecta, por lo que el objetivo de este trabajo ha sido evaluar estos cambios de forma objetiva, en relación al momento de la ovulación.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para este estudio se utilizaron 23 vacas adultas de raza frisona (*Bos taurus*), clínica y ginecológicamente sanas, no gestantes y no lactantes, ubicadas en las instalaciones del Hospital Veterinario Rof Codina de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Santiago de Compostela, campus Lugo. Todas las vacas presentaban un cuerpo lúteo aparentemente funcional.

Los animales recibieron 150 µg de un análogo sintético de la $PGF_{2\alpha}$ (cloprostenol, Dalmazin®, Fatro Ibérica, Barcelona, España). En el momento de la administración de la $PGF_{2\alpha}$ y a las 12, 24, 48 y en adelante cada 12 horas, se realizó una exploración ecográfica detallada de los ovarios y el útero hasta confirmar la ovulación.

El examen ecográfico de los ovarios y útero fue realizado mediante un ecógrafo (Easote, MyLab One, Génova, Italia) equipado con una sonda lineal transrectal multifrecuencia (2-10 MHz) determinando el área del cuerpo lúteo (ACL), el diámetro mayor del folículo dominante (DFD), la ratio entre el espesor del endometrio y el del miometrio (RE/M) y el diámetro de la luz del útero (CU), utilizando las funciones correspondientes del ecógrafo (en las medidas del útero se busco la zona en que en un corte transversal de los cuernos del útero estas medidas fueran superiores para su determinación).

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa estadístico SPSS 19.0 (SPSS, Chicago, IL). Los animales totales se dividieron en dos grupos en función del momento de la ovulación (78 y 90 h), llevando a cabo el mismo análisis estadístico en cada uno de los grupos. Este análisis consistió en un Modelo Lineal General (GLM) de medidas repetidas, realizando la prueba de contrastes simples para determinar diferencias estadísticas entre los valores obtenidos a las diferentes horas y el de la hora 0, siendo las variables dependientes DFD, ACL, RE/M y CU.

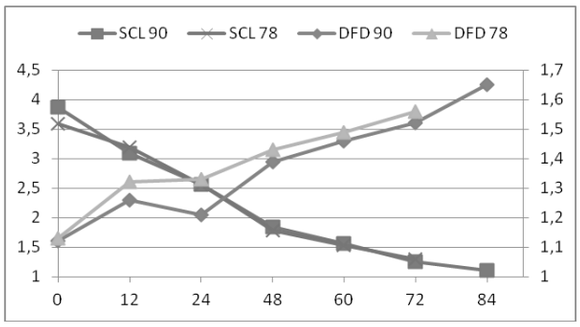
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evolución de las diferentes medidas a lo largo del tiempo se muestran en la tabla 1 y gráficas 1 y 2. Como cabría esperar de vacas con cuerpo lúteo a las que se les administra una PG, el tamaño del CL disminuye y el tamaño del FD aumenta a medida que pasa el tiempo. El contenido uterino se incrementa ya desde las 12, 24 h pero el incremento más acusado respecto a la hora 0 tiene lugar a partir de las 60 h, independientemente del momento de ovulación. En cuanto a la RE/MP ocurre también un incremento significativo a partir de las 60 h, incremento, consecuencia de un engrosamiento considerable del endometrio. Dichos resultados confirman los cambios descritos por los diferentes autores obtenidos mediante la apreciación subjetiva (Griffin and Ginther, 1992; Gnemmi, 2004; Barlund et al., 2008; Quintela et al, 2006 y 2012).

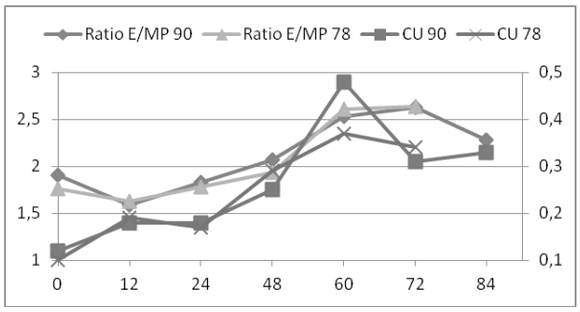
Tabla 1.- Tamaño del CL y el folículo dominante y ratio endometrio/miometrio y perimetrio y contenido uterino en las horas previas a la ovulación, en función del momento de la ovulación.

	OVULACIÓN A LAS 78 h					OVULACIÓN A LAS 90 h				
	n	ACL	DFD	RE/M	CU	n	ACL	DFD	RE/M	CU
0 h	15	3,59±0,73	1,13±0,16	1,76±0,50	0,1± 0,04	8	3,87±0,55	1,12±0,15	1,91±0,27	0,12±0,08
12 h	15	3,2±0,48*	1,32±0,09**	1,63±0,26	0,19±0,04**	8	3,09±0,43**	1,26±0,09*	1,59±0,17	0,18±0,06**
24 h	15	2,57±0,47**	1,33±0,11**	1,78±0,29	0,17±0,02**	8	2,56±0,43**	1,21±0,18*	1,83±0,30*	0,18±0,05*
48 h	15	1,79±0,51**	1,43±0,14**	1,93±0,55	0,29±0,27*	8	1,84±0,39**	1,39±0,16	2,07±0,35	0,25±0,17
60 h	15	1,53±0,38**	1,49±0,15**	2,61±0,47**	0,37±0,11**	8	1,56±0,21**	1,46±0,16**	2,53±0,36*	0,48±0,47
72 h	15	1,3±0,41**	1,56±0,15**	2,64±0,59**	0,34±0,13**	8	1,26±0,29**	1,52±0,19**	2,63±0,77	0,31±0,11**
84 h						8	1,11±0,22**	1,65±0,21**	2,28±0,72	0,33±0,17**

**Diferencias significativas con la hora 0 (P<0.05) ** Diferencias significativas con la hora 0 (P<0.01)*



Gráfica 1.- Evolución delTamaño del CL y el folículo dominante en las horas previas a la ovulación, en función del momento de la ovulación.



Gráfica 2.- Evolución de la ratio endometrio/miometrio y del contenido uterino en las horas previas a la ovulación, en función del momento de la ovulación.

Podemos concluir, por lo tanto, que existe un cambio medible en la imagen ecográfica del útero en momentos próximos a la ovulación respecto a la fase luteínica y, dicho cambio, es muy aparente entre las 18 y 30h previas (incremento entre el 158 y el 270% del diámetro de la luz uterina y entre el 32 y 48% en la ratio espesor del endometrio/espesor del miometrio).

BIBLIOGRAFÍA

1. Barlund CS, Carruthers TD, Waldner CL, Palmer CW, 2008: A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. Theriogenology *69* 714–723
2. Gnemmi, G. (2004). Atlante di ultrasonografia ginecológica buiatrica. Ed. Le Point Veternaire. Milano, Itali. Pp 127
3. Griffin PG, Ginther OJ, 1992. Research applications of ultrasonic imaging in reproductive biology. J. Anim. Sci. *70* 953-972.
4. Quintela LA, Barrio M, Peña AI, Becerra JJ, Cainzos J, Herradón PG, Díaz C. 2012. Use of ultrasound in the reproductive management of dairy cattle. Reprod Dom Anim 47 (Suppl. 3), 34–44
5. Quintela LA, Díaz C, Herradón PG, Peña AI, Becerra JJ, 2006: Ecografía y reproducción en la vaca. Ed. Servicio de publicaciones e intercambio científico of the University of Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, Spain. Pp 92.

CONSERVACIÓN DE LA RAZA BOVINA MURCIANO-LEVANTINA: OPU Y SU REPERCUSIÓN EN LA FERTILIDAD TRAS LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL A TIEMPO FIJO

Ruiz S[1], Sánchez JM[1], Rojas E[1], Romero-Aguirregomezcorta J[1]
Almela L[2], Peinado B[2], Poto A[2]

[1] *Departamento de Fisiología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.*

[2] *Departamento de Mejora Genética Animal. IMIDA. Murcia.*

RESUMEN

La raza bovina Murciano-Levantina (M-L) se considera en punto crítico de extinción. La punción folicular ecoguiada por vía transvaginal u *ovum pick-up* (OPU) permite la obtención *in vivo* de ovocitos de hembras bovinas donantes que pueden ser utilizados para la producción *in vitro* de embriones (PIV), lo que permite el incremento del número de descendientes por vaca. Pero la consideración de la OPU como una herramienta efectiva para la obtención de ovocitos, y por tanto su utilidad para la conservación de razas en peligro de extinción, pasa por el hecho de que además no interfiera negativamente en la fertilidad de la donante con posterioridad a la OPU; así, el objetivo principal de este estudio fue comprobar si la utilización reiterada de OPU afectaba negativamente a la posterior fertilidad de estos animales. Para ello, se utilizaron 8 hembras donantes M-L, sometidas a una sesión de OPU semanal durante una media de 7 semanas. Posteriormente, las donantes se sincronizaron con protocolos CO-Synch y CO-Synch7d+CIDR e inseminación artificial a tiempo fijo (IATF) entre 9 y 35 días tras la última OPU, volviendo a inseminarse a celo visto aquellas hembras que repitieron celo. El diagnóstico de gestación se realizó mediante palpación rectal y ecografía pasados 30 días tras la IA y reconfirmación a los 2-3 meses. Después de la IATF, la tasa de gestación a la 1ª IA fue del 50% con una tasa de gestación total del 100%; la media general fue de 39 días abiertos post-OPU y la fertilidad final de 1,4 IA/gestación. Podemos concluir, que la utilización reiterada de la técnica de OPU no disminuye la fertilidad posterior de los animales utilizados como donantes.

SUMMARY

The Murciano-Levantine (M-L) bovine breed is considered at critical point of extinction. The follicular punction by transvaginal ultrasound-guided or ovum pick-up (OPU) allows the recovery of in vivo *bovine oocytes from living donor females that can be used for* in vitro *embryo production (IVP). This increases the amount of offspring per cow. But considering the OPU as an effective tool for obtaining oocytes, and therefore useful for the conservation of endangered breeds, the fact that OPU does not adversely interfere with the fertility of the donor after its employment should be demonstrated. Hence, the main objective of this study was to test whether the repeated use of OPU negatively affects subsequent fertility of these animals. A total of eight M-L donor animals subjected to a session of OPU/week during seven weeks in average were studied. The donors were subjected to synchronization of ovulation with CO-Synch and CO-Synch7d+CIDR protocols and timed artificial insemination (TAI) between 9 and 35 days after the last OPU and re-inseminated at observed estrus if not pregnant. Pregnancy diagnosis was performed by rectal palpation and ultrasonography with more than 30 days post-AI and reconfirmed with 2-3 months. The pregnancy rate was 50% at 1st AI and of 100% in total. Mean days open post-OPU were 39 days in average and mean fertility of 1.4 AIs/pregnancy. We can conclude that the repeated use of the OPU technique does not reduce the subsequent fertility of the animals used as donors.*

INTRODUCCIÓN

La raza bovina Murciano-Levantina (M-L) con sólo 46 animales (39 hembras, 4 machos de edad temprana, 1 joven y 2 adultos) censados en el Libro Genealógico de la raza se considera en la actualidad en punto crítico de extinción (datos actualizados a enero 2014; Poto, comunicación personal). Por sus características de docilidad, rusticidad, conformación para la tracción, longevidad y resistencia a las enfermedades endémicas resulta muy apreciada en las faenas agrícolas. La punción folicular ecoguiada por vía transvaginal u *ovum pick-up* (OPU) permite la obtención *in vivo* de ovocitos de donantes que pueden ser utilizados para la producción *in vitro* de embriones (PIV), lo que permite el incremento del número de descendientes por vaca, convirtiendo a estas técnicas reproductivas en herramientas útiles en la conservación de la raza M-L. Pero la consideración de la OPU como herramienta efectiva para la conservación de razas en peligro de extinción, pasa porque no interfiera negativamente en la fertilidad de las hembras donantes con posterioridad a su uso en OPU. El objetivo principal de este estudio fue comprobar si la utilización reiterada de la OPU afectaba negativamente a la fertilidad posterior de las hembras bovinas de raza M-L.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los animales incluidos en este estudio fueron ocho hembras de raza M-L, con edades comprendidas entre 1,5 y 6 años; clasificadas en 2 nulíparas, 3 primíparas y 3 multíparas. Presentaban una condición corporal adecuada (3,5-4). Las donantes eran trasladadas por parejas a las instalaciones de la Granja Veterinaria de la Universidad de Murcia donde se realizaban las sesiones de OPU y posterior sincronización hormonal e IATF. Los animales que mostraron repetición de celo tras la IATF, se inseminaban a celo visto en sus granjas de origen. Las hembras donantes fueron sometidas a una sesión de OPU semanal previo ablación del folículo dominante con GnRH, estimulación folicular con FSH a las 36 h, y a las 48 h sesión de aspiración (Ruiz *et al*., 2013). Este proceso se repitió durante una media de 7 semanas, de manera ininterrumpida.

Se emplearon dos métodos de sincronización de la ovulación para la IA: el protocolo CO-Synch, con administración de GnRH en el día 0 seguida de $PGF_{2\alpha}$ en el día 7 y una segunda dosis de GnRH entre 48 y 66 h después de la $PGF_{2\alpha}$, coincidiendo con el momento de la inseminación (en nuestro estudio, la IA y la administración de GnRH se realizó a las 72 h de la $PGF_{2\alpha}$); y el protocolo CO-Synch7d+CIDR, con la inyección de GnRH simultáneamente a la inserción de un dispositivo intravaginal liberador de progesterona (CIDR® Zoetis, París, Francia) en el día 0. En este caso no se utilizó GnRH al coincidir el día 0 con la última sesión de OPU, provocándose la ablación del folículo dominante mediante punción, seguido de la extracción del mismo 7 días más tarde. La administración de una única dosis de $PGF_{2\alpha}$ se realizó en el día 6 (1 día antes de la retirada del CIDR®) y la IATF se realizó a las 56 y 68 h después de la extracción del CIDR®, al mismo tiempo que se aplicó una dosis de GnRH (en la 1ª IA). Las hormonas utilizadas en los diferentes protocolos, así como las vías de administración y sus dosis, fueron similares en los dos tratamientos realizados y siguiendo las recomendaciones de los fabricantes: GnRH (Dalmarelin®, Fatro Ibérica, Barcelona, España), $PGF_{2\alpha}$ (Dinolitic®, Zoetis, París, Francia) y CIDR® (Zoetis, París, Francia). El semen empleado para la IA procedía de un toro M-L obtenido mediante electroeyaculación, envasado en pajuelas de 0'5 ml y posteriormente congelado y almacenado en nitrógeno líquido hasta su uso.

El diagnóstico de gestación se realizó mediante examen del tracto reproductivo por palpación rectal y ecografía con más de 30 días post IA y reconfirmación a los 2-3 meses. Se analizaron los siguientes índices reproductivos: A) *Tasa de gestación a 1ªIA* o TG1IA (porcentaje de hembras que quedaron gestantes después de la 1ªIA). B) *Tasa de gestación total* o TGT (porcentaje de hembras que quedaron gestantes en relación con el total de hembras inseminadas). C) *Promedio de días abiertos* o DA (intervalo en días entre la última OPU y la gestación). D) *Porcentaje de partos a término* o PPT (número de vacas que parieron dividido por el número total de vacas gestantes). E) *Sex ratio* o SR (relación entre machos y hembras del total de terneros nacidos); y F) *Número de IA/gestación* o IA/G (número total de IAs entre las gestaciones obtenidas).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las ocho vacas utilizadas como donantes, 2 de ellas continúan en el programa de OPU. De las seis restantes, la TG1IA fue del 50% (3/6). Una de las vacas inseminadas que se diagnosticó como no gestante no se volvió a inseminar, el resto quedaron gestantes tras una 2ª IA a celo visto. La TGT tras OPU fue del 100%, excluyendo aquellas donantes no inseminadas (2) o no reinseminadas (1) por decisiones técnicas o del ganadero. El promedio de DA fue 39 días, oscilando entre los 9 y 106 días. El PPT fue del 100% (5/5 gestantes); los 5 terneros nacidos (4 machos y 1 hembra) no presentaron ninguna anormalidad reseñable y continúan su desarrollo normal. La SR de los nacidos fue 4/1. La TG1IA tras CO-synch fue del 25% (1/4), mientras que tras CO-synch+CIDR fue del 100% (2/2). Por último, la IA/G (excluyendo la donante que se desechó tras la 1ª IA) fue 1'4.

Cuando se aplican técnicas reproductivas para la conservación de una raza, es importante comprobar no sólo si ésta resulta efectiva sino también cómo y en qué medida puede afectar a los animales. La utilización reiterada de OPU podría influir negativamente en la función reproductiva por lesión en los órganos reproductivos o por modificaciones endocrinas (Klossok *et al*., 1997; Petyim *et al*., 2001), así como en el bienestar animal (Petyim *et al*., 2007).

Los estudios publicados sobre aplicaciones reiteradas de OPU y la fertilidad posterior a IATF son escasos. Aller *et al*. (2010) no encontraron diferencias en la tasa de gestación entre vacas tratadas o no con FSH y sometidas a sesiones de OPU repetidas y aquellas pertenecientes al grupo control, después de doble IATF, 11 días posteriores a la última aspiración (todas las vacas fueron sincronizadas utilizando un dispositivo intravaginal de progesterona durante 8 días), afirmando que la fertilidad no se veía afectada por el uso repetido de la OPU. El resultado de nuestro estudio reveló una tasa de gestación en la 1ª IA tras la última sesión de OPU del 50%; sin embargo, utilizando el protocolo CO-synch obtuvimos un 25% (1/4) mientras que con CO-synch7d+CIDR se alcanzó el 100% (2/2). Aunque el número de animales e inseminaciones es muy reducido y el objetivo del estudio no fue su comparación, parece que el protocolo CO-synch7d+CIDR presenta mayores ventajas, en cuanto a las tasas de sincronización, ovulación, gestación y promedio de días abiertos, que el protocolo CO-synch en la raza bovina M-L.

CONCLUSIONES

Finalmente, con los resultados obtenidos: todos los animales gestantes dentro de un período de 39 días post-OPU, 1,4 IA/G; 100% de PPT con 5 terneros normales y una *sex ratio* de 4 machos/1 hembra, podemos concluir que el uso reiterado de la OPU no afecta a la fertilidad posterior de las hembras donantes.

REFERENCIAS

1. Aller et *al*. *Anim Reprod Sci*. 119: 1-8. 2010.
2. Klossok *et al*. *Theriogenology.* 47: 160. 1997.

3. Petyim *et al. J Vet Med A*. 48, 449-463. 2001.
4. Petyim *et al. Reprod Domest Anim.* 42: 623-632. 2007.
5. Ruiz *et al. Reprod Domest Anim.* 48: 81-84. 2013.

AGRADECIMIENTOS

Proyecto financiado por MINECO-INIA (RZ2010-00003-C02-00).

A *Zoetis, A.H.* y *Fatro Ibérica S.L.*, por la donación desinteresada de los productos hormonales.

INFLUENCIA DE LA APLICACIÓN DE UN INMUNOMODULADOR JUNTO A LA INSEMINACIÓN ARTIFICIAL SOBRE LA FERTILIDAD EN GANADO VACUNO LECHERO.

Ismael Villar Gómez, Sofía Villar Fernández*, Julián Suárez de la Fuente**.*

**Veterinario clínico. **Laboratorios Ovejero, S. A.*

RESUMEN

Se evalúa en condiciones de campo la respuesta de las vacas lecheras a la administración junto con la Inseminación Artificial de un inmunomodulador, ***Inmufort® Complex Bóvidos*** (Laboratorios Ovejero, S. A.), en cuanto a la fertilidad de los animales se refiere, que mejora en un 9,5%.

SUMMARY

The response of dairy cows to the administration with the Artificial Insemination of an immunomodulatory, ***Inmufort® Complex Bóvidos*** (Laboratorios Ovejero, S. A.), is evaluated under field conditions concerning the fertility of animals is concerned, which is improving by 9.5%.

INTRODUCCIÓN

La disminución de la fertilidad de las vacas lecheras durante las últimas décadas se ha convertido en un foco de atención tanto para ganaderos como para veterinarios. El estrés causado por la alta producción de leche, junto con el aumento del tamaño de la carga ganadera de muchas explotaciones, cambios en el tipo de instalaciones y en medidas de manejo son factores que influyen en la eficiencia reproductiva de los rebaños.

El incremento de los costes de fertilidad está originado por el aumento de inseminaciones artificiales necesarias por lactación; el intervalo entre partos (IPP) puede no ser un buen indicador de la fertilidad puesto que está sujeto a decisiones del ganadero y, además, en vacas muy productoras podría ser más rentable alargar la lactación. La fertilidad reducida genera unos costes (*semen, mano de obra, tratamientos hormonales, reposición y costes de oportunidad por una inadecuada fertilidad en función del número de inseminaciones, entre otros*) que disminuyen la rentabilidad total de la explotación.

La respuesta inmune es un proceso complejo cuyas características son determinadas en gran medida por las interacciones que ocurren entre los *sistemas inmune, endocrino y nervioso*. Los mecanismos de inmunorregulación del útero están regulados por la secreción ovárica de estrógenos y progesterona; bajo la influencia de dichas hormonas este órgano experimenta una serie de cambios que le permiten cumplir su función durante las distintas etapas del ciclo. En términos generales, los andrógenos inhiben la respuesta inmune mientras que los estrógenos estimulan la inmunidad celular y humoral.

El ambiente uterino tiene la capacidad y "obligación" de favorecer el desarrollo embrionario normal, de modo que cualquier alteración del mismo compromete la supervivencia del embrión y propicia la aparición de celos repetidos. La mucosa del tracto reproductor está normalmente expuesta a la acción de microorganismos potencialmente patógenos. Macrófagos, linfocitos, neutrófilos eosinófilos y células cebadas son grupos celulares que participan de la protección del útero contra las infecciones.

Existe una estrecha relación entre el sistema endocrino y las citocinas. La interleucina (IL-1) es la más estudiada en su relación con la función reproductiva; a nivel ovárico estimula la formación de prostaglandinas (E y F) necesarias en el proceso de ovulación. Los linfocitos NK se encuentran de forma abundante en el útero durante la etapa de implantación y, para que se produzca tolerancia fetal, el endometrio mantiene la relación linfocitos T CD4:CD8 que si se pierde conduciría a la presentación de abortos recurrentes.

Entre otros factores que afectan negativamente a la eficiencia reproductiva de las vacas lecheras cabe destacar la metritis subclínica y el estrés por calor (combinación de temperaturas altas con una humedad relativa elevada (*índice de temperatura humedad: ITH*).

Inmufort® Complex Bóvidos (Laboratorios Ovejero, S. A.) es un inmunomodulador biológico que combina las propiedades de bioestimulinas homólogas y de *Corynebacterium parvum*, que al ser reconocidos por los TLR 2 y 4 de los macrófagos inducen la formación de una respuesta inmunitaria rápida, de tipo innato, que incrementa la producción de citocinas que favoren la actividad de los mecanismos inmunitarios: *linfocitos T*, síntesis local de anticuerpos y un incremento de la capacidad bactericida de macrófagos y neutrófilos.

MATERIALES Y MÉTODOS

En el estudio se incluyeron 385 vacas adultas (entre 1 y 6 partos), de tres explotaciones de vacuno lechero de alta producción, cuyo número de vacas se sitúa entre 250 y 350 madres, sitas en la zona costera de la cornisa cantábrica. La prueba se desarrolló entre junio de 2012 y enero 2014.

Estos animales se dividen aleatoriamente, durante la visita rutinaria de control reproductivo en cada establo, en dos lotes:

LOTE ICB, 213 animales, a los que se les administra por vía subcutánea una dosis de 5 ml de ***Inmufort® Complex Bóvidos*** en el momento de la inseminación artificial (IA), que fue siempre realizada por la misma persona.

LOTE CONTROL, 172 animales, a los que únicamente se les insemina.

El diagnóstico de gestación de las vacas inseminadas se realiza a los 35 días tras la IA, valorando la gestación como positiva (gestante) o negativa (no gestante).

Se realiza un estudio estadístico mediante un test de Chi cuadrado, con una confianza del 95%.

Aunque no es el objetivo principal de este estudio y suponiendo que para realizar un estudio estadístico teniendo en cuenta los diversos factores que afectan a la fertilidad el número de animales debería ser mayor, con estas vacas se hacen dos subgrupos que diferencian entre:

1. Las vacas de 1ª, 2ª y 3ª IA de las vacas repetidoras (las que han tenido más de 3IA).

2. Las vacas inseminadas durante los meses con temperaturas altas y elevada humedad relativa (junio a octubre), de las vacas inseminadas durante el resto del año (noviembre a mayo); val-

orando el Índice Temperatura Humedad (ITH) con los datos medios mensuales de temperatura y humedad relativa obtenidos del aeropuerto de Parayas (Santander).

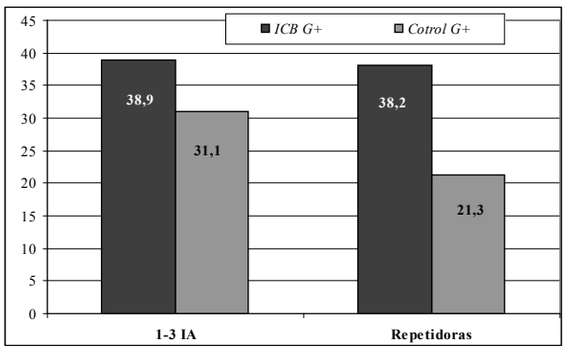
	Vacas	Gestación+	
TOTAL	**385**	**130**	**33,8%**
Control	*172*	49	28,5%
Lote ICB	*213*	81	38,0%
		+32	***9,5% ****

RESULTADOS

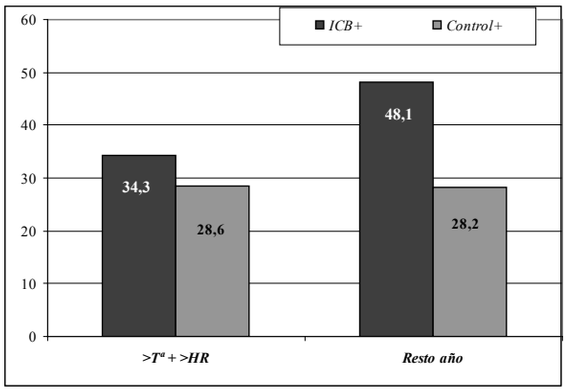
1. Fertilidad total. El promedio de fertilidad de todas las vacas fue del 33,8%. Los animales del **Lote ICB**, vacas tratadas con ***Inmufort® Complex Bóvidos***, quedaron gestantes de media el 38,0%, un 9,5% más que las vacas del Lote Control, con el 28,5% de gestaciones, siendo esta diferencia estadísticamente significativa (*p<0,05).

2. Fertilidad por número de IA. Dentro de los animales de 1ª, 2ª y 3ª IA, las vacas tratadas con ***Inmufort® Complex Bóvidos***, **Lote ICB**, la fertilidad fue del 38,9%, un 7,7% más que las vacas del Lote Control, cuya fertilidad fue del 31,2%.

Por otro lado, dentro del grupo de vacas repetidoras (>3 IA), los animales del **Lote ICB**, tratadas con ***Inmufort® Complex Bóvidos***, tuvieron una fertilidad del 38,2%, un 17% por encima de la fertilidad de las vacas del Lote Control que fue del 21,3%.



3. Fertilidad por época del año. En la época de temperaturas altas y elevada humedad relativa (*ITH medio de 72,01*) las vacas tratadas con ***Inmufort® Complex Bóvidos***, **Lote ICB,** tuvieron una fertilidad del 34,3%, un 5,7% más que las vacas no tratadas, Lote Control, con un 28,6% de fertilidad.



4.

Mientras que durante el resto del año (*ITH medio de 60,22*) las vacas del **Lote ICB**, tratadas con ***Inmufort® Complex Bóvidos***, tuvieron una fertilidad del 41,8%, un 13,6% myor que en el Lote Control, con una fertilidad del 28,2%.

CONCLUSIONES

La administración del inmunomodulador ***Inmufort® Complex Bóvidos*** se constituye como una herramienta muy interesante para aplicar dentro de los programas de control reproductivo en vacas lecheras, originando una elevada rentabilidad para los rebaños lecheros por:

I. el notable ***incremento de la fertilidad*** de las vacas, incluidas las vacas inseminadas en épocas de calor y, sobre todo, en vacas repetidoras y,

II. por el beneficio económico que genera la ***disminución de los días abiertos y de los costes en fertilidad*** de los animales.

REFERENCIAS

1. **Akira, S., et al. (2006).** Pathogen Recognition and Innate Immunity. *Cell*, 124: 783-801.
2. **Díaz-Yamal, I., Ruiz-Wagner, C. (2009).** Papel de la inmunología en la endocrinología ginecológica: revisión de la literatura. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, Vol. 60, Nº 4: 348-356.
3. **González Recio, O.; Pérez.Cabal, Mª A. (2003).** Los costes de la fertilidad en las explotaciones lecheras del país Vasco y Navarra. *Frisona Española*, 135: 116-120.
4. **González Recio, O.; Pérez.Cabal, Mª A. (2004)**. Economic Value of Female Fertility and its Relationship with Profit in Spanish Dairy Cattle. *J. Dairy Sci*., Vol 87: 3053-3061.
5. **Hunter, A. G. (1989).** Immunology and Fertility in the Bovine. *J. Dairy Sci.* Vol. 72, Nº 12: 3353-3362.
6. **Iglesias, M.; et al (2002).** Inmunología de la reproducción. *Acta Médica Colombiana*, Vol. 27, nº 3: 170-180.
7. **Lewis, G. (1997).** Uterine Health and Disorders. *J. Dairy Sci.*, Vol 80: 984-994.
8. **Martin, I.; et al. (2008)** Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal*, 176: 115-121.
9. **Pérez, M. (1996).** Interacción inmunoendocrina en el útero: papel de las hormonas esteroides sexuales. *Ciencia Veterinaria*, 7: 191-212.
10. **Ravagnolo, O., et al (2000).** Genetic component of heat stress in dairy cattle, development of Heat Index Function. *J. Dairy Sci.*, Vol 83: 2120-2125.

ANÁLISIS ESTEREOLÓGICO DE PLACENTOMAS DERIVADOS DE GESTACIONES PURAS Y CRUZADAS DE VACAS FRISONAS NEGATIVAS EN INFECCIONES EXPERIMENTALES CON *NEOSPORA CANINUM.*

Stereologic analysis of placentomes derived from pure and cross-breed pregnancies from experimentally infected Friesian-Holstein cows with *Neospora caninum.*

R. Mur[1], B. Serrano-Pérez[1], I. García-Ispierto[1], O. Cabezón[2], L. Darwich[2], M. Pérez-Maíllo[2], M. Domingo[2], F. López-Gatius[1] S. Almería[2]

[1]Dpto. Producción Animal, Universidad de Lleida, Lleida, España.

[2]Centre de Recerca en Sanitat Animal (CReSA), UAB-IRTA, Bellaterra, Barcelona, España

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue determinar si existen diferencias morfológicas en los placentomas de gestaciones puras de raza frisona y gestaciones cruzadas de vaca frisona y toro limusín que expliquen las diferencias en sus niveles de proteínas asociadas a la gestación (PAGs). Se realizaron técnicas estereológicas para analizar las posibles diferencias entre los placentomas de gestaciones puras y cruzadas de vacas infectadas experimentalmente con *Neospora caninum*. Mediante análisis de ANOVA no se encontraron diferencias significativas en el recuento de los diferentes tipos de células y tejidos que puedan explicar la mayor protección frente al aborto por *N. caninum* y los niveles más elevados de PAG-1 de las gestaciones cruzadas.

SUMMARY

The aim of this study was to determine morphologic differences between placentomes from pure Holstein-Friesian dams and cross-breed of Holstein-Friesian with Limousin dams that could explain the differences in their pregnancy-associated glycoprotein (PAG) levels. Stereological analysis was performed in placentomes in *Neospora caninum* experimentally infected cows. Through ANOVA analysis no significant differences were found in the levels of the different types of cells and tissues in the placentomes which could explain the higher protection against *N. caninum* abortion and higher PAG-1 levels observed in cross-breed gestations.

INTRODUCCIÓN

Neospora caninum es un parásito coccidio intracelular considerado en la actualidad como una de las principales causas de aborto en ganado vacuno (Almería y López-Gatius, 2013). Las vacas de aptitud cárnica y lechera presentan diferentes susceptibilidades al aborto por *N. caninum* (Dubey y Schares, 2011), siendo las vacas frisonas inseminadas con toros de razas cárnicas y, en particular, con semen de la raza Limusín, las que presentan un menor riesgo de aborto frente a *N. caninum* (López-Gatius et al. 2005; Almería et al. 2009). Los niveles de la proteína asociada a la gestación-1 (PAG-1), como marcadores de bienestar placentario, aparecen incrementados en las gestaciones cruzadas respecto a las gestaciones puras con semen frisón (Serrano et al., 2009) y los niveles de PAGs (PAG-1 y PAG-2) se han asociado a un menor riesgo de aborto en vacas infectadas por *N. caninum* (Lopez-Gatius et al, 2007; García-Ispierto et al, 2013). Las PAG-1 se expresan en las trofoblastos gigantes binucleados mientras que las PAG-2 se expresan por todo el trofectodermo (Xie et al. 1994). En la transmisión vertical, principal vía de transmisión de la infección, parecen estar implicados los trofoblastos binucleados de la placenta (Machado, 2007). El objetivo de este estudio fue determinar si existen diferencias morfológicas en los placentomas de gestaciones puras de raza frisona y gestaciones cruzadas de vaca frisona y toro limusín que expliquen las diferencias en sus niveles de PAGs.

MATERIAL Y METODOS

Ocho novillas frisonas fueron sincronizadas e inseminadas con toros de raza frisona (n=4) y raza limousin (n=4). El diagnóstico de gestación se realizó mediante ecografía a 30, 45. 90, 110, 117, 124, 131, 138, 145 y 152 días post-inseminación. A día 110 post-inseminación las novillas fueron infectadas vía intravenosa con 10^7 taquizoitos de la cepa NC-1 cedida por el Dr Ortega-Mora (SALUVET, Universidad Complutense de Madrid). Las novillas fueron sacrificadas a los 152 días post- inseminación (6 semanas post-infección). Se recogieron placentomas de cada animal que fueron sumergidos en parafina y cortados en secciones de 5 µm. Otra parte de los placentomas fue destinada a la obtención de DNA. Las secciones obtenidas se tiñeron con hematoxilina-eosina. De cada placentoma se realizaron 10 fotos aleatorias evitando los canales primarios y secundarios con un microscopio Ken-α-vision®, modelo T-1754, a 40X. El análisis estereológico se realizó mediante el software libre ImageJ 1.47 colocando una malla de 8x10 puntos distribuidos regularmente en cada una de las fotos. A continuación se procedió a contar manualmente cada uno de los puntos distinguiendo 6 categorías de puntos: epitelio materno, resto de células y tejidos maternos, trofoblastos binucleados, trofoblastos mononucleados, resto de tejidos fetales e interfase feto-materna (Figura 1). Se contaron un total de 800 puntos por muestra. Finalmente se calcularon las densidades volumétricas de cada una de las categorías de puntos dividiendo el número de puntos contados en una categoría por el número total de puntos contados (Kannekens et al. 2005). Los datos se analizaron estadísticamente mediante análisis ANOVA con el paquete estadístico SPSS v. 17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los estudios de PCR no detectaron el parásito en ninguna de las muestras de placenta, por lo que se concluyó que el modelo de parasitación no llegó a afectar a la placenta.

Las densidades volumétricas encontradas (Tabla 1) fueron similares a las registradas por Kannekens et al. (2005). No se observaron diferencias significativas en las densidades volumétricas de las poblaciones celulares entre los placentomas procedentes de gestaciones cruzadas y pura (Tabla 1). Nuestros resultados muestran que los niveles más elevados de PAGs presentes en las gestaciones cruzados (Serrano y col, 2007), no se deben a una mayor presencia de trofoblastos binucleados sino que podría deberse a una mayor glicosilación de las PAGs de acuerdo con Constant et al. (2011).

CONCLUSIÓN

No se encontraron diferencias morfológicas en las células de placentomas de gestaciones puras comparadas con gestaciones cruzadas frisón-limusín que ayuden a explicar los niveles más elevados de PAGs encontrados en las gestaciones cruzadas frisón-limusín.

Este trabajo ha sido financiado por los proyectos MICINN (AGL2012-39830-C02-01 y AGL2012-39830-C02-02). R Mur fue financiado por la beca FPI del MICINN, BES-2013-063215

REFERENCIAS

1. Almería S and López-Gatius F. Bovine neosporosis: Clinical and practical aspects. Res. Vet. Sci. 2013; 95: 303–309
2. Almería S et al. Effects of crossbreed pregnancies on the abortion risk of *Neospora caninum*-infected dairy cows. Vet. Parasitol. 2009; 163(4):323-9.
3. Constant F et al. Altered secretion of pregnancy-associated glycoproteins during gestation in bovine somatic clones. Theriogenology. 2011; 76(6): 1006–1021.
4. -Dubey JP and Schares G. Neosporosis in animals-the last five years. Vet. Parasitol. 2011; 180(1-2):90-108.
5. García-Ispierto I et al. Plasma Concentrations of Pregnancy-Associated Glycoproteins Measured Using Anti-Bovine PAG-2 Antibodies on Day 120 of Gestation Predict Abortion in Dairy Cows Naturally Infected with *Neospora caninum*. Rep.

Tabla 1. Densidades volumétricas y relación de trofoblastos binucleados/trofoblastos mononucleados según el tipo de gestación.

	Densidad volumétrica EM		Densidad volumétrica M		Densidad volumétrica TB		Densidad volumétrica TM		Densidad volumétrica F		Densidad volumétrica IF		TB/TM	
	Med.	D.tip.	Med.	D.tip.	Med.	D.tip.	Med.	D.tip.	Med.	D.tip.	Med.	D.tip.	Med.	D.tip.
Gestación pura (N=4)	0,21	0,0069	0,28	0,024	0,1	0,03	0,1	0,025	0,12	0,018	0,17	0,031	1,12	0,64
Gestación cruzada (N=4)	0,23	0,014	0,29	0,05	0,1	0,02	0,095	0,024	0,1	0,025	0,17	0,044	1,22	0,67
P	0,09		0,71		0,94		0,64		0,23		0,89		0,83	

Dom. Animals. 2013; 48: 613–618.

6. Kannekens et al. A stereological method for estimating the feto-maternal exchange surface area in the bovine placentome at 135 days gestation. Res. Vet. Sci. 2006; 81:127-133.
7. López-Gatius et al. The use of beef bull semen reduced the risk of abortion in *Neospora*-seropositive dairy cows. J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health. 2005; 52(2):88-92.
8. López-Gatius et al. Plasma pregnancy-associated glycoprotein-1 (PAG-1) concentrations during gestation in *Neospora*-infected dairy cows. Theriogenology. 2007; 67:502–508.
9. Machado et al. Possible role of bovine trophoblast giant cells in transplacental transmision of *Neospora caninum* in cattle. Rev. Bras. Parasitol. Vet. 2007; 16: 21-25.
10. Serrano et al., Factors Affecting Plasma Pregnancy-associated Glycoprotein 1 Concentrations Throughout Gestation in High-producing Dairy Cows. Rep. Dom. Animals 2007; 44: 600-605
11. Xie et al., A novel glycoprotein of the aspartic proteinase gene family expressed in bovine placental trophectoderm. Biol Reprod 1994; 51: 1145–1153.

Epitelio materno (EM), resto de tejidos y células maternales (M), trofoblastos binucleados (TB), trofoblastos mononucleados (TM), resto de tejidos fetales (F), interfase feto madre (IF) y relación trofoblastos binucleados/tropoblastos mononucleados (TB/TM).

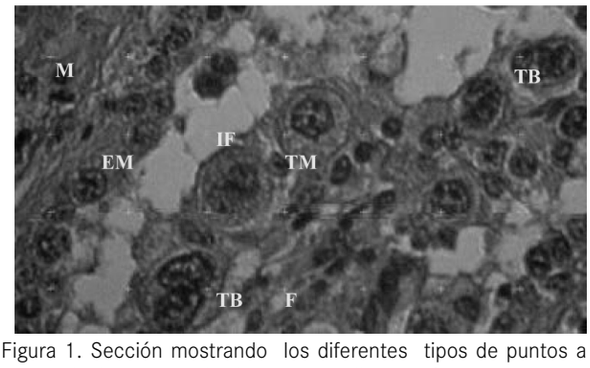


Figura 1. Sección mostrando los diferentes tipos de puntos a 40X: Epitelio materno (EM), resto de tejidos y células maternales (M), trofoblastos binucleados (TB), trofoblastos mononucleados (TM), resto de tejidos fetales (F) e interfase feto madre (IF).

PERFORMANCE OF THE IDEXX VISUAL PREGNANCY TEST:

A BOVINE PREGNANCY TEST ADAPTED FOR VISUAL-READ RESULTS AND DESIGNED FOR IN-CLINIC USE

Anna Rice[1], Molly Fabbricante[1], Sheri Koller[1], Lisa Lemieux[1], Peter Welles[1], Serge Leterme[1], Juan Ignacio Salido Rodriguez[2]

IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA[1] , IDEXX Laboratorios, S.L., Barcelona, Spain[2]

INTRODUCTION

Although bovine pregnancy diagnosis today is predominantly done by palpation and ultrasound, blood testing for pregnancy is growing in popularity. However, veterinarians looking for ways to incorporate blood-testing into their practices often find the up-front investment in enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) instrumentation to be cost prohibitive. To address this need, IDEXX has developed the IDEXX Visual Pregnancy Test—a pregnancy ELISA that does not require instrumentation. The ELISA plate is washed manually with a wash bottle and read visually. Samples from pregnant cows appear blue, while samples from open cows have no color. This technological advance enables veterinarians to offer cost-effective blood-based pregnancy testing, in addition to the palpation and ultrasound services they already provide.

MATERIALS/METHODS

A total of 521 serum or plasma samples from pregnant or open cows were evaluated using the IDEXX Visual Pregnancy Test. Samples were taken from cows between days 28 and 220 of gestation or from cows that were not re-bred. All cows were more than 60 days postcalving. Samples were tested to determine the sensitivity and specificity of the IDEXX test when results were read visually. The test was read visually by two independent readers as presence or absence of blue color in the sample wells. Results were compared to transrectal ultrasound or palpation for the individual samples at various points during the pregnancy.

TEST PROTOCOL

1. Dilute sample and incubate:

- Add 1 drop of sample diluent and 100 µL of sample to the well; incubate 30 minutes at room temperature.
- Wash 4 times manually, using a squeezable wash bottle.

2. Add detector and incubate:

- Add 2 drops of detector solution; incubate 30 minutes at room temperature.

- Wash 4 times manually, using a squeezable wash bottle.

3. Add conjugate and incubate:

- Add 2 drops of conjugate solution; incubate 30 minutes at room temperature.
- Wash 4 times manually, using a squeezable wash bottle.

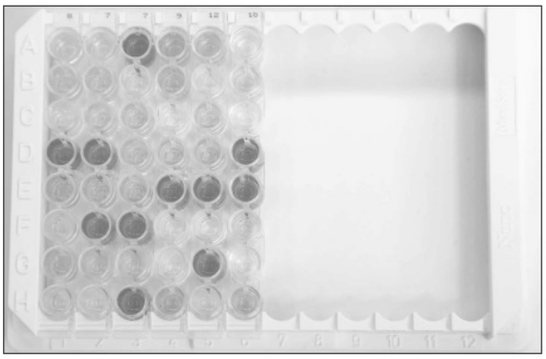
4. Add substrate and incubate; stop color development:

- Add 2 drops of TMB substrate; incubate 15 minutes at room temperature.
- Add 2 drops stop solution.

5. Read results visually by observing well color:

- Blue color = Pregnant
- No color (similar to NC) = Open

Figure 1. Representative test results



Blue color indicates pregnant samples. Wells A1 and A2 are the negative controls. Wells B1 and B2 are the positive controls.

Figure 2. Days postbreeding of test population

Plasma	Open	Pregnant
	n=	n=
20–28	45	6
29–39	69	75
40–49	16	6
50–59	7	3
60–128	7	36
>128	–	22
Not bred	29	–
Total	173	**148**

Days postbreeding

Serum	Open	Pregnant
	n=	n=
20–28	10	14
29–39	67	33
40–49	1	0
50–59	2	2
60–251	6	24
Not bred	41	–
Total	127	**73**

Days postbreeding

Figure 3. Results of IDEXX Visual Pregnancy Test by days postbreeding, compared to ultrasound/palpation

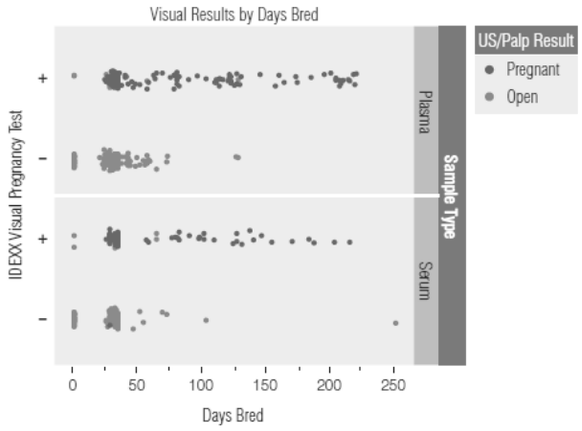


Figure 4. Overall sensitivity and specificity of the test population

Reference Method (Ultrasound/Palpation)				95% Confidence Limits		
		Pos	Neg	Totals	Low CL (%)	High CL (%)
IDEXX Visual Pregnancy Test	Pos	220	20	240		
	Neg	1	280	281		
	Totals	221	300	521		
					Sensitivity 99.5%	97.2	100
					Specificity 93.3%	89.9	95.7

CONCLUSIONS

- The IDEXX Visual Pregnancy Test exhibits 99.5% sensitivity (95% CI, 97.2%–100%) for the bovine serum and plasma samples tested.
- The IDEXX Visual Pregnancy Test exhibits 93.3% specificity (95% CI, 89.9%–95.7%) for the bovine serum and plasma samples tested.
- Plasma samples within this test population display sensitivity of 100% (95% CI, 96.9%–100%) and specificity of 93.6% (95% CI, 88.8%–96.5%).
- Serum samples within this test population display sensitivity of 98.6% (95% CI, 91.8%–100%) and specificity of 92.9% (95% CI, 86.9%–96.4%).
- Plasma samples within this test population display higher sensitivity and specificity than serum samples when tested with the IDEXX Visual Pregnancy Test; however, this difference is not statistically significant.
- The manual format of the IDEXX Visual Pregnancy Test provides a convenient way to obtain accurate ELISA results for the detection of bovine pregnancy.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

HYPOTHYROIDISM AND CONGENITAL GOITER OF SALERS CALVES IS LINKED TO A MUTATION IN THE DUOX2 GENE.

Xxx (to be completed if accepted), [1], Roy C. [2], Roque JL. [2], Lacroux C. [3] [4], Lucas MN. [3], Raboisson D. [3], Delverdier M. [3][4], Charlier C. [1], Georges M. [1], Schelcher F. [3][4]

(1) Université de Liege, GIGA, B-4000 Liège, Belgique
(2) Clinique vétérinaire des Mazets, 15400 Riom –es-Montagnes, France
(3) Université de Toulouse, INP, ENVT, UMR 1225, IHAP, F-31076 Toulouse, France
(4) INRA, UMR1225, IHAP, F-31076 Toulouse, France

ABSTRACT

A congenital defect of Salers calves is clinically characterized by goiter, reduced weight and generalized alopecia. Hypothyroidism (reduced T4, increased TSH hormone concentrations) and thyroid epithelium hyperplasia are linked to a mutation in DUOX 2 gene involved in the hydrogen peroxide (H2O2) generating system, used for oxidation and incorporation of iodine into thyroglobulin.

ANIMALS

During ten years (2002 to 2012), 22 pure breed Salers calves (21from natural mounting and one from artificial insemination), originating from 7 herds and including 12 females and 10 males, were submitted to a standardized clinical and pathological examination.

The calves were born dead (n= 20) or alive (n= 2). Calf body weight was very low (mean 16.1 kg; range 8.4 – 26.4 kg) compared to controls (n= 25; mean 40 kg; range 36- 45 kg) and considering that length of gestation was frequently about three weeks more than expected.

LESIONS

Most prominent gross lesions were generalized alopecia and upper neck swelling caused by an enlarged symmetric thyroid gland. Mean thyroid gland weight in the goiter calves was 435 g (range 75 –1570 g), compared to 18 g in controls (n= 15; range 12 to 23 g). Other gross lesions reported were absence of erupted incisors and overflexed or extended limb joints. Radiographic examination conducted in 3 goiter calves excluded anodontia and suggested an incomplete calcification of long bones.

Histological examination was implemented on routinely processed tissues (paraffin blocks, sectioned at 4 µm and stained with hemalun and eosin). Hairless skin revealed regularly moderate hypoplasia of hair follicles. A great amount of mucins in the dermis was confirmed by an Alcyan Blue reaction and could be a component of a myxedema.

In thyroid glands, follicles were irregular in size, many of them being collapsed, without colloid in the lumen and with simple, columnar, often hyperplastic epithelium. The intense diffuse hyperplasia of thyroid follicular cells was consistent with hyperplastic goiter associated to an inadequate thyroid hormone synthesis.

THYROID HORMONES

Plasma T4 (tetraiodothyronine), Thyroid-Stimulating Hormone (TSH) and inorganic iodine (PII) concentrations were measured in goiter and control calves and their respective dams. Distribution of analytes was compared using exact Mann Whitney Wilcoxon rank test. Significant differences between groups were considered at the 5% level of confidence

In goiter calves, plasma T4 concentration was significantly lower ($p = 2.24\ 10^{-7}$) (mean 7.0 nmol/L; median 7.71 nmol/L) than in control calves (180.6 nmol/L). In goiter calves, plasma TSH level was significantly (p= 0.0025) higher (mean 8.7 ng/mL and median 9.1 ng/mL) than in control calves (mean 1.20 ng/mL and median 1.17 ng/mL) as was PII ($p = 4.48\ 10^{-7}$) (goiter mean 538.9 µg/L and goiter median 610.0 µg/L; controls mean 51.7 µg/L, controls median 63.0 µg/L).

In the dams of goiter calves, mean plasma concentrations of T4 (mean 45.0 nmol/L), TSH (0.9 ng/mL) and PII (77.2 µg/L) were in the normal range and not significantly different from the values in dams of non-goiter calves.

Taken altogether these data suggest an inadequate thyroid hormone synthesis (low T4 blood levels) leading, by a feed-back mechanism, to increase the secretion of TSH which results in hyperplasia of thyroid follicular cells.

Moreover dietary iodine deficiency or excess seem to be unlikely according to the level of PII and T4/TSH in dam plasma.

Goitrogenic compounds can be reasonably excluded according to the breeding practices with no reported exposure to toxic plants (e.g *Brassica* spp) or xenobiotics. Therefore the most probable hypothesis was genetic enzymatic defect in the biosynthesis of thyroid hormones.

IDENTIFICATION OF THE GENETIC DEFECT

Assuming that congenital goiter and alopecia is inherited as an autosomal recessive defect and genetically homogeneous, and using Single Nucleotide Polymorphism (SNP) panels on DNA extracted from cases and controls, autozygosity mapping identified a single, genome-wide significant peak on chromosome 10. Further genetic analysis pinpointed the causative gene (DUOX 2) and the mutation. The gene defect is assumed to give rise to an alteration or a loss of the enzymatic activity of the encoded protein.

The DUal OXidase 2 is the main enzyme composing the Hydrogen peroxide (H2O2)-generating system. Hydrogen peroxide is a key element in thyroid hormone biosynthesis. It is the substrate used by thyroid peroxidase for oxidation and incorporation of iodine into thyroglobulin, a process known as organification. Defects in these reactions lead to reduced thyroid hormone synthesis and hypothyroidism, with consequent increased TSH secretion and goiter.

PLANTIGRADY DUE TO A LOCALIZED MYOPATHY IN TWO NEWBORN BELGIAN BLUE CALVES

Arnaud SARTELET[1], Marie GENART[1], Laurence EVRARD[2], Rita GARCIA da FONSECA[2], Kamal TOUATI[1], Calixte BAYROU[3]

[1] Clinical Department of Production Animals, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Belgium

[2] Diagnostic imaging Department, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Belgium

[3] Anatomo-pathology Department, Faculty of Veterinary Medicine, University of Liège, Belgium

Corresponding & presenting author: asartelet@ulg.ac.be

Gastrocnemius rupture causing abnormal flexion of the hock is a common traumatic disease observed in cattle. Spontaneous rupture of the gastrocnemius mainly occurs at the muscle-tendon junction and a direct trauma may lead to gastrocnemius tendon avulsion at the tuber calcaneus. We herein report two cases of gastrocnemius dysfunction leading to hock hyperflexion, also called "plantigrady", in two newborn calves due to a localized severe myopathy referred to the Clinic for Ruminants of the Uni-

versity of Liège.

The first case is a seven-day-old Belgian blue male calf weighing 58.00kg. He was born by C-section without abnormalities. He was referred because he was not able to stand up since he was 2 days old. He had previously been treated with non-steroidal inflammatory drugs (NSAIDs) and vitamins without success. The initial clinical examination revealed weakness, hyperthermia and tachypnea. The calf was not able to stand-up on his own and was not bearing weight on his right hind limb which was swollen, hot and painful from the hip to the claws. Deep pain sensation of the right hind limb was present but motor function was completely absent. Hematological analysis highlighted a severe neutrophilia and the blood biochemistry revealed a severe increased of the creatinine phosphokinase enzymes (CPK). Radiographies of the right hind limb revealed a heterogeneous soft tissue swelling with radioluminescent spots caudally to the tibia without bone abnormalities. Ultrasonography of the right thigh showed a hyperechoic spots (gas) in gastrocnemius and long digit extensor muscles, without evidence of fluid collection and an enlarged right popliteal lymph node. A muscular biopsy of the gastrocnemius muscle was performed under general anesthesia. Histopathological examination identified a very severe acute and chronic necrotic myositis. Bacterial culture identified a multiresistant *Staphylococcus pseudointermedius* sensitive to flofenicol and tetracycline. Despite the poor prognosis, the breeder decided to try a treatment using tetracycline and NSAIDs. After two months, the calf is still alive with a good condition. Lameness of the right hind limb is still present. The growth is slightly delayed, compared to other calves of the same age.

The second is also a seven-day-old Belgian blue male calf weighing 70.00kg. He was born by C-section, from an embryo transfer, without abnormalities. He was referred for a sudden weakness of the hind limbs since three days. At birth, he presented an acute respiratory distress syndrome and was treated with antibiotics, NSAIDs and steroidal drugs. The initial clinical examination revealed pale mucous membranes, tachycardia and tachypnea. The calf was not able to stand up alone and presented a bilateral plantigrady. Deep pain sensation of the hind limbs was maintained but motor function was completely absent. Hematological parameters were within normal limits and the blood biochemistry revealed a moderate increase of the creatinine phosphokinase (CPK) and the aspartate transaminase (AST) enzymes. Radiographs of the pelvis and the hind limbs revealed only a bilateral amyotrophy of the tight. Ultrasonography of the tights highlighted several intramuscular larges hyperechoic images with mainly homogeneous pattern but few of them contain hypoechoic ill delineated areas. These images were distributed in multifocal areas of gluteobiceps, gastrocnemius, femoral biceps and semitendinous muscles on lateral side of right and left thighs and on medial region of left thigh, in semimenbraneous muscle. The calf was euthanized because of the very poor prognosis associated with a bilateral myopathy with plantigrady. Necropsy revealed subcutaneous and intra-muscular hemorrhages and a localized myodystrophy of the gastrocnemius muscles. Histopathological analysis ruled out central and peripheral neurological dysfunction and identified a severe muscular degeneration with the presence of cytoplasm calcification suggesting a nutritional myodegeneration. Vitamin E and selenium dosage are ongoing.

Plantigrady is a rare disease affecting calves. We herein report two cases of plantigrady. The first case was due to a severe MRSI myopathy of which the origin was not determined. There was no history of injection in the tight. An umbilical infection may be suspected. For the second, a myodegeneration of the gastrocnemius muscle was determined but the etiology remained unknown.

BENCHMARKING ANIMAL-BASED WELFARE INDICATORS WITHIN AND ACROSS FREESTALL AND TIESTALL DAIRY CATTLE FARMS IN CENTRAL OF LUGO PROVINCE

Trillo Y, Quintela LA, Barrio M, Becerra JJ, Caínzos J, Vigo M, Herradón PG.

Dept. Animal Pathology - Unit of Reproduction & Obstetrics. Faculty of Veterinary Medicine of Lugo - University of Santiago de Compostela. 27002. Lugo. Spain

E-mail: luisangel.quintela@usc.es; phone: 982 822 605

ABSTRACT

The aim of this on-farm audit was to describe variation in the prevalence of hock injuries, BCS, locomotion score and hygiene score within and across 15 freestalls with cubicles (C) and 15 tiestalls (T) dairy cattle farms. Herd-level prevalence of overweight cows to the stage of lactation was significantly higher ($P<0.05$) in C (28.9 ± 15.6%) than in T (10.5 ± 7.9%) and underweight cows prevalence was significantly lower ($P<0.05$) in C (21.8 ± 15.6%) than in T (41.1 ± 12.0%). Hock injuries were common in both housing systems, averaging 41.7 ± 23.4% in C and 38.5 ± 27.3% in T. Prevalence of lameness (score 3, 4, 5) averaged 10.6 ± 6.8% in C (not scored in T). Udder hygiene score averaged 2.1 points in C and 2.2 points in T, upper leg/flank was 2.3 points in C and 2.4 points in T and lower leg score was significantly higher ($P<0.01$) in C (3.0 points) than in T (2.4 points). Some farms had a low prevalence of these animal-based measures suggesting opportunities for improvement animal welfare in other farms.

INTRODUCTION

A benchmark is a point of reference to make comparisons, usually implying that it is a good basic standard to achieve. Many of the most important core standards in animal welfare are directly observable animal-based measures that are the outcomes of bad practices or conditions (Welfare Quality, 2009). Early detection of these animal welfare indicators is critical for optimizing treatment and prevention plans, minimizing impaired animal welfare, and reducing economic loss. Benchmarking may allow dairy producers to evaluate their current performance relative to others, and to highlight opportunities for improvement.

This paper describes variation in animal-based measures (body condition score, hock injuries, locomotion score/lameness and hygiene score) within 15 freestall barns with cubicles and 15 tiestall barns and compare those measures across both housing systems in central of Lugo province (Galicia - Spain).

MATERIALS AND METHODS

Farm selection and description

Between November and December 2011, thirty family dairy cattle farms (Holstein) were selected as randomly as possible in central of Lugo province (Galicia - Spain): fifteen freestall barns with cubicles (C) and fifteen tiestall barns (T). Age of the facilities (since the last restoration or as a new building) ranged from 5 to 20 in C and 5 to 30 in T. Herd size averaged 55.9 ± 14.9 cows in C and 34.9 ± 10.9 cows in T. Cows' age averaged 4 years and milk production averaged 8,978 Kg/lactation. During the study period temperature ranged from 0 to 14°C and humidity ranged from 80% to 100%. Also, rain is characteristic of this region being greater than 1,000 mm/year.

Data collection

Parameters were collected once by the same person on every farm around the time of first milking which ranged from 7 to 9 am (cows were milked twice). Every cow was unlocked (C) and scored by direct observation at a distance of 3 meters on average; cows were not unlocked in T (locomotion score was no assessed). All lactating cows (C: 660, T: 438) were scored and dry cows (C: 106, T: 20) only when kept indoors (60% C and 26.7% T barns).

***Body condition score (BCS)*:** cows were evaluated in a 5 point scale (Edmonson, 1989) and classified with suitable, high or low BCS for their DIM based on Coleen and Heinrichs (2004) spreadsheets. Percentage of cows in each group was reported by herd.

Hock injuries: tarsal joints of each cow within the herd were evaluated. Any scratch, swelling, abrasion or trauma in any limb was taken into account for the assessment. Percentage of cows with lesions was reported by herd.

***Locomotion score/lameness*:** cows were scored between 1 (normal) and 5 (severe lameness) by Sprecher et al. (1997). Lame cows were represented by score 3, 4 and 5. Percentage of cows with score 1, 2, 3, 4, 5 and lameness were reported by herd.

***Hygiene score*:** lower leg, udder and upper leg/flank were scored from 1 to 4 points following Cook's (2002) assessment. Average of points by zones was reported within the herd.

Data analysis

Continuous variables are presented as the mean ± standard deviation (SD) within herds. One-way ANOVA was used to compare the animal-based welfare level across both housing systems. Farm type was independent variable and BCS, hock injuries, and hygiene were dependent variables. Values of $p<0.05$ were considered significant. Descriptive statistics and analysis made across farms were conducted with SPSS 9.0.

RESULTS AND DISCUSSION

Cubicles showed higher scores of lower leg hygiene and prevalence of overweight cows comparing with T barns, and T barns had a higher prevalence of underweight cows than C barns (table 1). Variation in the prevalence of BCS within and across farm types may be explain by different factors such as the ingredients type, feed available, feedbunk conditions, intake issues, injuries that might complicate the chewing or metabolic disorders (Waltner et al., 1993). Hygiene score variation within and across both housing systems might be associated with manure transfer depending on cow behavior and facilities cleaning which include: direct transfer (cows may lie down in manure), leg transfer (walking through the manure, slipping and splash transfer) or tail transfer (Cook, 2002).

Hock injuries were common in both housing types but there was no significant difference across them (table 1). Stall features that restrict the normal rising and lying down movements (i.e., small stalls, presence of obstructions, hard lying surface, etc.) may aggravate the risk of injury as cows try to adapt to restricted space (Zurbrigg et al., 2005).

Prevalence of locomotion score recommendations by Sagüés (2003) showed score 1 and 3 of this study (table 1) were lower than 75% and 9% respectively and score 2, 4 and 5 were higher than 15%, 0.5% and 0.5%, respectively. It might suggest high risk of develop lameness considering prevalence of score 2.

Table 1. Average (mean ± SD) herd-level prevalence of animal-based welfare indicators within farms and differences across 15 freestalls with cubicles (C) and 15 tiestalls (T) dairy cattle farms in central of Lugo province (Galicia - Spain).

Animal-based variable	Scoring	Herd-level prevalence (mean ± SD)	
		C (n=15)	T (n=15)
BCS (% of cows/herd)	Low *	21.8 ± 15.6	41.1 ± 12.03
	Suitable	49.3 ± 12.8	48.4 ± 9.3
	High *	28.9 ± 15.6	10.5 ± 7.9
Hock injuries (% of cows/herd)	_	41.7 ± 23.4	38.5 ± 27.3
Locomotion score (% of cows/herd)	Score 1	64.4 ± 8.1	_
	Score 2	24.8 ± 9.6	_
	Score 3	3.6 ± 3.8	_
	Score 4	5.0 ± 3.7	_
	Score 5	2.2 ± 2.5	_
Lameness (% of cows/herd)	_	10.6 ± 6.8	_
Hygiene score (average of points/herd)	Lower leg **	3.0 ± 0.7	2.4 ± 0.5
	Udder	2.1 ± 0.7	2.2 ± 0.6
	Upper leg/flank	2.3 ± 0.8	2.4 ± 0.6

* $p<0.05$, ** $p<0.01$

CONCLUSION

Herd scoring had a big range of variation within and across both housing systems. Some farms had a low prevalence of overweight and underweight cows, injuries, lameness, and hygiene scores, suggesting better opportunities for other farms to benefit from benchmarking.

REFERENCES

1. **Edmonson, A. J., I.J. Lean, L.D. Weaver, T. Farver, and G. Webster. 1989.** A body condition scoring chart for Holstein Dairy Cows. J. Dairy Sci. 72: 68-78.
2. **Coleen J, Heinrichs J, 2004.** Manual for body condition scoring. Excel Spreadsheet series. Pennsyvania State University. *Available in* http://extension.psu.edu (01/12/2013)
3. **Cook NB, 2002.** The influence of barn design on dairy cow hygiene, lameness, and udder health. Pages 97-103 in Prodc Of the 35th Ann Conv Amer Assoc Bov Pract, Madison, WI. Amer Assoc Bov Pract Rome, GA.
4. **Sagüés AG, 2003.** Cuidado de pezuñas en vacuno lechero. Cuaderno de campo Ivomec. Ed. Merial. 186 pp.
5. **Sprecher DJ, Hostetler DE, Kaneene JB, 1997.** A lameness scoring system that uses posture and gait to predict dairy cattle reproductive performance. Theriogenology. 47: 1179-1187.
6. **Waltner SS, McNamara J, Hillers J, 1993.** Relationships of Body Condition Score to Production Variables in High Producing Holstein Dairy Cattle. J. Dairy Sci. 76: 3410-3419.
7. **Welfare Quality, 2009.** Welfare Quality® assessment protocol for cattle. Welfare Quality® Consortium: Lelystad, Netherlands.
8. **Zurbrigg, K, Kelton D, Anderson N, Millman S, 2005.** Tie-stall design and its relationship to lameness, injury, and cleanliness on 317 Ontario dairy farms. J Dairy Sci 88:3201–3210.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

RESULTS OF ACTH TEST CORRELATE WITH INDIVIDUAL STRESS RESPONSES DURING STRESS CHALLENGE IN DAIRY COWS

Lea Figuth[1], Lena Locher[1], Anja Schacht[1], Akos Kenez[2], Korinna Huber[2], Ulrich Meyer[3], Sven Dänicke[3], Juergen Rehage[1]

1 Clinic for Cattle, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany

2 Department of Physiology, University of Veterinary Medicine Hannover, Hannover, Germany

3 Department of Animal Nutrition, Friedrich-Loeffler-Institute, Braunschweig, Germany

BACKGROUND

Dairy cows are exposed to various stressors during their daily live. Stress activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) with cortisol release and induces the hypothalamic-adrenal medullary axis with release of catecholamines. Subsequently heart rate increases and hyperglycemia, hyperlipidemia and lyperlactatemia are typical metabolic responses. The extent of individual hormonal, cardiac and metabolic stress responses on stress challenges depends on previous experiences and the individual stress responsiveness. The ACTH test is commonly used to test the individual stress responsiveness. The aim of the study was to compare results of the ACTH test with hormonal, metabolic and cardiac stress responses of cows on claw trimming as a typical acute stressor.

METHODS

In eighteen German HF cows an ACTH test was performed on day 110 post partum (80 µg/cow ACTH, Synacthen, Sigma-Tau Arzneimittel GmbH, Düsseldorf, Germany; repeated blood samples for cortisol measurement taken over 120 minutes). The area under the cortisol concentration curve (ACTH-AUC) and the peak cortisol concentration (ACTH-PEAK) were assessed. Claw trimming was performed about 40 days before the ACTH test on a surgical tipping table with measurement of heart rate (HR) and heart rate variability (HRV, standard deviation of RR intervals: SDNN, root mean square of successive differences: rMSSD; Polar® Equine RS800CX system; Polar Electro Oy, Finland) as well as concentrations of cortisol, non-esterified fatty acids, glucose and lactate in repeated blood samples. AUC and PEAK values were assessed for HR and blood parameters. Spearman correlations (SAS statistical package) were used for data evaluation.

RESULTS AND CONCLUSIONS

ACTH-AUC (AUC_cortisol: r= 0.62, P = 0.006; PEAK_cortisol: r= 0.59, P = 0.009; AUC_HR: r= -0.47, P = 0.047) and ACTH-PEAK (AUC_cortisol: r= 0.73, P < 0.001; PEAK_cortisol: r: 0.74, P< 0.001; AUC_HR: r: -0.57, P= 0.013) correlated significantly with various results obtained during claw trimming. No significant correlations were found between metabolic stress responses and results of HRV during claw trimming and ACTH test results.

ACTH test results appear to reflect sufficiently the individual HPA responsiveness and less the individual catecholamine induced stress responses as assessed by heart rate and HRV in dairy cows during exposure to acute stress situations.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

PAIN MANAGEMENT WITH FLUNIXIN AT THE DEHORNING OF CALVES

S. WAIBLINGER[1], C.-C. GELFERT[2] Dip. ECBHM, A. MANG[1], C. NÖBAUER[1], T. ARNHOLT[3], M. DRILLICH[3], Dip. ECBHM

[1]Institute of Animal Husbandry and Animal Welfare, vetmeduni vienna, Vienna, Austria

[2]MSD Animal Health Austria, Vienna, Austria

[3] Clinic for ruminants, vetmeduni Vienna, Vienna Austria

ABSTRACT

Dehorning in calves is a common procedure in modern dairy farming. In the public discussion it is generally accepted that a local anesthesia before dehorning is essential for pain management and should be completed by a non-steroidal antiphlogistic drug (NSAID). The objective of this study was to determine the effect of the NSAID flunixin at dehorning of calves on cortisol concentration in serum. Furthermore selected behavioral characteristics, heart and respiratory rate and body temperature have been examined. The course of the cortisol concentration and the reduction of pain-indicating behaviour indicated that pain after dehorning can be reduced by the administration of flunixin before dehorning.

OBJECTIVE

Dehorning (Dx) of calves is a routine management practice on many dairy farms, performed to prevent injury to stockpeople and other cattle. With regard to animal welfare aspects it is important to avoid unnecessary suffering and pain caused by this procedure (Doherty et al., 2007). The management of pain of calves has been the objective of several studies. It is generally accepted that a local anesthesia before dehorning (Dx) is essential for pain management and should be completed by a non-steroidal antiphlogistic drug (NSAID). The objective of this controlled, randomized, and blinded clinical trial was to determine the effects of the NSAID flunixin before dehorning on cortisol concentration in serum of 5 to 9-week-old calves. Furthermore selected behavioral characteristics, heart and respiratory rate have been examined.

MATERIAL AND METHODS

In this controlled, randomized, and blinded clinical trial to determine the effects of the NSAID flunixin, 64 calves were allocated to 4 groups. In each of 20 replicates 4 calves were randomly assigned into 4 groups. In 3 treatment groups calves received a local anesthetic (10mL procain) and a first treatment with flunixin or a placebo (0.9% saline) 20 min before hot-iron dehorning, and second treatment with flunixin or a placebo 3 h after Dx. Calves in the control group CON were not dehorned and did not receive any treatment. Groups received 2.2mg/kg flunixin followed by a placebo (FP), or for both treatments 2.2mg/kg flunixin (FF) or for both treatments a placebo (PP). Blood samples were collected from all calves, including CON, 20 min before fixation in a headlock for Dx, 2min after Dx, as well as 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, and 8 h after Dx. Samples were analyzed for concentration of cortisol by enzyme-immunoassay (EIA). Samples were analyzed for concentrations of cortisol by Enzyme-Immunoassay (EIA). Heart rate variability (HRV) during resting was measured in the period 9-11 h after dehorning and compared with the day before (baseline). Additionally, behavioural pain responses were observed for the first 9 hours after Dx.

The statistical data were analyzed with the SPSS statistical software (version 17, IBM Cooperation, New York, USA). In a first step, the course of the measured concentrations of cortisol, body temperature, heart rate, respiratory rate and the observed behavioral characteristics were compared between treatment groups by using a general linear model with repeated measures followed by post-hoc test by Bonferroni. The results at the individual time points were compared between the groups by ANOVA for internal body temperature, heart rate, and respiratory rate and for concentrations of cortisol by Brown-Forsythe test for not-normally distributed data followed by post-hoc test by Bonferroni. The cortisol concentration was additionally analyzed by area under the curve (AUC) and groups AUCs were compared by Mann-Whitney U-test. The number of calves, in which the respective behavioral characteristics were recorded, was compared between groups using Chi-square test. The significance level was set at $\alpha = 0.05$.

RESULTS

It was found that concentration of cortisol, calculated as area under the curve, was greater in PP compared with FF and tended to be greater compared with FP. Significant differences between PP and FF were detected at 30 min and 2 h after Dx. The comparison between both flunixin-treated groups and CON demonstrated that cortisol concentrations were at the same level throughout the observation period, indicating a certain level of discomfort for the calves in a headlock on one side and a reduction of stress in flunixin-treated groups after Dx on the other side.

During the first 30 minutes after the disbudding PP calves showed significantly more often pain-indicating behaviours, such as head scratching, ear flicking or head shaking than FP and FF calves. In the afternoon, NN calves were ruminating less frequently than FP or FF calves. The behaviour of the two groups that had received flunixin once or twice, FP and FF calves, did not differ during any of the observation periods.

Among all the parameters of heart rate analyzed, only the parameter trend indicated a difference between the two flunixin groups. Trend of FF calves differed significantly from FP calves but not from CON.

DISCUSSION

Concentration of cortisol in serum has been described as an indicator for pain and stress in calves (Mellor et al., 2002; Milligan et al., 2004; Duffield et al., 2010). In the present work the course of the cortisol concentration indicates that the pain response after dehorning can be reduced by the administration of flunixin before dehorning (Huber et al. 2013). The cortisol levels were similar to the non-dehorned control group CON. An increase in the concentration of cortisol in CON demonstrates that the fixation of the calves itself seems to have an effect on cortisol concentrations, indicating stress.

Calves of both flunixin groups showed significantly less pain-indicating behaviours, such as head scratching, ear flicking or head shaking than those of PP, which demonstrated the pain-reducing effect of flunixin. When the local anesthesia faded away, the arising postoperative pain (Faulkner and Weary, 2000) was successfully reduced by the NSAID.

Ruminating in the afternoon was often monitored in calves of both flunixin groups which confirmed the results of Silvester et al. (2004).

The only difference in the heart rate variability found between both flunixin-groups must be interpreted very carefully and need further studies to confirm these findings. According Cortisol concentrations and behaviour there is no need for a second treatment of NSAID three hours after dehorning.

All results clearly showed that flunixin combined with a local anesthetic provides better pain relief after dehorning than a single local anesthetic.

CONCLUSION

Dehorning of calves is associated with destruction of tissue and causes significant pain and stress. All parameters clearly showed that the pain response after dehorning can be reduced by the administration of flunixin before dehorning. HRV suggests that some beneficial effects of a second dose of flunixin might exist.

REFERENCES

1. Doherty, T. J., H. G. Kattesh, R. J. Adcock, M. G. Welborn, A. M. Saxton, J. L. Morrow and J. W. Dailey. 2007. Effects of a concentrated lidocaine solution on the acute phase stress response to dehorning in dairy calves. J. Dairy Sci. 90:4232-4239.
2. Duffield, T. F., A. Heinrich, S. T. Millman, A. DeHaan, S. James and K. Lissemore. 2010. Reduction in pain response by combined use of local lidocaine anesthesia and systemic ketoprofen in dairy calves dehorned by heat cauterization. Can. Vet. J. 51:283-288.
3. Faulkner P.M. and D.M. Weary. 2000. Reducing pain after dehorning in dairy calves.
4. J. Dairy Sci. 83: 2037-2041.
5. Huber, J., T. Arnholdt, E. Möstl, C.-C. Gelfert and M. Drillich. 2013. Pain management with flunixin meglumine at dehorning of calves. J. Dairy Sci. 96:132-140.
6. Mellor, D. J., K. J. Stafford, S. E. Todd, T. E. Lowe, N. G. Gregory, R. A. Bruce and R. N. Ward. 2002. A comparison of catecholamine and cortisol responses of young lambs and calves to painful husbandry procedures. Aust. Vet. J. 80:228-233.
7. Milligan, B. N., T. Duffield and K. Lissemore. 2004. The utility of ketoprofen for alleviating pain following dehorning in young dairy calves. Can. Vet. J. 45:140-143
8. Sylvester S.P., K.J. Stafford, D.J. Mellor, R.A. Bruce and R.N. Ward. 2004. Behavioural responses of calves to amputation dehorning with and without local anaesthesia. Aust. Vet. J. 82: 697-700.

ECBHM
European College of Bovine Health Management

PREGNANCY TESTING USING PAG IN MILK IS NOT AFFECTED BY TIME OF SAMPLING DURING THE MILKING PROCESS

J. Becker[1], J. Huber[1], C. Egli[2], M. Drillich[1]

[1]Vetmeduni Vienna, Clinic for Ruminants, Clinical Unit for Herd Health Management, Austria, [2]IDEXX Switzerland AG, Switzerland

INTRODUCTION

Pregnancy testing is an important step in reproductive management programs in dairy and beef farms. The aim of pregnancy testing is not only to confirm an established pregnancy but more to identify cows that are not pregnant. These cows should be re-inseminated as soon as possible to diminish prolonged days open

and economic losses to the farmer. Traditional methods for pregnancy testing are based on rectal palpation of the uterus and its contents or on ultrasonography. Alternatively, the concentration of Pregnancy-associated glycoproteins (PAG) produced in the bovine placenta can be determined by ELISA (Green et al. 2005, 2009). This test has been established and validated for samples from serum or plasma (Romano and Larson, 2010). The concentration of PAG is indicative for pregnancy after 28 days after insemination and increases with the stage of gestation (Giordano et al., 2012). Recently, LeBlanc (2013) has evaluated a PAG-test for milk samples in cows >60 days of gestation to confirm pregnancy. In this study, sensitivity and specificity of the test for the confirmation of pregnancy was 99.2% and 95.5%.

For blood samples, it has been shown that freezing has an effect on determined PAG concentration that can be corrected by using a correction factor (Stahmann et al., 2013). Little information has been published about biases that might compromise the reliability of the PAG-test in milk.

The objective of the present study was to test if collecting samples at different times of the milking process has an effect on determined concentrations of PAG in milk.

MATERIALS AND METHODS

The study was conducted on the teaching and research farm Kremesberg, Vetmeduni Vienna, Austria. Milk samples were collected from 20 pregnant cows in the milking parlour. Cows were between 48 to 218 days of confirmed pregnancy. Samples were taken at pre-milking (PRE), in the middle (MID) and at the end (END) of the milking process. All 60 samples were frozen at -20°C immediately after collection until processing them in the laboratory. In the laboratory, samples were analysed by using the ELISA-based IDEXX Milk Pregnancy Test®. Results were calculated from the optical density (OD) of the sample minus the OD of the negative control, which results in an S–N value (sample minus negative control). S-N values ≥0.250 are indicative for pregnancy. The coefficient of variation (CV) for the test offered by the manufacturer has been described as ranging from 3.75% to 5.28%, which can be regarded as good intraplate repeatability.

RESULTS

In all 60 samples of 20 pregnant cows, S-N values exceeded the threshold for pregnancy of 0.250. As expected, with increasing days of gestation, S-N values increased with a minimum of 0.33 and a maximum of 3.42. The correlation between PRE, MID and END ranged from 0.97 to 0.99 ($p<0.01$). The overall coefficient of variation was 8.19% (±6.15%). Although some differences were detected between PRE, MID and END in individual cows, no clear direction of these differences was detectable. In 9/20 cows, the lowest values were detected in END, whereas in 6/20 and 5/20 the lowest values were found in PRE and MID, respectively ($p>0.05$).

DISCUSSION

The objective of this study was to test the effect of time of sampling during the milking process on the determined PAG concentration. This information is of relevance for the user of the test and could be important for scientific questions related to the test. The results of this study demonstrated a high correlation between the three samplings and a coefficient of variation that was slightly higher than the described CV for intraplate repeatability. For practical use in the field, these results showed that milk samples for pregnancy testing can be collected at the beginning, in the middle or at the end of the milking process. Variations between the three samplings might be of interest for scientific purposes and could be analysed more in detail, e.g. by determining the effect of stage of gestation, milk yield and other factors influencing the PAG concentration in milk.

CONCLUSION

In conclusion, the PAG-test provides reliable information for the confirmation of pregnancy in dairy cows and can be performed at any stage within the milking process.

REFERENCES

1. Green JA, Parks TE, Avalle MP, Telegu BP, McLain AL, Peterson AJ, McMillan W, Mathialagan N, Hook RR, Xie S, Roberts RM. 2005. The establishment of an ELISA for the detection of pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) in the serum of pregnant cows and heifers. Theriogenology 63:1481–1503.
2. Green JC, Volkmann DH, Poock SE, McGrath MF, Ehrhardt M, Moseley AE, Lucy MC. 2009. Technical note: A rapid enzyme-linked immunosorbent assay blood test for pregnancy in dairy and beef cattle. J Dairy Sci. 92:3819-3824.
3. Giordano JO, Guenther JN, Lopes Jr. G, Fricke PM. 2012. Changes in serum pregnancy-associated glycoprotein, pregnancy specific protein B, and progesterone concentrations before and after induction of pregnancy loss in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 95:683–697.
4. Leblanc SJ. 2013. Short communication: field evaluation of a pregnancy confirmation test using milk samples in dairy cows. J Dairy Sci. 96:2345-2348.
5. Romano JE, Larson JE. 2010. Accuracy of pregnancy specific protein-B test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. Theriogenology 74:932–939.
6. Stahmann F, Gauly M, Holtz W, König von Borstel U. 2013. Short communication: A note on the correction for the effect of freezing on the outcome of pregnancy-associated glycoprotein measurement in blood and serum of cows. J. Dairy Sci. 96:6520-6524